



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I700292 B

(45)公告日：中華民國 109 (2020) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：103133689

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 09 月 29 日

(51)Int. Cl. : C07K16/00 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2013/09/27 日本

2013-200845

(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：井川智之 IGAWA, TOMOYUKI (JP) ; 堅田仁 KATADA, HITOSHI (JP) ; 味元風
太 MIMOTO, FUTA (JP)

(74)代理人：洪澄文

(56)參考文獻：

TW 200722517A

US 20100286374A1

US 20100331527A1

US 20110287009A1

US 20130115208A1

WO 2013060867A2

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：12 共 313 頁

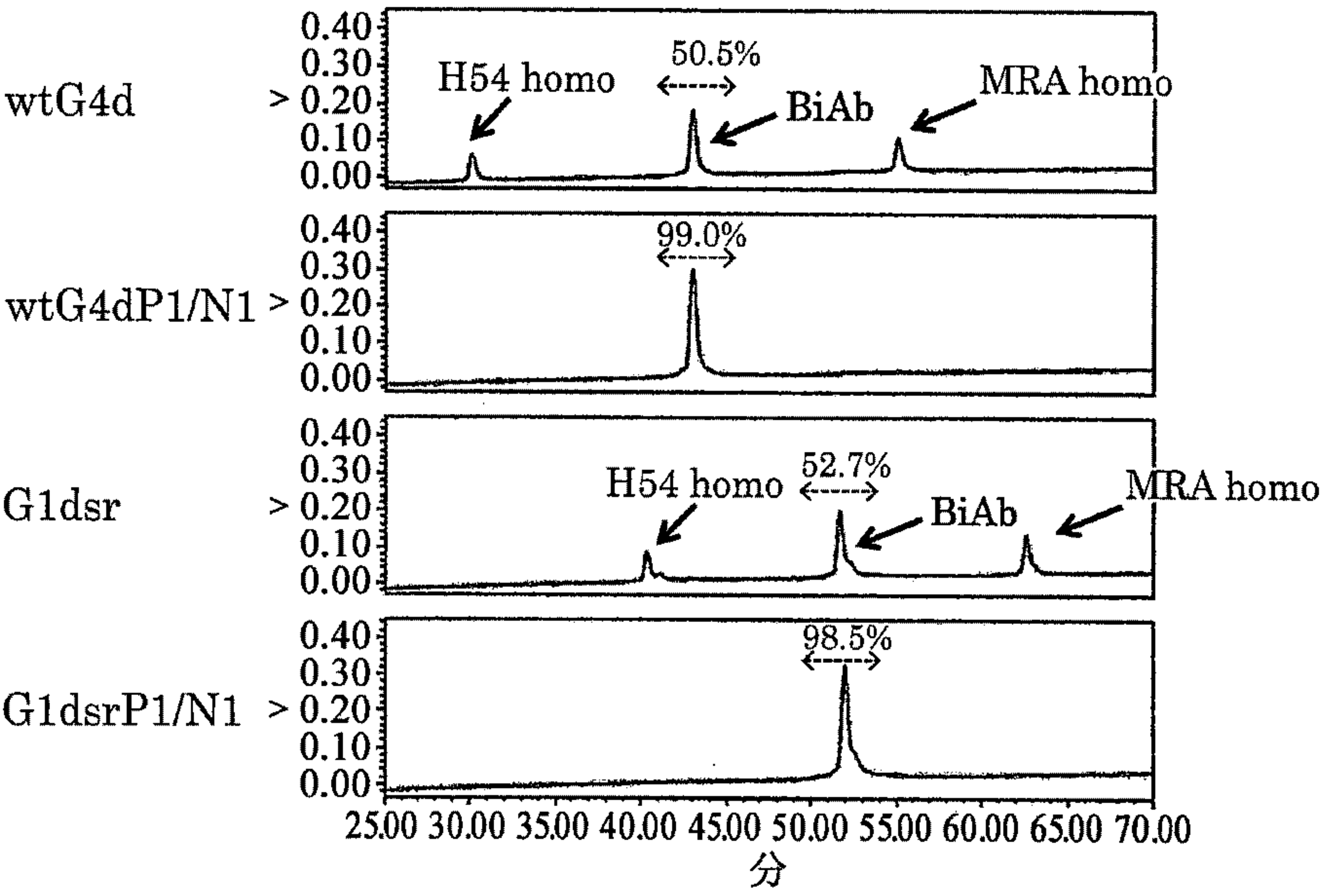
(54)名稱

多胜肽異種多聚體之製造方法

(57)摘要

本發明提供，利用電荷相斥以達成 Fc 區域的分離之促進及/或結合之控制，將形成 Fc 區域界面之胺基酸的變異、及/或使重鏈 CH3 區域之安定性為不安定的變異導入重鏈 CH3 區域之複數種多胜肽的同聚多肽，在還原條件下溫育，以效率且安定地製造異種多聚體之方法。

指定代表圖：



第1圖

I700292

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：

※IPC 分類：

【發明名稱】(中文/英文)

多胜肽異種多聚體之製造方法

【中文】

本發明提供，利用電荷相斥以達成 Fc 區域的分離之促進及/或結合之控制，將形成 Fc 區域界面之胺基酸的變異、及/或使重鏈 CH3 區域之安定性為不安定的變異導入重鏈 CH3 區域之複數種多胜肽的同聚多肽，在還原條件下溫育，以效率且安定地製造異種多聚體之方法。

【英文】

無。

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

多胜肽異種多聚體之製造方法

【技術領域】

【0001】 本發明係關於多胜肽異種多聚體之製造方法及使Fc 區域上的胺基酸變異以促進多胜肽異型化之多胜肽異種多聚體等。

【先前技術】

【0002】 抗體由於在血中安定性高、副作用少，已在醫藥品上受到注意（非專利文獻 1、非專利文獻 2）。其中亦有同時可辨認 2 種抗原或抗原決定基之雙特異性抗體，此等被期望標的特異性高及同時抑制多種路徑的機能（非專利文獻 3）。例如已商品化之 Catumaxomab 係可結合在上皮細胞黏著因子之 EpCAM、及在 T 細胞中表現的 CD3 之雙特異性抗體，被使用作為惡性腹水之治療藥劑。

【0003】 IgG 型雙特異性抗體之製造，目標雙特異性抗體所得的效率低、及由於精製的難度而難度高，但關於有效率地生產的知識已被報導（非專利文獻 3）。例如，將構成含有 2 種可變區域的 IgG 之 H 鏈及 L 鏈的基因，合計 4 種基因導入細胞，經由共同表現而分泌的情形，會隨機地產生 2 種的 H 鏈的共價鍵以及 H 鏈和 L 鏈的非共價鍵，因此目標的雙特異性抗體的比例極低，生產效率顯著降低。其解決之技法，曾報告經由在 IgG 的 H 鏈的 CH3 區域進行胺基酸取代，可使 H 鏈為異種組合的

IgG 優先分泌（專利文獻 1 及非專利文獻 4 及 5）。本技法，係藉由對存在於一方之 H 鏈 CH3 區域的胺基酸側鏈取代為更大的側鏈（knob：凸起），並對存在於另一方之 H 鏈 CH3 區域的胺基酸側鏈取代為更小的側鏈（hole：空隙），使凸起配置在空隙內而引起促進異種 H 鏈之形成及抑阻同種 H 鏈形成的方法。同時，亦有報告在各 IgG 的 H 鏈之 CH3 區域導入不同電荷的方法（專利文獻 2）。具體上，係經由將一方之 H 鏈 CH3 區域所存在的胺基酸取代為具有正電荷之胺基酸，將另一方之 H 鏈 CH3 區域所存在的胺基酸取代為具有負電荷之胺基酸，而引起促進異種 H 鏈之形成及抑阻同種 H 鏈形成的方法。另一方面，也有報導控制 H 鏈與 L 鏈組合的技術（非專利文獻 6）。本技法係作為抗體一方的 Fab，使用更換 L 鏈恒定區域（CL）及 H 鏈 CH1 區域者，而有效率地誘導目標 H 鏈與 L 鏈組合的技法。又除此之外，亦存在逾兩方的 Fab 使用共同之 L 鏈的技法。此係以使用共同 L 鏈者導入細胞之 L 鏈基因為 1 種，無需考慮 H 鏈與 L 鏈之組合而獲得雙特異性抗體。目前可經由組合異種 H 鏈形成技術、H 鏈 L 鏈組合控制技術，高效率地形成雙特異性抗體。然而，仍難以完全地控制 H 鏈與 L 鏈的組合，為複雜的分子設計。再者，以共同之 L 鏈對 2 種抗原維持高親和性也有難度高的問題。

【0004】 另一方面，已報導有非上述之基因重組方法，使用預先各別調製的單株抗體彼此製作雙特異性抗體的方法，稱為 Fab Arm Exchange 的技法。此技術係根據已知在活體內使 IgG4 半分子與內因性 IgG4 半分子交換生成雙特異性抗體

(Biospecific 抗體：BiAb) 的了解 (非專利文獻 7) 所開發之技術，已報導藉由體外(in vitro)混合 2 種天然型人類 IgG4，產生雙特異性抗體 (專利文獻 3)，而且在還原條件下可更高效率地使反應發生 (非專利文獻 8)。同時，亦發現 IgG4 上為其特徵的樞紐 (hinge) 區域之第 228 位及 CH3 區域的第 409 位之 2 處對該反應為重要的胺基酸殘基被限定，即使是 IgG1，在該 2 處取代為 IgG4 型之胺基酸時，亦可與 IgG4 相同的效率發生反應 (專利文獻 4)。Fab Arm Exchange 由於可僅在體外(in vitro)混合以一般方法所製作之單株抗體即可獲得目的之雙特異性抗體，因此廣用性高。然而由於半分子交換反應係隨機發生，混合 2 種抗體混合所獲得之雙特異性抗體，理論上為系統內存在之總抗體量的 50%。為此，曾再檢討改善雙特異性抗體生成率的方法，已有報告在導入 2 種抗體的非對稱胺基酸變異，亦即，在一方之 H 鏈上的 K409R 之變異，以及，在另一方之 H 鏈上導入 F405L 之變異，可使反應效率大為提高，但反應效率為 95% 左右 (專利文獻 5、非專利文獻 9)。由於在雙特異性抗體的效率且安定之製造上，精製之簡便性及在可能程度減低批間的不均一性為必要且不可少，因此期待開發實現更高反應效率之優良技法。

先前技術文獻

專利文獻

【0005】

專利文獻 1：WO/1996/027011

專利文獻 2：WO/2006/106905

專利文獻 3：WO/2005/062916

專利文獻 4：WO/2008/119353

專利文獻 5：WO/2011/131746

非專利文獻

【0006】

非專利文獻 1：Nat. Biotechnol., 23: 1073-1078, 2005

非專利文獻 2：Eur. J. Pharm. Biopharm., 59(3): 389-396,

2005

非專利文獻 3：mAbs., 4: 653-663, 2012

非專利文獻 4：Protein Engineering, 9: 617-621, 1996

非專利文獻 5：Nature Biotechnol., 16: 677-681, 1998

非專利文獻 6：Proc. Natl. Acad. Sci., 108: 11187-11192,

2011

非專利文獻 7：Immunology, 97: 693-698, 1999

非專利文獻 8：Science, 317: 1554-1557, 2007

非專利文獻 9：Proc. Natl. Acad. Sci., 110: 5145-5150, 2013

【發明內容】

發明欲解決之課題

【0007】 本發明鑑於此種狀況，目的係在提供，爲了高效率且安定地製造異種多聚體，在還原狀況下促進多胜肽的異型化，獲得所欲的異種多聚體之反應效率更高之優良技法。

解決課題之手段

【0008】 本發明人等，選擇具有作爲可提供爲異種多聚體的多胜肽之 Fc 區域的多胜肽，控制 Fc 區域之解離及締合的方

法，刻意進行研究。結果發現，藉由取代重鏈 CH3 區域中存在的特定之胺基酸，可在還原狀態下促進 Fc 區域之解離及控制其締合，與先前技術相比，可效率良好地形成所欲的異質分子。

【0009】 本發明依據如此的認知，具體地提供以下之[1]至[25]項。

[1]一種異種多聚體之製造方法，其包含：

- a) 提供具有第 1 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 1 多胜肽的同聚多肽之階段，
- b) 提供具有與該第 1 抗原結合活性相異的第 2 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，
- c) 在可使樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵異構化之還原條件下，共同溫育該第 1 多胜肽之同聚多肽及該第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，以及
- d) 獲得含該第 1 及第 2 多胜肽的異種多聚體之階段，

在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所含之 CH3 區域中，具有與選自：

- (1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、
- (2) EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基、
- (3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基

所示之胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組的胺基酸殘基之同類之電荷；

在前述第 1 多胜肽的 CH3 區域及前述第 2 多胜肽的 CH3 區域雙方中，在前述 (1) 至 (3) 所示之胺基酸殘基的組中同

組之胺基酸殘基各具有同類之電荷時，前述第 2 多胜肽的 CH₃ 區域中的該組胺基酸殘基，具有與前述第 1 多胜肽的 CH₃ 區域中該組胺基酸殘基相反之電荷。

[2]如[1]項中所述之製造方法，其中在[1]項之步驟 a) 中，包含提供與第 1 多胜肽形成多聚體之第 3 多胜肽之階段，且在步驟 b) 中，包含提供與第 2 多胜肽形成多聚體之第 4 多胜肽之階段。

[3]如[1]或[2]項中所述之製造方法，其中前述具有同類電荷的胺基酸殘基，係選自下列 (A) 或 (B) 任一群所含的 1 個以上之胺基酸殘基：

(A) 麩胺酸 (E)、天冬胺酸 (D)；

(B) 離胺酸 (K)、精胺酸 (R)、組胺酸 (H)。

[4]如[1]至[3]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 及第 2 多胜肽中，各自具有同類電荷的胺基酸殘基之群組，係下列(1)至(4)之任一組胺基酸殘基之組：

(1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、

(2) EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基、

(3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基、

(4)(i) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基、及(ii) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基。

[5]如[1]至[4]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 及第 2 多胜肽中，各自具有同類電荷的胺基酸殘基之組，係下列之組的胺基酸殘基之組：

(i) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基、及

(ii) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基。

[6]如[1]至[5]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 及/或第 2 多胜肽中，使胺基酸變異以使第 1 及/或第 2 多胜肽的 CH3 區域之安定性為不安定。

[7]如[1]至[6]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 及/或第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位及/或第 392 位變異。

[8]如[1]至[7]之任一項中所述之製造方法，其中第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域為 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 型。

[9]如[1]至[7]之任一項中所述之製造方法，其中第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域為來自於小鼠之 Fc 區域。

[10]如[9]項中所述之製造方法，其中在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所包含之 CH3 區域中，具有與選自：

(1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、及

(2) EU 編號第 360 位及第 371 位的胺基酸殘基、及

(3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基

所示之胺基酸殘基的組之 1 組至 3 組的胺基酸殘基同類之電荷；

在前述第 1 多胜肽的 CH3 區域及前述第 2 多胜肽的 CH3 區域雙方中，在前述 (1) 至 (3) 所示之胺基酸殘基的組中同組之胺基酸殘基各具有同類之電荷時，前述第 2 多胜肽的 CH3 區域中的該組胺基酸殘基，具有與前述第 1 多胜肽的 CH3 區域中該組胺基酸殘基相反之電荷。

[11]一種異種多聚體之製造方法，其包含：

a) 提供具有第 1 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 1 多胜肽的

同聚多肽之階段，

b) 提供具有與該第 1 抗原結合活性相異的第 2 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，

c) 在可使樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵異構化之還原條件下，共同溫育該第 1 多胜肽之同聚多肽及該第 2 多胜肽之同聚多肽之階段，以及

d) 獲得含第 1 及第 2 多胜肽的異種多聚體之階段，

使在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所含之 CH3 區域中的 EU 編號第 397 位及/或第 392 位的胺基酸殘基變異。

[12]如[1]至[11]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 及/或第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位為 Met (M)、Phe (F) 或 Tyr (Y)、及/或使 EU 編號第 392 位變異為 Asp (D)、Glu (E)、Thr (T)、Val (V) 或 Ile (I)。

[13]如[1]至[12]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 及/或第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位變異為 Phe (F) 或 Tyr (Y)。

[14]如[1]至[13]之任一項中所述之製造方法，其中在第 1 多胜肽中，使 EU 編號第 356 位變異為 Lys (K)，且使 EU 編號第 397 位變異為 Phe (F) 或 Tyr (Y)，在第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位變異為 Phe (F) 或 Tyr (Y) 且使 EU 編號第 439 位變異為 Glu (E)。

[15]如[1]至[14]之任一項中所述之製造方法，其中前述步驟 a) 及 b) 係以混合生產第 1 多胜肽的同聚多肽之細胞株與生產第 2 多胜肽的同聚多肽之細胞株而實施，前述步驟 c) 係在該培

養上清液中實施。

[16]如[1]至[15]之任一項中所述之製造方法，其中前述異種多聚體係多特異性抗體或異型 Fc 融合蛋白。

[17]如[1]至[16]之任一項中所述之製造方法，其中前述異種多聚體係雙特異性抗體。

[18]如[1]至[17]之任一項中所述之製造方法，其中[1]或[11]項中之步驟 c) 包含與還原劑之接觸。

[19]如[18]項中所述之製造方法，其中階段 c) 包含添加選自：麩胱甘肽、L-半胱胺酸、二硫蘇醣醇、 β -硫醇二醇、TCEP 及 2-MEA 所組成之群的作用物。

[20]如[19]項中所述之製造方法，其中階段 c) 包含添加選自：麩胱甘肽、2-MEA 的作用物。

[21]一種異種多聚體，其係以如[1]至[20]之任一項所述之方法製造。

[22]如[21]項中所述之異種多聚體，其係雙特異性抗體。

[23]一種組成物其中包含如[21]或[22]項中所述之異種多聚體及其醫藥上容許之載體。

[24]一種異種多聚體，其係包含具有第 1 抗原結合活性且含第 1 之 Fc 區域的第 1 多胜肽、及具有與第 1 抗原結合活性不同之第 2 抗原結合活性且含第 2 之 Fc 區域的第 2 多胜肽的異種多聚體；

將該第 1 多胜肽的同聚多肽及該第 2 多胜肽的同聚多肽，在可使樞紐區域內之半胱胺酸發生雙硫鍵異構化的還原條件下，共同溫育，獲得該異種多聚體，

在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所含之 CH3 區域中，具有與選自：

- (1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、
 - (2) EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基、
 - (3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基
- 所示之胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組的胺基酸殘基同類之電荷；

在前述第 1 多胜肽的 CH3 區域及前述第 2 多胜肽的 CH3 區域雙方中，在前述 (1) 至 (3) 所示之胺基酸殘基的組中，同組之胺基酸殘基各自具有同類之電荷的情形，前述第 2 多胜肽的 CH3 區域中該組的胺基酸殘基，具有與前述第 1 多胜肽的 CH3 區域中該組的胺基酸殘基相反之電荷，

在前述第 1 及/或第 2 多胜肽中，使胺基酸變異以使前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 CH3 區域之安定性為不安定。

[25]一種異種多聚體，其係由包含下列階段之方法所製造：

- a) 提供具有第 1 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 1 多胜肽的同聚多肽之階段，
- b) 提供具有與該第 1 抗原結合活性相異的第 2 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，
- c) 在可使樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵異構化之還原條件下，共同溫育該第 1 多胜肽之同聚多肽及該第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，以及
- d) 獲得含第 1 及第 2 多胜肽的異種多聚體之階段，

在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所含之 CH3 區域中，

具有與選自：

(1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、

(2) EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基、

(3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基

所示的胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組的胺基酸殘基同類之電荷；

在前述第 1 多胜肽的 CH3 區域及前述第 2 多胜肽的 CH3 區域雙方中，在前述 (1) 至 (3) 所示之胺基酸殘基的組中同組之胺基酸殘基各具有同類之電荷時，前述第 2 多胜肽的 CH3 區域中的該組胺基酸殘基，具有與前述第 1 多胜肽的 CH3 區域中該組胺基酸殘基相反之電荷，

在前述第 1 及/或第 2 多胜肽中，使胺基酸變異以使前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 CH3 區域之安定性為不安定。

發明之效果

【0010】 本發明係提供經由取代存在於重鏈 CH3 區域的特定胺基酸，在還原狀況下可促進 Fc 區域的解離及控制締合，與先前技術比較，可效率良好的形成所欲的異質分子之製造方法。

經由利用本發明之方法，與先前技術比較，可提高在雙特異性抗體精製時的簡便性及盡可能地減低批間的不均一性。

本發明之異種多聚體之製造方法，其特徵為使重鏈 CH3 區域的胺基酸殘基變異。經由在該區域導入本發明之胺基酸殘基的變異，可促進多胜肽間的解離及締合，與先前技術比較，可效率良好地形成所欲之異種多聚體。

【圖式簡單說明】**【0011】**

[第 1 圖]為顯示以離子交換層析法分析 Fab Arm Exchange 反應產物的結果之圖。圖中所示「BiAb」係精製的 Bispecific 抗體（雙特異性抗體），「H54 homo」係含 H54/L28 之可變區域的單株抗體，「MRA homo」係含 MRAH/MRAL 之可變區域的單株抗體。圖中以百分比表示的數值係表示雙特異性抗體之生成率，係將對應雙特異性抗體之波峰面積，除以系統中存在之總抗體的面積，再乘以 100 所計算者。

[第 2 圖]為顯示以離子交換層析法解析 Fab Arm Exchange 反應產物的結果之圖。其係將 MRAH-G1drP1/MRAL-k0 及 H54-G1drN1/L28-k0 作為同聚多肽使用，顯示在 3 種還原條件下反應的結果之圖。圖中以百分比表示的數值係表示雙特異性抗體之生成率，係將對應雙特異性抗體之波峰面積，除以系統中存在之總抗體的面積，再乘以 100 所計算者。

[第 3 圖]係顯示在將 5mM GSH 作為還原劑使用時，Fab Arm Exchange 中雙特異性抗體之生成率、及所使用的同聚多肽的 CH3 安定性之關係。圖中的「二種同聚多肽中 CH3 之 T_m 高者之值」，係指反應中所使用的二種同聚多肽中，CH3 之 T_m 高，亦即 CH3 較安定的同聚多肽之 CH3 的 T_m。

[第 4 圖]係顯示人類 IgG1 之 V397 周邊的立體結構（PDB code 3DO3）之圖。

[第 5 圖]係顯示在使用 25mM 之 2MEA 作為還原劑時，Fab Arm Exchange 中雙特異性抗體之生成率、及所使用的同聚多肽

的 CH3 安定性之關係。圖中的「二種同聚多肽中 CH3 之 T_m 高者之值」，係指反應中所使用的二種同聚多肽中，CH3 之 T_m 高，亦即 CH3 較安定的同聚多肽之 CH3 的 T_m。

[第 6 圖]係顯示以離子交換層析法解析 Fab Arm Exchange 反應產物的結果之圖。其係顯示使用 MRAH-G1dP17/MRAL-k0 及 H54-G1dN17/L28-k0 作為同聚多肽，在不同的反應時間反應的結果之圖。圖中以百分比表示的數值係表示雙特異性抗體之生成率，係將對應雙特異性抗體之波峰面積，除以系統中存在之總抗體的面積，再乘以 100 所計算者。

[第 7 圖]係顯示以離子交換層析法解析 Fab Arm Exchange 反應產物的結果之圖。其係使用 MRAH-G1mrP1/MRAL-k0 及 H54-G1mrN1/L28-k0 作為同聚多肽，在細胞培養上清液中反應的結果之圖。圖中以百分比表示的數值係表示雙特異性抗體之生成率，係將對應雙特異性抗體之波峰面積，除以系統中存在之總抗體的面積，再乘以 100 所計算者。

[第 8 圖]係顯示小鼠 IgG1 之 CH3 定域的相互作用之界面周邊的立體結構（PDB code 1IGY）之圖。

[第 9 圖]係顯示以 CE-IEF 解析小鼠 IgG 型 Fab Arm Exchange 反應產物的結果之圖。圖中以百分比表示的數值係表示雙特異性抗體之生成率，係將對應雙特異性抗體之波峰面積，除以系統中存在之總抗體的面積，再乘以 100 所計算者。

[第 10 圖]係比較抗人類磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3（glypican-3）/抗人類 CD3 雙特異性抗體的細胞毒性之圖。第 10-1 圖係使用人類 IgG 型 Fab Arm Exchange，第 10-2 圖係使

用小鼠 IgG 型 Fab Arm Exchange，所製作之雙特異性抗體與以 CrossMab 技術製作的雙特異性抗體做比較。

[第 11 圖]係顯示以人類 IgG 型 Fab Arm Exchange 所製作之抗人類磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3 (glypican-3) /抗人類 CD3 雙特異性抗體及以 Knobs-into-Holes 技術所製作的雙特異性抗體，在正常小鼠中的血中濃度之變動之圖。

[第 12 圖]係顯示以小鼠 IgG 型 Fab Arm Exchange 所製作之抗人類 IL-6 受體抗體及具有天然型小鼠 IgG1 序列的抗人類 IL-6 受體抗體之血中濃度的變動之圖。

【實施方式】

發明之實施形態

【0012】 本發明係關於在還原條件下，爲了促進具有第 1 抗原結合活性的多胜肽及具有與該第 1 抗原結合活性不同之第 2 抗原結合活性的多胜肽之各同聚多肽解離、控制異型體締合，透過使重鏈 CH3 區域的胺基酸殘基變異，製造所欲的異種多聚體之方法。再者，本發明亦關於選擇所欲之異種多聚體的方法。

【0013】 用辭的定義

本發明中之「多胜肽」，係指在胺基酸序列中含重鏈 Fc 區域之多胜肽（含 Fc 區域的多胜肽）及蛋白質（含 Fc 區域的蛋白質）。又通常爲來自於生物的多胜肽，但並無特別限定，亦可爲例如由人工設計的序列所構成的多胜肽。亦可爲天然的多胜肽、或合成的多胜肽、重組的多胜肽等。再者，上述多胜肽的片段亦包含於本發明之多胜肽。

【0014】 本發明中，「抗體」係指為天然的或部分或完全的合成所製造的免疫球蛋白。抗體可由其天然存在的血漿及血清等天然資源及產生抗體的融合瘤細胞之培養上清液分離獲得，或以基因重組等技法部分或完全合成而獲得。抗體之例可舉如免疫球蛋白之同型及其同型的亞型。人類之免疫球蛋白，已知有：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgM 的 9 種類別 (class) (isotype)。小鼠之免疫球蛋白，已知有：IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3 的 4 種類別。本發明之抗體中，此類同型中人類之免疫球蛋白可包含：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，小鼠之免疫球蛋白可包含：IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3。而以小鼠之免疫球蛋白以 IgG1 較佳。人類 IgG1、人類 IgG2、人類 IgG3、人類 IgG4 之恒定區域，雖然因基因多型而有的複數種同種異型 (allotype) 序列已記載於 Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication, No. 91-3242 中，但本發明中可為其任意者。特別是人類 IgG1 序列，EU 編號所示第 356 至 358 位的胺基酸序列可為 DEL 亦可為 EEM。又，人類 Igκ (Kappa) 恒定區域及人類 Igλ (Lambda) 恒定區域，雖然因基因多型而有的複數種同種異型 (allotype) 序列已記載於 Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication, No. 91-3242 中，但本發明中可為其任意者。

【0015】 「Fc 區域」的用辭，包含天然序列 Fc 區域及變異型 Fc 區域，係使用於定義免疫球蛋白重鏈之 C 末端區域。即使尚不知免疫球蛋白重鏈之 Fc 區域的界面是否變異，但係指抗體分子中樞紐區域或其部分由 CH2、CH3 定域 (domain) 所構

成的區域。通常，係定義為人類 IgG 重鏈 Fc 區域由位在 Cys226 位置的胺基酸殘基推展至 Fc 區域之羧基末端為止，但並不限定於此。免疫球蛋白之 Fc 區域，包含 2 個恒定區域 CH2 及 CH3。人類 IgG Fc 區域之「CH2」定域通常由胺基酸 231 推展至胺基酸 340 為止。「CH3」定域，係由 Fc 區域中之羧基末端推展至 CH2 定域為止。亦即，由 IgG 的胺基酸 341 推展至約胺基酸 447 為止。

【0016】 Fc 區域，可使用 IgG 單株抗體等經過胃蛋白酶（pepsin）等蛋白質分解酶部分分解之後，再經由蛋白質 A（protein A）或鏈球菌 G 蛋白（protein G）管柱吸附的分畫（fraction）再溶出而可獲得。該蛋白質分解酶只要可經由適當地設定 pH 等酵素的反應條件而限制性分解全長抗體產生 Fab 及 F(ab')₂ 者即可，並無特別之限定，可例舉如胃蛋白酶及木瓜蛋白酶等。

【0017】 變異處之編號，係採用 EU 編號（Kabat E. A. et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH）。

【0018】 本發明中多胜肽的「締合（association）」，換言之係指如 2 個以上的多胜肽區域相互作用之狀態。

【0019】 本發明中之「控制締合」，係指控制在所欲之締合狀態，更具體言之，即指控制多胜肽間不易形成不欲之締合（較好為具有相同胺基酸序列的多胜肽彼此的締合）。

【0020】 本發明中之「界面（interface）」，通常係指締合（相互作用）時之締合面，形成界面的胺基酸殘基通常係指包含在提供該締合的多胜肽區域之 1 個或多個胺基酸殘基，較佳為在

締合時接近而相互作用所相關之胺基酸殘基。該相互作用具體地包含締合時接近的胺基酸殘基彼此形成的氫鍵、靜電相互作用、鹽橋之情形等。

【0021】 本發明中多胜肽之「同聚多肽」，係指具有相同胺基酸序列的多胜肽彼此締合的狀態。

【0022】 本發明中多胜肽之「異型體」，係指第 1 多胜肽與在胺基酸序列中與第 1 多胜肽至少 1 個胺基酸殘基不同的第 2 多胜肽締合之狀態。

【0023】 本發明中多胜肽之「解離」，係指在多胜肽同聚多肽中，由 2 個以上的多胜肽締合之狀態，分離為各多胜肽單體的狀態。

【0024】 本發明中之「異種多聚體 (heteromultimer)」，係指由複數種多胜肽所構成，且該多胜肽可互相締合的蛋白質之多聚體。更詳細言之，「異種多聚體」係具有至少第 1 多胜肽及第 2 多胜肽，在此第 2 多胜肽係胺基酸序列中與第 1 多胜肽至少 1 個胺基酸殘基不同的分子。又雖無特別限定，該異種多聚體以具有對至少 2 種不同的配體、抗原、受體、或基質等具有抗原結合活性者為佳。該異種多聚體，除由第 1 及第 2 多胜肽所形成之「異種 2 聚體」之外，亦可再存在別種的多胜肽。亦即，本發明之「異種多聚體」，不限為異種 2 聚體，亦包含如異種 3 聚體、異種 4 聚體等。

【0025】 本發明之包含第 1 多胜肽、第 2 多胜肽、及 1 個或 2 個第 3 多胜肽的多胜肽多聚體中，第 1 多胜肽及第 2 多胜肽可各自與第 3 多胜肽形成多聚體 (2 聚體)。又形成的 2 聚體

彼此可形成多聚體（4聚體）。2個第3多胜肽可具有完全相同的胺基酸序列（亦可對相同抗原具有結合活性）。或者亦可為相同胺基酸序列，同時具有2種以上的活性（例如，亦可對2種以上不同抗原具有結合活性）。又，在第3多胜肽為1個之情形，第3多胜肽可與第1多胜肽或第2多胜肽任一方形成2聚體，而形成多胜肽多聚體。

【0026】 本發明的多胜肽多聚體中，以第1多胜肽與第2多胜肽對不同抗原具有結合活性者為佳。另一方面，第3多胜肽亦可為具有與第1多胜肽及第2多胜肽任一方或雙方對相同的抗原具有結合活性的多胜肽。或者，亦可為具有與第1多胜肽及第2多胜肽對不同的抗原具有結合活性之多胜肽。

