



(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 I848947 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 07 月 21 日

(21)申請案號：108116548

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 05 月 14 日

(51)Int. Cl. : C07K14/435 (2006.01)

A61K39/35 (2006.01)

A61P37/08 (2006.01)

(30)優先權：2018/05/18

歐洲專利局

18173258.7

(71)申請人：大陸商百明信康生物技術（浙江）有限公司（中國大陸）WORG

PHARMACEUTICALS (ZHEJIANG) CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：瓦倫塔 魯道夫 VALENTA, RUDOLF (AT)；庫林 米瑞拉 CURIN, MIRELA

(AT)；陳 冠瑋 CHEN, KUAN-WEI (AT)；維特拉 蘇珊娜 VRTALA, SUSANNE

(AT)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

CN 103687617A

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：9 共 122 頁

(54)名稱

家塵蟎過敏的治療及預防

(57)摘要

本發明關於具有式(I)之融合蛋白

 $X_1-Y-X_2(I)$ ，

其中 X_1 和 X_2 各自包含 4 至 6 個彼此融合之過敏原片段或彼等之變體，其中該過敏原片段係源自至少二種室塵蟎(Dermatophagoides)屬之過敏原，且其中 Y 為載體蛋白。

The present invention relates to a fusion protein having formula (I)

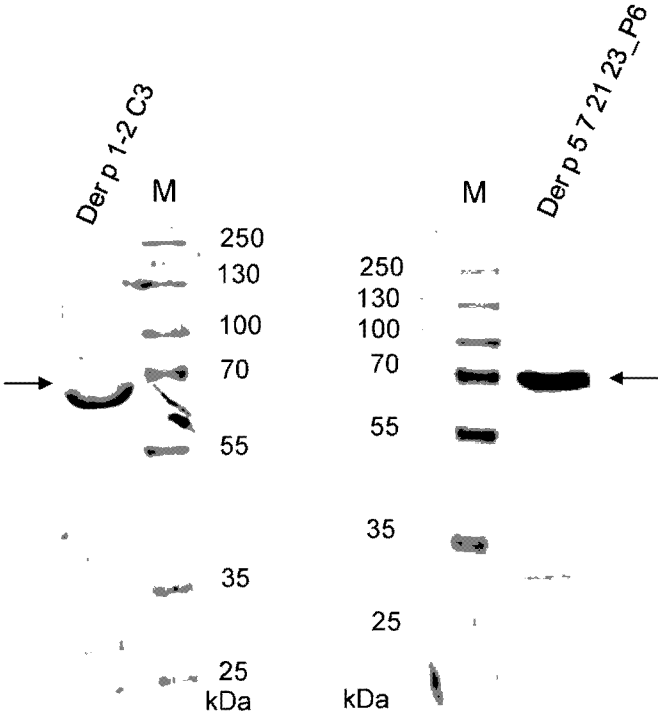
 $X_1-Y-X_2(I)$,

wherein X_1 and X_2 comprise each four to six allergen fragments or variants thereof fused to each other,

wherein said allergen fragments are derived from at least two allergens of the genus Dermatophagoides, and

wherein Y is a carrier protein.

指定代表圖：



【第 2 圖】



I848947

【發明摘要】

【中文發明名稱】

家塵蟎過敏的治療及預防

【英文發明名稱】

TREATMENT AND PREVENTION OF HOUSE DUST MITE
ALLERGIES

【中文】

本發明關於具有式(I)之融合蛋白

$$X_1-Y-X_2 \text{ (I) ,}$$

其中 X_1 和 X_2 各自包含 4 至 6 個彼此融合之過敏原片段或彼等之變體，其中該過敏原片段係源自至少二種室塵蟎 (*Dermatophagoides*) 屬之過敏原，且其中 Y 為載體蛋白。

【英文】

The present invention relates to a fusion protein having formula (I)

$$X_1-Y-X_2 \text{ (I) ,}$$

wherein X_1 and X_2 comprise each four to six allergen fragments or variants thereof fused to each other, wherein said allergen fragments are derived from at least two allergens of the genus *Dermatophagoides*, and wherein Y is a carrier protein.