【0027】 或者，本發明的多胜肽多聚體亦可為包含第1多胜肽、第2多胜肽、第3多胜肽、及第4多胜肽之多胜肽多聚體。如此的多胜肽多聚體中，第1多胜肽及第2多胜肽各自可與第3多胜肽及第4多胜肽形成多聚體（2聚體）。例如，第1多胜肽與第3多胜肽、第2多胜肽與第4多胜肽之間，可經由形成雙硫鍵，而形成2聚體。

本發明的多胜肽多聚體中，以第1多胜肽及第2多胜肽對不同抗原具有結合活性者為佳。另一方面，第3多胜肽亦可為對與第1多胜肽及第2多胜肽之任一方或雙方相同的抗原具有結合活性的多胜肽。或者，亦可為與第1多胜肽及第2多胜肽對不同抗原具有結合活性的多胜肽。又第4多胜肽亦可為對與第1多胜肽及第2多胜肽之任一方相同的抗原具有結合活性的多胜肽。或者，亦可為與第1多胜肽及第2多胜肽對不同抗原

具有結合活性的多胜肽。

【0028】 本發明中之「異種多聚體」為雙特異性抗體時，例如在第 1 多胜肽及第 2 多胜肽各自為含有對抗原 A 之抗體重鏈胺基酸序列的多胜肽、含有對抗原 B 之抗體重鏈胺基酸序列的多胜肽之情形，第 3 多胜肽可為含有對抗原 A 之抗體輕鏈胺基酸序列的多胜肽，第 4 多胜肽可為含有對抗原 B 之抗體輕鏈胺基酸序列的多胜肽，

【0029】 本發明中「具有抗原結合活性的多胜肽」，係指對抗體重鏈或輕鏈之可變區域、受體、受體與 Fc 區域之融合胜肽、支架(Scaffold)及此等之片段等、抗原、配體等蛋白質及胜肽具有可結合定域（區域）之具有 5 個胺基酸以上長度的胜肽及蛋白質。亦即，具有抗原結合活性的多胜肽，可包含抗體可變區域、受體、受體與 Fc 區域之融合胜肽、支架(Scaffold)或此等之片段的胺基酸序列。

作為支架(Scaffold)，只要是可與至少 1 種抗原結合的立體結構安定之多胜肽，任何多胜肽皆可使用。該類多胜肽，可例舉如：抗體可變區域片段、纖維結合蛋白(Fibronectin)、蛋白質 A 定域(Protein A domain)、LDL 受體 A 定域、運載蛋白(lipocalin)等，及 Nygren 人等 (Current Opinion in Structural Biology, 7: 463-469 (1997)、Journal of Immunol. Methods, 209: 3-28 (2004))、Binz 人等 (Nature Biotech., 23: 1257-1266 (2005))、Hosse 人等 (Protein Science, 15: 14-27 (2006)) 中所載之分子，但並不限定於此。

抗體可變區域、受體、受體與 Fc 區域之融合胜肽、支架

(Scaffold)及此等之片段的取得方法為本技術領域者所周知。也可使用包含區域之胺基酸序列及抗體輕鏈恒定區域之胺基酸序列的多胜肽。

【0030】 本發明中之「還原條件」，係指在重鏈樞紐區域內形成重鏈間雙硫鍵之半胱胺酸殘基，經氧化而還原的狀態的可能性高的條件或環境，較佳指可能在重鏈間的樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵的異構化之條件或環境，特別宜指在樞紐區域外的半胱胺酸不發生雙硫鍵的特異性異構化（亦即，保持重鏈與輕鏈間的雙硫鍵），但可能在重鏈樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵異構化之條件或環境。例如，本發明中，還原條件下，使含有Fc區域的第一多胜肽之同聚多肽與含有Fc區域的第二多胜肽共同溫育的時間，可由本技術領域之人士適當設定。

【0031】 本發明中「還原劑」，係指可在其環境中使分子還原的化合物，亦即，指在其環境中使分子更還原的狀態，以及正改變為更還原狀態之化合物。還原劑經由提供電子而作用，藉此，在還原基質後，其本身成為氧化狀態。因此，還原劑係提供電子之作用物。還原劑之例，可包含：二硫蘇醣醇（DTT）、硫醇二醇、半胱胺酸、硫代乙醇酸、半胱胺（2-硫氫乙胺：2-MEA）、麩胱甘肽（GSH）、TCEP（三(2-羧乙基)膦）及氫硼化鈉。

【0032】 本發明中「重鏈間雙硫鍵之異構化」，係指不同重鏈中所含之半胱胺酸間的雙硫鍵的交換，亦即雙硫鍵之重組。

【0033】 「形成雙硫鍵」係指存在於1個或2個多胜肽中

之 2 個半胱胺酸之間形成共價鍵的過程，該鍵可以圖表示為「-S-S-」。

【0034】 「雙硫鍵之還原」係指經由切斷雙硫鍵，產生 2 個硫氫基（-SH 基）的過程。

【0035】 本發明中「FcγR」或「FcγR」係指 Fcγ 受體，即指可結合於 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 單株抗體的 Fc 區域之受體，亦指實質上 Fcγ 受體基因譯碼(code)的蛋白質家族(family)的任意成員(member)。在人類中，該家族(family)可例舉如：含同型(isoform) FcγRIa、FcγRIb 及 FcγRIc 之 FcγRI(CD64)；含同型體 FcγR II a(含同種異型(allotype)H131(H 型) 及 R131(R 型))、FcγR II b(含 FcγR II b-1 及 FcγR II b-2) 及 FcγR II c 之 FcγR II (CD32)；及含同型 FcγR III a(含同種異型(allotype)V158 及 F158) 及 FcγR III b(含同種異型(allotype)FcγR III b-NA1 及 FcγR III b-NA2) 之 FcγR III (CD16)；及任何尚未發現之人類 FcγR 類或 FcγR 同型(isotype)或同種異型(allotype)。FcγR 包含來自人、小鼠、大鼠、兔子及猴子者，但不限定於此，來自於任何生物均可。小鼠 FcγR 類也包含如 FcγRI(CD64)、FcγR II (CD32)、FcγR III (CD16) 及 FcγR III-2 (CD16-2)、FcγRIV 及任何尚未發現之小鼠 FcγR 類或 FcγR 同型或同種異型(allotype)。

【0036】 經由利用胺基酸殘基之電荷相斥的變異之製造異種多聚體的製造方法

上述方法之較佳態樣中，本發明，係對可形成 2 種以上多聚體的異種多聚體，為了促進第 1 及第 2 多胜肽的同聚多肽的

解離，控制形成 1 種以上多聚體的多胜肽之間的締合，使形成多胜肽間界面的胺基酸殘基變異，製造所欲之多胜肽的異型體之方法。

【0037】 又，本發明之具有第 1 抗原結合活性的多胜肽及具有第 2 抗原結合活性的多胜肽，可包含抗體重鏈恒定區域之胺基酸序列或抗體 Fc 區域的胺基酸序列。抗體 Fc 區域或抗體重鏈恒定區域之胺基酸序列，例如人類 IgG 型恒定區域或 Fc 區域的胺基酸序列，但並不限定於此。IgG 型恒定區域或 Fc 區域，可為天然型 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 之同型任一者。或者也可以是此等的變異體。Fc 區域 EU 編號第 447 位的離胺酸及 EU 編號第 446 位的甘胺酸，也可藉由將譯碼此等的核酸進行基因重組操作而去除。

又，本發明之具有第 3 抗原結合活性的多胜肽及具有第 4 抗原結合活性的多胜肽，可包含抗體輕鏈恒定區域之胺基酸序列。抗體輕鏈恒定區域之胺基酸序列，可例如人類 kappa、人類 lambda 型恒定區域之胺基酸序列，但並不限定於此。或者也可以是此等的變異體。

又，本發明之具有抗原結合活性的多胜肽可包含抗體可變區域之胺基酸序列（例如：CDR1、CDR2、CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4 之胺基酸序列）。

【0038】 又，本發明之控制多胜肽間的解離及/或締合的方法之較佳態樣，例如如在重鏈恒定區域之界面導入電荷相斥以抑制重鏈彼此締合的方法。在重鏈恒定區域之界面所接觸的胺基酸殘基，可例如對應 CH3 區域的第 356 位與第 439 位、第

357 位與第 370 位、第 399 位與第 409 位的區域。在重鏈恒定區域以 EU 編號表示。

【0039】 如後述之實施例所示，在使此等胺基酸殘基變異時，可經由實施本發明之方法，控制多胜肽間的重鏈解離及/或締合，優先獲得所欲的異種多聚體。亦即，較佳實施態樣中，本發明提供：含 2 種以上重鏈 Fc 區域的抗體及含 Fc 區域的蛋白質（例如：IgG 型抗體、minibody(Alt M. et al., FEBS Letters, 1999; 454: 90-94)、免疫黏著蛋白（非專利文獻 2）等），且在第 1 重鏈 Fc 區域中選自下列（1）至（3）所示的胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組之胺基酸殘基具有同類電荷的多胜肽。

（1）EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基

（2）EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基

（3）EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基

【0040】 再者，本發明亦提供，選自與上述第 1 重鏈 Fc 區域不同的第 2 重鏈 Fc 區域之前述（1）至（3）所示的胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組之胺基酸殘基，且與選自前述第 1 重鏈 Fc 區域中前述（1）至（3）所示的胺基酸殘基之組中具有同類之電荷的組之相同位置的胺基酸殘基，為具有與前述第 1 重鏈 Fc 區域中的胺基酸殘基相反電荷的多胜肽。

【0041】 上述多胜肽中，「具有電荷之胺基酸殘基」，以如選自以下（a）或（b）任一群中所含的胺基酸殘基為佳。

（a）麩胺酸（E）、天冬胺酸（D）；

（b）離胺酸（K）、精胺酸（R）、組胺酸（H）。

【0042】 上述多胜肽中，「具有同類電荷」，意指如 2 個以

上之胺基酸殘基任一者具有上述 (a) 或 (b) 之任一群所含的胺基酸殘基。「具有相反電荷」，意指如在 2 個以上胺基酸殘基中之至少 1 個胺基酸殘基具有上述 (a) 或 (b) 之任一群中所含的胺基酸殘基的情形，其餘之胺基酸殘基具有不同群所含的胺基酸殘基。

較佳之實施態樣中，上述多胜肽，第 1 重鏈 CH3 區域與第 2 重鏈 CH3 區域亦可經由雙硫鍵交聯。

【0043】 本發明中之「締合界面控制變異」，例如以下的變異：

(1) 第 1 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 356 位之 Asp (D)，變異為 Lys (K)、Arg (R) 或 His (H)，及第 2 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 439 位之 Lys (K)，變異為 Glu (E) 或 Asp (D)；

(2) 第 1 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 357 位之 Glu (E)，變異為 Lys (K)、Arg (R) 或 His (H)，及第 2 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 370 位之 Lys (K)，變異為 Glu (E) 或 Asp (D)；

(3) 第 1 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 399 位之 Asp (D)，變異為 Lys (K)、Arg (R) 或 His (H)，及第 2 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 409 位之 Lys (K)，變異為 Glu (E) 或 Asp (D)。

【0044】 本發明非限定之一實施態樣，為關於小鼠異種多聚體的製造方法之控制多胜肽間之解離及/或締合的方法之較佳態樣，該方法例如在重鏈恒定區域之界面導入電荷的相斥而控制重鏈彼此締合的方法。該方法中，作為在重鏈恒定區域之界面接觸的胺基酸殘基，可舉如相對於 CH3 區域中第 356 位與第 439 位、第 360 位與第 371 位、第 399 位與第 409 位的區

域。在重鏈恒定區域係以 EU 編號表示。

【0045】 如後述實施例所示，經由使此等來自於小鼠的 CH3 區域中之胺基酸殘基變異，經由實施本發明之方法，可控制多胜肽間重鏈之解離及/或締合，優先獲得所欲的異種多聚體。亦即，在較佳之實施態樣中，本發明提供含 2 種以上重鏈 Fc 區域的抗體及含 Fc 區域的蛋白質(例如：IgG 型抗體、minibody (Alt M. et al., FEBS Letters, 1999; 454: 90-94)、免疫黏著蛋白(非專利文獻 2)等)，且在第 1 重鏈 Fc 區域中選自下列(1)至(3)所示的胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組之胺基酸殘基具有同類電荷的多胜肽。

(1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基

(2) EU 編號第 360 位及第 371 位的胺基酸殘基

(3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基

【0046】 再者，本發明提供，在與上述第 1 重鏈 Fc 區域不同的第 2 重鏈 Fc 區域中選自前述(1)至(3)所示的胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組之胺基酸殘基，且在前述第 1 重鏈 Fc 區域中在與前述(1)至(3)所示的胺基酸殘基之組中具有同類電荷的組之相同位置的胺基酸殘基，為具有與前述第 1 重鏈 Fc 區域中的胺基酸殘基相反電荷的多胜肽。

【0047】 上述多胜肽中，「具有電荷之胺基酸殘基」，例如選自以下(a)或(b)任一之群中所含的胺基酸殘基為佳。

(a) 麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)；

(b) 離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

【0048】 上述多胜肽中，「具有同類電荷」，意指如 2 個以

上胺基酸殘基任一者具有上述 (a) 或 (b) 之任一群中所含的胺基酸殘基。「具有相反電荷」，意指如在 2 個以上的胺基酸殘基中之至少 1 個胺基酸殘基具有上述 (a) 或 (b) 之任一群所含的胺基酸殘基時，其餘之胺基酸殘基具有不同群所含的胺基酸殘基。

較佳之實施態樣中，上述多胜肽，第 1 重鏈 CH3 區域與第 2 重鏈 CH3 區域亦可經由雙硫鍵交聯。

【0049】 本發明中之「締合界面控制變異」，可舉如以下的變異：

(1) 第 1 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 356 位之 Asp (D)，變異為 Lys (K)、Arg (R) 或 His (H)，及第 2 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 439 位之 Lys (K)，變異為 Glu (E) 或 Asp (D)；

(2) 第 1 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 360 位之 Glu (E)，變異為 Lys (K)、Arg (R) 或 His (H)，及第 2 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 371 位之 Lys (K)，變異為 Glu (E) 或 Asp (D)；

(3) 第 1 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 399 位之 Asp (D)，變異為 Lys (K)、Arg (R) 或 His (H)，及第 2 重鏈 Fc 區域中 EU 編號第 409 位之 Lys (K)，變異為 Glu (E) 或 Asp (D)。

【0050】 本發明中提供「變異」的胺基酸殘基，並不限於多胜肽恒定區域之胺基酸殘基。本領域技術者，對於多胜肽變異體或異種多聚體，可經由使用市售的軟體之同源模擬等，尋得形成界面的胺基酸殘基，提供該部位的胺基酸殘基變異以控制締合。

【0051】 本發明之方法中胺基酸殘基的「變異」，具體地，

係指將原先之胺基酸殘基取代為其他之胺基酸殘基、使原先之胺基酸殘基缺失、加入新胺基酸殘基等，較佳指將原先之胺基酸殘基取代為其他之胺基酸殘基。

【0052】 經由使第 397 位及/或第 392 位變異的製造異種多聚體之製造方法

本發明之控制多胜肽間解離及/或締合的方法之較佳態樣，該方法係以在重鏈 Fc 區域導入胺基酸殘基變異以使重鏈 CH3 區域的安定性變得不安定之方法。該方法，亦可再包含任意地導入利用上述電荷相斥等控制界面相關的胺基酸變異之步驟。

【0053】 本發明中「CH3 區域之安定性不安定」，係指在 Fc 區域的胺基酸殘基增加至少 1 以上的變異之多胜肽的同聚多肽，與未變異的多胜肽之同聚多肽相比，變得容易分離為各多胜肽單體的狀態。

【0054】 本發明中「CH3 區域之安定性不安定」，宜為在 CH3 區域的胺基酸殘基導入變異而使 pH7.4 的重鏈 CH3 區域之熱變性半解離溫度（ T_m ）為 72.5℃ 以下、72.0℃ 以下、71.5℃ 以下、71.0℃ 以下、70.5℃ 以下之狀態，較佳為在 CH3 區域的胺基酸殘基導入變異而使 pH7.4 的重鏈 CH3 區域之熱變性半解離溫度（ T_m ）為 70.4℃ 以下、70.3℃ 以下、70.2℃ 以下、70.1℃ 以下、70.0℃ 以下、69.9℃ 以下、69.8℃ 以下、69.7℃ 以下、69.6℃ 以下、69.5℃ 以下、69.0℃ 以下、68.5℃ 以下、68.0℃ 以下、67.5℃ 以下之狀態。

【0055】 例如重鏈 CH3 區域的 T_m ，可以本說明書參考例 3

中所載的方法測定，測定中所使用的緩衝液等可適當地選擇。

【0056】 本發明之控制多胜肽間的解離及/或締合的方法之較佳態樣，該方法，係以在重鏈 CH3 區域 EU 編號第 397 位及/或第 392 位導入胺基酸殘基的變異為特徵之方法。該方法，亦可包含任意地，再導入利用上述電荷相斥等控制界面相關的胺基酸變異之步驟。

【0057】 本發明之非限定之一態樣為，在控制來自於小鼠的多胜肽間的解離及/或締合的方法中，可導入重鏈 CH3 區域 EU 編號第 397 位及/或第 392 位之變異。該方法亦可再包含任意地導入利用上述電荷相斥等控制界面相關的胺基酸變異之步驟。

【0058】 在第 397 位導入變異的胺基酸殘基，以變異為側鏈體積大之胺基酸或側鏈分支型的胺基酸為佳。

【0059】 在第 392 胺基酸導入變異的胺基酸殘基，以變異為具有負電荷之胺基酸，且為側鏈體積大之胺基酸或側鏈分支型之胺基酸為佳。

【0060】 本發明中「側鏈體積大之胺基酸」，例如：Met (M)、Phe (F)、Tyr (Y)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Trp (W)、Arg (R)、His (H)、Glu (E)、Lys (K)、Gln (Q)、Asp (D)、Asn (N)、Cys (C)、Thr (T) 等，宜為 Met (M)、Phe (F)、Thr (T) 及 Tyr (Y) 等。

【0061】 本發明中「側鏈分支型之胺基酸」，可例舉如：Val (V)、Ile (I)、Leu (L)，宜為 Val (V) 及 Ile (I)。

【0062】 本發明中「具有負電荷之胺基酸」，可例舉如：Asp

(D) 及 Glu (E)。

【0063】 本發明中「異種多聚體」，可舉多特異性抗體及異種融合蛋白質等。

【0064】 本發明之非限定一態樣，為提供增強對 $\text{Fc}\gamma\text{R}$ 之結合的異種多聚體之胺基酸變異。較佳之胺基酸變異部位，可舉如 EU 編號第 397 位的胺基酸的變異，但並不限定於此。在第 397 位導入變異的胺基酸殘基宜為變異為側鏈體積大之胺基酸或側鏈分支型之胺基酸者。

【0065】 本發明中，更佳之多特異性抗體，例如：IgG 型、scFv-IgG、Tandem scFv-Fc、DVD-Ig、微型雙功能抗體 (Diabody)-Fc、單鏈微型雙功能抗體 (Single chain Diabody)-Fc、IgG-scFv、sVD-IgG、Tandemab、scFv 輕鏈 C-端融合、三特異性 C-端融合、三特異性 N-端融合、IgG-Fab 等 (Bispecific Antibodies: Roland E. Kontermann, 2011: WO/2010/034441; WO/2010/145792)。

【0066】 本發明中，「抗體」的用語係以最廣義的意思來使用，只要可顯示所欲的生物學上之活性，包含單株抗體、多株抗體、抗體變異體 (嵌合抗體、人型化抗體、小分子化抗體 (含抗體片段)、多特異性抗體等)。而且，本發明中之「抗體」也可為多胜肽或異種多聚體任一者。較佳的抗體為單株抗體、嵌合抗體、人型化抗體、及抗體片段等的小分子化抗體。本發明中，在此等抗體獲得 (製備) 之時，可適宜使用本發明之解離及/或締合的方法。

【0067】 提供本發明方法之較佳多胜肽或異種多聚體可舉

如具有抗體重鏈可變區域及輕鏈可變區域的多胜肽或異種多聚體。又較佳爲，本發明之較佳態樣可舉例如在本發明之多胜肽或異種多聚體包含 2 種以上之重鏈可變區域及 2 種以上之輕鏈可變區域時，控制該多胜肽或異種多聚體的解離及/或締合的方法。

【0068】 本發明具有抗原結合活性之多胜肽可包含抗體重鏈之胺基酸序列或輕鏈之胺基酸序列。更具體言之，具有第 1 抗原結合活性的多胜肽及具有第 2 抗原結合活性的多胜肽，可含抗體重鏈之胺基酸序列，具有第 3 抗原結合活性的多胜肽及具有第 4 抗原結合活性的多胜肽，可含抗體輕鏈之胺基酸序列。

又，在目的之多胜肽多聚體，第 1 多胜肽與第 3 多胜肽形成二聚體，第 2 多胜肽與第 4 多胜肽形成二聚體，而且此等二聚體彼此形成多具體之四聚體的情形時，本發明之多胜肽多聚體，可使用例如具有第 1 及第 2 抗原結合活性的多胜肽爲含抗體重鏈胺基酸序列之多胜肽，具有第 3 及第 4 抗原結合活性的多胜肽爲含抗體輕鏈胺基酸序列之多胜肽的多胜肽多聚體。

【0069】 本發明中，較佳例如多特異性抗體爲雙特異性抗體。

【0070】 亦即，本發明之較佳態樣中，本發明關於如對於由 2 種重鏈（本發明中多胜肽多聚體的第 1 多胜肽及第 2 多胜肽）、及 2 種輕鏈（本發明中多胜肽多聚體的第 3 多胜肽及第 4 多胜肽）所構成之雙特異性抗體，控制解離及/或締合之方法。

【0071】 本發明之較佳態樣之「雙特異性抗體」再更詳細言之，即上述「第 1 多胜肽及第 2 多胜肽」係指形成抗體的 2

個重鏈（H 鏈）中一方的 H 鏈（第 1 之 H 鏈）、及與該 H 鏈不同的另一方的 H 鏈（第 2 之 H 鏈）。亦即，可以 2 個 H 鏈中的任意一方為第 1 之 H 鏈，另一方為第 2 之 H 鏈。相同地，「第 3 多胜肽及第 4 多胜肽」係指形成雙特異性抗體的 2 個輕鏈（L 鏈）中的一方的 L 鏈（第 1 之 L 鏈）、及與該 L 鏈不同的另一方的 L 鏈（第 2 之 L 鏈），可以 2 個 L 鏈中任意之一方為第 1 之 L 鏈，另一方為第 2 之 L 鏈。通常，第 1 之 L 鏈及第 1 之 H 鏈係來自於辨認一抗原（或抗原決定基）的同一抗體，第 2 之 L 鏈及第 2 之 H 鏈亦來自於辨認一抗原（或抗原決定基）的同一抗體。此處，稱呼由第 1 之 H 鏈、L 鏈所形成的 L 鏈-H 鏈對為第 1 對（或第 1 之 HL 分子），由第 2 之 H 鏈、L 鏈所形成的 L 鏈-H 鏈對為第 2 對（或第 2 之 HL 分子）。第 1 對及第 2 對所辨識的抗原可相同，但宜為辨認不同的抗原決定基。此情形下，第 1 對及第 2 對的 H 鏈及 L 鏈具有互相不同的胺基酸序列者為佳。在第 1 對及第 2 對辨認不同的抗原決定基的情形，該第 1 對及第 2 對亦可辨認完全不同的抗原，亦可辨認同一抗原上的不同部位（不同的抗原決定基）（如在抗原為異體受體的情形，多特異性抗體可辨認構成異體受體的不同之定域，或者，在抗原為單體的情形，多特異性抗體辨認單體抗原的多個位置）。通常，此類分子為與 2 個抗原結合，惟亦可對其以上（如 3 種）之抗原具有專一性。又，亦可為一方辨認蛋白質、胜肽、基因、糖等抗原，另一方可辨認放射性物質、化學療法藥劑、來自細胞的毒素等的細胞毒性物質等。但，在考慮希望製作具有以特定之 H 鏈及 L 鏈的組合所形成的對的抗體之情形

時，亦可任意地決定該特定之 H 鏈及 L 鏈作為第 1 對及第 2 對。

【0072】 本發明中之「融合蛋白」，係指 2 個以上之相同或實質上類似的蛋白質分子經由 Ig 樞紐區域之胺基酸序列的連接序列（linker）接合的蛋白質。在說明含有超過 1 種的蛋白質之融合蛋白的情形時，使用「異質」的字頭。例如「異質融合蛋白」，係含有與 1 個以上其餘的蛋白質不同的 1 個以上的蛋白質同時接合的 2 個以上的蛋白質。

【0073】 本發明中之「抗體」，包含經由取代、缺失、加入及/或插入、或者嵌合化、人型化等，使上述抗體的胺基酸變異者。胺基酸之取代、缺失、加入及/或插入、以及人型化、嵌合化等的胺基酸序列之變異，可以本領域技術人士公知方法進行。相同地，本發明中之抗體作為重組抗體製作之時所利用的抗體之可變區域及恒定區域，亦可經由胺基酸之取代、缺失、加入及/或插入、或者嵌合化及人型化等，使該胺基酸序列變異。

【0074】 本發明中之抗體，可為小鼠抗體、人類抗體、大鼠抗體、兔子抗體、山羊抗體、駱駝抗體等來自於任何動物的抗體。再者，如嵌合抗體，其中亦可為取代人型化抗體等的胺基酸序列的變異抗體。而且，亦可為結合各種分子之抗體修飾物、抗體片段、小分子抗體等所有抗體。

【0075】 「嵌合抗體」，係組合來自於不同動物之序列所製作的抗體。例如可舉如由小鼠抗體之重鏈、輕鏈的可變（V）區域與人類抗體之重鏈、輕鏈的恒定（C）區域所構成之抗體。

嵌合抗體之製作爲公知，舉例如將編碼抗體 V 區域之 DNA，連結在編碼人類抗體 C 區域之 DNA 上，將其組入表現載體並導入宿主而生產，獲得嵌合抗體。

【0076】 「人型化抗體」，係稱爲重構 (reshape) 人類抗體，係以來自於人類以外的哺乳動物的抗體，將如小鼠抗體之互補決定區 (CDR, complementarity determining region) 移接在人類抗體之 CDR 者。確認 CDR 的方法係公知 (Kabat et al., *Sequence of Proteins of Immunological Interest* (1987); National Institute of Health, Bethesda, Md.; Chothia et al., *Nature* (1989); 342: 877)。又，其一般之基因重組技法亦爲公知 (參考歐洲專利申請公開編號 EP 125023 號公報、WO/96/02576 號公報)。因此根據公知方法，例如確定小鼠抗體之 CDR，取得編碼該 CDR 與人類抗體架構區 (framework region: FR) 連接之抗體的 DNA，藉由使用通常的表現載體之系統，生產人型化抗體。如此之 DNA，可製作含具有 CDR 及 FR 雙方的末端區域重疊之部分的數個寡核苷酸作爲引子使用，經由 PCR 法合成 (參考 WO/98/13388 號公報中所載之方法)。經由 CDR 所連接的人類抗體之 FR，可選擇使 CDR 形成良好的抗原結合部位。視需要，也可以使抗體的可變區域的 FR 胺基酸變異以使重構人類抗體之 CDR 形成適當之抗原結合部位 (Sato et al., *Cancer Res.* (1993); 53: 851-6)。可變異之 FR 中的胺基酸殘基，包含直接、非共價鍵鍵結抗原的部分 (Amit et al., *Science* (1986); 233: 747-53)、影響或作用 CDR 構造的部分 (Chothia et al., *J. Mol. Biol.* (1987); 196: 901-17)

及 VH-VL 相互作用的相關部分（EP 239400 號專利公報）。

【0077】 在本發明中抗體為嵌合抗體或人型化抗體的情形，此類抗體之 C 區域，宜使用來自於人類抗體者。例如 H 鏈可使用 C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4，L 鏈可使用 C κ 、C λ 。而且，為了改善抗體或其生產之安定性，人類抗體 C 區域亦可視其需要加以修飾。本發明中之嵌合抗體宜由來自於人類以外的哺乳動物之可變區域、與來自於人類抗體的恒定區域所形成。另一方面，人型化抗體宜由來自於人類以外的哺乳動物之抗體的 CDR、與來自於人類抗體的 FR 及 C 區域所形成。來自於人類抗體的恒定區域，具有在 IgG（IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）、IgM、IgA、IgD 及 IgE 等之同型之固有的胺基酸序列。本發明之人型化抗體所使用之恒定區域，也可為屬於某同型的抗體的恒定區域。宜為使用人類 IgG 之恒定區域，但不限定於此。又，人型化抗體所利用之來自於人類抗體的 FR 亦無特別之限定，可為屬於某同型之抗體者。

【0078】 本發明中之嵌合抗體及人型化抗體的可變區域及恒定區域，只要可顯示原抗體的結合特異性，亦可經過缺失、取代、插入及/或加入等而被變異。

【0079】 利用來自於人類的嵌合抗體及人型化抗體，由於降低在人類體內的抗原性，推論可在以治療目的等而投予人類的情形時為有效。

【0080】 與改變等電點之技術等的組合

本發明之更佳態樣，可經由將改變多胜肽之等電點（pI 值）的胺基酸變異，導入本發明之多胜肽，而以更高純度且有效率

地精製或製造具有目標第 1 至第 4 多胜肽的多胜肽多聚體 (WO/2007/114325、US 2013 0171095)。爲了促進多胜肽締合所導入的胺基酸變異，可使用記載在 Protein Eng., 1996; Jul. 9(7): 617-21、Protein Eng. Des. Sel., 2010; Apr. 23(4), 195-202、J. Biol. Chem., 2010; Jun. 18, 285(25): 19637-46、WO/2009/080254、US 2013 0195849 中，經由重鏈恒定區域之 CH3 定域的變異而使含有 2 種重鏈恒定區域的多胜肽異締合化的方法，及記載於 WO/2009/080251、WO/2009/080252、WO/2009/080253，促進重鏈及輕鏈的特定組合的締合化之方法等。

【0081】 與標的組織特異性之抗原結合分子相關的技術之組合

本發明之非限定之實施態樣，例如從與標的組織特異性存在的分子有濃度依賴的抗原解離、締結合的抗體技術 (WO/2013/180200) 之組合。

【0082】 與其他恒定區域及/或可變區域變異技術之組合

本發明非限定之實施態樣，例如與目的在增強對 Fc γ R 之結合而使恒定區域變異之技術 (WO/2013/047752) 的組合。

【0083】 本發明與其他恒定區域變異技術之其他組合的態樣，例如與控制對補體結合的技術之組合。該補體，只要是形成補體遞變(cascade)的多胜肽，任何補體成分皆可使用，但是補體宜例如與調理素 (opsonin) 結合相關的 C1q、C1r 或 C1s 之補體成分。對 Fc 區域的補體之結合活性較天然型 Fc 區域對補體之結合活性爲高的 Fc 區域，可經由使天然型 Fc 區域之胺

基酸變異而製作。此處所謂之天然型 Fc 區域，係指人類 IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 所示的 Fc 區域。對 Fc 區域補體之結合活性，是否較天然型 Fc 區域對補體之結合活性為高，可使用 FACS、ELISA 等公知的免疫學方法適當實施。Fc 區域的「胺基酸之變異」或「變異胺基酸」，係包含使起始 Fc 區域的胺基酸序列變異為不同之胺基酸序列者。只要起始 Fc 區域之修飾變異體在 pH 中性範圍可結合在補體者，任何 Fc 區域皆可作為起始定域。又，已增加變異的 Fc 區域作為起始 Fc 區域而又再增加變異的 Fc 區域，亦可作為本發明之 Fc 區域而適宜使用。起始 Fc 區域，可指多胜肽之本身、含起始 Fc 區域之組成物、或編碼起始 Fc 區域之胺基酸序列。起始 Fc 區域，可包含經由在抗體之項中大致說明的重組所產生的公知的 IgG 抗體之 Fc 區域。起始 Fc 區域之來源，並無限定，但可由任意非人類動物的生物或人類獲得。該任意之生物，宜選自如小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、沙鼠、貓、兔子、犬、山羊、綿羊、牛、馬、駱駝、及非靈長類的生物為佳。其他態樣中，起始 Fc 區域可由長尾猴、絨猿、恆河獼猴、黑猩猩、或人類取得。較佳地，起始 Fc 區域由人類 IgG1 取得，但不限定於特定之 IgG 類別。此亦意指，可將人類 IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 之 Fc 區域作為起始 Fc 區域適宜使用。同樣，本說明書中，亦意指，可將前述之任意生物的 IgG 之任意類別(class)或亞型(subclass)的 Fc 區域，較佳作為起始 Fc 區域使用。天然存在的 Ig G 的變異體或加工型之例，可舉如公知文獻(Curr. Opin. Biotechnol. (2009); 20(6): 685-91、Curr. Opin. Immunol. (2008); 20(4):

460-470、Protein Eng. Des. Sel. (2010); 23(4): 195-202、WO/2009/086320、WO/2008/092117、WO/2007/041635、及WO/2006/105338)中所載者，但並不限定於此。

【0084】 胺基酸之變異，只要具有對補體的結合活性、或提高對補體的結合活性，任何位置的胺基酸變異均可。抗原結合分子，在人類 Fc 區域為包含人類 IgG1 的 Fc 區域的情形時，對補體的結合可為包含較人類 IgG1 的起始 Fc 區域的結合活性更增強的效果之變異。使對補體結合活性變異的胺基酸，例如 Duncan 人等 (Nature (1988); 332: 738-740)、Tao 人等 (J. Exp. Med. (1993); 178: 661-667)、Brekke 人等 (Eur. J. Immunol. (1994); 24: 2542-2547)、Xu 人等 (Immunol. (1993); 150: 152A)、WO/1994/029351、WO/2000/042072 及 WO/2011/091078 等中所報告的對 C1q 的結合活性變異之 Fc 區域的胺基酸。

【0085】 作為此類使對 C1q 結合活性增強的變異的可能的胺基酸，可舉如選自 EU 編號所示第 231 位至第 238 位、第 318 位至第 337 位的至少 1 個以上的胺基酸。該胺基酸之非限定之一例，可舉如選自第 235 位、第 237 位、第 267 位、第 268 位、第 276 位、第 318 位、第 320 位、第 322 位、第 324 位、第 327 位、第 331 位、及第 333 位所成之群的至少 1 個以上的胺基酸。經由這些胺基酸的變異，使 IgG 型免疫球蛋白 Fc 區域對補體的結合增強。

【0086】 特別較佳的變異為，例如 Fc 區域 EU 編號所示之：

第 267 位之胺基酸為 Glu、

第 268 位之胺基酸為 Phe 或 Tyr 任一者、

第 276 位之胺基酸爲 Arg、

第 324 位之胺基酸爲 Thr、

第 327 位之胺基酸爲 Gly、

第 331 位之胺基酸爲 Pro、或

第 333 位之胺基酸爲 Ala、Asp、Gly、Ser 或 Val 任一者。

又，變異的胺基酸數目沒有特別限定，可單一處的胺基酸變異，亦可任意組合這些的二處以上的胺基酸變異。

【0087】 本發明與其他恒定區域變異技術的其他組合之態樣，可舉如在酸性 pH 的 FcRn 結合增強變異 Fc 技術（WO/2002/060919、WO/2004/035752、WO/2000/042072）、在中性 pH 的 FcRn 結合增強變異 Fc 技術（WO/2011/122011、WO/2012/133782）、抑制型 Fc γ 受體選擇性結合增強技術（WO/2012/115241、WO/2013/125667）、活性型 Fc γ 受體選擇性結合增強技術（ADCC 活性增強技術）、（WO/2013/002362）、降低對 Rheumatoid factor 的結合活性技術（WO/2013/046704）等的與抗體變異技術之組合。

【0088】 本發明與可變區域變異技術的非限定組合之態樣，例如 pH 依賴性抗體（WO/2009/125825）、鈣關聯性抗體（WO/2012/073992）等的變異技術之組合。

【0089】 抗體庫、免疫及融合瘤之製作

本發明之方法中編碼導入變異前的抗體（本說明書中，有時單記載爲「本發明之抗體」）之 H 鏈或 L 鏈的基因可使用已知之序列，又也可以本領域技術者公知方法獲得。例如，可由抗體庫獲得，亦可由產生單株抗體之融合瘤選殖編碼抗體的基

因獲得。

【0090】 關於抗體庫，已有多個抗體庫為公知，又抗體庫之製作方法亦為公知，因此本領域技術人士可以取得適當的抗體庫。例如：噬菌體抗體庫方面，可參考 Clackson et al., *Nature*, 1991; 352: 624-8、Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 1991; 222: 581-97、Waterhouse et al., *Nucleic Acids Res.*, 1993; 21: 2265-6、Griffiths et al., *EMBO J.*, 1994; 13: 3245-60、Vaughan et al., *Nature Biotechnology*, 1996; 14: 309-14、及特表平 20-504970 號公報等之文獻。其他，亦可使用以真核細胞作為資料庫的方法（WO/95/15393 號簡報）及核糖體表現法等公知的方法。再者，使用人類抗體庫，經由淘選（panning）獲得人類抗體的技術也是已知。例如，將人類抗體的可變區域作為單股抗體（scFv），經由噬菌體表現法在噬菌體表面表現時，可篩選與抗原結合的噬菌體。經過分析所篩選的噬菌體基因，可確定編碼與抗原結合的人類抗體的可變區域之 DNA 序列。與抗原結合的 scFv 之 DNA 序列為明確時，將該序列製作適當的表現載體，獲得人類抗體。此類方法已為一般所習知，可參考 WO/92/01047、WO/92/20791、WO/93/06213、WO/93/11236、WO/93/19172、WO/95/01438、WO/95/15388。

【0091】 由融合瘤獲得編碼抗體的基因的方法，基本上可使用一般公知技術，將所欲抗原或表現所欲抗原之細胞作為致敏抗原，將其以通常免疫方法免疫，將獲得的免疫細胞以通常的細胞融合法與公知的親代細胞融合，經由通常的篩選法，篩選單株抗體的抗體產生細胞（融合瘤），之後由所獲得之融合

瘤的 mRNA 以反轉錄酶合成抗體可變區域(V 區域)的 cDNA，再將與編碼所欲抗體恒定區域(C 區域)之 DNA 連接而獲得。

【0092】 更具體言之，雖然不特別以下列之例做限定，但用於獲得編碼上述 H 鏈及 L 鏈之抗體基因的致敏抗原，包含致免疫性的完全抗原、及含不顯示致免疫性的半抗原之不完全抗原兩者。例如，可使用目的蛋白質的全長蛋白質或部分之胜肽等。其他，已知多醣類、核酸、脂質等所構成之物質可為抗原，本發明之抗體的抗原非特別限定者。抗原之調製，可以本領域技術者公知方法進行，例如可以使用桿狀病毒的方法（如 WO/98/46777 等）等進行操作。融合瘤之製作，例如可以 Milstein 人等之方法（ G. Kohler and C. Milstein, *Methods Enzymol.*, 1981; 73: 3-46）等進行操作。在抗原之致免疫性低的情形，可與白蛋白等具致免疫性的大分子結合，進行免疫。又，亦可視需要以抗原與其他分子結合而為可溶性抗原。在使用如受體之跨膜分子作為抗原的情形，可使用受體細胞外範圍部分作為片段，在細胞表面上表現跨膜分子的細胞作為免疫原使用。

【0093】 抗體產生細胞可以上述適當之致敏抗原使動物免疫而獲得。或者，亦可以產生抗體之淋巴球在體外(in vitro)免疫而形成抗體產生細胞。免疫之動物可使用各種哺乳動物，一般使用嚙齒目、兔形目、靈長目動物。例如小鼠、大鼠、天竺鼠等嚙齒目，兔子等兔形目，長尾猴、恆河獼猴、阿拉伯狒狒、黑猩猩等之猿猴等靈長目動物。其他，已知含人類抗體基因基因庫之轉殖動物，也可使用此類動物獲得人類抗體（參考

WO/96/34096；Mendez et al., Nat. Genet., 1997; 15: 146-56)。除了使用此類轉殖動物，也可以如在體外(in vitro)以表現所欲之抗體或所欲之抗原的細胞使人類淋巴球致敏，經由使致敏淋巴球與如 U266 之人類骨髓瘤細胞融合，可獲得具有與抗原結合活性的所欲人類抗體（參考專利特公平 1-59878 號公報）。又，以所欲抗原使具有人類抗體基因全部基因庫的轉殖動物免疫，可獲得所欲之人類抗體（參考 WO/93/12227、WO/92/03918、WO/94/02602、WO/96/34096、WO/96/33735）。

【0094】動物之免疫作用，可將受致敏抗原以磷酸緩衝生理食鹽水（PBS）或生理食鹽水等適當稀釋、懸浮，視需要混合佐劑乳化後，注射動物腹腔內或皮下注射。之後，宜以每日數次投予混合於弗洛德氏不完全佐劑的受致敏抗原投藥 4~21 天。產生抗體之確定，可以貫用方法測定動物血清中目標的抗體力價。

【0095】融合瘤可由以所欲抗原免疫的動物或淋巴球所獲得之抗體產生細胞，使用慣用的融合劑（如聚乙二醇）與骨髓瘤細胞融合而製成（Goding: Monoclonal Antibodies, Principles and Practice, Academic Press, 1986: 59-103）。視需要培養/增殖融合瘤細胞，經由免疫沉澱法、放射性免疫分析法（RIA）、酵素免疫吸附分析法（ELISA）等公知分析法測定由該融合瘤細胞產生之抗體的結合特異性。之後，視需要，產生已測定的目的特異性、親和性或活性之抗體的融合瘤細胞，可以限數稀釋法等技法進行次選殖。

【0096】接著，可從融合瘤細胞或產生抗體細胞（致敏淋

巴球等)，使用特異性結合於抗體的探針（如與編碼抗體恒定區域之序列互補的寡核苷酸等），選殖編碼被篩選抗體的基因。又，亦可從 mRNA 經由 RT-PCR 選殖。免疫球蛋白，可分類為 IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM 之 5 個不同類別(class)。而且，這些類別又可再分為數個亞型（同型）（如 IgG-1、IgG-2、IgG-3、及 IgG-4；IgA-1 及 IgA-2 等）。本發明中抗體之製造所使用的 H 鏈及 L 鏈，可為來自於屬於這些之任一類別及亞型的抗體，沒有特別限定，但以 IgG 特佳。

【0097】 此處，亦可以基因工程之技法使編碼 H 鏈及 L 鏈之基因變異。例如，對於小鼠抗體、大鼠抗體、兔子抗體、天竺鼠抗體、綿羊抗體、駱駝抗體等抗體，可以降低對人類的異種抗原性等為目的，適宜地製作人工變異的基因重組抗體如嵌合抗體、人型化抗體等。嵌合抗體係由人類以外之哺乳動物，如小鼠抗體之 H 鏈、L 鏈的可變區域，與人類抗體之 H 鏈、L 鏈的恒定區域所構成之抗體，將編碼小鼠抗體可變區域之 DNA 與編碼人類抗體恒定區域之 DNA 連接，將其導入表現載體，導入宿主生產而獲得。人型化抗體，亦稱為重構（reshape）人類抗體，可以連結來自於人類以外的哺乳動物如小鼠抗體的互補決定區（CDR，complementary determining region）所設計的 DNA 序列，以末端部具有重疊部分製作的數個寡核苷酸經由 PCR 法合成。將所得之 DNA 連接於編碼人類抗體恒定區域之 DNA，之後載入表現載體，將其導入宿主生產後製得（參考 EP 239400、WO/96/02576）。經由 CDR 連接之人類抗體 FR，可選擇互補決定區形成良好的抗原結合部位者。視需要，亦可

使抗體可變區域架構區的胺基酸變異，以使重構人類抗體之互補決定區形成適當的抗原結合部位（K. Sato et al., *Cancer Res.* 1993; 53: 851-856）。

【0098】 上述之人型化以外，亦可考慮進行變異以改善與抗原之結合性等的抗體生物學上之特性。此類變異可以部位特异性突然變異法（參考如 Kunkel (1985), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 488）、PCR 變異、片段致變等方法進行。一般而言，生物學上特性改善的抗體變異體具有相對於原抗體可變區域之胺基酸序列 70%以上，較佳 80%以上，更佳 90%以上（如 95%以上、97%、98%、99%等）之胺基酸序列相同性及/或類似性。本說明書中，序列之相同性及/或類似性，係定義為依照需要取序列相同性最大值而將序列整列化，及導入空隙(gap)後，與原抗體殘基相同（同樣之殘基）或類似（依一般胺基酸側鏈之特性分類為相同群組的胺基酸殘基）的胺基酸殘基之比例。通常，天然胺基酸殘基，依其側鏈之性質分類為：（1）疏水性：丙胺酸、異白胺酸、正白胺酸、纈胺酸、甲硫胺酸及白胺酸；（2）中性親水性：天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、蘇胺酸及絲胺酸；（3）酸性：天冬胺酸及麩胺酸；（4）鹼性：精胺酸、組胺酸及離胺酸；（5）鏈配向所影響之殘基：甘胺酸及脯胺酸；及（6）芳香族性：酪胺酸、色胺酸及苯丙胺酸之群組。

【0099】 通常，H 鏈及 L 鏈可變區域中所存在的全部 6 個互補決定區（高可變區域；CDR）相互作用，形成抗體之抗原結合部位。即使其中一個可變區域，亦較包含全部結合部位者

爲低親和性，雖然已知有辨識、結合抗體的能力。因此，本發明之編碼 H 鏈及 L 鏈的抗體基因，可經由該抗體，所編碼的多胜肽可維持與所欲抗原的結合性，可編碼含 H 鏈及 L 鏈各抗原結合部位的片段部分。

【0100】 多胜肽之活性及抗原之例示

藉由利用本發明之控制解離及/或締合的方法，可以有效率地製作如具有活性的抗體或多胜肽。該活性例如：結合活性、中和活性、細胞毒性、致效劑活性、拮抗劑活性、酵素活性等。致效劑活性爲，經由抗體結合在受體等的抗原，在細胞內傳導訊息等，誘導任何生理上之活性變化的活性。作爲生理上之活性，例如：增殖活性、存活活性、分化活性、轉錄活性、膜運送活性、結合活性、蛋白質分解活性、磷酸化/脫磷酸化活性、氧化還原活性、轉移活性、核酸分解活性、脫水活性、誘導細胞死滅活性、誘導細胞凋亡活性等，但不限定於此。

【0101】 又根據本發明之方法，可以有效率地製作辨識所欲之抗原或與所欲受體結合的抗體或多胜肽。

【0102】 本說明書中之抗原並無特別之限定，可爲任何抗原。抗原之例，以如：配體（細胞激素、趨化細胞激素等）、受體、癌抗原、MHC 抗原、分化抗原、免疫球蛋白及部分含免疫球蛋白之免疫複合體較佳。

細胞素之例，可舉如：介白素 1 至 18、群落促進因子（G-CSF、M-CSF、GM-CSF 等）、干擾素（IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 等）、生長因子（EGF、FGF、IGF、NGF、PDGF、TGF、HGF 等）、腫瘤壞死因子（TNF- α 、TNF- β ）、淋巴毒素、促紅血球

生成素、瘦體素、SCF、TPO、MCAF、BMP。

趨化細胞激素之例，可舉如：CCL1 至 CCL28 等之 CC 趨化細胞激素、CXCL1 至 CXCL17 等之 CXC 趨化細胞激素、XCL1 至 XCL2 等之 C 趨化細胞激素、CX3CL1 等之 CX3C 趨化細胞激素。

【0103】 受體之例，可舉如造血生長因子受體家族、細胞素受體家族、蛋白質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、鏈球菌 G 蛋白共軛型受體家族、GPI 錨定蛋白型受體家族、酪胺酸磷酸酶型受體家族、細胞黏著因子家族、激素受體族家等的受體族類所述的受體等。這些受體家族所屬的受體、及其相關之特徵已記載於多篇文獻，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, Patthy(*Cell* (1990); 61(1): 13-14)、Ullrich 人等(*Cell* (1990); 61(2): 203-212)、Massagué (*Cell* (1992); 69(6): 1067-1070)、Miyajima 人等(*Annu. Rev. Immunol.* (1992); 10: 295-331)、Taga 人等 (*FASEB J.* (1992); 6: 3387-3396)、Fantl 人等 (*Annu. Rev. Biochem.* (1993); 62: 453-481)、Smith 人等 (*Cell* (1994); 76(6): 959-963)、Flower DR. (*Biochim. Biophys. Acta* (1999); 1422(3): 207-234) 等。

【0104】 上述受體家族所屬之具體受體例，例如：人類或小鼠促紅血球生成素(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促進因子

(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長激素 (TPO) 受體 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (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) 、 人類或小鼠血小板衍生生長因子 (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) 、 人類或小鼠瘦體素受體 、 人類或小鼠生長激素 (GH) 受體 、 人類或小鼠介白素 (IL) -10 受體 、 人類或小鼠類胰島素生長因子 (IGF) -I 受體 、 人類或小鼠白血病抑制因子 (LIF) 受體 、 人類或小鼠睫狀節神經營養因子 (CNTF) 受體等為較佳例示。

【0105】 癌抗原係伴隨細胞之惡性轉形所表現的抗原，又稱為腫瘤特異性抗原。又，細胞癌化時在細胞表面及蛋白質分子上出現的異常糖鏈亦為癌抗原，稱為癌糖鏈抗原。癌抗原例如上述受體屬於 GPI 錨定蛋白型受體家族、始自於肝癌的數種癌中表現之 GPC3 (Int. J. Cancer (2003); 103(4): 455-65) 、 始自肺癌的數種癌中表現之 EpCAM (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989); 86(1): 27-31) 、 CA19-9 、 CA15-3 、 SSEA-1 系列 (SLX) 等。

【0106】 MHC 抗原，主要分類為 MHC class I 抗原及 MHC class II 抗原，MHC class I 抗原中，包含 HLA-A 、 -B 、 -C 、 -E 、

-F、-G、-H，MHC class II 抗原中，包含 HLA-DR、-DQ、-DP。

【0107】 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、D29、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。

【0108】 免疫球蛋白包含 IgA、IgM、IgD、IgG、IgE。又免疫複合體包含至少免疫球蛋白任一種之成分。

其他之抗原可舉如下述之分子：17-IA、4-1BB、4Dc、6-酮-PGF1a、8-異-PGF2a、8-氧代-dG、A1 腺嘌呤核苷受體、A33、ACE、ACE-2、活化素、活化素 A、活化素 AB、活化素 B、活化素 C、活化素 RIA、活化素 RIA ALK-2、活化素 RIB ALK-4、活化素 RIIA、活化素 RII B、ADAM、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17/TACE、ADAM8、ADAM9、ADAMTS、ADAMTS4、ADAMTS5、黏膜血管定位因子 (addressin)、aFGF、ALCAM、ALK、ALK-1、ALK-7、 α -1-抗胰蛋白酶、 α -V/ β -1 受體致效劑、ANG、Ang、APAF-1、APE、APJ、APP、APRIL、AR、ARC、ART、防禦素 (artemin)、抗 Id、ASPARTIC、心房利尿鈉肽、av/b3 整合素、Ax1、b2M、B7-1、B7-2、B7-H、B 淋巴球促進因子 (Blys)、BACE、BACE-1、

Bad、BAFF、BAFF-R、Bag-1、BAK、Bax、BCA-1、BCAM、
 Bcl、BCMA、BDNF、b-ECGF、bFGF、BID、Bik、BIM、BLC、
 BL-CAM、BLK、BMP、BMP-2、BMP-2a、BMP-3 (造骨素
 (osteogenin))、BMP-4、BMP-2b、BMP-5、BMP-6 Vgr-1、BMP-7
 (OP-1)、BMP-8(BMP-8a、OP-2)、BMPR、BMPR-IA(ALK-3)、
 BMPR-IB(ALK-6)、BRK-2、RPK-1、BMPR-Ⅱ(BRK-3)、BMP、
 b-NGF、BOK、鈴蟾素、骨由來神經營養因子、BPDE、
 BPDE-DNA、BTC、補體因子(C3)、C3a、C4、C10、CA125、
 CAD-8、降血鈣素、cAMP、癌胚胎抗原(CEA)、癌相關抗原、
 組織蛋白酶A、組織蛋白酶B、組織蛋白酶C/DPPI、組織蛋白酶
 D、組織蛋白酶E、組織蛋白酶H、組織蛋白酶L、組織蛋
 白酶O、組織蛋白酶S、組織蛋白酶V、組織蛋白酶X/Z/P、
 CBL、CCI、CCK2、CCL、CCL1、CCL11、CCL12、CCL13、
 CCL14、CCL15、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL2、
 CCL20、CCL21、CCL22、CCL23、CCL24、CCL25、CCL26、
 CCL27、CCL28、CCL3、CCL4、CCL5、CCL6、CCL7、CCL8、
 CCL9/10、CCR、CCR1、CCR10、CCR10、CCR2、CCR3、CCR4、
 CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CD1、CD2、CD3、CD3E、
 CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、
 CD13、CD14、CD15、CD16、CD18、CD19、CD20、CD21、
 CD22、CD23、CD25、CD27L、CD28、CD29、CD30、CD30L、
 CD32、CD33(p67蛋白質)、CD34、CD38、CD40、CD40L、
 CD44、CD45、CD46、CD49a、CD52、CD54、CD55、CD56、
 CD61、CD64、CD66e、CD74、CD80(B7-1)、CD89、CD95、

CD123、CD137、CD138、CD140a、CD146、CD147、CD148、CD152、CD164、CEACAM5、CFTR、cGMP、CINC、肉毒桿菌毒素、產氣莢膜芽胞桿菌毒素、CKb8-1、CLC、CMV、CMV UL、CNTF、CNTN-1、COX、C-Ret、CRG-2、CT-1、CTACK、CTGF、CTLA-4、CX3CL1、CX3CR1、CXCL、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、CXCR、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR5、CXCR6、細胞角蛋白腫瘤相關抗原、DAN、DCC、DcR3、DC-SIGN、補體調控因子 (Decay accelerating factor)、des (1-3) -IGF-I (腦IGF-1)、Dhh、長葉毛地黃苷、DNAM-1、Dnase、Dpp、DPPIV/CD26、Dtk、ECAD、EDA、EDA-A1、EDA-A2、EDAR、EGF、EGFR (ErbB-1)、EMA、EMMPRIN、ENA、內皮素受體、抑制腦啡肽酶、eNOS、Eot、伊紅趨素、EpCAM、激活腦蛋白B2/EphB4、EPO、ERCC、E-選滯蛋白、ET-1、凝血因子-IIa、凝血因子-VII、凝血因子-VIIIc、凝血因子-IX、人類纖維母細胞活化蛋白 (FAP)、Fas、FcR1、FEN-1、帶鐵蛋白、EGF、EGF-19、EGF-2、EGF-3、EGF-8、EGFR、EGFR-3、血纖維蛋白、FL、FLIP、Flt-3、Flt-4、濾泡促進激素、趨化因子fractalkine、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、G250、Gas6、GCP-2、GCSF、GD2、GD3、GDF、GDF-1、GDF-3 (Vgr-2)、GDF-5 (BMP-14、CDMP-1)、GDF-6 (BMP-13、CDMP-2)、GDF-7 (BMP-12、CDMP-3)、GDF-8 (肌肉生長抑制素)、GDF-9、GDF-15

(MIC-1)、GDNF、GDNF、GFAP、GFR α -1、GFR- α 1、GFR- α 2、GFR- α 3、GITR、胰高血糖素、Glut4、醣蛋白 II b/III a (GP II b/III a)、GM-CSF、gp130、gp72、GRO、生長激素分泌激素、不完全抗原 (NP-cap 或 NIP-cap)、HB-EGF、HCC、HCMV gB 表面膜醣蛋白、HCMV gH 表面膜醣蛋白、HCMV UL、造血生長因子 (HGF)、Hep B gp120、乙醯肝素酶、Her2、Her2/neu (ErbB-2)、Her3 (ErbB-3)、Her4 (ErbB-4)、單純疱疹病毒 (HSV) gB 醣蛋白、HSV gD 醣蛋白、HGFA、高分子量惡性黑色素細胞瘤相關抗原 (HMW-MAA)、HIV gp120、HIV III B gp120 V3 環狀序列、HLA、HLA-DR、HM1.24、HMFG PEM、HRG、Hrk、人類心肌凝蛋白、人類細胞巨大病毒 (HCMV)、人類生長激素 (HGH)、HVEM、I-309、IAP、ICAM、ICAM-1、ICAM-3、ICE、ICOS、IFN γ 、Ig、IgA 受體、IgE、IGF、IGF 結合蛋白、IGF-1R、IGFBP、IGF-I、IGF- II、IL、IL-1、IL-1R、IL-2、IL-2R、IL-4、IL-4R、IL-5、IL-5R、IL-6、IL-6R、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-18、IL-18R、IL-23、干擾素 (INF) - α 、INF- β 、INF- γ 、抑制素、iNOS、胰島素 A 鏈、胰島素 B 鏈、類胰島素生長因子 1、整合素 α 2、整合素 α 3、整合素 α 4、整合素 α 4/ β 1、整合素 α 4/ β 7、整合素 α 5 (α V)、整合素 α 5/ β 1、整合素 α 5/ β 3、整合素 α 6、整合素 β 1、整合素 β 2、整合素 γ 、IP-10、I-TAC、JE、胰舒血管素 2、胰舒血管素 5、胰舒血管素 6、胰舒血管素 11、胰舒血管素 12、胰舒血管素 14、胰舒血管素 15、胰舒血管素 L1、胰舒血管素 L2、胰舒血管素 L3、胰舒血管素 L4、KC、KDR、角質細胞生長因子

(KGF)、層連結蛋白 5、LAMP、LAP、LAP (TGF-1)、潛在 TGF-1、潛在 TGF-1 bp1、LBP、LDGF、LECT2、lefty、路易士-Y 抗原、路易士-Y 相關抗原、LFA-1、LFA-3、Lfo、LIF、LIGHT、脂蛋白、LIX、LKN、Lptn、L-選擇素、LT-a、LT-b、LTB4、LTBP-1、肺表面、黃體成長激素、淋巴毒素 β 受體、Mac-1、MAdCAM、MAG、MAP2、MARC、MCAM、MCAM、MCK-2、MCP、M-CSF、MDC、Mer、金屬蛋白酶、MGDF 受體、MGMT、MHC (HLA-DR)、MIF、MIG、MIP、MIP-1- α 、MK、MMAC1、MMP、MMP-1、MMP-10、MMP-11、MMP-12、MMP-13、MMP-14、MMP-15、MMP-2、MMP-24、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MPIF、Mpo、MSK、MSP、黏液素 (Muc1)、MUC18、慕氏管抑制物、Mug、MuSK、NAIP、NAP、NCAD、N-C 黏合蛋白、NCA 90、NCAM、NCAM、腦啡肽酶 (neprilysin)、神經營養因子 (neurotrophin) -3、-4、或 -6、神經營養蛋白 (neurturin)、神經生長因子 (NGF)、NGFR、NGF- β 、nNOS、NO、NOS、Npn、NRG-3、NT、NTN、OB、OGG1、OPG、OPN、OSM、OX40L、OX40R、p150、p95、PADPr、副甲狀腺激素、PARC、PARP、PBR、PBSF、PCAD、P-細胞黏附蛋白、PCNA、PDGF、PDGF、PDK-1、PECAM、PEM、PF4、PGE、PGF、PGI2、PGJ2、PIN、PLA2、胎盤鹼性磷酸酶 (PLAP)、PLGF、PLP、PP14、前胰島素、前鬆弛素、人類 C 蛋白、PS、PSA、PSCA、攝護腺專一性膜抗原 (PSMA)、PTEN、PTHrp、Ptk、PTN、R51、RANK、RANKL、RANTES、RANTES、鬆弛素 A 鏈、鬆弛素 B 鏈、腎激素、呼吸道融合病毒 (RSV) F、

RSV Fgp、Ret、類風濕性因子、RLIP76、RPA2、RSK、S100、SCF/KL、SDF-1、SERINE、血清白蛋白、sFRP-3、Shh、SIGIRR、SK-1、SLAM、SLPI、SMAC、SMDF、SMOH、SOD、SPARC、Stat、STEAP、STEAP-II、TACE、TACI、TAG-72 (腫瘤相關醣蛋白-72)、TARC、TCA-3、T細胞受體(如T細胞受體 α/β)、TdT、TECK、TEM1、TEM5、TEM7、TEM8、TERT、睪丸類PLAP鹼性磷酸酶、TfR、TGF、TGF- α 、TGF- β 、TGF- β Pan Specific、TGF- β RI (ALK-5)、TGF- β R II、TGF- β R II b、TGF- β R III、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、TGF- β 4、TGF- β 5、凝血酶、胸腺 Ck-1、促甲狀腺激素、Tie、TIMP、TIQ、組織因子、TMEFF2、Tmpe、TMPRSS2、TNF、TNF- α 、TNF- $\alpha\beta$ 、TNF- β 2、TNFc、TNF-RI、TNF-R II、TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2、DR4)、TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5、KILLER、TRICK-2A、TRICK-B)、TNFRSF10C (TRAIL R3 DcR1、LIT、TRID)、TNFRSF10D (TRAIL R4 DcR2、TRUNDD)、TNFRSF11A (RANK ODF R、TRANCE R)、TNFRSF11B (OPG OCIF、TR1)、TNFRSF12 (TWEAK R FN14)、TNFRSF13B (TACI)、TNFRSF13C (BAFF R)、TNFRSF14 (HVEM ATAR、HveA、LIGHT R、TR2)、TNFRSF16 (NGFR p75NTR)、TNFRSF17 (BCMA)、TNFRSF18 (GITR AITR)、TNFRSF19 (TROY TAJ、TRADE)、TNFRSF19L (RELT)、TNFRSF1A (TNF RI CD120a、p55-60)、TNFRSF1B (TNF R II CD120b、p75-80)、TNFRSF26 (TNF RH3)、TNFRSF3 (LTbR TNF R III、TNFC R)、TNFRSF4 (OX40 ACT35、TXGP1 R)、TNFRSF5 (CD40 p50)、TNFRSF6 (Fas Apo-1、APT1、

CD95)、TNFRSF6B (DcR3 M68、TR6)、TNFRSF7 (CD27)、
 TNFRSF8 (CD30)、TNFRSF9 (4-1BB CD137、ILA)、TNFRSF21
 (DR6)、TNFRSF22 (DcTRAIL R2 TNFRH2)、TNFRST23
 (DcTRAIL R1 TNFRH1)、TNFRSF25 (DR3 Apo-3、LARD、
 TR-3、TRAMP、WSL-1)、TNFSF10 (TRAIL Apo-2 配體、TL2)、
 TNFSF11 (TRANCE/RANK 配體 ODF、OPG 配體)、TNFSF12
 (TWEAK Apo-3 配體、DR3 配體)、TNFSF13 (APRIL TALL2)、
 TNFSF13B (BAFF BLYS、TALL1、THANK、TNFSF20)、TNFSF14
 (LIGHT HVEM 配體、LTg)、TNFSF15 (TL1A/VEGI)、TNFSF18
 (GITR 配體 AITR 配體、TL6)、TNFSF1A (TNF-a 連結蛋白
 (Conectin)、DIF、TNFSF2)、TNFSF1B (TNF-b LTa、TNFSF1)、
 TNFSF3 (LTb TNFC、p33)、TNFSF4 (OX40 配體 gp34、
 TXGP1)、TNFSF5 (CD40 配體 CD154、gp39、HIGM1、IMD3、
 TRAP)、TNFSF6 (Fas 配體 Apo-1 配體、APT1 配體)、TNFSF7
 (CD27 配體 CD70)、TNFSF8 (CD30 配體 CD153)、TNFSF9
 (4-1BB 配體 CD137 配體)、TP-1、t-PA、Tpo、TRAIL、TRAIL
 R、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRANCE、轉鐵蛋白受體、TRF、
 Trk、TROP-2、TSG、TSLP、腫瘤相關抗原 CA125、腫瘤相關
 抗原表現病毒 Y 相關碳水化合物、TWEAK、TXB2、Ung、uPAR、
 uPAR-1、尿激酶、VCAM、VCAM-1、VECAD、VE-鈣黏蛋白、
 VE-鈣黏蛋白-2、VEFGR-1 (flt-1)、VEGF、VEGFR、VEGFR-3
 (flt-4)、VEGI、VIM、病毒抗原、VLA、VLA-1、VLA-4、VNR
 整合素、韋伯氏因子 (von Willebrand factor)、WIF-1、WNT1、
 WNT2、WNT2B/13、WNT3、WNT3A、WNT4、WNT5A、WNT5B、