【指定代表圖】第(2)圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

家塵蟎過敏的治療及預防

【英文發明名稱】

TREATMENT AND PREVENTION OF HOUSE DUST MITE
ALLERGIES

【技術領域】

【0001】本發明關於罹患過敏，尤其是家塵蟎過敏之患者的免疫治療領域。

【先前技術】

【0002】工業化國家中有超過25%之人口患有由IgE媒介型之過敏。過敏患者之特徵為增加產生針對本身無害之抗原(即過敏原)的IgE抗體之產生。第I型過敏之立即性症狀(過敏性鼻結膜炎、哮喘、皮膚炎、過敏性休克)係由過敏原誘導之與肥大細胞結合之IgE抗體交聯和生物活性介質(例如組胺酸、白三烯)釋出所引起。

【0003】WO 2012/168487描述肝病毒(hepadnaviridae)科病毒(例如B型肝炎病毒)之表面多胜肽於作為過敏原片段之載體蛋白的用途。

【0004】Banerjee S等人(J I mMunol 192(2014):4867-4875)中描述包含二或四個與PreS之N和C端融合之完全相

同的 Der p 23過敏原片段之蛋白質。根據 Banerjee S等人，該在 PreS之C端包含二個完全相同之 Der p 23片段及在 PreS之N端包含另外二個完全相同之 Der p 23片段的融合蛋白可誘導形成 Der p 23特異性抗體，與在 PreS之二端上包含相同之 Der p 23片段的融合蛋白相比較，該 Der p 23特異性抗體顯示明顯之IgE抑制作用。

【0005】Curin M等人(Allergy 73(2018)：1653-1661)揭示 Der p 5和 Der p 21片段可用於進一步研發疫苗。

【0006】EP 2 727 934中測試數種缺乏IgE反應性並顯現T細胞反應性之 Der p過敏原的過敏原片段。

【0007】Huey-Jy H等人(J I mMunol 196(2016)：Suppl 1 192,5)描述包含，尤其是 Der p 1、Der p 2、Der p 7和 Der p 8片段之多胜肽。

【0008】Bussi res L等人(Int Arch Allergy I mMunol 153(2010)：141-151)及EP 1 908 776描述包含成熟 Der p 1和 Der p 2之融合蛋白。

【0009】WO 2009/118642揭示融合多胜肽，其包含長度為至少50個胺基酸殘基之 Der p 1和 Der p 2的片段。

【0010】Chen A等人(Mol I mMunol 45(2008)：2486-2498)、Casset A等人(Int Arch Allergy I mMunol 159(253-262)、WO 2015/070925 和 Chen K-W 等人(Allergy 67(2012)：609-621)揭示 Der p過敏原之片段。這些片段中有些可能與載體蛋白結合。

【0011】家塵蟎(HDM)代表全球最重要的過敏原來源

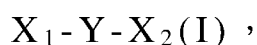
之一。幾乎 10%之人口和超過 50%之過敏患者對蟎過敏原敏感。HDM 歐洲室塵蟎(*Dermatophagoides pteronyssinus*; Der p)和美洲室塵蟎(*Dermatophagoides farina*; Der f)盛行於全世界。Der p和Der f之過敏原包含30種以上之蛋白質或糖蛋白，目前為止，其中大多數已被特徵化。第1、2和23組過敏原(Der p 1、Der p 2和Der p 23及Der f 1和Der f 2和Der f 23)代表非常重要之來自HDM的過敏原，80%以上之HDM過敏患者對此過敏原敏感。然而，最近已證實其他HDM過敏原(例如Der p 5、Der p 7和Der p 21及Der f 5、Der f 7和Der f 21)代表重要之HDM過敏原且在15%至> 40%之HDM過敏患者中引起敏感化和過敏症狀(Posa等人, *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Feb;139(2):541-549.e8)。在此背景下，目前基於過敏原萃取物之HDM疫苗被發現無法誘導足夠之針對Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23的保護性IgG抗體，而使許多HDM過敏患者得不到治療(藉由分子診斷選擇家塵蟎過敏性患者可能會增進特異性免疫療法之成功，Chen KW, Ziegelmayer P, Ziegelmayer R, Lemell P, Horak F, Bunu CP, Valenta R, Vrtala S. *J Allergy Clin Immunol*. 2019 Mar; 143(3) : 1248-1252.e12. doi : 10.1016/j.jaci. 2018.10. 048. Epub 2018 Nov.14)。因此，發現和研發用於家塵蟎過敏之過敏免疫療法的疫苗被認為是重要任務，該疫苗藉由誘導針對Der p 1、Der p 2、Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23以及對應之Der f致敏原的阻斷抗體來提供對HDM過敏患者之完整保護。