WNT6、WNT7A、WNT7B、WNT8A、WNT8B、WNT9A、WNT9A、WNT9B、WNT10A、WNT10B、WNT11、WNT16、XCL1、XCL2、XCR1、XCR1、XEDAR、XIAP、XPD、HMGB1、IgA、A β 、CD81、CD97、CD98、DDR1、DKK1、EREG、Hsp90、IL-17/IL-17R、IL-20/IL-20R、氧化 LDL、PCSK9、前胰舒血管素 (prekallikrein)、RON、TMEM16F、SOD1、染色顆粒素 (Chromogranin) A、染色顆粒素 B、tau、VAP1、高分子激肽原、IL-31、IL-31R、Nav1.1、Nav1.2、Nav1.3、Nav1.4、Nav1.5、Nav1.6、Nav1.7、Nav1.8、Nav1.9、EPCR、C1、C1q、C1r、C1s、C2、C2a、C2b、C3、C3a、C3b、C4、C4a、C4b、C5、C5a、C5b、C6、C7、C8、C9、補體因子 B、補體因子 D、補體因子 H、血清滅菌蛋白 (properdin)、骨硬化素 (sclerostin)、血纖維蛋白原 (fibrinogen)、血纖維蛋白 (fibrin)、凝血酶原 (prothrombin)、凝血酶 (thrombin)、組織因子、凝血因子 V、凝血因子 Va、凝血因子 VII、凝血因子 VIIa、凝血因子 VIII、凝血因子 VIIIa、凝血因子 IX、凝血因子 IXa、凝血因子 X、凝血因子 Xa、凝血因子 XI、凝血因子 XIa、凝血因子 XII、凝血因子 XIIa、凝血因子 XIII、凝血因子 XIIIa、TFP1、抗凝血酶 III、EPCR、人類凝血酶調節素、TAPI、tPA、纖維蛋白溶酶原 (plasminogen)、纖維蛋白溶酶 (plasmin)、PAI-1、PAI-2、GPC3、多配體聚醣 (syndecan)-1、多配體聚醣-2、多配體聚醣-3、多配體聚醣-4、LPA、SIP 以及激素及生長因子之受體。

【0109】再者，本發明之非限定之一實施態樣，雙特異性抗體的一個特異性，以癌抗原為標的，另一特異性以 CTL

(Cytotoxic T lymphocyte) 所表現的抗原，如 CD3 及 TNFRSF (Tumor Necrosis Factor Receptor Super Family)，為標的，但不限此組合。TNFRSF 之例，可舉如 TNFRSF9 (CD137)、TNFRSF5 (CD40) 及 TNFRSF4 (OX40) 等等。

【0110】 核酸之變異

又，本發明之製造方法之其他實施態樣中，本發明提供異種多聚體的製造方法，其係以控制多胜肽間之解離及/或締合而於形成多胜肽間界面之胺基酸殘基（如 EU 編號第 356 位及第 439 位、第 357 位及第 370 位、及第 399 位及第 409 位之胺基酸殘基）、及/或含 EU 編號第 397 位及/或第 392 位之胺基酸殘基具有變異之異種多聚體的製造方法，包含：(a) 以控制多胜肽間之解離及/或締合，而將編碼形成該多胜肽間界面等的胺基酸殘基之核酸從原核酸變異之步驟、(b) 以表現該多胜肽而培養具有該核酸的宿主細胞之步驟、(c) 從該宿主細胞之培養物回收該多胜肽之步驟、及 (d) 在還原條件下，溫育各多胜肽，回收所欲多胜肽的異型體之步驟。

【0111】 又，包含利用本發明上述控制解離及/或締合的方法，以抑阻多胜肽間的締合，而使編碼形成該多胜肽間界面等之胺基酸殘基的核酸由原始核酸變異之步驟的方法，也是本發明之上述製造方法的較佳態樣之一。

【0112】 本發明之上述方法中「使核酸變異」，係指對應本發明中經由「變異」所導入之胺基酸殘基而使核酸變異。更具體言之，係指對於編碼原始（變異前）胺基酸殘基的核酸，使經由變異所導入之編碼胺基酸殘基的核酸變異。通常，為形成

編碼目的胺基酸殘基之密碼子(codon)，對原先的核酸，進行插入、缺失或取代至少一個鹼基的基因操作或變異處理。亦即，將編碼原始胺基酸殘基的密碼子，經由變異所導入之編碼胺基酸殘基的密碼子而被取代。如此核酸之變異，可使用本領域技術者公知技術，例如特定部位致變法、PCR 變異導入法等適當地實施。

【0113】 又，本發明中之核酸，通常擔載（插入）在適當之載體上，導入宿主細胞。該載體只要可安定地保留插入的核酸，無特別之限定，例如使用大腸菌為宿主者，較佳使用 pBluescript 載體（Stratagene 公司製造）等做為選殖用載體，但可使用市售之各種載體。在生產本發明多胜肽的目的中使用載體之情形，特別以表現載體為有用。表現載體只要是可在試管內、大腸菌內、培養細胞內、生物個體內表現多胜肽的載體，沒有特別之限定，例如在試管內表現時，以 pBEST 載體（Promega 公司製造）、為大腸菌時，以 pET 載體（Invitrogen 公司製造）、為培養細胞時，以 pME18S-FL3 載體（GenBank Accession No. AB009864）、為生物個體時，以 pME18S 載體（Mol. Cell Biol., 8: 466-472 (1988)）等為佳。將本發明之 DNA 插入載體，可以常法，如在限制酶部位使用連接酶反應進行（Current Protocol in Molecular Biology, edit. Ausubel et al. (1987), Publish, John Wiley & Sons, Section: 11.4-11.11）。

【0114】 上述宿主細胞並無特別之限定，可依照目的使用各種宿主細胞。做為表現多胜肽之細胞，可例舉如細菌細胞（如：鏈球菌、葡萄球菌、大腸菌、鏈黴菌、枯草菌）、真菌

細胞（如：酵母、麴菌）、昆蟲細胞（如：果蠅 S2 細胞株、秋夜盜蛾 SF9 細胞株）、動物細胞（如：CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293、Bowes 人類黑色素瘤細胞）及植物細胞。將載體導入宿主細胞，可以如：磷酸鈣沉澱法、電脈衝穿孔法（Current Protocol in Molecular Biology, edit. Ausubel et al. (1987), Publish, John Wiley & Sons, Section: 9.1-9.9）、脂質體轉染法（GIBCO-BRL 公司製造）、顯微微量注射法等一般習知之方法進行。

【0115】 爲使宿主細胞中表現的多胜肽分泌至小胞體的內腔、細胞胞膜區間、或細胞外之環境，亦可在目的之多胜肽中載入適當的分泌訊息序列。這些訊息序列對目的之多胜肽可爲內因性，亦可爲異種訊息。

【0116】 上述製造方法中多胜肽的回收，在本發明的多胜肽分泌在培養液中的情形，可回收培養液。在本發明的多胜肽於細胞內產生的情形，可先將該細胞溶解，之後回收多胜肽。

【0117】 由重組的細胞培養物回收、精製本發明的多胜肽，可使用包括硫酸銨或乙醇沉澱、酸萃取、陰離子或陽離子交換層析、磷酸纖維素層析、疏水性相互作用層析、親和層析、羥磷灰石層析及凝集蛋白層析的一般習知之方法。

【0118】 本發明之非限定之實施樣態，可舉如培養各產生第一及第二多胜肽之同聚多肽的各細胞株，再以該培養上清液精製後之精製抗體引發 FAE (Fab Arm Exchange) 反應的方法；培養各產生第一及第二多胜肽之同聚多肽的各細胞株，但不精製而混合該培養上清液，再於混合培養上清液中引發 FAE 反

應，之後再精製之方法；混合培養產生第一多胜肽之同聚多肽的細胞株及產生第二多胜肽之同聚多肽的細胞株，再以該培養上清液精製後之精製抗體引發 FAE 反應之方法；混合培養產生第一多胜肽之同聚多肽的細胞株及產生第二多胜肽之同聚多肽的細胞株，再於該培養上清液中引發 FAE 反應，之後予以精製之方法。

【0119】 本發明，非限定之實施樣態，提供異種多聚體之製造方法，包含以下 a) 至 c) 之步驟：

a) 混合產生第一多胜肽之同聚多肽的細胞株及產生第二多胜肽之同聚多肽的細胞株之階段，

b) 在該培養上清液中，使樞紐區域內之半胱胺酸發生雙硫鍵之異構化，而共同溫育該第 1 多胜肽之同聚多肽及該第 2 多胜肽之同聚多肽之階段，以及

c) 製得含第 1 及第 2 多胜肽的異種多聚體之階段。

【0120】 本發明，非限定之實施樣態，提供異種多聚體之製造方法，包含以下 a) 至 c) 之步驟：

a) 培養各產生第一及第二多胜肽之同聚多肽的細胞株之階段，

b) 混合各細胞株之培養上清液，使樞紐區域內之半胱胺酸發生雙硫鍵之異構化，而共同溫浴該第一多胜肽之同聚多肽及該第二多胜肽之同聚多肽之階段，以及

c) 製得含第一及第二多胜肽之異種多聚體之階段。

【0121】 篩選所欲之異種多聚體的方法

再者本發明提供篩選所欲之異種多聚體的方法。較佳之實

施態樣，該方法係包含下列階段之篩選具有所欲特性之異種多聚體的方法：

a) 提供第一多胜肽之組及第二多胜肽之組之階段，構成第 1 組的各多胜肽具有與構成第 2 組的各多胜肽不同的標的特異性，且構成第 1 及第 2 組的各多胜肽，含有利用上述電荷相斥控制界面所相關的胺基酸變異及/或使 CH3 區域之安定性為不安定的胺基酸變異之階段，

b) 在還原條件下，共同溫浴構成該第 1 組的各多胜肽及構成該第 2 組的各多胜肽，以其製作多種異種多聚體的混合物之階段，

c) 對於結果所得之複數種異種多聚體的混合物分析所賦予的所欲的特性之階段，以及

d) 篩選具有所欲特性的異種多聚體之階段。

【0122】 醫藥組成物

本發明亦關於包含本發明之異種多聚體、及醫藥上容許的載體的組成物（藥劑）。

【0123】 於本發明中，醫藥組成物通常係指用於疾病之治療或預防、或者檢查、診斷的藥劑。

【0124】 本發明之醫藥組成物，可以本領域技術者公知的方法予以製劑化。例如，可以水或其以外的其他藥學上容許的液體之無菌溶液、或以懸浮液劑之注射劑的形態非經口使用。例如，醫藥上容許的載體或媒介體，具體言之，如滅菌水及生理食鹽水、植物油、乳化劑、懸浮劑、界面活性劑、安定劑、香味劑、賦形劑、載劑（vehicle）、防腐劑、黏結劑

等適當組合，以一般所知製藥實施上所要求之單位用量形態混合而製劑化。此等製劑中之有效成分量，可設定在指定範圍之適當容量。

【0125】 用以注射之無菌組成物可使用注射用蒸餾水之類的載劑根據通常製劑之實施作為處方。

【0126】 注射用水溶液之例，可舉如含生理食鹽水、葡萄糖及其他之補助劑（如 D-山梨糖醇、D-甘露糖、D-甘露糖醇、氯化鈉）等的等張溶液。亦可再併用適當之溶解助劑，例如醇（乙醇等）、多元醇（丙二醇、聚乙二醇等）、非離子性界面活性劑（縮聚山梨醇油酸酯 80（TM）、HCO-50 等）。

【0127】 油性液可舉如麻油、大豆油，亦可併用溶解助劑之苯甲酸苯甲酯及/或苯甲醇。又亦可與緩衝劑（如磷酸鹽緩衝液及乙酸鈉緩衝液）、舒緩劑（如鹽酸普魯卡因）、安定劑（如苯甲醇及酚）、抗氧化劑調配。所調配之注射液，通常填充在適當的安瓶。

【0128】 本發明之醫藥組成物，以非經口投藥投予為佳。例如注射劑型、經鼻投藥劑型、經肺投藥劑型、經皮投藥劑型等之組成物。例如：靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等全身或局部投藥。

【0129】 投藥方法可依患者之年齡、症狀適當選擇。含抗體或編碼抗體之聚核苷酸的醫藥組成物之投藥量，可設定為例如每次體重每 1kg 為 0.0001 mg 至 1000 mg 的範圍。或者，以患者每人為 0.001 至 100000 mg 的投藥量，但本發明並不限定於這些數值。投藥量及投藥方法，可依患者之體重、年齡、

症狀等改變，在本領域之技術者考慮這些條件後可設定適當之投藥量及投藥方法。

【0130】 本發明中，上述本發明之異種多聚體，作為對癌之治療劑或預防劑的有效成分為有用。癌包含如下，惟並不單限定於此：肺癌（包含小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀上皮細胞癌）、大腸癌、直腸癌、結腸癌、乳癌、肝癌、胃癌、胰臟癌、腎臟癌、前列腺癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膽管癌、腹膜癌、間皮細胞癌、鱗狀上皮細胞癌、子宮頸癌、子宮癌、膀胱癌、食道癌、頭頸部癌、鼻咽癌、唾液腺瘤、胸腺瘤、皮膚癌、基底細胞癌、惡性黑色素瘤、肛門癌、陰莖癌、精巢癌、Wilms 氏癌、急性骨髓性白血病（包含急性前骨髓細胞白血病、急性骨髓母細胞性白血病、急性前骨髓細胞白血病、急性骨髓單核球白血病及急性單核球性白血病）、慢性骨髓性白血病、急性淋巴球性白血病、慢性淋巴球性白血病、Hodgkin 氏淋巴瘤、非 Hodgkin 氏淋巴瘤（Burkitt 氏淋巴瘤、慢性淋巴球性白血病、蕈狀肉芽腫、外套細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、瀰漫大 B 細胞淋巴瘤、皮膚邊緣區淋巴瘤、毛狀細胞白血病漿細胞瘤、周邊 T 細胞淋巴瘤及成人 T 細胞白血病/淋巴瘤）、Langerhan 氏細胞組織球增生症、多發性骨髓瘤、骨髓增生不良症候群、腦腫瘤（包含神經膠質瘤、星狀細胞瘤、多形性神經膠質母細胞瘤、腦脊髓膜瘤及室管膜瘤）、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、骨肉瘤、Kaposi 肉瘤、Ewing 氏肉瘤、血管肉瘤、血管周皮細胞瘤。

【0131】 又視需要，本發明之多肽或異種多聚體亦可與

其他醫藥成分組合後製劑。

【0132】 又本發明提供包含至少以本發明的製造方法所製造之異種多聚體、或本發明的醫藥組成物之用於本發明的治療方法或預防方法之套組。該套組可預先加入藥學上容許之載體、媒介體、記載使用方法的說明書等包裝。又本發明關於含本發明之多胜肽或以本發明之製造方法所製造的多胜肽之於免疫發炎性疾病之治療劑或預防劑的製造之使用。又本發明關於用於本發明之治療方法或預防方法之本發明之多胜肽或以本發明之製造方法所製造的多胜肽。

【0133】 再者本說明書中對應胺基酸的 3 字之表示及 1 字之表示係如下。

丙胺酸：Ala：A

精胺酸：Arg：R

天冬醯胺酸：Asn：N

天冬胺酸：Asp：D

半胱胺酸：Cys：C

麩醯胺酸：Gln：Q

麩胺酸：Glu：E

甘胺酸：Gly：G

組胺酸：His：H

異白胺酸：Ile：I

白胺酸：Leu：L

離胺酸：Lys：K

甲硫胺酸：Met：M

苯丙胺酸：Phe：F

脯胺酸：Pro：P

絲胺酸：Ser：S

蘇胺酸：Thr：T

色胺酸：Trp：W

酪胺酸：Tyr：Y

纈胺酸：Val：V

【0134】 又，本說明書中所引用的所有先前技術文獻，均併入本說明書中作為參考。

實施例

【0135】 [實施例 1] 以導入控制抗體結合界面之變異而提高 Fab Arm Exchange 效率的檢討

Fab Arm Exchange 係以二種同聚抗體在還原劑存在下混合，所產生之四股抗體分子單臂（稱為半分子或 HL 分子，係由一股重鏈及一股輕鏈所構成之分子）經由再結合，產生雙特異性抗體。HL 分子的再結合係隨機發生，因此理論上目的之雙特異性抗體，只可得系統中存在的總抗體量的 50%。然而，二種同聚抗體在預先導入不同電荷時，所產生之 HL 分子彼此在再結合時，較同聚二量體化，會優先發生異聚二量體化，因此可能高效率地製作雙特異性抗體。此處，在 WO/2006/106905 所報導的控制抗體 CH3 區域締合界面的變異（利用 2 種 H 鏈 CH3 區域之電荷相互作用及相斥而使其異聚締合之變異），驗證可否提高 Fab Arm Exchange 之反應效率（雙特異性抗體生成率）。

【0136】 抗體之 H 鏈可變區域使用 WO/2009/125825 所揭示之人類介白素 6 受體的抗體之 H 鏈可變區域 WT(H)(序列編號 1：後面記載為 MRAH) 及 H54 (序列編號 2)。製作對該 H 鏈可變區域，做為抗體 H 鏈之恒定區域，以人類 IgG1 去除 H 鏈恒定區域 C 末端之 Gly 及 Lys 之具有 G1d 之 MRAH-G1d (序列編號 3) 及 H54-G1d (序列編號 4)，以及去除人類 IgG4 之 H 鏈恒定區域 C 末端的 Gly 及 Lys 之具有 wtG4d 之 MRAH-wtG4d (序列編號 5) 及 H54-wtG4d (序列編號 6)。之後，為形成 IgG4 型樞紐序列、CH3 定域序列，對 MRAH-G1d 及 H54-G1d，導入 P228S 及 K409R 變異製作為 MRAH-G1dsr (序列編號 7)、及 H54-G1dsr (序列編號 8)。而且做為控制締合界面的變異，製作：在 MRAH-G1dsr 導入 D356K 之 MRAH-G1dsrP1 (序列編號 9)、在 H54-G1dsr 導入 K439E 之 H54-G1dsrN1 (序列編號 10)、在 MRAH-wtG4d 導入 E356K 之 MRAH-wtG4dP1 (序列編號 11)、在 H54-wtG4d 導入 K439E 之 H54-wtG4dN1 (序列編號 12)。在 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形，使用 MRAL-k0 (序列編號 13) 為抗體 L 鏈，在 H54 的情形使用 L28-k0 (序列編號 14) 為抗體 L 鏈。依照參考例 1 之方法表現、精製 MRAH-G1dsr/MRAL-k0、H54-G1dsr/L28-k0、MRAH-G1dsrP1/MRAL-k0、H54-G1dsrN1/L28-k0、MRAH-wtG4d/MRAL-k0、H54-wtG4d/L28-k0、MRAH-wtG4dP1/MRAL-k0、H54-wtG4dN1/L28-k0。

【0137】 之後，將所得的二種同聚多肽如下所示混合，根據參考例 2 之方法評估其反應產物。

(1) MRAH-wtG4d/MRAL-k0 與 H54-wtG4d/L28-k0

(2) MRAH-wtG4dP1/MRAL-k0 與 H54-wtG4dN1/L28-k0

(3) MRAH-G1dsr/MRAL-k0 與 H54-G1dsr/L28-k0

(4) MRAH-G1dsrP1/MRAL-k0 與 H54-G1dsrN1/L28-k0

反應條件：PBS(Sigma, pH7.4) 中，[各 mAb]=0.2 mg/mL，
[GSH (Sigma)]=0.5 mM，0.05% Tween 20 (Junsei)，37℃，
24 小時。

【0138】本檢討中所使用之二種抗體可變區域 MRAH/MRAL 及 H54/L28，由於 pI 大為不同，以離子交換層析可使各同聚多肽、及生成之雙特異性抗體所對應的波峰容易地分離，而評估反應效率。第 1 圖係以離子交換層析法評估反應產物之結果。以未導入控制結合界面變異的 MRAH-wtG4d/MRAL-k0 與 H54-wtG4d/L28-k0 反應之 wtG4d、或 MRAH-G1dsr/MRAL-k0 與 H54-G1dsr/L28-k0 反應之 G1dsr 的雙特異性抗體的生成率各為 50.5%、52.7%。另一方面以導入控制結合界面變異的 MRAH-wtG4dP1/MRAL-k0 與 H54-wtG4dN1/L28-k0 反應之 wtG4dP1/N1 的雙特異性抗體的生成率為 99.0%、且 MRAH-G1dsrP1/MRAL-k0 與 H54-G1dsrN1/L28-k0 反應之 G1dsrP1/N1 為 98.5%，可知以極高之效率生成雙特異性抗體。由以上之結果，顯示以 WO/2006/106905 中所報導之導入控制結合界面變異導入之二種同聚多肽在還原劑存在下混合，可以極高之效率製作雙特異性抗體。

【0139】〔實施例 2〕具人類天然型 IgG1 樞紐序列的同聚

多肽之 Fab Arm Exchange

爲使實施例 1 中樞紐區域之序列爲天然型人類 IgG4 型，對 IgG1 導入 P228S 變異，進行 Fab Arm Exchange。然而曾有報告投藥在活體內的天然型 IgG4，會與內因性 IgG4 發生半分子交換。又報導在該原因係在樞紐區域中，位在 EU 編號第 228 位的 Ser，使其爲 IgG1 型的 Pro 時安定性提高，而不會在活體內發生交換 (Labrijn AF et al., Nat. Biotechnol. 2009; 27: 767-771)。因此思考在活體內投藥時，所製作之雙特異性抗體的樞紐序列應該以 226C-227P-228P-229C 爲佳。因此在本檢討中，經由導入控制結合界面的變異，驗證即使爲天然型人類 IgG1 的樞紐序列亦可效率良好地發生 Fab Arm Exchange。

【0140】 首先，對 MRAH-G1d 導入 K409R 及 D356K 製作 MRAH-G1drP1(序列編號 15)、對 H54-G1d 導入 K409R 及 K439E 成爲 H54-G1drN1 (序列編號 16)。之後在 H 鏈可變區域爲 MRAH 的情形，使用 MRAL-k0 爲抗體 L 鏈，在 H54 的情形使用 L28-k0 爲抗體 L 鏈，再依照參考例 1 之方法表現、精製 MRAH-G1drP1/MRAL-k0、H54-G1drN1/L28-k0。之後，將所得的同聚多肽二種類在以下的反應條件下混合，依照參考例 2 之方法評量其反應產物。

反應條件：TBS(Takara, pH7.6)中，[各 mAb]=0.2 mg/mL，0.05% Tween 20 (Junsei)，37℃，24 小時。以還原劑爲[GSH (Sigma)]=0.5 mM 或 5 mM 或者[2-MEA (Sigma)]=25 mM 之 3 種條件檢討。

【0141】 依照參考例 2 之方法解析反應產物之結果如第 2

圖所示。在與實施例 1 相同的 GSH (0.5 mM) 之條件下，雙特異性抗體的生成率為 21.8%，與 EU 編號第 228 位之胺基酸殘基為 Ser 之情形比較，大幅降低效率。然而，在 2-MEA (25 mM) 及 GSH (5 mM) 之還原條件下，雙特異性抗體的生成率為 99% 以上。由以上之結果可知，即使樞紐序列為人類天然型 IgG1 序列時，導入控制結合界面的變異，以適當之還原條件亦可高效率地製作雙特異性抗體。

【0142】 [實施例 3] 使用人類天然型 IgG1 的 CH3 之 Fab Arm Exchange

目前為止之檢討中，對人類 IgG1，經由導入使 CH3 成為 IgG4 型之 K409R 的變異，及控制結合界面的變異 (D356K 及 K439E)，進行 Fab Arm Exchange，均顯示可以極高效率獲得目的之雙特異性抗體。

另一方面，已知在第 409 位的胺基酸殘基為 Arg 時，抗體在酸性條件下的安定性降低 (WO/2009/041613)。為了做為醫藥品的抗體製造，將抗體暴露在酸性條件下的病毒失活的步驟是必要的，此時為保持抗體之品質，希望抗體在酸性條件之安定性高。因此希望第 409 位的胺基酸殘基不為 Arg。另一方面，使用被報導可有效率地發生 Fab Arm Exchange 反應之變異的 K409R 之變異，由於第 409 位的胺基酸殘基為 Arg，因此在酸性條件下有安定性的問題。因此之後，對不含 K409R 變異的完全人類天然型之 IgG1 抗體，以 WO/2006/106905 之報告中僅有控制結合界面變異是否誘導 Fab Arm Exchange 進行驗證。

所檢討的控制結合界面之變異的組合如表 1 所示。

【0143】 [表 1]

抗體 H 鏈 基因名	序列 編號	導入 MRAH-G1d 之變異	抗體 H 鏈 基因名	序列 編號	導入 H54-G1d 之變異
MRAH-G1dP1	17	D356K	H54-G1dN1	22	K439E
MRAH-G1dP3	18	D399K	H54-G1dN3	23	K409D
MRAH-G1dP4	19	E357K	H54-G1dN4	24	K370E
MRAH-G1dP5	20	D356K/D399K	H54-G1dN5	25	K409D/K439E
MRAH-G1dP6	21	D356K/E357K	H54-G1dN6	26	K370E/K439E

【0144】 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形，使用 MRAL-k0 為抗體 L 鏈，在 H54 的情形使用 L28-k0 為抗體 L 鏈。依照參考例 1 之方法表現、精製 MRAH-G1dP1/MRAL-k0、H54-G1dN1/L28-k0、MRAH-G1dP3/MRAL-k0、H54-G1dN3/L28-k0、MRAH-G1dP4/MRAL-k0、H54-G1dN4/L28-k0、MRAH-G1dP5/MRAL-k0、H54-G1dN5/L28-k0、MRAH-G1dP6/MRAL-k0、H54-G1dN6/L28-k0。

【0145】 之後，將所得之同聚多肽二種以如下所示的組合混合，依照參考例 2 之方法評估反應產物。

- (1) MRAH-G1dP1/MRAL-k0 與 H54-G1dN1/L28-k0
- (2) MRAH-G1dP3/MRAL-k0 與 H54-G1dN3/L28-k0
- (3) MRAH-G1dP4/MRAL-k0 與 H54-G1dN4/L28-k0
- (4) MRAH-G1dP5/MRAL-k0 與 H54-G1dN5/L28-k0
- (5) MRAH-G1dP6/MRAL-k0 與 H54-G1dN6/L28-k0

反應條件：TBS (Takara, pH7.6) 中，[各 mAb]=0.2 mg/mL，0.05% Tween 20 (Junsei)，[GSH (Sigma)]=5 mM，37℃，24 小時。



所得之結果如表 2 所示。

【0146】 [表 2]

簡稱	使用之 MoAb1 的 H 鏈恒定 區域名	導入之變異	使用之 MoAb2 的 H 鏈恒定 區域名	導入之變異	雙特異性 抗體 生成率 (%)
G1dP1/N1	G1dP1	D356K	G1dN1	K439E	1.7
G1dP3/N3	G1dP3	D399K	G1dN3	K409D	93.4
G1dP4/N4	G1dP4	E357K	G1dN4	K370E	4.4
G1dP5/N5	G1dP5	D356K/D399K	G1dN5	K409D/K439E	98.1
G1dP6/N6	G1dP6	D356K/E357K	G1dN6	K370E/K439E	29.3

【0147】 表中之「簡稱」，係表示反應中所使用的同聚多肽組合之簡稱。例如在簡稱為 G1dP1/N1 的情形，係表示 MRAH-G1dP1/MRAL-k0 與 H54-G1dN1/L28-k0 反應。又「使用之 MoAb1 的 H 鏈恒定區域名」，係表示含 MRAH 可變區域的抗體之恒定區域名，「使用之 MoAb2 的 H 鏈恒定區域名」，係表示含 H54 可變區域的抗體之恒定區域名。「導入之變異」，係表示對 MRAH-G1d 或 H54-G1d 導入之變異。

單方之同聚多肽導入 D356K、另一方之同聚多肽導入 K439E 的 G1dP1/N1，雙特異性抗體的生成率為 1.7%。第 2 圖中顯示在相同反應條件下（5 mM GSH），相對於具有 K409R 變異及控制結合界面的變異（D356K 及 K439E）之 G1drP1/N1 的雙特異性抗體的生成率為 99.3%，EU 編號第 409 位的胺基酸殘基為 Lys 之 G1dP1/N1 反應效率大幅降低。然而，單方之同聚多肽導入控制結合界面的變異 D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D 的 G1dP3/N3，單方之同聚多肽導入 D356K/D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D/K439E 的

G1dP5/N5，顯示各為 93.4%、98.1%之極高的雙特異性抗體的生成率。因此顯示，不使用 CH3 定域為 IgG4 型之 K409R 的變異，僅以控制結合界面的變異亦可高效率地誘發 Fab Arm Exchange。

【0148】其次，再對高反應效率之 G1dP3/N3 及 G1dP5/N5，比較在 3 種還原條件下的反應效率。此時比較對象，係以實施例 2 中所使用之 G1drP1/N1，及曾由 Labrijn 人等報導可以 Fab Arm Exchange 有效率地製作雙特異性抗體的變異之在一方的抗體導入 K409R 另一方之同聚多肽導入 F405L 的變異體之組合，加以驗證（Labrijn AF et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 2013; 110: 5145-5150）。

製作對 MRAH-G1d 導入 K409R 的 MRAH-G1dr（序列編號 27）、對 H54-G1d 導入 F405L 的 H54-G1dl（序列編號 28）。在 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形，使用 MRAL-k0 為抗體 L 鏈，在 H54 的情形，使用 L28-k0 為抗體 L 鏈。依照參考例 1 之方法表現、精製 MRAH-G1drP1/MRAL-k0、H54-G1drN1/L28-k0、MRAH-G1dP3/MRAL-k0、H54-G1dN3/L28-k0、MRAH-G1dP5/MRAL-k0、H54-G1dN5/L28-k0、MRAH-G1dr/MRAL-k0、H54-G1dl/L28-k0。

【0149】之後，以所得的同聚多肽二種以如下所示之組合混合，並依照參考例 2 之方法評估反應產物。

- (1) MRAH-G1drP1/MRAL-k0 與 H54-G1drN1/L28-k0
- (2) MRAH-G1dP3/MRAL-k0 與 H54-G1dN3/L28-k0
- (3) MRAH-G1dP5/MRAL-k0 與 H54-G1dN5/L28-k0

(4) MRAH-G1dr/MRAL-k0 與 H54-G1dl/L28-k0

反應條件：TBS(Takara , pH7.6) 中 , [各 mAb]=0.2 mg/mL , 0.05% Tween 20 (Junsei) , 37℃ , 24 小時 。 以還原劑為 [GSH (Sigma)]=0.5 mM 或 5 mM 或者 [2-MEA (Sigma)]=25 mM 之 3 種條件檢討。

所得之結果如表 3 所示。

【0150】 [表 3]

簡稱	使用之 MoAb1 的 H 鏈恒定 區域名	導入之變異	使用之 MoAb2 的 H 鏈恒定 區域名	導入之變異	雙特異性 抗體 生成率 (%)	還原條件
G1dr/l	G1dr	K409R	G1dl	F405L	87.3	GSH (5 mM)
G1dP3/N3	G1dP3	D399K	G1dN3	K409D	85.2	GSH (5 mM)
G1dP5/N5	G1dP5	D356K/D399K	G1dN5	K409D/K439E	99.1	GSH (5 mM)
G1drP1/N1	G1drP1	D356K/K409R	G1drN1	K439E/K409R	99.3	GSH (5 mM)
G1dr/l	G1dr	K409R	G1dl	F405L	95.6	2MEA (25 mM)
G1dP3/N3	G1dP3	D399K	G1dN3	K409D	92.8	2MEA (25 mM)
G1dP5/N5	G1dP5	D356K/D399K	G1dN5	K409D/K439E	100.0	2MEA (25 mM)
G1drP1/N1	G1drP1	D356K/K409R	G1drN1	K439E/K409R	99.7	2MEA (25 mM)
G1dr/l	G1dr	K409R	G1dl	F405L	9.5	GSH (0.5 mM)
G1dP3/N3	G1dP3	D399K	G1dN3	K409D	4.8	GSH (0.5 mM)
G1dP5/N5	G1dP5	D356K/D399K	G1dN5	K409D/K439E	75.4	GSH (0.5 mM)
G1drP1/N1	G1drP1	D356K/K409R	G1drN1	K439E/K409R	21.8	GSH (0.5 mM)

【0151】 表中之「簡稱」，係表示反應中所使用的同聚多肽之組合之簡稱。例如在簡稱為 G1dP1/N1 的情形，表示 MRAH-G1dP1/MRAL-k0 與 H54-G1dN1/L28-k0 反應。又「使用之 MoAb1 的 H 鏈恒定區域名」，係表示含 MRAH 可變區域的抗體之恒定區域名，「使用之 MoAb2 的 H 鏈恒定區域名」，係表示含 H54 可變區域的抗體之恒定區域名。「導入之變異」，係

表示對 MRAH-G1d 或 H54-G1d 導入之變異。

【0152】 在 5 mM GSH 之還原條件下，以 Labrijn 人等所報導使用可提高既存之 Fab Arm Exchange 效率的變異之 G1dr/l 的雙特異性抗體的生成率為 87.3%。此時在一方之同聚多肽導入 D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D 的 G1dP3/N3 為 85.2%；在一方之同聚多肽導入 D356K/D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D/K439E 的 G1dP5/N5 為 99.1%。又除了 IgG4 型之 K409R 的變異外，在一方之同聚多肽導入 D356K 而另一方之同聚多肽導入 K439E 的 G1drP1/N1 的雙特異性抗體的生成率為 99.3%。

【0153】 在 25 mM 2MEA 之還原條件下，以 Labrijn 人等所報導使用可提高既存之 Fab Arm Exchange 效率的變異之 G1dr/l 的雙特異性抗體的生成率為 95.6%。此時在一方之同聚多肽導入 D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D 的 G1dP3/N3 為 92.8%；在一方之同聚多肽導入 D356K/D399K 而另一方之同聚多肽導入 K409D/K439E 的 G1dP5/N5 為 100%；又除了 IgG4 型之 K409R 的變異外，在一方之同聚多肽導入 D356K 而另一方之同聚多肽導入 K439E 的 G1drP1/N1 的雙特異性抗體的生成率為 99.7%。

【0154】 在 0.5 mM GSH 之還原條件下，使用提高既存之 Fab Arm Exchange 效率的變異之 G1dr/l 的雙特異性抗體的生成率為 9.5%。此時，在一方之同聚多肽導入 D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D 的 G1dP3/N3 為 4.8%；在一方之同聚多肽導入 D356K/D399K 而另一方之同聚多肽導入

K409D/K439E 的 G1dP5/N5 為 75.4%；又除了 IgG4 型之 K409R 變異外，在一方之同聚多肽導入 D356K 而另一方之同聚多肽導入 K439E 的 G1drP1/N1 之雙特異性抗體的生成率為 21.8%，與其他還原條件相比，大幅降低。

【0155】 由以上之結果可知，在任一反應條件下，在一方之同聚多肽導入 D356K/D399K、另一方之同聚多肽導入 K409D/K439E 的 G1dP5/N5 顯示雙特異性抗體的生成率較 Labriijn 人等所報導之提高既存 Fab Arm Exchange 效率的變異為高。高雙特異性抗體生成率，實際在雙特異性抗體醫藥品之製造中極為重要，本變異與既有的變異相比，可用性高。

【0156】 〔實施例 4〕利用 CH3 定域不安定化之變異的高效率 Fab Arm Exchange 之開發

在目前為止之實施例中，顯示經由控制結合界面之變異，於各同聚多肽導入不同之帶電電荷，經由還原劑所產生的半分子優先與來自不同同聚多肽的半分子結合，高效率地生成雙特異性抗體。另一方面，已報導在經由 Fab Arm Exchange 生成雙特異性抗體之過程中，二種類的同聚多肽以還原劑分開後 CH3 定域解離產生半分子（HL 分子）的過程係瓶頸階段（Rispeus T et al., J. Am. Chem. Soc. 2011; 133: 10302-10311）。因此，如果可使各同聚多肽的 CH3 定域適度不安定化以促進 CH3 定域之解離時，期望以更佳效率誘發 Fab Arm Exchange。此處，首先評估在如表 2、表 3 所示之 5 mM GSH 存在下之雙特異性抗體的生成率、及各同聚多肽與 CH3 定域的安定性之關係。CH3 定域的安定性，依照參考例 3 的方法所

測定之 T_m （熱變性半解離溫度）為指標。

【0157】 雙特異性抗體生成率與所使用之二種類的同聚多肽中 CH3 的 T_m 值高者的關係，如第 3 圖所示。雙特異性抗體生成率低之 G1dP1/N1 及 G1dP4/N4 中 CH3 的 T_m 值為 76°C 以上的高的一方，反應效率高的 G1dP5/N5、G1dP3/N3、G1drP1/N1 的同聚多肽之 CH3 的 T_m 各為 65.1°C 、 69.6°C 、 69.5°C 。以上之結果顯示，經由 Fab Arm Exchange 的 T_m 值抗體生成率明顯地與同聚多肽的 CH3 之安定性相關。又為了達成高反應效率，顯示所使用之二種類的同聚多肽中，以安定方的同聚多肽之 CH3 的 T_m 降低於 70°C 等而使 CH3 區域的安定性為不安定者較佳。此處，由於在相同條件下所測定之含天然型人類 IgG1 序列之 MRAH-G1d/MRAL-k0 的 CH3 區域之 T_m 為 83.6°C ，在 Fab Arm Exchange 中為達成高反應效率必須使來自於天然型人類 IgG1 的 CH3 區域之 T_m 降低如 13°C 以上而使 CH3 區域的安定性為不安定較佳。

【0158】 此處之後檢討經由使所使用之 CH3 定域的 T_m 降低而是否提高雙特異性抗體生成率。做為降低 CH3 的安定性之變異，使用 IgG2 型變異的 V397M。IgG2 中 EU 編號第 397 位的胺基酸殘基為 Met，將其導入取代為 IGg1 型的 Val 之變異，可提高 CH3 區域的安定性（ T_m ）已有報導（WO/2009/041613）。因此，對 IGg1 型之 CH3 定域，導入 V397M 變異時可期望使 CH3 區域不安定化、易於解離。

【0159】 此處，對表 2 中雙特異性抗體生成率低之 G1dP1/N1、G1dP4/N4、G1dP6/N6，雙方的同聚多肽導入 V397M

變異之 G1dP8/N8、G1dP9/N9、G1dP10/N10 進行檢討。具體地，製作對 MRAH-G1dP1、MRAH-G1dP4、MRAH-G1dP6、H54-G1dN1、H54-G1 dN4、H54-G1dN6 導入 V397M 變異之 MRAH-G1dP8 (序列編號 29)、MRAH-G1dP9 (序列編號 30)、MRAH-G1dP10 (序列編號 31)、H54-G1dN8 (序列編號 32)、H54-G1dN9 (序列編號 33)、H54-G1dN10 (序列編號 34)。在 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形，使用 MRAL-k0 為抗體 L 鏈，在 H54 情形，使用 L28-k0 為抗體 L 鏈，依照參考例 1 之方法表現、精製 MRAH-G1dP8/MRAL-k0、H54-G1dN8/L28-k0、MRAH-G1dP9/MRAL-k0、H54-G1dN9/L28-k0、MRAH-G1dP10/MRAL-k0、H54-G1dN10/L28-k0。又依照參考例 3 之方法測定所得抗體之 T_m。

【0160】 之後，將所得之同聚多肽二種類以如下所示之組合混合，並依照參考例 2 之方法評估反應產物。

- (1) MRAH-G1dP8/MRAL-k0 與 H54-G1dN8/L28-k0
- (2) MRAH-G1dP9/MRAL-k0 與 H54-G1dN9/L28-k0
- (3) MRAH-G1dP10/MRAL-k0 與 H54-G1dN10/L28-k0
- (4) MRAH-G1dr/MRAL-k0 與 H54-G1dl/L28-k0

反應條件：TBS(Takara, pH7.6) 中，[各 mAb]=0.2 mg/mL，0.05% Tween 20 (Junsei)，[GSH (Sigma)]=5 mM，37℃，24 小時。

所得之結果如表 4 所示。

【0161】

[表 4]

簡稱	使用之 MoAb1 的 H 鍵恒定區 域名	導入之變異	使用之 MoAb2 的 H 鍵恒定區 域名	導入之變異	雙特異性抗 體生成率 (%)	MoAb1 的 CH3 之 Tm (℃)	MoAb2 的 CH3 之 Tm (℃)
G1dr/l	G1dr	K409R	G1dl	F405L	88.1	70.7	69.7
G1dP8/N8	G1dP8	D356K/V397M	G1dN8	V397M/K439E	73.2	70.1	70.5
G1dP9/N9	G1dP9	D357K/V397M	G1dN9	K370E/V397M	67.3	67	71
G1dP10/N10	G1dP10	D356K/E357K/V397M	G1dN10	K370E/V397M/K439E	96.9	63.8	70.2
G1dP1/N1(摘自表 2)	G1dP1	D356K	G1dN1	K439E	1.7	76.7	74.7
G1dP4/N4(摘自表 2)	G1dP4	E357K	G1dN4	K370E	4.4	68.5	76.5
G1dP6/N6(摘自表 2)	G1dP6	D356K/E357K	G1dN6	K370E/K439E	29.3	66	70.1

【0162】 中之「MoAb1 之 CH3 的 Tm」，係表示含有 MRAH 可變區域的同聚多肽之 CH3 的 Tm，「MoAb2 之 CH3 的 Tm」，係表示含有 H54 可變區域的同聚多肽之 CH3 的 Tm。

在 G1dP1/N1 的二同聚多肽導入 V397M 變異的 G1dP8/N8，MoAb1 之 CH3 的 Tm 降低 6.6℃ 而為 70.1℃，MoAb2 降低 4.2℃ 而為 70.5℃，使雙特異性抗體由 1.7% 提高為 73.2%。在 G1dP4/N4 之二同聚多肽導入 V397M 變異的 G1dP9/N9，MoAb1 之 CH3 的 Tm 降低 1.5℃ 而為 67℃，MoAb2 降低 5.5℃ 而為 71℃，使雙特異性抗體由 4.4% 提高為 67.3%。在 G1dP6/N6 之二同聚多肽中導入 V397M 變異的 G1dP10/N10，MoAb2 之 CH3 的 Tm 方面並無改變，但 MoAb1 之 CH3 的 Tm 降低 2.2℃ 而為 63.8℃，使雙特異性抗體由 29.3% 提高為 96.9%。由以上之結果，顯示經由加入 V397M 變異而使同聚多肽之 CH3 的 Tm 降低，可使 Fab Arm Exchange 的雙特異性抗體生成率提高。又此時使用既有之提高 Fab Arm Exchange 效率之變異的 G1dr/l 之雙特異性抗體的生成率為 88.1%，G1dP10/N10 顯示較

此等優良的雙特異性抗體生成率。

【0163】 此處，之後對具有效果之 EU 編號第 397 位的週邊，導入期望使 CH3 有更大不安定化效果之變異，檢討可否更提高雙特異性抗體的生成率。第 4 圖為使用已報導的 IgG1 之 X 射線結晶構造解析數據（PDB：3DO3），顯示 CH3 定域 EU 編號第 397 位週邊。

【0164】 首先，考量 A 鏈之 D399 與 B 鏈之 K392 的靜電相互作用，因此在 V397M 變異之外，由於 K392 取代為 Asp 或 Glu 可能發生兩鏈之靜電相斥，而有由於兩鏈相互作用而更不安定的可能性。又，亦期望藉由將 K392 取代為側鏈分支型之胺基酸因而與 M397 之立體障礙可使兩鏈之締合更不安定。再者，以 EU 編號第 397 位之胺基酸殘基取代為體積更大之胺基酸，亦可期望較 V397M 變異可更抑制 CH3 之締合。基於如上之觀點，以 MRAH-G1dP1 及 H54-G1dN1 為主體，重新製作如表 5 所示之 7 種抗體 H 鏈基因。

【0165】

[表 5]

抗體 H 鏈 基因名	序列 編號	對 MRAH-G1d 導入 之變異	抗體 H 鏈 基因名	序列 編號	對 H54-G1d 導入 之變異
MRAH-G1dP14	35	D356K/K392D/V397M	H54-G1dN14	42	K392D/V397M/K439E
MRAH-G1dP15	36	D356K/K392E/V397M	H54-G1dN15	43	K392E/V397M/K439E
MRAH-G1dP16	37	D356K/V397F	H54-G1dN16	44	V397F/K439E
MRAH-G1dP17	38	D356K/V397Y	H54-G1dN17	45	V397Y/K439E
MRAH-G1dP18	39	D356K/K392T/V397M	H54-G1dN18	46	K392T/V397M/K439E
MRAH-G1dP19	40	D356K/K392V/V397M	H54-G1dN19	47	K392V/V397M/K439E
MRAH-G1dP20	41	D396K/K392I/V397M	H54-G1dN20	48	K392I/V397M/K439E

【0166】 在 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形，使用 MRAL-k0

爲抗體 L 鏈，爲 H54 的情形，使用 L28-k0 爲抗體 L 鏈。依照參考例 1 之方法表現、精製：MRAH-G1dP14/MRAL-k0、H54-G1dN14/L28-k0、MRAH-G1dP15/MRAL-k0、H54-G1dN15/L28-k0、MRAH-G1dP16/MRAL-k0、H54-G1dN16/L28-k0、MRAH-G1dP17/MRAL-k0、H54-G1dN17/L28-k0、MRAH-G1dP18/MRAL-k0、H54-G1dN18/L28-k0、MRAH-G1dP19/MRAL-k0、H54-G1dN19/L28-k0、MRAH-G1dP20/MRAL-k0、H54-G1dN20/L28-k0。又依照參考例 3 之方法測定所得抗體之 T_m 。

【0167】 之後，將所得之同聚多肽二種類以如下所示之組合混合，依照參考例 2 之方法評估反應產物。

- (1) MRAH-G1dP14/MRAL-k0 與 H54-G1dN14/L28-k0
- (2) MRAH-G1dP15/MRAL-k0 與 H54-G1dN15/L28-k0
- (3) MRAH-G1dP16/MRAL-k0 與 H54-G1dN16/L28-k0
- (4) MRAH-G1dP17/MRAL-k0 與 H54-G1dN17/L28-k0
- (5) MRAH-G1dP18/MRAL-k0 與 H54-G1dN18/L28-k0
- (6) MRAH-G1dP19/MRAL-k0 與 H54-G1dN19/L28-k0
- (7) MRAH-G1dP20/MRAL-k0 與 H54-G1dN20/L28-k0
- (8) MRAH-G1dr/MRAL-k0 與 H54-G1dl/L28-k0
- (9) MRAH-G1dP1/MRAL-k0 與 H54-G1dN1/L28-k0
- (10) MRAH-G1dP8/MRAL-k0 與 H54-G1dN8/L28-k0

反應條件：TBS(Takara, pH7.6) 中，[各 mAb]=0.2 mg/mL，0.05% Tween 20 (Junsei)，[2-MEA (Sigma)]=25 mM，37℃，

24 小時。所得之結果如表 6 所示。

【0168】

[表 6]

簡稱	使用之 MoAb1 的 H 鏈恒定 區域名	導入之變異	使用之 MoAb2 的 H 鏈恒定 區域名	導入之變異	雙特異 性抗體 生成率 (%)	MoAb1 的 CH3 之 Tm (℃)	MoAb2 的 CH3 之 Tm (℃)
G1dr/l	G1dr	K409R	G1dl	F405L	91.7	70.7	69.7
G1dP1/N1	G1dP1	D356K	G1dN1	K439E	0.1	76.7	74.7
G1dP8/N8	G1dP8	D356K/V397M	G1dN8	V397M/K439E	73.2	70.1	70.5
G1dP14/N14	G1dP14	D356K/K392D/V397M	G1dN14	K392D/V397M/K439E	96.5	68.3	69.2
G1dP15/N15	G1dP15	D356K/K392E/V397M	G1dN15	K392E/V397M/K439E	96.9	69.3	70.2
G1dP16/N16	G1dP16	D356K/V397F	G1dN16	V397F/K439E	96.5	69.1	69.7
G1dP17/N17	G1dP17	D356K/V397Y	G1dN17	V397Y/K439E	98.0	69.2	69.8
G1dP18/N18	G1dP18	D356K/K392T/V397M	G1dN18	K392T/V397M/K439E	98.9	70.1	70.8
G1dP19/N19	G1dP19	D356K/K392V/V397M	G1dN19	K392V/V397M/K439E	70.8	70.7	71.1
G1dP20/N20	G1dP20	D356K/K392I/V397M	G1dN20	K392I/V397M/K439E	54.3	70.5	71.2

【0169】 相對於在 G1dP1/N1 之同聚多肽的兩者中導入 V397M 變異的 G1dP8/N8，雙特異性抗體為 73.2%，在其兩鏈中導入 K392D 的 G1dP14/N14 為 96.5%，導入 K392E 的 G1dP15/N15 為 96.9%，導入 K392T 的 G1dP18/N18 為 98.9%，雙特異性抗體生成率提高。又對於 G1dP1/N1，以導入 V397F 取代 V397M 的 G1dP16/N16 為 96.5%，導入 V397Y 的 G1dP17/N17 為 98%，雙特異性抗體生成率亦較 V397M 提高。推測此是因為，相對於含 V397M 的 G1dP8/N8 之 MoAb1 及 MoAb2 之 CH3 的 Tm 各為 70.1℃ 及 70.5℃，在 G1dP16/N16 為 69.1℃ 及 69.7℃，在 G1dP17/N17 為 69.2℃ 及 69.8℃，同聚多肽 CH3 定域之相互作用較目標 V397M 變異減弱，容易解離所致。此時使用既存之 Fab Arm Exchange 效率提高的變異之

G1dr/l 的雙特異性抗體生成率為 91.7%，G1dP14/N14、G1dP15/N15、G1dP16/N16、G1dP17/N17、G1dP18/N18 顯示較此等優良的雙特異性抗體生成率。

在考慮醫藥品製造上之應用性時，雙特異性抗體生成率較既存的 Fab Arm Exchange 效率提高的變異高，異元成分少的 G1dP16/N16 (D356K/V397F 及 V397F/K439E) 及 G1dP17/N17 (D356K/V397Y 及 V397Y/K439E) 極為有用。

又，表 3 及表 6 所檢討之變異體的 CH3 安定性與使用 25 mM 之 2MEA 為還原劑時的雙特異性抗體生成率之關係如第 5 圖所示。如第 5 圖所示，所使用之同聚多肽的 CH3 安定性與 Fab Arm Exchange 中之效率明顯相關，如所使用之二種同聚多肽中 CH3 安定性高的同聚多肽的 T_m 下降為 70℃ 等，使 CH3 區域之安定性不安定，而達成高雙特異性抗體生成率。

【0170】〔實施例 5〕反應時間之檢討

使用實施例 4 中發現之 G1dP17/N17，檢討反應時間與反應效率之關係。

反應條件：TBS (Takara, pH7.6) 中，[各 mAb]=1.0 mg/mL，[2-MEA (Sigma)]=25 mM，37℃，全量為 50 μ L。

在 90 分鐘、3 小時、24 小時時添加冷卻至 4℃ 之 25 mM MES 緩衝液 (pH5.0) 450 μ L，再保存於 4℃，停止反應。然後依照參考例 2 之方法評量反應效率 (第 6 圖)。

【0171】如第 6 圖所示，G1dP17/N17 的雙特異性抗體生成率，在 25 mM 2-MEA 存在下，90 分鐘時為 94.6%，3 小時時為 95.2%，24 小時時為 97.4%，90 分鐘之反應時間為約 95%。

由該結果可知，與在單方之鏈上導入 K409R 變異、另一方之單鏈導入 F405L 變異的 G1dr/l 之雙特異性抗體生成率相比(表 6)，顯示非常高之反應效率。

【0172】〔實施例 6〕顯示高效率 Fab Arm Exchange 的變異體對人類 FcgR 及人類 FcRn 之結合評估

對於實施例 4 中顯示高效率 FAE 效率的變異體 G1dP17/N17，實施對人類 FcgR 及人類 FcRn 之結合評估。首先，依照參考例 5 之方法實施含天然型 IgG1 序列之 MRAH-G1d/MRAL-k0 及 Fab Arm Exchange 後之變異體 MRAH-G1dP17/MRAL-k0//H54-G1dN17/L28-k0 與人類 FcRn 的結合。對人類 FcRn 結合之解析結果如表 7 所示。

【0173】

[表 7]

簡稱	對人類 FcRn 之 KD (M)
G1d	2.1E-06
G1Dp17/N17	1.9E-06

【0174】由表 7 所示之結果可知，以 Fab Arm Exchange 製作之變異體 MRAH-G1dP17/MRAL-k0//H54-G1dN17/L28-k0，對人類 FcRn 具有與天然型 IgG1 同等之結合活性。

【0175】其次，依照參考例 4 之方法評估對人類 FcgR 的結合活性。此處除了對於含天然型 IgG1 序列之 MRAH-G1d/MRAL-k0、經過 Fab Arm Exchange 後之變異體 MRAH-G1dP17/MRAL-k0//H54-G1dN17/L28-k0 以外，一併對 Fab Arm Exchange 反應前之 2 種變異體

(MRAH-G1dP17/MRAL-k0 及 H54-G1dN17/L28-k0) 及去除使 CH3 定域不安定化之變異的 V397Y 之 2 種同聚多肽 (MRAH-G1dP1/MRAL-k0 及 H54-G1dN1/L28-k0) 加以評估。表 8 中所示之 KD fold hFcγRIa、KD fold hFcγRIIaR、KD fold hFcγRIIaH、KD fold hFcγRIIb、KD fold hFcγRIIIaV，係 G1d 對各 FcγR 在以 KD 為 1 時各變異體的相對結合活性之值。

【0176】

[表 8]

簡稱	導入之變異	對 hFcγRIa 之 KD (M)	對 hFcγR II aR 之 KD (M)	對 hFcγR II aH 之 KD (M)	對 hFcγR II b 之 KD (M)	對 hFcγR III aV 之 KD (M)	KD fold hFcγRI a	KD fold hFcγR II aR	KD fold hFcγR II aH	KD fold hFcγR II b	KD fold hFcγR III aV
G1d		1.6E-10	1.6E-06	8.7E-07	6.2E-06	5.1E-07	1	1	1	1	1
G1dP17	D356K+V397Y	2.6E-10	6.5E-07	4.1E-07	2.7E-06	2.5E-07	0.6	2.4	2.1	2.3	2.0
G1dN17	K439E+V397Y	1.3E-10	5.9E-07	3.9E-07	2.4E-06	2.0E-07	1.3	2.6	2.2	2.6	2.5
G1dP1	D356K	1.6E-10	1.7E-06	9.9E-07	7.0E-06	5.1E-07	1.0	0.9	0.9	0.9	1.0
G1dN1	K439E	2.5E-10	1.5E-06	9.6E-07	7.1E-06	4.5E-07	0.6	1.0	0.9	0.9	1.1
G1dP17/N17	D356K+V397Y+K439E+V397Y	1.4E-10	5.8E-07	3.7E-07	2.5E-06	2.1E-07	1.1	2.7	2.3	2.5	2.5

【0177】 與天然型比較，經過 Fab Arm Exchange 後的變異體 G1dP17/N17，對 hFcγRIa 之結合提高 1.1 倍、對 hFcγRIIaR 之結合提高 2.7 倍、對 hFcγRIIaH 之結合提高 2.3 倍、對 hFcγRIIb 之結合提高 2.5 倍、對 hFcγRIIIaV 之結合提高 2.5 倍。此處可知，導入使 CH3 定域不安定化之 V397Y 前的同聚多肽 G1dP1 及 G1dN1 對 FcγR 均與天然型相同，又導入 V397Y 的同聚多肽(G1dP17 及 G1dN17)，由於對各 FcγR 之結合被增強，因此經由 V397Y 變異使對 hFcγR 的結合被增強。

由以上之結果，顯示實現高 Fab Arm Exchange 效率之 G1dP17/N17，與天然型比較，無損於對人類 FcRn、人類 FcγR 的結合。

【0178】 [實施例 7] 培養上清液中的 Fab Arm Exchange 之檢討

以 Fab Arm Exchange 製造雙特異性抗體，預想將二種同聚多肽各別培養、精製後，進行 Fab Arm Exchange，但如培養上清液中發生反應，則省略精製同聚多肽的階段為大優點。此時於培養上清液中以二種類的同聚多肽與還原劑共同混合，驗證是否可高效率發生 Fab Arm Exchange。

【0179】 首先，分別製作 MRAH-G1d 及 H54-G1d 第 356 位胺基酸殘基取代為 E、第 358 位胺基酸殘基置換為 M 之 MRAH-G1m (序列編號 49)、H54-G1m (序列編號 50)。其次，製作對 MRAH-G1m 導入 E356K 及 K409R 之 MRAH-G1mrP1 (序列編號 51)、對 H54-G1m 導入 K439E 及 K409R 之 H54-G1mrN1 (序列編號 52)。在 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形使用

MRAL-k0 爲抗體 L 鏈，在 H54 的情形使用 L28-k0 爲抗體 L 鏈。依照參考例 1 之方法表現、精製 MRAH-G1mrP1/MRAL-k0、H54-G1mrN1/L28-k0。

【0180】 又將 FreeStyle 293 細胞（Invitrogen 公司）在 FreeStyle 293 Expression medium 中培養後，離心回收上清液，經過 0.22 μ m 濾膜過濾者做爲 Mock CM 使用於 Fab Arm Exchange。

反應條件：Mock CM（pH7.6）中，[各 mAb]=1.0 mg/mL，[2-MEA（Sigma）]=25 mM，37°C，90 分鐘。

反應後之反應溶液中添加 rProtein A Sepharose Fast Flow（GE Healthcare 公司）精製後，依照參考例 2 之方法評估反應效率（第 7 圖）。

【0181】 如第 7 圖所示可知，即使在培養上清液中，在 25 mM 2-MEA 存在下，於 37°C 下、反應 90 分鐘以 98%以上的反應效率生成雙特異性抗體。

【0182】 〔實施例 8〕小鼠 IgG1 之 Fab Arm Exchange 的開發

在目前爲止之實施例中，顯示在人類 IgG1 或人類 IgG4 效率良好地引發 Fab Arm Exchange。其次，驗證小鼠 IgG1 是否同樣可經由 Fab Arm Exchange 生成雙特異性抗體。

由已報導之結晶構造（Harris LJ et al., J. Mol. Biol. 1998; 275: 861-872），可推測 EU 編號第 399 位的 D 與第 409 位的 K 提供 CH3 定域之鏈間的相互作用（第 8 圖）。此時對該部位導入用於促進人類 IgG1 同樣異元二聚體化的電荷，驗證是否可

引發 Fab Arm Exchange。

【0183】 在抗體 H 鏈可變區域，使用 WO/2009/125825 所揭示對人類介白素 6 的受體之抗體的 H 鏈可變區域 WT (H) (序列編號 1：以下以 MRAH 記載) 及 H54 (序列編號 2)。對於此等 H 鏈可變區域，製作具有小鼠 IgG1 之 H 鏈恒定區域 MRAH-mIgG1 (序列編號 53) 及 H54-mIgG1 (序列編號 54) 作為抗體 H 鏈恒定區域。並且作為控制結合界面之變異，製作在 MRAH-mIgG1 中導入 D399K 之 MRAH-mIgG1mP3 (序列編號 55)、導入 D399R 之 MRAH-mIgG1mP4 (序列編號 56)，在 H54-mIgG1 中導入 K409D 之 H54-mIgG1mN3 (序列編號 57)、導入 K409E 之 H54-mIgG1mN4 (序列編號 58)。製作含小鼠 κ 鏈恒定區域序列的 MRAL-mk1 (序列編號 59) 及 L28-mk1 (序列編號 60) 作為 L 鏈，在 H 鏈可變區域為 MRAH 的情形使用 MRAL-mk1 為抗體 L 鏈，在 H54 的情形使用 L28-mk1 為抗體 L 鏈。依照參考例 1 的方法表現、精製：MRAH-mIgG1mP3/MRAL-mk1、MRAH-mIgG1mP4/MRAL-mk1、H54-mIgG1mN3/L28-mk1、H54-mIgG1mN4/L28-mk1。

【0184】 其次，以下之組合實施 Fab Arm Exchange。

(1) MRAH-mIgG1mP3/MRAL-mk1 與 H54-mIgG1mN3/L28-mk1

(2) MRAH-mIgG1mP4/MRAL-mk1 與 H54-mIgG1mN4/L28-mk1

反應條件：TBS (Takara, pH7.6) 中，[各 mAb]=2 mg/mL，

[2-MEA (Sigma)] = 25 mM, 37°C, 19 小時。

反應後，依照參考例 5 的方法以 CE-IEF 決定反應效率(第 9 圖)。

【0185】 其結果，確認在 MRAH-mIgG1mP3/MRAL-mk1 與 H54-mIgG1mN3/L28-mk1 反應的情形為 89.2%、在 MRAH-mIgG1mP4/MRAL-mk1 與 H54-mIgG1mN4/L28-mk1 反應的情形為 89.9%皆以高效率生成雙特異性抗體。與使用人類 IgG1 或人類 IgG4 的 Fab Arm Exchange 相比，反應效率若干下降者，預料是因為在小鼠 IgG1 的樞紐區域的雙硫鍵存在三股，較人類 IgG1 或人類 IgG4 的樞紐區域，二股重鏈更強力地結合所致 (Harris LJ et al., J. Mol. Biol. 1998; 275: 861-872)。

【0186】 [實施例 9] 以小鼠 IgG1 經 Fab Arm Exchange 所製作之雙特異性抗體對小鼠 FcγR 及小鼠 FcRn 之結合活性的評估

評估依照參考例 4-3，以小鼠 IgG 型經 Fab Arm Exchange 所製作的 2 種雙特異性抗體 (MRAH-mIgG1mP3/MRAL-mk1//H54-mIgG1mN3/L28-mk1 及 MRAH-mIgG1mP4/MRAL-mk1//H54-mIgG1mN4/L28-mk1) 對小鼠 FcγR 及小鼠 FcRn 之結合。又依照參考例 1 製作 MRAH-mIgG1/MRAL-mk1，作為比較對象來測定。測定結果如表 9 所示。

【0187】

[表 9]

簡稱	對 mFcγRI 之 KD (M)	對 mFcγR II 之 KD (M)	對 mFcγR III 之 KD (M)	對 mFcγR IV 之 KD (M)	KD fold mFcγR II	KD fold mFcγR III
mIgG1	N.D.	8.2E-07	7.9E-07	N.D.	1.0	1.0
mIgG1mP3/mN3	N.D.	6.7E-07	6.7E-07	N.D.	1.2	1.2
mIgG1mP4/mN4	N.D.	6.7E-07	6.8E-07	N.D.	1.2	1.2

【0188】 結果所有製作之二種雙特異性抗體均顯示與天然型 mIgG1 相同之結合輪廓(profile)。具體言之，在 mFcγRI 及 mFcγR IV 不結合，對 mFcγR II、及 mFcγR III，與天然型 mIgG1 相比，顯示 1.2 倍的結合活性。

【0189】 其次依照參考例 4-4 評估對 mFcRn 之結合，結果如表 10 所示。

【0190】

[表 10]

簡稱	對小鼠 FcRn 之 KD(M)	Fold KD
mIgG1	2.5E-06	1.0
mP3/mN3	2.1E-06	1.2
mP4/mN4	1.9E-06	1.3

【0191】 結果所製作之二種雙特異性抗體均對 mFcRn 顯示維持與天然型 mIgG1 同等之結合。

【0192】 [實施例 10] 細胞毒性之測定

以 Fab Arm Exchange 製作之人類 IgG 型雙特異性抗體、小鼠 IgG 型雙特異性抗體，是否可保持與以既有技法所製作的雙特異性抗體相等之機能，以測定抗人類磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 及抗人類 CD3 的雙特異性抗體之細胞毒性加以評估。首先