【發明內容】

【0012】目前核准之用於家塵蟎過敏的免疫療法產品係以來自HDM身體和糞便顆粒之萃取物為底質。這些產品含有不同濃度之Der p 1、Der p 2、Der f 1和Der f 2。它們不含有所有相關之HDM過敏原，尤其是Der p 23和Der f 23之濃度非常低。因此，它們僅提供不完整之解決方案來治療或預防患有家塵蟎過敏之患者(Casset等人，Int Arch Allergy Immunol. 2013; 161(3): 287-288)。例如，與安慰劑相比較，由ALK Abelló銷售之舌下片劑僅平均減少18%之過敏症狀(Demoly等人，J. Allergy Clin. Immunol. 2016; 137: 444-451)。由於不同家塵蟎過敏原之數量相當高，可能之免疫療法將需要投予許多不同的蛋白質和多肽以涵蓋至少最重要之家塵蟎過敏原。

【0013】因此，本發明的目的之一係提供可用於治療和/或預防由所有六種主要過敏原引起之家塵蟎過敏的疫苗和其中包含之各別組分。

【0014】本發明之目的可藉由一或多種具有式(I)之融合蛋白來解決：



其中X₁和X₂包含各4至8個彼此融合之過敏原片段或彼等之變體，其中該過敏原片段係源自至少二種室塵蟎(*Dermatophagoides*)屬之過敏原，且其中Y為載體蛋白。

【0015】本發明之另一態樣關於包含至少一種如上述

之融合蛋白的藥物製劑。

【0016】本發明之另一態樣關於本發明之融合蛋白或藥物製劑，該融合蛋白或藥物製劑係用於治療或預防由家塵蟎之過敏原引起之過敏。

【0017】本發明之另一態樣關於編碼根據本發明之融合蛋白的核酸分子。

【0018】本發明之另一態樣關於包含根據本發明之核酸分子的載體。

【0019】本發明之另一態樣關於包含根據本發明之核酸分子或載體的宿主細胞。

實施態樣之描述

【0020】本發明關於具有式(I)之一或多種融合蛋白
 $X_1-Y-X_2(I)$ ，

其中 X_1 和 X_2 包含各 4 至 8 個彼此融合之過敏原片段或彼等之變體，其中該過敏原片段係源自至少二種室塵蟎屬之過敏原，且其中 Y 為載體蛋白。

【0021】令人驚訝地，具有如式(I)所定義之“結構”的融合蛋白可在活體內誘導形成針對至少二種該室塵蟎屬之過敏原的抗體。尤其是，該載體蛋白之 C-和 N-端所存在之 4 至 8 個過敏原片段對於誘導抑制過敏原特異性 IgE 與其對應之過敏原交互作用的抗體具有有利之效果。該等抗體之形成允許減少或甚至防止過敏反應，使得該由室塵蟎屬之過敏原引起的過敏得到治療。

【0022】如本文所使用之“融合蛋白”係指藉由將二或更多個多胜肽和/或胜肽彼此連接所創建之蛋白質或多胜肽。融合蛋白可藉由重組DNA技術或透過化學共價軛合來產生。

【0023】如本文所使用之“過敏原片段”係指藉由片段化從過敏原衍生之胜肽或多胜肽延伸物。

【0024】該4至8個，較佳為4至6個彼此融合之過敏原片段係從至少二種，較佳為至少三種，更佳為至少四種之該室塵蟎屬之一或多種家塵蟎的過敏原衍生，特別是從該室塵蟎屬之一或多種家塵蟎的一、二、三或四種過敏原衍生。這些過敏原片段係由該過敏原之8至100個，較佳為8至80個，更佳為8至60個，更佳為10至60個，更佳為10至50個，更佳為15至50個，更佳為20至50個，更佳為25至50個連續胺基酸殘基所組成。

【0025】本發明之融合蛋白可包含一種以上之源自相同過敏原的片段。在該等情況中，該片段可源自相同過敏原之不同(即，不相鄰)區或源自鄰近區。在後種情況中，該片段之順序可能與該片段來源之過敏原不同。