作為控制組，依照 Schaefer 人等所報告之 CrossMab 技術(Proc. Natl. Acad. Sci. 2011; 108: 11187-11192) 製作具人類 IgG4 恒定區域的抗人類 GPC3/抗人類 CD3 雙特異性抗體。以 CrossMab 技術所製作之主體分子為 WO/2012/073985 號公報中所記載之對人類 GPC3 之 Fab 的 VH 定域及 VL 定域之分子被取代之分子。又在抗體 H 鏈恒定區域中，為了促進異型結合，使用 Knobs-into-Holes 技術。Knobs-into-Holes 技術係將存在於一 H 鏈 CH3 區域中的胺基酸側鏈取代為較大的側鏈 (Knobs : 突起)，在存在另一 H 鏈 CH3 區域中的胺基酸側鏈取代為較小的側鏈 (hole : 空隙)，以在空隙內配置突起而促進 H 鏈之異元二聚體化，以效率地獲得目的異元二聚體化抗體的技術 (Nature, 1994; 372: 379-383)。又，作為減弱對 FcγR 之結合的變異，使用 WO/2011/108714 中所載之變異。具體言之，導入在 EU 編號第 234 位、第 235 位、第 297 位之胺基酸殘基取代為 Ala 之變異。自抗體 H 鏈 C 末端去除 EU 編號第 446 位之 Gly 及第 447 位之 Lys，對此為了使抗體表現後易於精製，在抗人類 GPC3 端 H 鏈 C 末端加入組胺酸標記 (His-tag)，在抗人類 CD3 端 H 鏈 C 末端加入 FLAG 標記 (FLAG-tag)。製作導入上述變異之抗人類 GPC3 端 H 鏈之 GC33(2)H-G4dKnHS (序列編號 61)。又製作做為抗人類 CD3 端 H 鏈之 rCE115H-G4dHLFS (序列編號 62)。抗體 L 鏈使用 GC33(2)L-k0 (序列編號 63) 作為抗人類 GPC3 端，使用 rCE115L-k0 (序列編號 64) 作為抗人類 CD3 端。這些抗體之表現依照參考例 1 在 FreeStyle293 細胞暫時性表現。獲得之培養上清液加入

MabSelect SuRe 管柱 (GE Healthcare 公司) 中，在沖洗該管柱後，進行以 50 mM 乙酸的溶出。將含有抗體之分層(fraction)加入 HisTrap HP 管柱 (GE Healthcare 公司) 或 Ni Sepharose FF 管柱 (GE Healthcare 公司) 中，在沖洗該管柱後，進行以咪唑的溶出。含抗體之分層(fraction)經過超限制過濾膜濃縮後，將濃縮液加入 Superdex 200 管柱 (GE Healthcare 公司) 中，回收僅該溶出液之單體抗體，獲得精製抗體 GPC3 ERY22-rCE115。

【0193】 其次，經由 Fab Arm Exchange 製作具有人類 IgG1 型、人類 IgG4 型、小鼠 IgG1 型之恒定區域、可變區域為抗人類 GPC3/抗人類 CD3 的雙特異性抗體。在人類 IgG1 型及人類 IgG4 型的 H 鏈恒定區域中，製作對於包含 Fab Arm Exchange 用之變異的 G1dP17、G1dN17、G1drP1、G1drN1、G4dP1、G4dN1，導入 EU 編號第 235 位胺基酸殘基取代為 Arg、第 239 位胺基酸殘基取代為 Lys 之變異做為 FcγR 結合降低變異之 F760P17、F760N17、F760G1drP1、F760G1drN1、F760G4dP1、F760G4dN1。在小鼠 IgG1 型的 H 鏈恒定區域中，製作對實施例 8 中所使用之 mIgG1mP4、mIgG1mN4 導入 EU 編號第 235 位、第 239 位之胺基酸殘基取代為 Lys 之變異作為 FcγR 結合降低變異之 mF18mP4、mF18mN4。製作可變區域使用 WO/2012/073985 號公報中所記載之抗人類 GPC3 序列之 H0000-F760N17 (序列編號 65)、H0000-F760G1drN1 (序列編號 66)、H0000-F760G4dN1 (序列編號 67)、H0000-mF18mN4 (序列編號 68)。另一方面，製作 rCE115H-F760P17 (序列編號

號 69) 、 rCE115H-F760G1drP1 (序 列 編 號 70) 、
rCE115H-F760G4dP1 (序 列 編 號 71) 、 rCE115H-mF18mP4 (序
列 編 號 72) 作 爲 人 類 CD3 端 之 H 鏈 。 作 爲 人 類 IgG1 型 及 人 類
IgG4 型 抗 體 L 鏈 ， 共 同 使 用 GL4-k0 (序 列 編 號 79) 作 爲 抗 人
類 GPC3 側 ， 使 用 rCE115L-k0 (序 列 編 號 64) 作 爲 抗 人 類 CD3
側 。 又 ， 作 爲 小 鼠 IgG1 型 抗 體 L 鏈 ， 使 用 GL4-mk1 (序 列 編
號 80) 作 爲 抗 人 類 GPC3 側 ， 使 用 rCE115L-mk1 (序 列 編 號
81) 作 爲 抗 人 類 CD3 側 。 依 照 參 考 例 1 的 方 法 表 現 、 精 製 此
等 同 聚 多 肽 ， 獲 得 ： rCE115H-F760P17/rCE115L-k0 、
H0000-F760N17/GL4-k0 、 rCE115H-F760G1drP1/rCE115L-k0 、
H0000-F760G1drN1/GL4-k0 、
rCE115H-F760G4dP1/rCE115L-k0 、
H0000-F760G4dN1/GL4-k0 、
rCE115H-mF18mP4/rCE115L-mk1 、 H0000-mF18mP4/GL4-mk1 。

【0194】 其次，將所得之同聚多肽二種類以如下所示之組合混合，發生 FAE 反應。

- (1) rCE115H-F760P17/rCE115L-k0 與
H0000-F760N17/GL4-k0
- (2) rCE115H-F760G1drP1/rCE115L-k0 與
H0000-F760G1drN1/GL4-k0
- (3) rCE115H-F760G4dP1/rCE115L-k0 與
H0000-F760G4dN1/GL4-k0
- (4) rCE115H-mF18mP4/rCE115L-mk1 與
H0000-mF18mP4/GL4-mk1

反應條件：TBS(Takara, pH7.6)中，[各 mAb]=0.36 mg/mL，
[2-MEA (Sigma)]=25 mM，37℃，18 小時。

反應後之產物經過 PBS 透析，用以評估細胞毒性。

細胞毒性之評量係以參考例 6 中所載之方法實施。結果如
第 10-1 圖、第 10-2 圖所示。

【0195】 如第 10-1 圖所示，以 Fab Arm Exchange 製作之人類 IgG1 型及人類 IgG4 型的雙特異性抗體均顯示與以既有之雙特異性抗體製作技術所製作的控制組抗體 (GPC3 ERY22-rCE115) 之相等細胞毒性。又如第 10-2 圖所示，以 Fab Arm Exchange 製作之小鼠 IgG 型雙特異性抗體亦顯示與以既有之雙特異性抗體製作技術所製作的控制組抗體 (GPC3 ERY22-rCE115) 之相等細胞毒性。

【0196】 [實施例 11] 正常小鼠之 PK 試驗

(11-1) 使用正常小鼠之體內(in vivo)試驗

對於以 Fab Arm Exchange 所製作之人類 IgG 型及小鼠 IgG 型之抗體是否與以既有技法所製作的抗體顯示同等的血中濃度變化，使用正常小鼠以體內(in vivo)試驗評估。

作為人類 IgG 型抗體，以人類 IgG 型 Fab Arm Exchange 製作 3 種抗人類磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3/抗人類 CD3 雙特異性抗體：TR-G1drP1/N1、TR-G1dP17/N17、TR-G4dP1/N1。又做為控制組抗體，可變區域與上述相同具有抗人類磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3/抗人類 CD3，作為恒定區域，使用對於 MRAH-G1d (序列編號 3) 的 EU 編號第 118 位之 Ala 開始的恒定區域 G1d 及 MRAH-wtG4d (序列編號 5) 之 EU 編號第 118 位之 Ala 開

始的恒定區域 wtG4d 而且將第 228 位之胺基酸殘基由 Ser 取代為 Pro 的 IgG1 型樞紐之 G4d，導入 Knobs-into-Holes 變異（Nature, 1994: 372: 379-383）所製作之雙特異性抗體 TR-G1dKiH、TR-G4dKiH。此處恒定區域名 G1dKiH 及 G4dKiH，表示對恒定區域 G1d 或 G4d 導入 Knob 變異（第 349 位胺基酸殘基取代為 Cys、第 366 位胺基酸殘基取代為 Trp 之變異）之 Knob 鏈，及對 G1d 或 G4d 導入 Hole 變異（第 356 位胺基酸殘基取代為 Cys、第 366 位胺基酸殘基取代為 Ser、第 368 位胺基酸殘基取代為 Ala、第 407 位胺基酸殘基取代為 Val 之變異）之 Hole 鏈，以各 Knob 鏈與 Hole 鏈組合表現的恒定區域。

【0197】 另一方面，製作對於作為小鼠 IgG 型抗體，係具有 WO/2009/125825 中所載之抗人類 IL-6 受體的抗體之 H 鏈可變區域的 H237 序列、恒定區域為天然型 mIgG1 序列的 H237-mIgG1（序列編號 73），導入 Fab Arm Exchange 用變異之 H237-mIgG1mP3（序列編號 74）、H237-mIgG1mN3（序列編號 75）、H237-mIgG1mP4（序列編號 76）、H237-mIgG1mN4（序列編號 77）。抗體 L 鏈係使用抗人類 IL-6 受體 L 鏈可變區域之 L104 序列之由此等與小鼠 κ 鏈恒定區域的 mk1 所構成的 L104-mk1（序列編號：78）。依照考例 1 之方法表現，獲得 H237-mIgG1mP3/L104-mk1、H237-mIgG1mN3/L104-mk1、H237-mIgG1mP4/L104-mk1、H237-mIgG1mN4/L104-mk1。使用所得之同聚多肽進行 Fab Arm Exchange，獲得 SA-mIgG1mP3/mN3（H237-mIgG1mP3/L104-mk1 與 H237-mIgG1mN3/L104-mk1 之組合）、SA-mIgG1mP4/mN4

(H237-mIgG1mP4/L104-mk1 與 H237-mIgG1mN4/L104-mk1 之組合)。又控制組抗體使用以 H237-mIgG1 及 L104-mk1 所表現的 SA-mIgG1。

【0198】 Fab Arm Exchange 皆以下述反應條件進行，反應後經過 PBS 透析使用於體內(in vivo)試驗。

反應條件：TBS (Takara , pH7.6) 中，[各 mAb]=0.225 mg/mL，[2-MEA (Sigma)]=25 mM，37℃，17 小時。

【0199】 對正常小鼠 (C57BL/6J mouse , Charles River 日本公司)，投予人類 IgG 型抗人類磷脂醯肌醇蛋白聚醣-3/抗人類 CD3 雙特異性抗體 (TR-G1dKiH、TR-G1drP1/N1、TR-G1dP17/N17、TR-G4dKiH、TR-G4dP1/N1)、抗人類 IL-6 受體的小鼠抗體 (SA-mIgG1、SA-mIgG1mP3/mN3 及 SA-mIgG1mP4/mN4) 後，評估各抗體之體內動態。抗體係調製為 0.1 mg/mL 以 10 mL/kg 投予尾靜脈。在投予抗體後經過 5 分鐘、2 小時、1 日、2 日、3 日、7 日、14 日、21 日、28 日後，由該小鼠進行採血。所採取之血液立即以 4℃、15,000 rpm 離心 15 分鐘分離，得到血漿。分離之血漿，至實施測定為止，保存於設定為 -20℃ 以下之冷凍庫中。

【0200】 (11-2) 以 ECLIA 法測定血漿中雙特異性抗體濃度
小鼠血漿中的雙特異性抗體之濃度以 ECLIA 法測定。首先，將可溶型人類磷脂醯肌醇蛋白聚醣-3 分注於 MULTI-ARRAY 96 孔盤 (Meso Scale Discovery 公司)，於 4℃ 下經過靜置 1 晚，製成可溶型人類磷脂醯肌醇蛋白聚醣-3 固相化盤。調製血漿中所含雙特異性抗體之濃度為 200、100、50、

25、12.5、6.25、3.125 ng/mL 的標準曲線試樣與稀釋 100 倍以上的小鼠血漿測定試樣。這些標準曲線試樣及血漿測定試樣 100 μ L 分注於各孔的可溶型人類磷脂醯肌醇蛋白聚醣-3 固相化盤在室溫下攪拌 2 小時。接著，以對抗人類 CD3 抗體的兔子型個體基因型 (idiotype) 抗體在室溫下攪拌 1 小時。然後，以 Anti-Rabbit IgG-Sulfotag antibody (Meso Scale Discovery 公司) 在室溫下反應 1 小時，添加 Read Buffer T (Meso Scale Discovery 公司) 後，以 SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery 公司) 測定發光。小鼠血漿中的抗體濃度使用解析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices 公司) 根據標準曲線之發光訊號計算。其結果如第 11 圖所示。PK 參數係如表 11 所示。由第 11 圖及表 11 所示之結果可知，以人類 IgG 型 Fab Arm Exchange 製作之雙特異性抗體均顯示與以既有之雙特異性抗體製作技術 Knobs-into-Holes 技術所製作的控制組抗體有同等的血中濃度變化。

【0201】

[表 11]

簡稱	t _{1/2} (日)	CL (mL/日/kg)	Vss (mL/kg)
TR-G1dKiH	17	3.49	84.5
TR-G1drP1/N1	15.3	3.98	83.5
TR-G1dP17/N17	16.9	3.05	71.5
TR-G4dKiH	19.5	3.05	84.9
TR-G4dP1/N1	23.7	2.22	73.5

【0202】 (11-3) 以 ELISA 法測定血漿中抗人類 IL-6 受體的小鼠抗體濃度

小鼠血漿中的抗人類 IL-6 受體之小鼠抗體濃度以 ELISA

法測定。首先，將可溶型人類 IL-6 受體分注於 Nunc-Immuno Plate，MaxiSoup（Nalge Nunc International 公司）中，並在 4℃ 下靜置 1 晚製作可溶型人類 IL-6 受體固相化盤。調製含血漿中濃度為 2.50、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078、0.039 $\mu\text{g/mL}$ 之抗人類 IL-6 受體之小鼠抗體的標準曲線試樣及稀釋 100 倍以上的小鼠血漿測定試樣。將這些標準曲線試樣及血漿測定試樣 100 μL 分注於各孔之可溶型人類 IL-6 受體固相化微量盤在室溫下攪拌 2 小時。其後使用抗小鼠 IgG-過氧化酶抗體（SIGMA 公司）在室溫下反應 2 小時的反應液之顯色反應以 TMB One Component HRP Microwell Substrate（BioFX Laboratories 公司）做為基質進行。添加 1N-硫酸（Showa Chemical 公司）使反應停止，以微盤分析儀測定各孔之反應液對 450 nm 之吸光度。小鼠血漿中之抗體濃度係由標準曲線之吸光度以解析軟體 SOFTmax PRO（Molecular Devices 公司）計算。結果如第 12 圖所示，其抗體參數係如表 12 所示。由第 12 圖及表 12 所示之結果可知，小鼠 IgG 型 Fab Arm Exchange 製作之抗體，明顯與具有天然型 mIgG1 序列的控制組抗體，顯示同等的血中濃度變化。

【0203】

[表 12]

簡稱	$t_{1/2}$ (日)	CL (mL/日/kg)	Vss (mL/kg)
SA-mIgG1	12.8	5.13	98.7
mIgG1mP3/mN3	16.6	3.7	86.7
mIgG1mP4/mN4	21.9	3.47	104

【0204】〔參考例 1〕抗體之表現載體的製作及抗體的表現

及精製

編碼抗體 H 鏈及 L 鏈的鹼基序列的全長基因之合成，係使用 Assemble PCR 等，以本領域技術人士公知的方法製作。胺基酸的導入使用 PCR 等本本領域技術人士公知的方法製作。所得的質體片段插入動物細胞的表現載體中，製作成 H 鏈表現載體及 L 鏈表現載體。所製得的表現載體之鹼基序列以本領域技術人士公知的方法確定。將所製作之質體，暫時性導入人類胚胎腎臟癌細胞由來之 HEK293H 株（Invitrogen 公司）、或 FreeStyle 293 細胞（Invitrogen 公司），進行抗體表現。回收所獲得之培養上清液後，通過 0.22 μm 濾膜 MILLEX(R)-GV（Millipore 公司）、或 0.45 μm 濾膜 MILLEX(R)-GV（Millipore 公司），獲得培養上清液。從所得之培養上清液，使用 rProtein A Sepharose Fast Flow（GE Healthcare 公司）或 Protein G Sepharose 4 Fast Flow（GE Healthcare 公司），以本本領域技術人士公知的方法，精製抗體。精製抗體的濃度，使用分光光度計測定 280nm 之吸光度，所得之值以 PACE 等之方法所計算的吸光係數，計算出抗體濃度（Protein Science, 1995; 4: 2411-2423）。

【0205】 [參考例 2] 以離子交換層析法之雙特異性抗體生成率之評估

在使用 Priminence UFLC（島津製作所公司）之離子交換層析法的精製法中，評估各試樣的分離。移動相使用 25 mM MES 緩衝液、pH5.0 及含 500 mM 氯化鈉的 25 mM MES 緩衝液、pH5.0，管柱使用 ProPac WCX-10（Thermo Scientific 公

司)，再以 2 液混合梯度法分離雙特異性抗體。以 215 nm 波長實施數據的取得，使用 Empower 2 (Waters 公司) 評估溶出的結果。

雙特異性抗體生成率(%)，係將雙特異性抗體之面積值除以存在系統中之總抗體的面積值，再乘以 100 之值。在單方同聚多肽之回收率不佳時，則以另一方同聚多肽之面積的 2 倍值與雙特異性抗體之面積值相加的值作為總抗體之面積值來計算。

【0206】 [參考例 3] T_m 之測定

CH3 定域之 T_m 的測定，使用 Rotor-gene Q (QIAGEN 公司) 以本領域技術人士公知方法進行。即將抗體濃度 0.1 mg/mL、SYPRO orange 濃度 10× 濃度混合之試樣由 30 度昇溫至 99 度，每 0.4 度測定螢光強度 (激發波長 470 nm，螢光波長 555 nm)。測定在 PBS (Sigma 公司，pH7.4) 中進行。分析使用 Rotor-gene Q series software 進行，以螢光強度的一次微分所求出的彎曲點為 T_m。MRAH 之 T_m 係利用 CH2 為 70℃ 附近、Fab 為 95℃ 附近，求出 CH3 定域之 T_m，H54 之 T_m 係利用 CH2 為 70℃ 附近、Fab 為 90℃ 附近求出 CH3 定域之 T_m。

【0207】 [參考例 4] SPR 之相互作用之分析

(4-1) FcγR 之調製方法及變異抗體與 FcγR 相互作用之解析方法

FcγR 之細胞外定域以下述方法調製。首先以本領域技術人士公知方法實施 FcγR 細胞外定域基因之合成。此時，各 FcγR 序列係依據 NCBI 中所登錄之資料製作。具體地，對於 FcγRI

係依據 NCBI 登錄編號 NM_000566.3 之序列，對於 FcγR II a 係依據 NCBI 登錄編號 NM_001136219.1 之序列，FcγR II b 係依據 NCBI 登錄編號 NM_004001.3 之序列，FcγR III a 係依據 NCBI 登錄編號 NM_001127593.1 之序列，FcγR III b 係依據 NCBI 登錄編號 NM_000570.3 之序列製作，在 C 末端上加上 His 標記。又 FcγR II a、FcγR III a、FcγR III b 已知為多型，對於多型部位，在 FcγR II a 可以參考 J. Exp. Med., 1990; 172: 19-25，在 FcγR III a 可以 J. Clin. Invest. 1997; 100(5): 1059-1070，在 FcγR III b 可以 J. Clin. Invest. 1989; 84: 1688-1691 來製作。

【0208】 所得的基因片段插入動物細胞表現載體中，製成表現載體。所製作的表現載體，暫時性地導入人類胚胎腎臟癌細胞由來之 FreeStyle 293 細胞（Invitrogen 公司），表現目的蛋白質。進行培養，回收所得之培養上清液後，通過 0.22 μm 濾膜，獲得培養上清液。所得之培養上清液原則上以下四步驟精製。第 1 步驟實施陽離子交換管柱層析（SP Sepharose FF）、第 2 步驟為對 His 標記之親和管柱層析（HisTrap HP）、第 3 步驟為膠體過濾層析（Superdex 200）、第 4 步驟為無菌過濾。但，對於 FcγRI，第 1 步驟係使用 Q Sepharose FF 實施陰離子交換管柱層析。精製之蛋白質使用分光光度計測定 280 nm 下之吸光度，所得之值以 PACE 等之方法所計算的吸光係數，計算精製蛋白質之濃度（Protein Science 1995: 4: 2411-2423）。

【0209】 使用 Biacore T100（GE Healthcare 公司）、Biacore T200（GE Healthcare 公司）、Biacore A100、Biacore 4000，進行各變異抗體與上述調製之 Fcγ 受體的相互作用解析。作為移

動緩衝液(running buffer)，使用 HBS-EP+ (GE Healthcare 公司)，測定溫度為 25℃。使用在 Series S Sensor Chip CM5 (GE Healthcare 公司) 或 Series S Sensor Chip CM4 (GE Healthcare 公司) 上以胺偶合法固定抗原胜肽、蛋白 A (Thermo Scientific 公司)、蛋白 A/G (Thermo Scientific 公司)、蛋白 L (ACTIGEN 或 BioVision 公司) 的晶片，或對 Series S Sensor Chip SA (certified) (GE Healthcare 公司) 預先生物素(biotin)化之抗原胜肽相互作用、固定之晶片。

【0210】 在這些感測晶片上捕獲目的抗體，與移動緩衝液稀釋的 Fc γ 受體相互作用，測定對抗體之結合量，進行抗體間的比較。但是，Fc γ 受體之結合量係依賴於捕獲的抗體量，因此比較 Fc γ 受體的結合量除以各抗體捕獲量之修正值。又，與 10 mM 甘胺酸-HCl 在 pH1.5 反應，洗淨感測晶片上所捕獲的抗體，使感測晶片再生而重複使用。

【0211】 又，爲了計算各變異抗體對 Fc γ R 的 KD 值，速度原理的分析依照以下的方法實施。首先，捕獲上述感測晶片上的目的抗體，與移動緩衝液稀釋的 Fc γ 受體相互作用，對所獲得的感應圖以 Biacore Evaluation Software 整合調整 (global fitting) 所測定之結果爲 1 : 1 之 Langmuir binding model，計算結合速度常數 ka (L/mol/s)、解離速度常數 kd (1/s)，由該值計算解離常數 KD (mol/L)。

【0212】 (4-2) FcRn 之調製方法及變異抗體與 FcRn 相互作用之解析方法

FcRn 係 FcRn 與 β 2 型微球蛋白的複合體。依照已公開之

人類 FcRn 基因序列調製寡 DNA 基因庫(J. Exp. Med. 1994, Dec. 1; 180(6): 2377-81)。編碼全基因之 DNA 片段係使用所調製之基因庫及作為模版的人類 cDNA (Human Placenta Marathon-Ready cDNA, Clontech 公司) 以 PCR 調製。所得之 DNA 片段為模版，編碼含訊息區域 (Met1 至 Leu290) 的細胞外定域之 DNA 片段經 PCR 擴增，插入哺乳動物細胞的表現載體。同樣地，依照已公開之人類 $\beta 2$ 型微球蛋白基因序列 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 99(26): 16899-16903 (2002)) 調製寡 DNA 基因庫。編碼全基因之 DNA 片段係使用所調製之基因庫及作為模版之人類 cDNA (Human Placenta Marathon-Ready cDNA, Clontech 公司)，以 PCR 調製。使用所獲得之 DNA 片段為模版，將編碼含訊息區域 (Met1 至 Met119) 的全蛋白質之 DNA 片段以 PCR 擴增，插入哺乳動物細胞的表現載體。

【0213】可溶型人類 FcRn 以下述順序表現。以表現人類 FcRn (序列編號：30) 及 $\beta 2$ 型微球蛋白 (序列編號：31) 所建構之質體，使用 PEI (Polyscience 公司) 的脂質體轉染法，導入人類胚胎腎臟癌細胞由來之 HEK293H 株 (Invitrogen 公司) 細胞。回收所得的培養上清液，使用 IgG Sepharose 6 Fast Flow (Amersham Biosciences 公司) 精製後再使用 HiTrap Q HP (GE Healthcare 公司) (J. Immunol. 2002, Nov. 1; 169(9): 5171-80) 進一步地精製 FcRn。

作為使用 Biacore 之評估抗體與 FcRn 相互作用之測定系統，已報導有 J. Immunol. 2009; 182(12): 7663-71 所記載在感測晶片上固定化抗體的人類 FcRn 作為分析物之系統。為了該

目的，如參考例 4 所載調製人類 FeRn。使用本系統，進行在 pH6.0 及 pH7.4 的 Fv4-IgG1、Fv4-IgG1-v1 及 Fv4-IgG1-v2 對人類 FeRn 結合活性（解離常數 K_D ）的評估。試驗物之抗體直接固定在 Series S 感測晶片 CM5 上提供試驗。對感測晶片的抗體之固定化，使用 50 mmol/L 磷酸鈉/150 mmol/L NaCl、0.05%（v/v%）界面活性劑 P20、pH6.0 作為移動緩衝液，使用胺偶合套組依照製造廠之操作書以固定化量 500 RU 為標準實施。

【0214】 移動緩衝液係使用 50 mmol/L 磷酸鈉/150 mmol/L NaCl、0.05%界面活性劑 P20、pH6.0，或以 50 mmol/L 磷酸鈉/150 mmol/L NaCl、0.05%界面活性劑 P20，pH7.4，使用製成之感測晶片進行實施。測定全部在 25℃ 下進行。人類 FcRn 稀釋液與移動緩衝液（作為對照溶液）以流速 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 注入 10 分鐘，使感測晶片上的抗體與人類 FcRn 相互作用。之後以流速 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 流入移動緩衝液 1 分鐘，觀察 FcRn 的解離後，以流速 30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 注入 20 mmol/L Tris-HCl/150 mmol/L NaCl、pH8.1、15 秒，重複兩次，使感測晶片再生。

【0215】 又，用於計算各變異體對 FcRn 之 K_D 值之速度理論的解析，係依照以下方法實施。首先，在上述感測晶片上捕獲目的抗體，使移動緩衝液稀釋的 FcRn 相互作用，對所獲得的感應圖以 Biacore Evaluation Software 整合調整，所測定之結果為 1:1 之 Langmuir binding model，計算結合速度常數 k_a （ $\text{L}/\text{mol}/\text{s}$ ）、解離速度常數 k_d （ $1/\text{s}$ ），由該值計算解離常數 K_D （ mol/L ）。

【0216】 (4-3) mFcγR 之調製方法及變異抗體與 mFcγR 相互作用之解析方法

小鼠 FcγR 之細胞外定域係以下述方法調製。首先 FcγR 細胞外定域基因之合成係以本領域技術人士公知方法實施。此時，各 FcγR 序列係依據在 NCBI 中登錄之資料製作。具體地，mFcγRI 係依據 NCBI 參考序列：NP_034316.1，mFcγR II 以 NCBI 參考序列：NP_034317.1，mFcγR III 以 NCBI 參考序列：NP_034318.2，mFcγIV 以 NCBI 參考序列：NP_653142.2 之序列製作，於 C 末端加上 His 標記。

【0217】 將所得的基因片段插入動物細胞的表現載體中，製作成表現載體。所製作的表現載體，暫時性地導入人類胚胎腎臟癌細胞由來之 FreeStyle 293 細胞 (Invitrogen 公司)，以表現目的蛋白質。在回收獲得之培養上清液後，通過 0.22 μm 濾膜可製得培養上清液。所得之培養上清液原則上以下四步驟精製。第 1 步驟實施離子交換管柱層析法、第 2 步驟為對 His 標記之親和管柱層析法 (HisTrap HP)、第 3 步驟為膠體管柱層析法 (Superdex 200)、第 4 步驟為無菌過濾。第 1 步驟之離子交換管柱層析法，mFcγRI 係使用 Q Sepharose HP，mFcγR II 及 mFcγIV 係使用 SP Sepharose FF，mFcγR III 係使用 SP Sepharose HP。又在第 3 步驟以後所使用之溶劑為 D-PBS(-)，但在 mFcγR III 使用含 0.1 M 精胺酸之 D-PBS(-)。精製之蛋白質使用分光光度計測定 280 nm 下之吸光度，所得之值以 PACE 等之方法所計算的吸光係數計算精製蛋白質之濃度 (Protein Science 1995; 4: 2411-2423)。

【0218】 使用 Biacore T100 (GE Healthcare 公司)、Biacore T200 (GE Healthcare 公司)、Biacore A100、Biacore 4000，進行各變異抗體與上述中調製之 $Fc\gamma$ 受體的相互作用之解析。移動緩衝液係使用 HBS-EP+ (GE Healthcare 公司)，測定溫度為 25°C 。使用於 Series S Sensor Chip CM5 (GE Healthcare 公司) 或 Series S Sensor Chip CM4 (GE Healthcare 公司) 上以胺偶合法固定抗原胜肽、蛋白 A (Thermo Scientific 公司)、蛋白 A/G (Thermo Scientific 公司)、蛋白 L (ACTIGEN 或 BioVision 公司) 的晶片，或對 Series S Sensor Chip SA (certified) (GE Healthcare 公司) 以預先生物素化之抗原胜肽相互作用而固定之晶片。

【0219】 在這些感測晶片上捕獲目的抗體，使與移動緩衝液稀釋的 $mFc\gamma R$ 相互作用，測定對抗體之結合量，進行抗體間的比較。但是， $mFc\gamma R$ 之結合量係依賴捕獲之抗體量，因此比較 $mFc\gamma R$ 的結合量除以各抗體之捕獲量之修正值。又，與 10 mM 甘胺酸-HCl、pH1.5 反應，洗淨感測晶片上所捕獲的抗體，使感測晶片再生而重複使用。

【0220】 又，用於計算各變異抗體對 $Fc\gamma R$ 的 KD 值之速度原理解析依照以下方法實施。首先，在上述感測晶片上捕獲目的抗體，與以移動緩衝液稀釋的 $mFc\gamma R$ 相互作用，所獲得的感應圖以 Biacore Evaluation Software 整合調整測定之結果為 1 : 1 之 Langmuir binding model，計算結合速度常數 k_a (L/mol/s)、解離速度常數 k_d ($1/\text{s}$)，由該值計算解離常數 KD (mol/L)。

【0221】 (4-4) mFcRn 之調製方法及變異抗體與 mFcRn 相互作用之解析方法

使用 Biacore T100、Biacore T200、Biacore A100、Biacore 4000 (GE Healthcare 公司)，進行小鼠 FcRn 與抗體之速度原理解析。在感測晶片 CM4 (GE Healthcare 公司) 上以胺偶合法固定適當量之蛋白 L (ACTIGEN 公司)，在其上捕獲目的抗體。其次，注入 FcRn 稀釋液與移動緩衝液 (作為對照溶液)，使感測晶片上捕獲之抗體與小鼠 FcRn 相互作用。移動緩衝液係使用 50 mmol/L 磷酸鈉、150 mmol/L NaCl、0.05% (w/v) Tween 20、pH6.0，FcRn 的稀釋使用各緩衝液。晶片之再生係使用 10 mmol/L 甘胺酸-HCl、pH1.5。測定均在 25℃ 下實施。由測定所得之感測圖，計算動態常數的結合速度常數 k_a (L/Ms)、及解離速度常數 k_d (1/s)，依據該值計算各抗體對小鼠 FcRn 的 KD (M)。各常數之計算係使用 Biacore Evaluation Software (GE Healthcare 公司)。