【0026】本發明之融合蛋白亦可包含一或多種具有相同或基本上相同之胺基酸序列的過敏原片段。如本文所使用者，“基本上相同”係指源自相同過敏原之二或更多個序列顯示出至少80%，較佳為至少85%，更佳為至少90%，更佳為至少95%之序列同一性。

【0027】第一胺基酸序列與第二胺基酸序列之同一性

程度可藉由使用某些算法直接比較二個胺基酸序列來測定。該等算法為，例如與下列參數併入各種電腦程式或網站（例如 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>）中（例如“BLAST 2 SEQUENCES(blastp)”（Tatusova等人（1999）FEMS Microbiol. Lett. 174:247-25；Corpet F, Nucl. Acids Res.（1988）16:10881-10890）：Matrix BLOSUM62；開放間隙11和延伸間隙1罰分；間隙x_dropoff50；期望10.0字組大小3；過濾：無。

【0028】本發明之融合蛋白亦可包含過敏原片段之變體。與該過敏原片段相比較，特佳之過敏原片段變體包含至少一個，較佳為至少二個，更佳為至少三個胺基酸交換。特佳地，該過敏原片段中至少一個，較佳為至少二個，更佳為至少三個，尤其是所有天然產生之半胱胺酸殘與其他胺基酸殘基交換，較佳為與絲胺酸、蘇胺酸、甘胺酸、丙胺酸或亮胺酸殘基交換。因此，本發明之過敏原片段的變體較佳為不含有任何半胱胺酸殘基。

【0029】本發明之融合蛋白內的過敏原片段可彼此直接融合，或者可藉著單一胺基酸殘基或藉著由2至30個，較佳為2至20個，更佳為2至10個胺基酸殘基，更佳為2至5個胺基酸殘基所組成之連接子胜肽分開。X₁/X₂和載體蛋白Y亦可藉由單一胺基酸殘基或如上述定義之連接子胜肽分開。一

【0030】本發明之融合蛋白可在本技術領域已知之任何表現系統中重組產生。特佳之表現系統包括細菌（例如

大腸桿菌)、酵母細胞(例如巴斯德畢赤酵母)或昆蟲細胞，如來自果蠅(*Drosophila melanogaster*)之 S2細胞、來自草地貪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)、Sf9或 Sf21細胞、或來自粉紋夜蛾(*Trichoplusia ni*)之 TNi細胞。

【0031】本發明之融合蛋白的過敏原片段可源自任何家塵蟎。然而，特佳為使用可在大多數人中引起過敏反應之來自家塵蟎之過敏原。因此，較佳地，該過敏原片段係源自歐洲室塵蟎和/或美洲室塵蟎之過敏原。

【0032】根據本發明之另一較佳實施態樣，至少二種過敏原為歐洲室塵蟎之過敏原且係選自由下列所組成之群組：Der p 1、Der p 2、Der p 5、Der p 7、Der p 21和 Der p 23。

【0033】根據本發明之另一較佳實施態樣，至少二種過敏原為美洲室塵蟎之過敏原且係選自由下列所組成之群組：Der f 1、Der f 2、Der f 5、Der f 7、Der f 21和 Der f 23。

【0034】過敏人士對源自同一來源之過敏原的反應不同。患有由歐洲室塵蟎和/或美洲室塵蟎引起之家塵蟎過敏的人士分別對過敏原 Der p 1和 Der p 2，及 Der p 5、Der p 7、Der p 21和 Der p 23反應，以及對過敏原 Der f 1和 Der f 2，及 Der f 5、Der f 7、Der f 21和 Der f 23反應。因此，特佳為提供包含一或多種這些過敏原之過敏原片段的融合蛋白。

【0035】根據本發明之另一較佳實施態樣，該至少二

種之過敏原的過敏原片段係由 25 至 50 個胺基酸殘基，較佳為 28 至 48 個胺基酸殘基，更佳為 30 至 45 個胺基酸殘基所組成。

【0036】根據本發明之較佳實施態樣，至少一個，較佳為至少二個，更佳為至少三個，特佳為所有該過敏原片段之半胱胺酸殘基被絲胺酸、蘇胺酸、甘胺酸、丙胺酸、或亮胺酸替代。

【0037】本發明之融合蛋白中所使用之過敏原片段的一些或全部半胱胺酸殘基可被其他胺基酸殘基替代。該一或多個半胱胺酸殘基被替代可使在本發明之融合蛋白重組表現過程中或在其加工過程期間(例如從包涵體中純化融合蛋白、製備疫苗製劑)可能形成之二硫鍵數目減少。此外，過敏原片段內之半胱胺酸殘基被替代將導致融合蛋白中游離硫基減少或完全去除，從而防止該等基團能夠與其他化合物反應。

【0038】根據本發明之另一較佳的實施態樣，該 Der p 1 之過敏原片段係由與選自下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至少 97%，特別是 100% 同一性之胺基酸序列所組成：

TNACSINGNAPAEIDLRQMRTVT
PIRMQGGCGSCWAFSGVA(SEQ ID No.1)、ATESAYLAYR
NQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ(SEQ ID
No.2)、HNGVVQESYYRYVAREQSCRRPNAQRFGISN(SEQ
ID No.3)、VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDL MMI EEYPY

VVIL(SEQ ID No.4)、TNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPI
RMQGGSGSSWAFSGVA(SEQ ID No.5)、ATESAYLA YRN
QSLDLAEQELVDSASQHGSHGDTIPRGIEYIQ(SEQ ID No.6
) 和 HNGVVQESYYRYVAREQSSRRPNAQRFGISN(SEQ ID
No.7)。

【0039】根據本發明之另一較佳的實施態樣，Der p 2
之過敏原片段係由與選自下列所組成之群組的胺基酸序列
具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳
為至少 97%，特別是 100%同一性之胺基酸序列所組成：
CHGSEPCIHH RGKPFQLEAVFEAN QNSKTAK(SEQ ID
No.8) 、 EVDVPGID PNACHYMKCPLV
KGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN(SEQ ID No.9)、HGSEPSII
HRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK(SEQ ID No.10)和 EVDVP
GIDPNASHYMKSPVLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN(SEQ
ID No.11)。

【0040】根據本發明之一較佳實施態樣，Der p 5之過
敏原片段係由與選自下列所組成之群組的胺基酸序列具有
至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至
少 97%，特別是 100%同一性之胺基酸序列所組成：
DYQNEFDLLMERIHEQIKKG ELALFYL Q(SEQ ID No.12)
和 EQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARV KKIEV(SEQ ID
No.13)。

【0041】根據本發明之另一較佳實施態樣，Der p 7之
過敏原片段係由與胺基酸序列 DPIHYDKITEEINKAV

DEAVAAIEKSETFD(SEQ ID No.14)具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至少 97%，特別是 100%同一性之胺基酸序列所組成。

【0042】根據本發明之另一較佳實施態樣，Der p 21 之過敏原片段係由與胺基酸序列 YNYEFALESIKLLIK KLDELAKKVKAVNPDEYY(SEQ ID No.15)具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至少 97%，特別是 100%同一性之胺基酸序列所組成。

【0043】根據本發明之一較佳實施態樣，Der p 23 之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至少 97%，特別是 100%同一性之胺基酸序列所組成：
GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGPG
NTRWNEDEETCT(SEQ ID No.16)和 GYFADPKDPHKFYISS
NWEAVHKDSPGNTRWNEDEETST(SEQ ID No.17)。

【0044】根據本發明之另一較佳實施態樣，Der f 1 之過敏原片段係由與選自由下列所組成的胺基酸序列具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至少 97%，特別是 100%同一性之胺基酸序列所組成：
TSACRINSVNPSELRLSLRTVTPIRM
QGGCGSCWAFSGVA(SEQ ID No.38)、ATESAYLAYRNTS
LDLSEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ(SEQ ID No.39)
、 QNGVVEERSYPYVAREQQCRRPNSQHGYGISN(SEQ ID
No.40) 和 VRNSWDTTWGD SGYGYFQAGNNL MMIEQYPY

VVIM(SEQ ID No.41)。

【0045】根據本發明之另一較佳實施態樣，Der f 2之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%，較佳為至少92%，更佳為至少95%，更佳為至少97%，特別是100%同一性之胺基酸序列所組成：

HGSDPCIIHRGKPFNLEAIFDANQN TKTAK(SEQ ID No.42)
和
EVDVPGIDTNACHYIKCPLVKG
QQYDAKYTWNVPKIAPKSEN(SEQ ID No.43)。

【0046】根據本發明之一較佳實施態樣，Der f 5之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%，較佳為至少92%，更佳為至少95%，更佳為至少97%，特別是100%同一性之胺基酸序列所組成：