【0222】 [參考例 5] CE-IEF

CE-IEF 之測定，係使用 PA800 Plus (Beckman Coulter 公司) 同業公知方法進行。兩性電解質 (Pharmalyte) 係廣範圍地以 5 至 8 及 8 至 10.5 等量混合，以 pI range 5 至 10.5 進行分析。使用 4 mg/mL 之抗體溶液分析，結果以 32 karat software (Beckman Coulter 公司) 解析。雙特異性抗體生成率 (%) 使用雙特異性抗體之面積值除以系統中存在的總抗體面積值，再乘以 100 之值。

【0223】 [參考例 6] 細胞毒性之測定

(6-1) 人類週邊血單核淋巴球 (PBMC) 溶液之調製

使用預先加入 100 μ L 之 1,000 單位/mL 肝抗血凝素 (heparin) 溶液 (Novo Heparin 注 5 千單位 , Novo Nordisk 公司) 的注射器 , 由健康之志願者 (成人) 末梢採血 50 mL 。 以 PBS (-) 稀釋 2 倍後 4 等分的末梢血 , 加入預先加入 15 mL 之 Ficoll-Paque PLUS 進行離心操作之 Leucosep 淋巴球分離管 (Cat. No.227290 , Greiner Bio-one 公司) 。 在該分離管離心分離 (2,150 rpm , 10 分鐘 , 室溫) 後 , 分取單核淋巴球分層 (fraction) 。 以含 10%FBS 之 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (SIGMA 公司 , 以下稱為 10%FBS/D-MEM) 洗淨單核淋巴球分層之細胞 1 次後 , 該細胞以 10%FBS/D-MEM 調製其細胞密度為 4×10^6 /mL 。 如此調製之細胞溶液作為人類 PBMC 溶液 , 提供之後試驗使用。

【0224】 (6-2) 細胞毒性之測定

細胞毒性使用 xCELLigence 同步細胞影像分析儀 (Roche Diagnostics 日本公司) 評估細胞增殖抑制率。標的細胞使用以 SK-HEP-1 細胞株強制表現人類 GPC3 建構之 SK-pca13a 細胞株。將 SK-pca13a 細胞株由培養盤剝離 , 以形成 1×10^4 cells/well 以 100 μ L/well 播種於 E-Plate 96 (Roche Diagnostics 日本公司) 微量盤 , 使用 xCELLigence 同步細胞影像分析儀開始測定活細胞。次日 , 自 xCELLigence 同步細胞影像分析儀取出微量盤 , 並在該微量盤中添加 50 μ L 以調為各種濃度 (0.004 、 0.04 、 0.4 、 4 μ g/mL) 之各種抗體。於室溫下反應 15 分鐘之後加入 (6-1) 中所調製之人類 PBMC 溶液 50 μ L (2×10^4 cells/well) , 將該微

量盤裝入 xCELLigence 同步細胞影像分析儀中，開始測定活細胞。反應在 5%二氧化碳氣體、37℃ 條件下進行，以添加人類 PBMC 經 72 小時後之 Cell Index 值，以下式求出細胞增殖抑制率（%）。又計算中所使用之 Cell Index 值，使用以抗體添加時刻前之 Cell Index 值為 1 而予以標準化之後的數值。

$$\text{細胞增生抑制率（\%）} = (A - B) \times 100 / (A - 1)$$

A 表示未添加抗體之孔中 Cell Index 值的平均值（僅標的細胞與人類 PBMC），B 為各孔中 Cell Index 值之平均值。

產業上利用之可能性

【0225】 根據本發明之方法，可在還原條件下，以較先前技術更高之效率製作雙特異性抗體。

【符號說明】

無。

【 序 列 表 】

<110> 中外製藥股份有限公司
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> 多胜肽異種多聚體之製造方法

<130> C1-A1307-TW

<150> JP 2013-200845
<151> 2013-09-27

<160> 81

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 2

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110



Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 4
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 4

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 5
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 5

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440

<210> 6
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 6

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440

<210> 7
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 7

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 8
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 8

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 9
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 10
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成序列

<400> 10

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 11
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440

<210> 12
<211> 444

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 12

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440

<210> 13
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 13

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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



Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

- <210> 14
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成序列

<400> 14

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 15
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 16
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 17
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 17

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 18
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成序列

<400> 18

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 19
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 19

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 20
<211> 447

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 20

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
			245						250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
		260						265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
	275					280						285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
			325					330					335			.
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
			340				345						350			

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 21
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 21

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 22
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 22

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 23
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 23

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 24
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 24

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
130						135					140				
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145					150					155					160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165					170					175	
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
			180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
		195					200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
	210					215					220				
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
225					230					235					240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
			245						250					255	
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
		260						265					270		
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
	275					280						285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
	290					295					300				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305					310					315					320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 25
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

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

Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
225					230					235					240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
				245					250					255	
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
			260					265						270	
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
			275				280					285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
			290			295					300				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305					310					315					320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
				325					330					335	
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
			340					345						350	
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
			355				360					365			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
			370			375					380				
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
385					390					395					400
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asp	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
				405					410					415	

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 26
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 26

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 27
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 28
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 28

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala	Arg	Ser	Leu	Ala	Arg	Thr	Thr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Glu	Gly	
			100					105					110			
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		115					120					125				
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
			260					265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		275					280					285				

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

- <210> 29
- <211> 447
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工合成序列

<400> 29

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 30
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 30

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 31
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 31

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

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 32
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 32

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 33
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 33

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 34
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 34

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 35
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 35

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 36
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 36

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Glu Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 37
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 37

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320



Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Phe Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 38
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 38

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Tyr Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 39
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 39

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 40
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 40



Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Val Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 41
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 41

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala	Arg	Ser	Leu	Ala	Arg	Thr	Thr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			
Ser	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		115					120					125				
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
			245						250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
		260						265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
	275					280						285				

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Ile Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 42
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成序列

<400> 42

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 43
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 43

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80



Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Glu Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 44
<211> 447

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 44

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Phe Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 45
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 45

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Tyr Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 46
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 46

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 47
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 47

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Val Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 48
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 48

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Ile Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 49
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 49

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 50
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 50

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		115					120					125				
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
			245						250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
		260						265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
	275					280						285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 51
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 51

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 52
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 52

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 53
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 53

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 54
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 54

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 55
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 55

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

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 56
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 56

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Arg Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 57
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 57

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

- <210> 58
- <211> 443
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工合成序列
- <400> 58

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45



Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Glu Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 59
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 60
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 61
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 61

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

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys
115 120 125

Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190

Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu His His His His His His His His
435 440 445

<210> 62
<211> 455
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 62

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Asp
435 440 445

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 63
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 63

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 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
130 135 140

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
145 150 155 160

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
165 170 175

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
180 185 190

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
195 200 205

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 64
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 64

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Val Ser Met Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gly Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Ile Gln Lys Pro Ser Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ile Ser
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 Pro Asp Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu 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> 65
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 65

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 Leu Arg Gly Gly Pro Lys 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 Asn 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 Tyr 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 66
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 66

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	Leu	Arg	Gly	Gly	Pro	Lys	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 Asn 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 Arg 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 67
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 67

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro
225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430

Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440

<210> 68
<211> 439
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 68

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 Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser
145 150 155 160

Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu
165 170 175

Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser
180 185 190

Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys
210 215 220

Thr Val Lys Glu Val Ser Lys Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp
260 265 270

Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe
275 280 285

Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys
325 330 335

Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys
340 345 350

Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp
355 360 365

Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys
370 375 380

Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser
385 390 395 400

Glu Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr
405 410 415

Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser
420 425 430

Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435

- <210> 69
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 69

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg
225 230 235 240

Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Tyr Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 70
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg
225 230 235 240

Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 71
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440 445

<210> 72
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro
115 120 125

Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met
130 135 140

Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His
195 200 205



Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys
210 215 220

Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Lys Glu Val Ser Lys Val Phe
225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro
245 250 255

Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
275 280 285

Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu
290 295 300

Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320

Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro
340 345 350

Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
355 360 365

Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Arg Thr Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
405 410 415

Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
420 425 430

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 73
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 73

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110



Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 74
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 74

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 75
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 75

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 76
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成序列

<400> 76

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Arg Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 77
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 77

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Glu Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 78
<211> 214

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 78

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 79
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 79

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

5

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> 80
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 80

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 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205



Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 81
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 81

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Val Ser Met Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gly Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Ile Gln Lys Pro Ser Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ile Ser
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 Pro Asp Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

申請專利範圍

1. 一種異種多聚體之製造方法，其包含：

- a) 提供具有第 1 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 1 多胜肽的同聚多肽之階段，
 - b) 提供具有與該第 1 抗原結合活性相異的第 2 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，
 - c) 在可使樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵異構化之還原條件下，共同溫育該第 1 多胜肽之同聚多肽及該第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，以及
 - d) 獲得含該第 1 及第 2 多胜肽的異種多聚體之階段，
- 在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所含之 CH3 區域中，具有與選自：

- (1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、
- (2) EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基、及
- (3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基

所示之胺基酸殘基之組的 1 組至 3 組的胺基酸殘基同類之電荷；

在前述第 1 多胜肽的 CH3 區域及前述第 2 多胜肽的 CH3 區域雙方中，在前述 (1) 至 (3) 所示之胺基酸殘基的組中同組之胺基酸殘基各具有同類之電荷時，前述第 2 多胜肽的 CH3 區域中的該組胺基酸殘基，具有與前述第 1 多胜肽的 CH3 區域中該組胺基酸殘基相反之電荷，且在該第 1 及第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位的胺基酸變異，且該 EU 編號第 397 位變異為 Met (M)、Phe (F) 或 Tyr (Y)。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中在如申請專利範圍第 1 項所述之階段 a) 中，包含提供與第 1 多胜肽形成多聚體之第 3 多胜肽之階段，且在階段 b) 中，包含提供與第 2 多胜肽形成多聚體之第 4 多胜肽之階段。
3. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中前述具有同類電荷的胺基酸殘基，係選自下列 (A) 或 (B) 任一群所含的 1 個以上之胺基酸殘基：
(A) 麩胺酸 (E)、天冬胺酸 (D)；
(B) 離胺酸 (K)、精胺酸 (R)、組胺酸 (H)。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中在該第 1 及第 2 多胜肽中，各自具有同類電荷的胺基酸殘基之組，係下列 (1) 至 (4) 任一組之胺基酸殘基之組：
(1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、
(2) EU 編號第 357 位及第 370 位的胺基酸殘基、
(3) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基、
(4) (i) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基、以及
(ii) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基。
5. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中在該第 1 及第 2 多胜肽中，各自具有同類電荷的胺基酸殘基之組，係下列之組的胺基酸殘基之組：
(i) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基、及
(ii) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基。
6. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中在該第 1 及/或第 2 多胜肽中，使胺基酸變異以使該第 1 及/或第 2 多胜

肽的 CH3 區域之安定性變為不安定。

7. 如申請專利範圍第 6 項所述之製造方法，其中在該第 1 及第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位的胺基酸變異。
8. 如申請專利範圍第 6 項所述之製造方法，其中在該第 1 及第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 392 位的胺基酸變異。
9. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域為 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 型。
10. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域為來自於小鼠的 Fc 區域。
11. 如申請專利範圍第 10 項所述之製造方法，其中在前述第 1 及/或第 2 多胜肽的 Fc 區域所包含之 CH3 區域中，具有與選自：
 - (1) EU 編號第 356 位及第 439 位的胺基酸殘基、及
 - (2) EU 編號第 399 位及第 409 位的胺基酸殘基所示之胺基酸殘基的組之 1 組至 2 組的胺基酸殘基同類之電荷；
在前述第 1 多胜肽的 CH3 區域及前述第 2 多胜肽的 CH3 區域雙方中，在前述 (1) 至 (2) 所示之胺基酸殘基的組中同組之胺基酸殘基各具有同類之電荷時，前述第 2 多胜肽的 CH3 區域中的該組胺基酸殘基，具有與前述第 1 多胜肽的 CH3 區域中該組胺基酸殘基相反之電荷。
12. 一種異種多聚體之製造方法，其包含：
 - a) 提供具有第 1 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 1 多胜肽的同聚多肽之階段，

- b) 提供具有與該第 1 抗原結合活性相異的第 2 抗原結合活性，且含 Fc 區域之第 2 多胜肽的同聚多肽之階段，
- c) 在可使樞紐區域內的半胱胺酸發生雙硫鍵異構化之還原條件下，共同溫育該第 1 多胜肽之同聚多肽及該第 2 多胜肽之同聚多肽之階段，以及
- d) 獲得含第 1 及第 2 多胜肽的異種多聚體之階段，
- 使在前述第 1 及第 2 多胜肽的 Fc 區域所含之 CH3 區域中的 EU 編號第 397 位的胺基酸殘基變異，且該 EU 編號第 397 位變異為 Met (M)、Phe (F) 或 Tyr (Y)。
13. 如申請專利範圍第 12 項所述之製造方法，其中在該第 1 及 / 或第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 392 位的胺基酸變異。
14. 如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中在該第 1 及第 2 多胜肽中，
- EU 編號第 392 位變異為 Asp (D)、Glu (E)、Thr (T)、Val (V) 或 Ile (I)。
15. 如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中在該第 1 及 / 或第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位變異為 Phe (F) 或 Tyr (Y)。
16. 如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中在該第 1 多胜肽中，使 EU 編號第 356 位變異為 Lys (K)，且使 EU 編號第 397 位變異為 Phe (F) 或 Tyr (Y)，在該第 2 多胜肽中，使 EU 編號第 397 位變異為 Phe (F) 或 Tyr (Y)，且使 EU 編號第 439 位變異為 Glu (E)。
17. 如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中前

述階段 a) 及 b) 係以混合生產第一多胜肽的同聚多肽之細胞株與生產第二多胜肽的同聚多肽之細胞株而實施，前述階段 c) 係在該培養上清液中實施。

18.如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中前述異種多聚體係多特異性抗體或異型 Fc 融合蛋白。

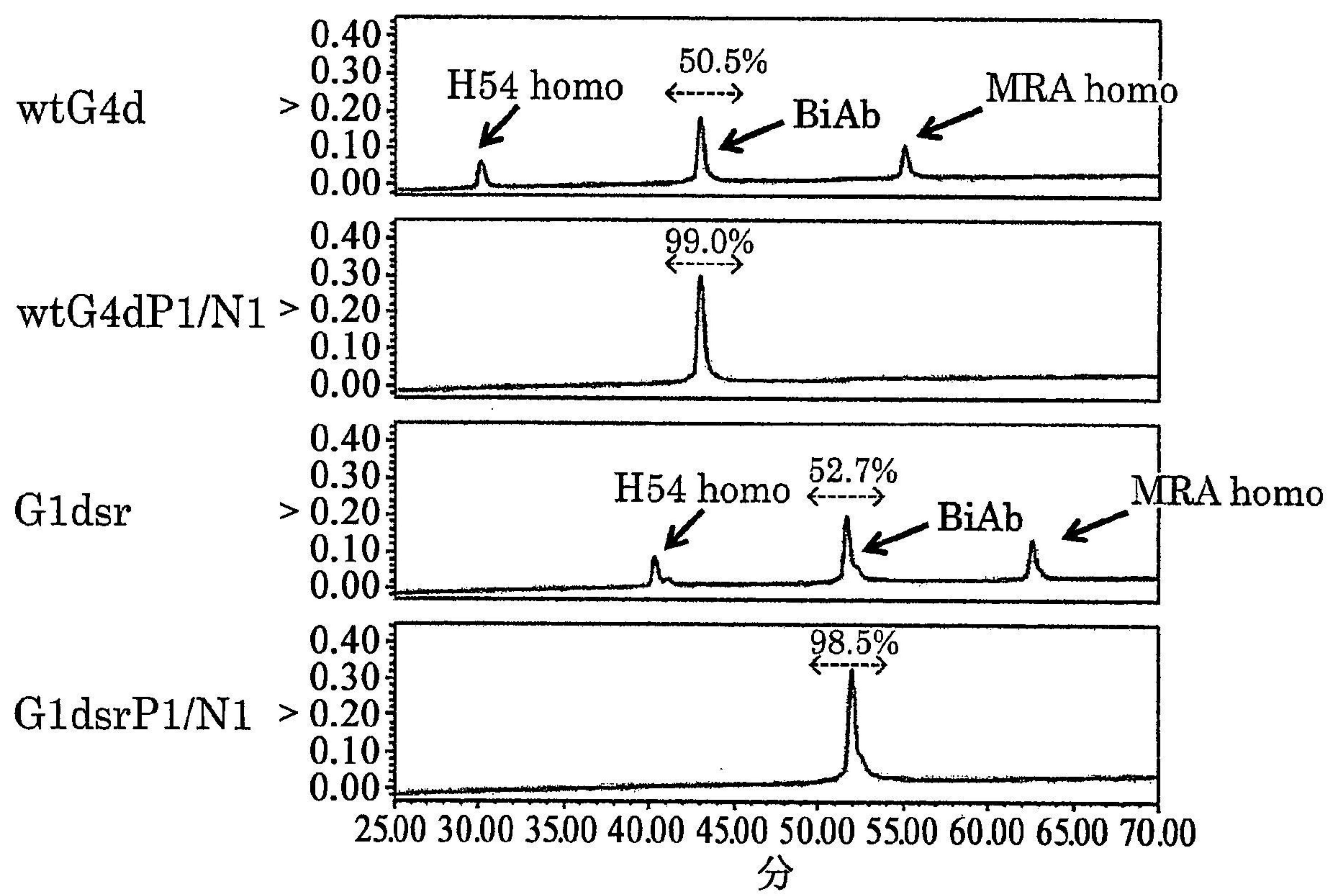
19.如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中前述異種多聚體係雙特異性抗體。

20.如申請專利範圍第 1、12 或 13 項所述之製造方法，其中階段 c) 包含與還原劑之接觸。

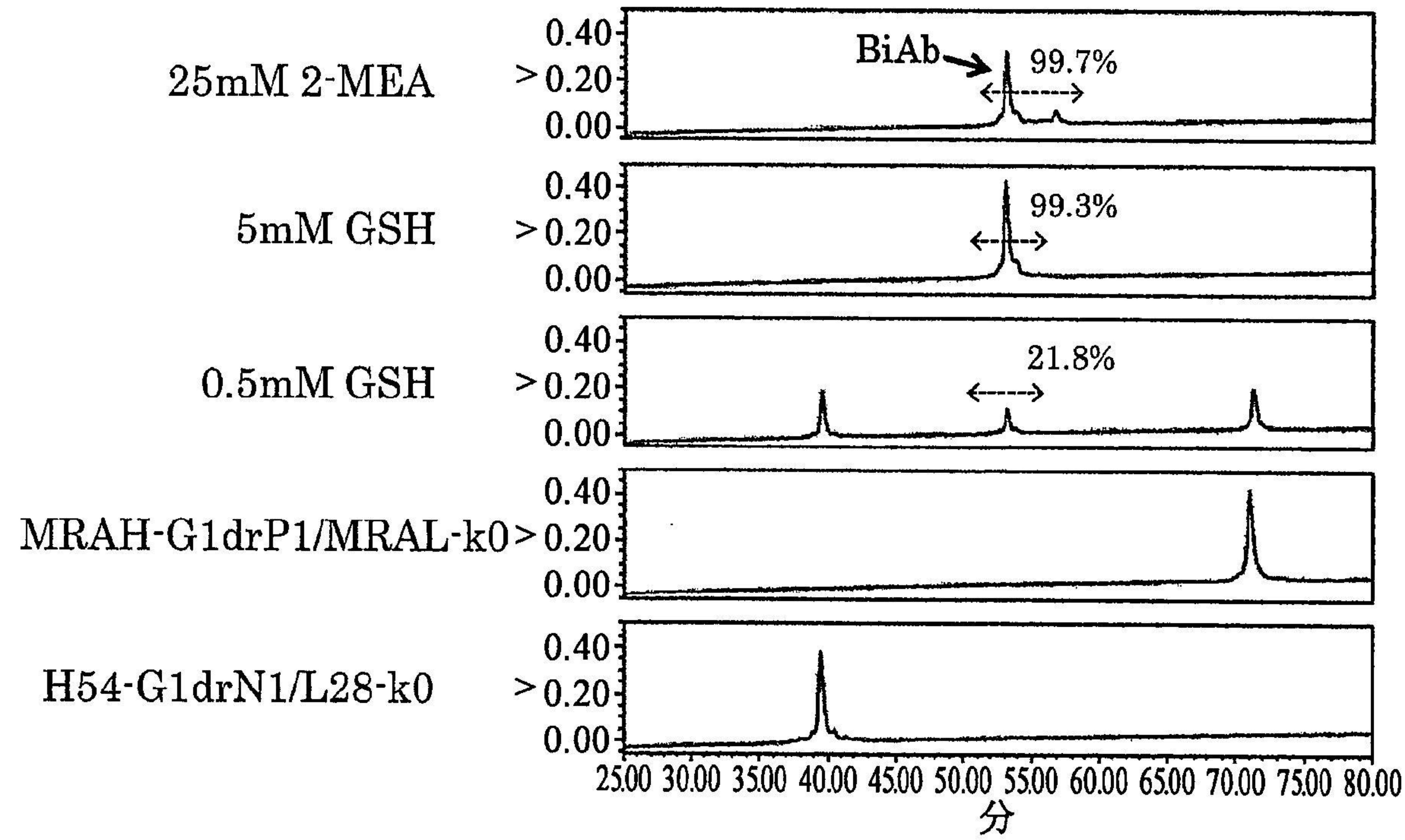
21.如申請專利範圍第 20 項所述之製造方法，其中該階段 c) 包含添加選自：麩胱甘肽、L-半胱胺酸、二硫蘇醣醇、 β -硫醇二醇、TCEP 及 2-MEA 所組成之群的作用物。