DYQNEFDLLMLMQRIHEQMRKGEEALL HLQ(SEQ ID
No.44)和 ERYNVEIALKSNEILERDLKKEEQR VKKIEV(SEQ
ID No.45)。

【0047】根據本發明之另一較佳實施態樣，Der f 7之片段係由與胺基酸序列 DPIHYDKITEEINKAIDDAIAA
IEQSETID(SEQ ID No.46)具有至少90%，較佳為至少92%，更佳為至少95%，更佳為至少97%，特別是100%同一性之胺基酸序列所組成。

【0048】根據本發明之另一較佳實施態樣，Der f 21之片段係由與胺基酸序列 YNFETAVSTIEILVKDLAE
LAKKVKAVKSDD(SEQ ID No.47)具有至少90%，較佳為至少92%，更佳為至少95%，更佳為至少97%，特別是100%

同一性之胺基酸序列所組成。

【0049】根據本發明之一較佳實施態樣，Der f 23的片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%，較佳為至少92%，更佳為至少95%，更佳為至少97%，特別是100%同一性之胺基酸序列所組成：

GYFADPKDPCKFYICSNEWAIHKSCPGNTRW
NEKELTCT(SEQ ID No.48)。

【0050】根據本發明之另一較佳實施態樣，X₁包含Der p 1之四個過敏原片段和Der p 2之二個片段或Der p 21之三個月段和Der p23之三個月段。

【0051】令人驚訝地，包含或由這些以任何順序與該載體蛋白之N端融合之過敏原片段所組成之X₁可導致能夠抑制各別天然產生之過敏原與過敏原特異性IgE結合之抗體形成。這允許使用該等融合蛋白作為疫苗來治療或預防由各別過敏原引起之過敏反應。

【0052】根據本發明之另一較佳實施態樣，X₂包含Der p 1之二至四個過敏原片段和二個Der p 2之片段或四個Der p 5之片段、二個Der p 7之片段。

【0053】與載體蛋白之C端融合之X₂可包含或由為任何順序之上述過敏原片段所組成。事實證明，在該載體蛋白之C端上之該等過敏原片段導致融合蛋白，該融合蛋白可誘導形成能夠抑制各別天然產生之過敏原與過敏原特異性IgE結合之抗體。這允許使用該等融合蛋白作為疫苗來治療或預防由各別過敏原引起之過敏反應。

【0054】根據本發明之另一較佳之實施態樣，該融合蛋白包含至少一種具有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列之多胜肽：SEQ ID No.18、SEQ ID No.19、SEQ ID No.20、SEQ ID No.21、SEQ ID No.22、SEQ ID No.23、SEQ ID No.24和/或SEQ ID No.25。

【0055】由胺基酸序列SEQ ID No.18和19所組成之多胜肽包含過敏原Der p 1和Der p 2之片段：

【0056】SEQ ID No.18：

VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYVAREQSSRRPN
AQRFGISNHGSEPSIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPSIIHRGKPFQLEAVF
EANQNSKTAKVRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYV
AREQSSRRPNAQRFGISN

【0057】SEQ ID No.19：

EVDVPGIDPNASHYMKSPVLKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNASHYM
KSPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDSASQHG
SGHGDTPRGIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGSGSSWAFSGVAATE
SAYLAYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHGDTPRGIEYIQTNASSINGNAPAEIDLR
QMRTVTPIRMQGGSGSSWAFSG

【0058】由SEQ ID No.18組成之多胜肽在式(I)中可為 X_1 或 X_2 ，由此在本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式(I)中之 X_1 。

【0059】由SEQ ID No.19所組成之多胜肽可為式(I)中之 X_1 或 X_2 ，由此在本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式(I)中之 X_2 。

【0060】由胺基酸序列SEQ ID No. 20和21所組成之多胜肽包含過敏原片段Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p

23：

【 0061】 SEQ ID No.20：

YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKV
KAVNPDEYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYGYFADPKDPHKFYIS
SNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNE
DEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETST

【 0062】 SEQ ID No.21：

DYQNEFDLFLMERIHEQIKKGELALFYLDYQNEFDLFLMERIHEQIKKGELALFYLD
QDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKS
ETFDEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEVEQYNLEMAKKSGDILERDLKKE
EARVKKIEV

【 0063】 由 SEQ ID No.20 所組成之多胜肽可為式 (I) 中之 X_1 或 X_2 ，由此在本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式 (I) 中之 X_1 。

【 0064】 由 SEQ ID No.21 所組成之多胜肽可為式 (I) 中之 X_1 或 X_2 ，由此在本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式 (I) 中之 X_2 。

【 0065】 由胺基酸序列 SEQ ID No.22 和 23 所組成之多胜肽包含過敏原 Der f 1 和 Der f 2 之片段：

【 0066】 SEQ ID No.22：

VRNSWDTTWGD SGYGYFQAGNNLMMIEQYPYVVIMQNGVVEERSYPYVAREQQCRRP
NSQHYGISNHGSDPCIIHRGKPFNLEAIFDANQNTKTAKHGSDPCIIHRGKPFNLEA
IFDANQNTKTAKVRNSWDTTWGD SGYGYFQAGNNLMMIEQYPYVVIMQNGVVEERSY
PYVAREQQCRRPNSQHYGISN

【 0067】 SEQ ID No.23：

EVDVPGIDTNACHYIKCPLVKGQQYDAKYTWNVPKIAPKSENEVDVPGIDTNACHYI
KCPLVKGQQYDAKYTWNVPKIAPKSENATESAYLAYRNTSLDLSEQELVDCASQHGCHG
HGDTPRGIEYIQTSACRINSVNVPSSELDLRSLRTVTPIRMQGGCGSCWAFSGVAAT
ESAYLAYRNTSLDLSEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQTSACRINSVNVPSSELD
LRSLRTVTPIRMQGGCGSCWAFSGVA

【0068】由 SEQ ID No.22 所組成之多胜肽可為式(I)中之 X_1 或 X_2 ，由此在本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式(I)中之 X_1 。

【0069】由 SEQ ID No.23 所組成之多胜肽可為式(I)中之 X_1 或 X_2 ，由此在本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式(I)中之 X_2 。

【0070】由胺基酸序列 SEQ ID No.24 和 25 所組成之多胜肽包含過敏原 Der p 5、Der p 7、Der p 21 和 Der p 23 之片段：

【0071】SEQ ID No.24：

YNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDDYNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDDYNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDDGYFADPKDPCKFYICSNWEAIIHKSCPGNTRWNEKELTCTGYFADPKDPCKFYICSNWEAIIHKSCPGNTRWNEKELTCTGYFADPKDPCKFYICSNWEAIIHKSCPGNTRWNEKELTCT

【0072】SEQ ID No.25：

DYQNEFDLLMQRIHEQMRKGEEALLHLQDYQNEFDLLMQRIHEQMRKGEEALLHLQDPIHYDKITEEINKAIDDAIAAIEQSETIDDPIHYDKITEEINKAIDDAIAAIEQSETIDERYNVEIALKSNEILERDLKKEEQRVKKIEVERYNVEIALKSNEILERDLKKEEQRVKKIEV

【0073】由 SEQ ID No.24 所組成之多胜肽可為式(I)中之 X_1 或 X_2 ，因此，本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式(I)中之 X_1 。

【0074】由 SEQ ID No.25 所組成之多胜肽可為式(I)中之 X_1 或 X_2 ，因此，本發明之最佳實施態樣中，該多胜肽為式(I)中之 X_2 。

【0075】根據本發明之另一較佳實施態樣，該載體蛋白為肝病毒科之病毒的表面多胜肽或該表面多胜肽之片段。

【0076】根據本發明之較佳實施態樣，該肝病毒科之病毒為 B 型肝炎病毒。

【0077】根據本發明之另一較佳實施態樣，該肝病毒科之病毒的表面多胜肽為 PreS。

【0078】根據本發明之另一較佳實施態樣，該表面多胜肽之片段為 B 型肝炎 PreS1 或 B 型肝炎 PreS2。

【0079】根據本發明之一較佳實施態樣，該載體蛋白包含與 SEQ ID No.26 具有至少 90%，較佳為至少 92%，更佳為至少 95%，更佳為至少 97%，尤其是 100% 同一性之胺基酸序列。