22.如申請專利範圍第 21 項所述之製造方法，其中該階段 c) 包含添加選自：麩胱甘肽、2-MEA 的作用物。

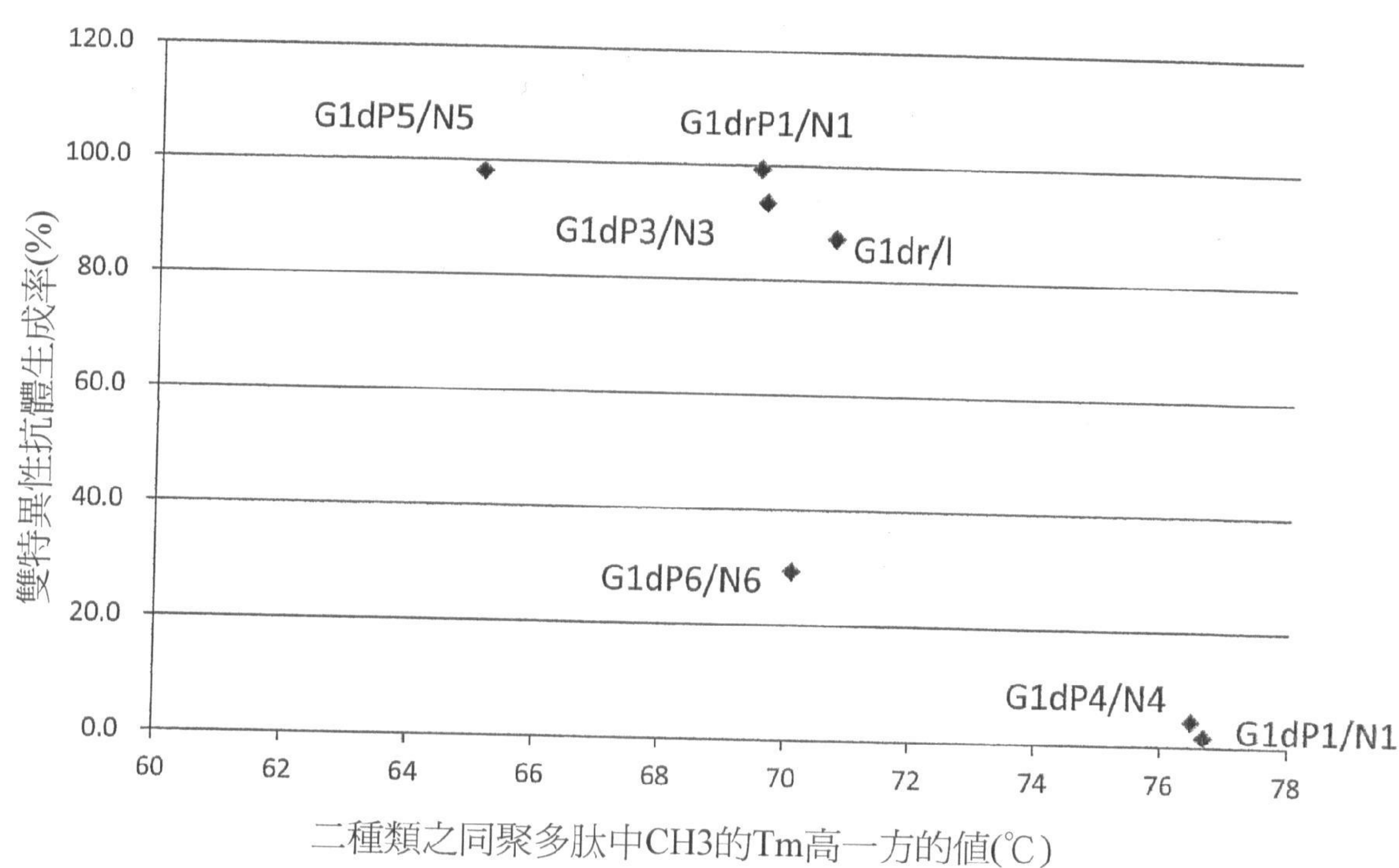
圖式



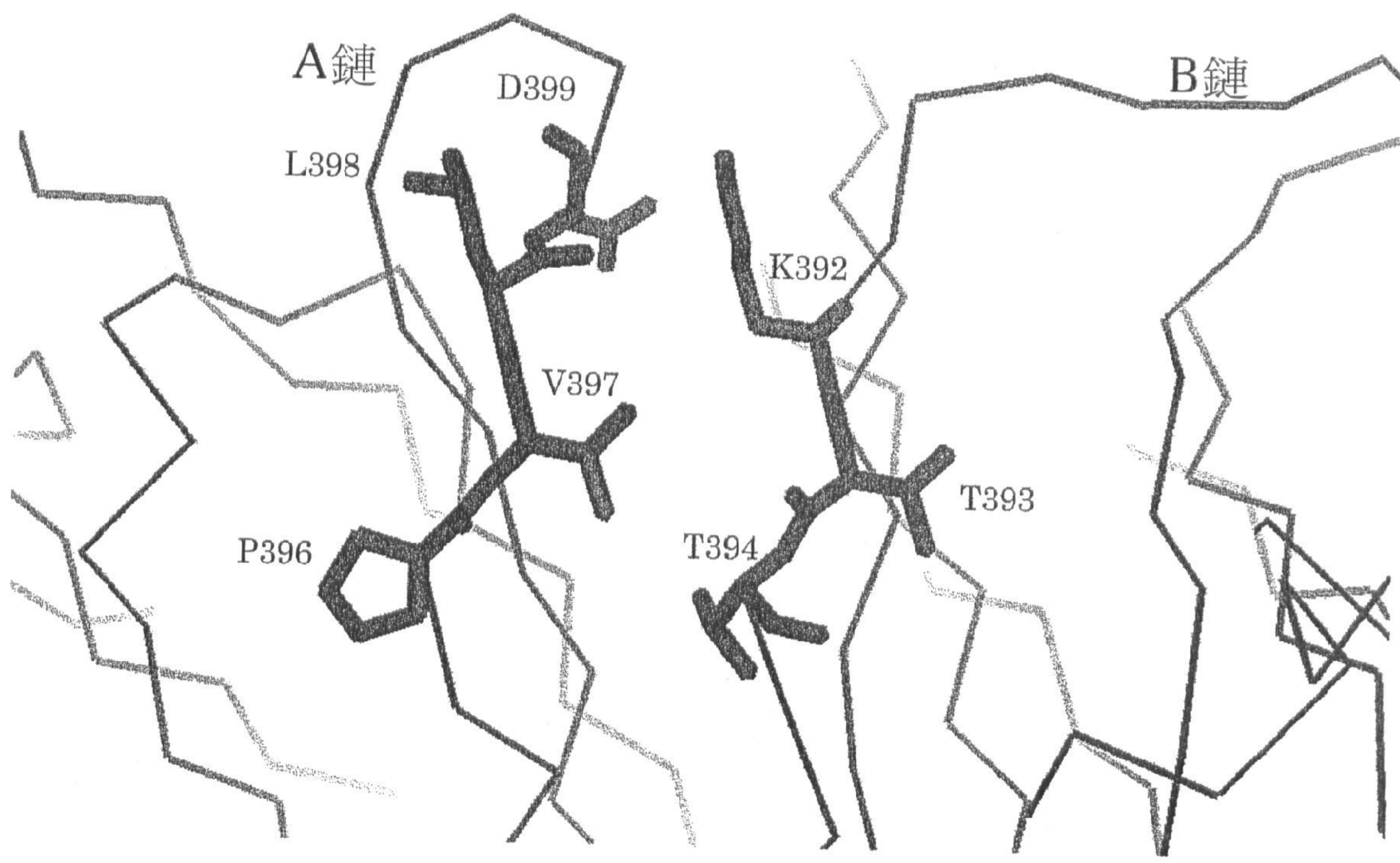
第1圖



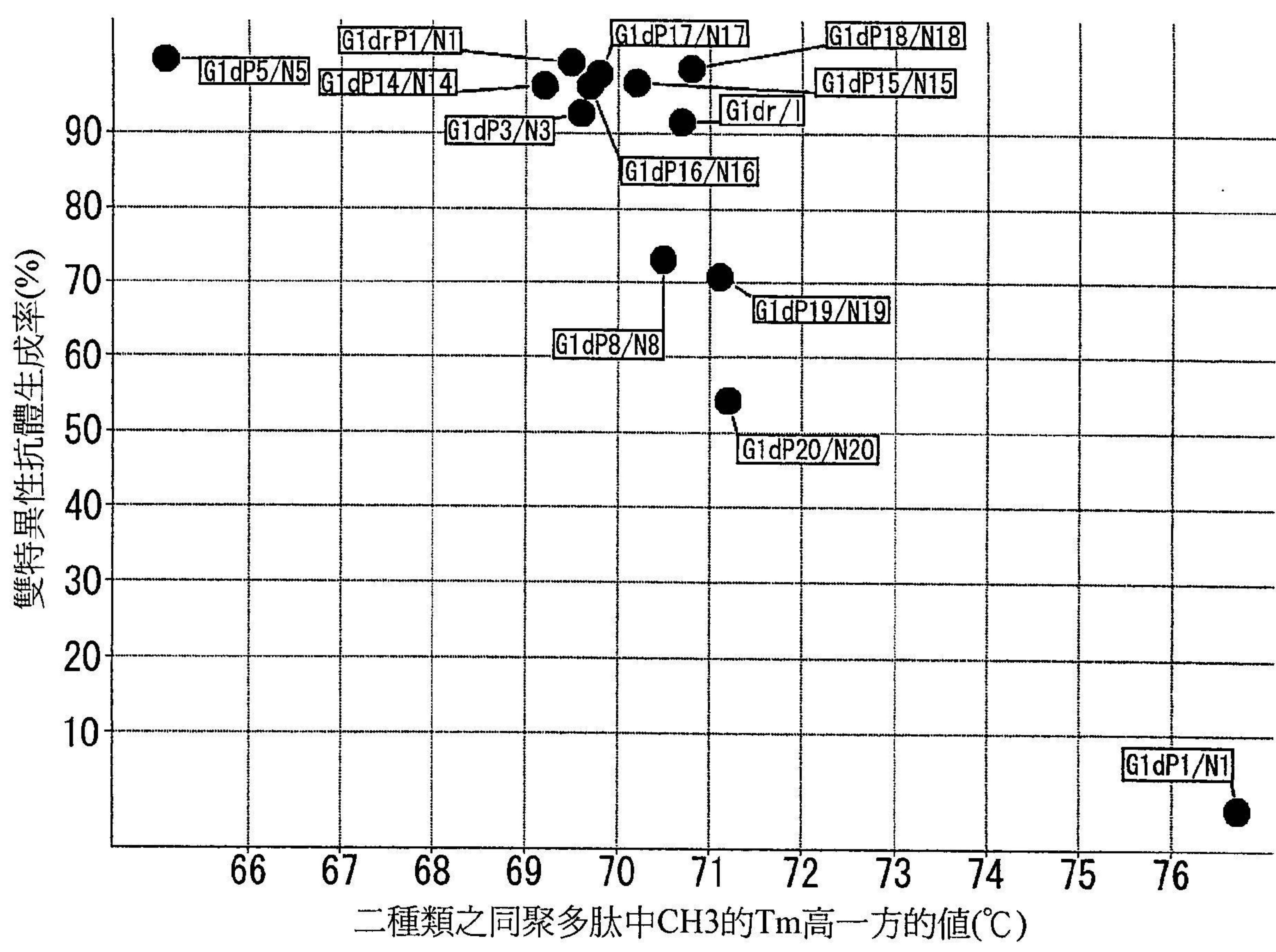
第2圖



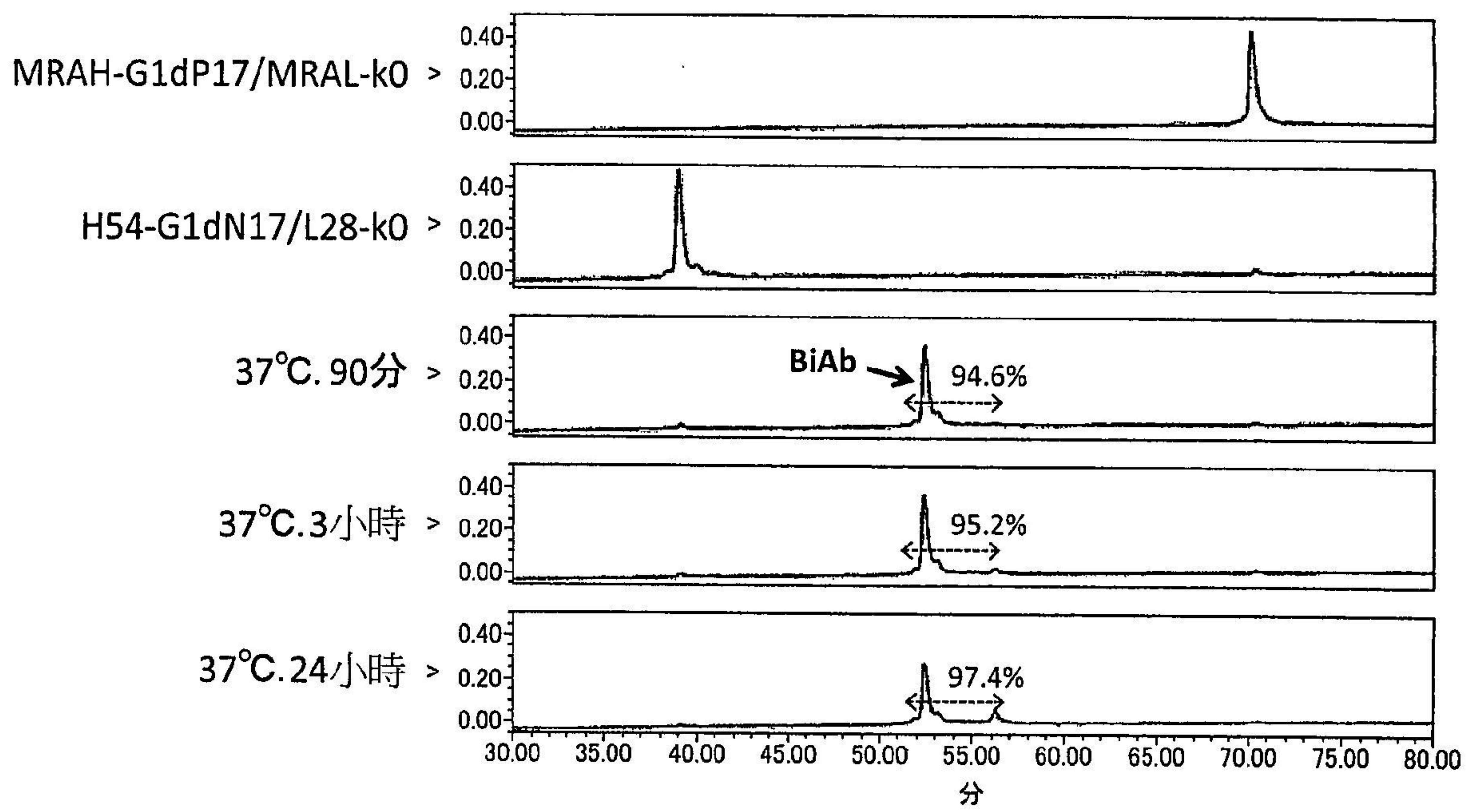
第3圖



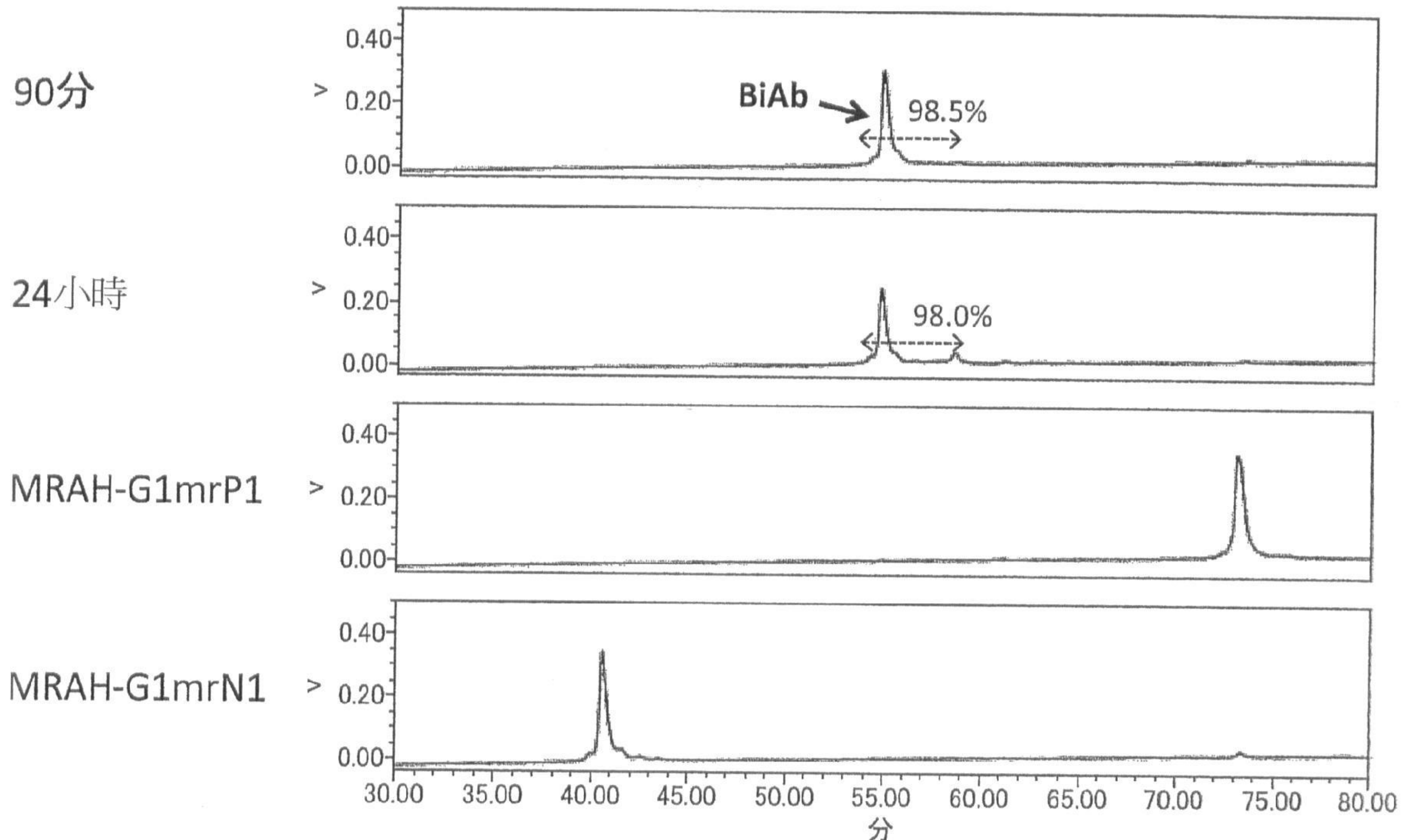
第4圖



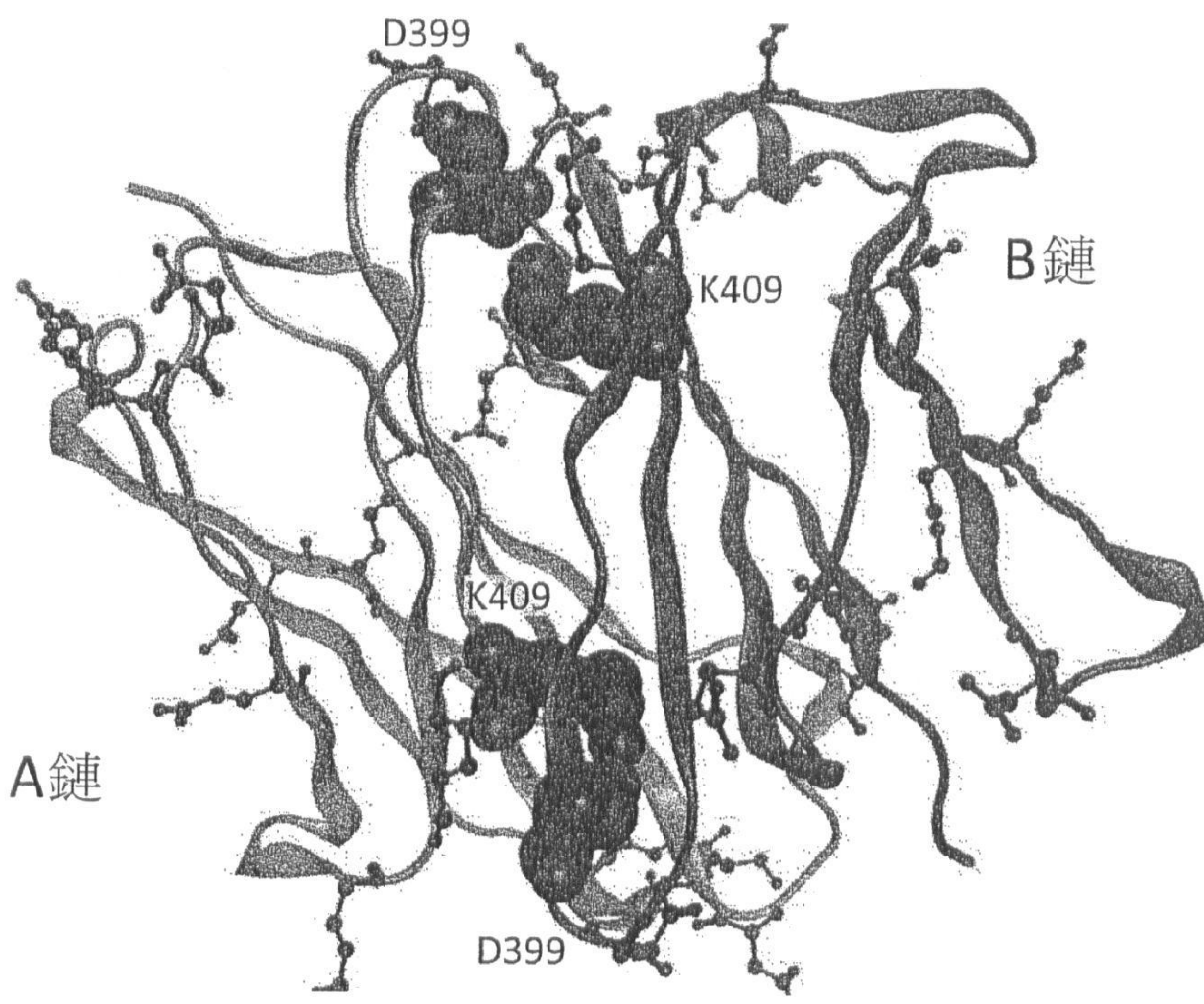
第5圖



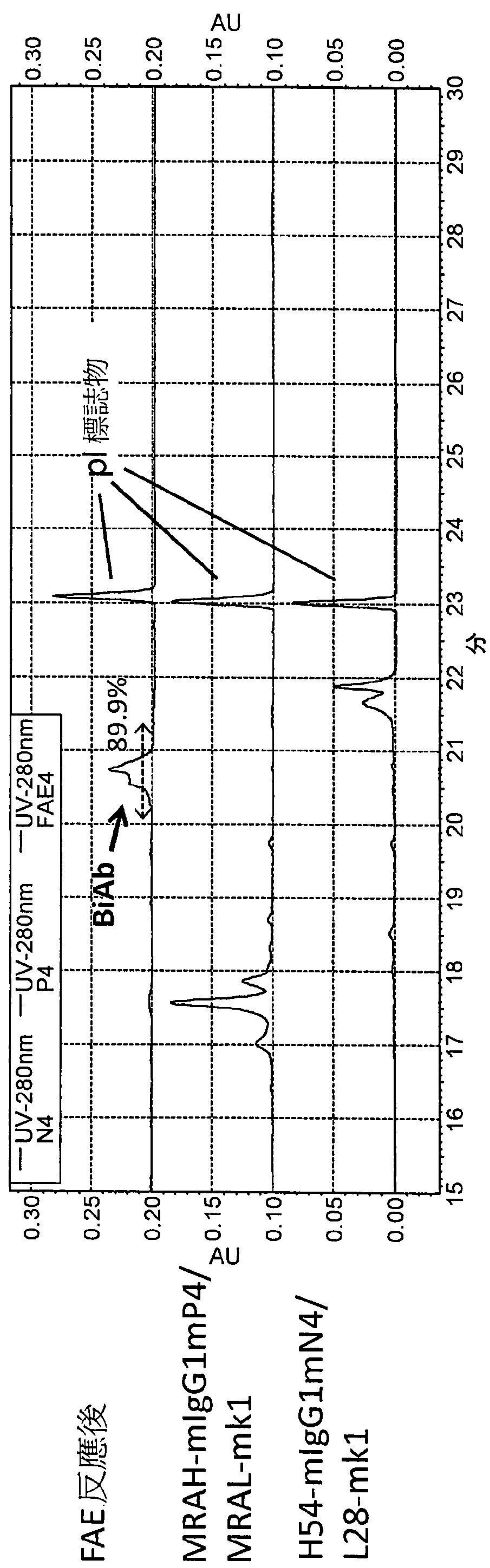
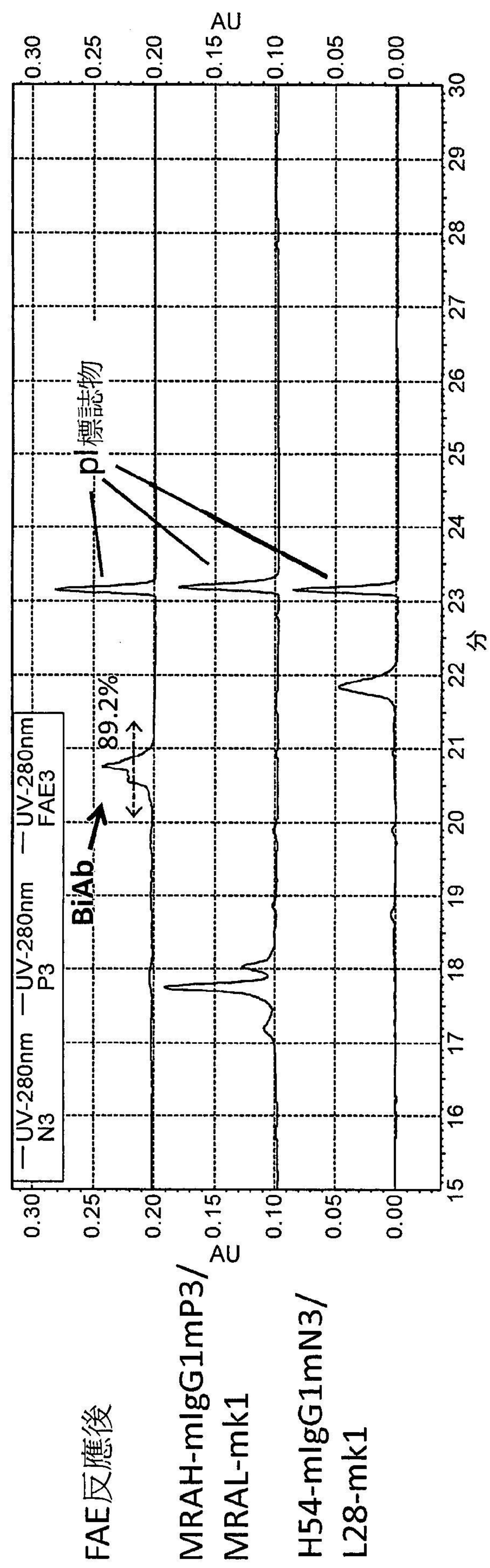
第6圖



第7圖

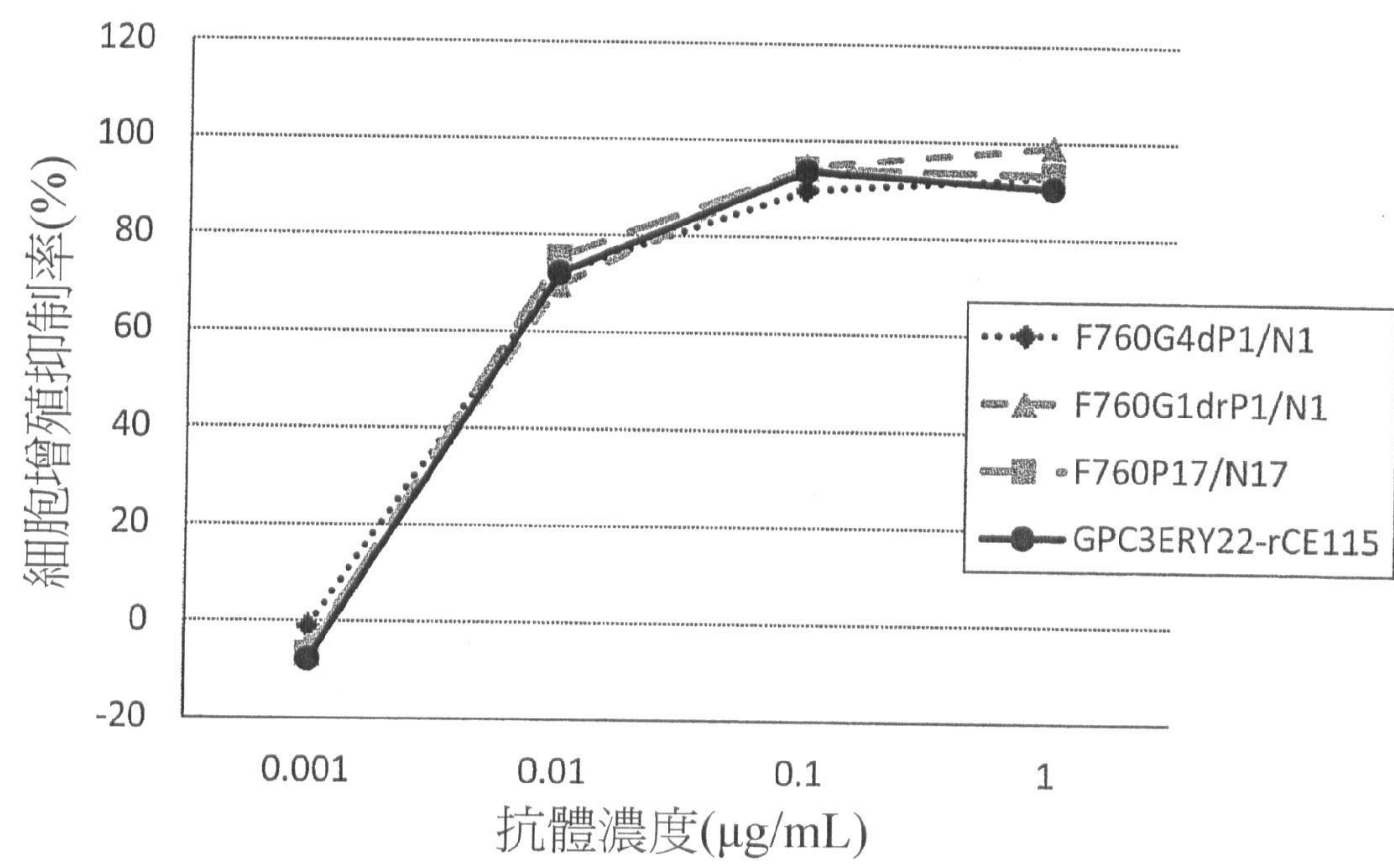


第8圖

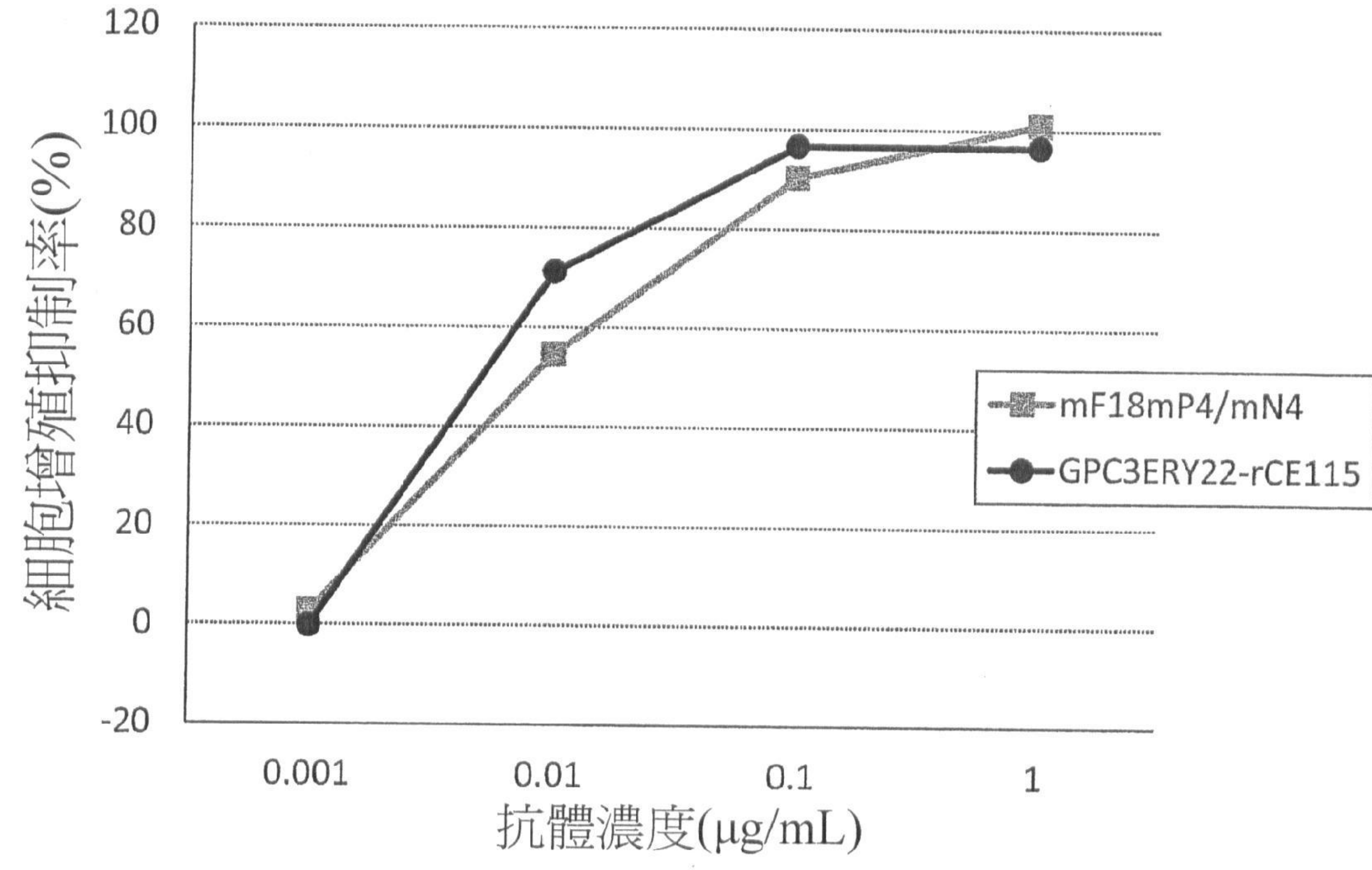


第9圖

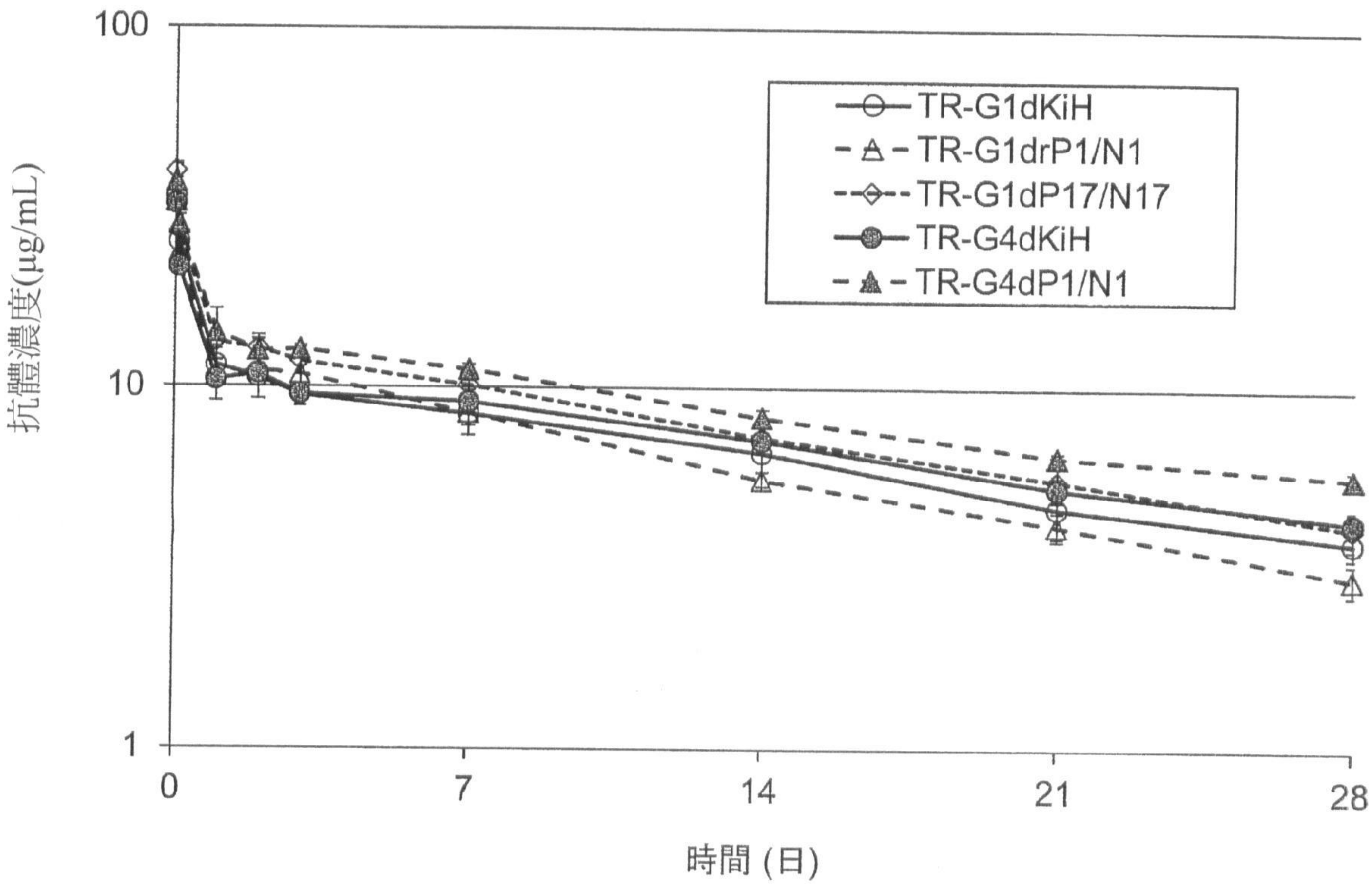
(10-1)



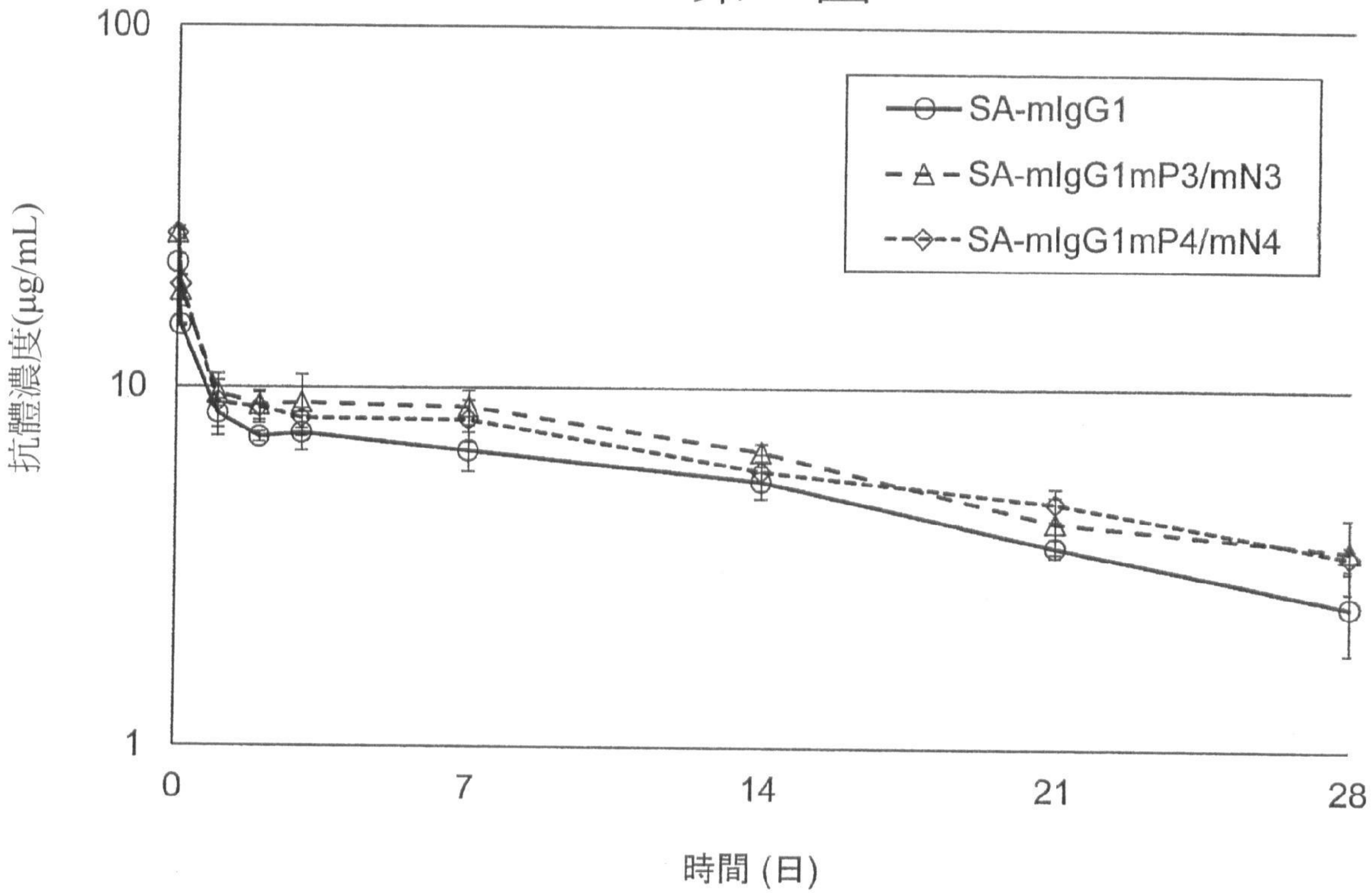
(10-2)



第10圖



第11圖



第12圖