【0080】用於本發明之載體蛋白可包含胺基酸序列 SEQ ID No.26 (GenBank 登錄編號 AAT28678.1) 或由 SEQ ID No.26 所組成：

```
GGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAAANQV  
GVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDS  
HPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPV  
TN
```

【0081】根據本發明之另一較佳實施態樣，該融合蛋白包含或包含與 SEQ ID No.27、SEQ ID No.28、SEQ ID

No.29、SEQ ID No.30、SEQ ID No.31、SEQ ID No.32或 SEQ ID No.33具有至少90%，較佳為至少92%，更佳為至少95%，更佳為至少97%，尤其是100 %同一性之胺基酸序列所組成。

【0082】本發明之融合蛋白可包含作為載體蛋白Y之PreS和形成X₁和X₂二種多胜肽之各種過敏原片段，該X₁和X₂分別位於該載體蛋白之相鄰位置處(參見式(I))。特佳之融合蛋白包含過敏原Der p 1、Der p 2、Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23之片段。該等融合蛋白可包含或由下列胺基酸序列所組成。

【0083】SEQ ID No.27(“Der p 1-2 C3”)

VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYVAREQSSRRP
NAQRFGISNHGSEPSIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPSIIHRGKPFQLEA
VFEANQNSKTAKVRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYY
RYVAREQSSRRPNAQRFGISNGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGAN
SNNPDWDFNPIKDHWPAAQVGVGAFGPGLTTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPP
ASTNRQSGRQPTPI SPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTV
NPAPNIASHISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNASHYMKSPLVKGQQYDIKYTWIVP
KIAPKSENEVDVPGIDPNASHYMKSPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENATESAYL
AYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHTGTIPRGIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRT
VTPIRMQGGSGSSWAFSGVAATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHTGTIPR
GIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGSGSSWAFSG

【0084】SEQ ID No.28(“Der p 572123_P6(大)”)

YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVK
AVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYGYFADPKDPHKFYISSN
WEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEE
TSTGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGGWSSKPRKGMGTNLS
VPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAAANQVGVGAFGPGLTPPHGGIL
GWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQD
PRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNDYQNEFDFLLMERIHEQ
IKKGELALFYLDYQNEFDFLLMERIHEQIKKGELALFYLDPIHYDKITEEINKAVD
EAVAAIEKSETFDDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDEQYNLEMAKKSGDIL
ERDLKKEEARVKKIEVEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV

【 0085 】 SEQ ID No.29(“Der p 1-2 C1”)

VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYVAREQSSRRP
NAQRFGISNVRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYV
AREQSSRRPNAQRFGISNHGSEPSIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPSIIH
RGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGAN
SNNPDWDFNPIKDHWPAAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPP
ASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTV
NPAPNIASHISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNASHYMKSPLVKGQQYDIKYTWIVP
KIAPKSENEVDVPGIDPNASHYMKSPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENATESAYL
AYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHGDTIPRGIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRT
VTPIRMQGGSGSSWAFSGVAATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHGDTIPR
GIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGSGSSWAFSG

【 0086 】 SEQ ID No.30(“Der p 1-2 C2”)

VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYVAREQSSRRP
NAQRFGISNVRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVILHNGVVQESYYRYV
AREQSSRRPNAQRFGISNHGSEPSIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPSIIH
RGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGAN
SNNPDWDFNPIKDHHPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPP
ASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTV
NPAPNIASHISSISARTGDPVTNATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHGDT
IPRGIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGSGSSWAFSGVAEVDVPGI
DPNASHYMKSPVLVKQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNASHYMKSPVLVK
QQYDIKYTWIVPKIAPKSENATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDSASQHGSHGDTIPR
GIEYIQTNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGSGSSWAFSG

【 0087】 SEQ ID No.31(“ Der p 5.7.21.23 _P4P5”)

YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKK
KAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYGYFADPKDPHKFYIC
SNWEAVHKDCPGNTGYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGGWSSKPRKGMGTN
LSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHHPAANQVGVGAFGPGLTPPHG
GILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQ
ALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNKFYICSNWEAVH
KDCPGNTRWNEDEETCTKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCTDYQNEFDLLM
ERIHEQIKKGELALFYLQDYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFYLQDPIHYDKITE
EINKAVDEAVAAIEKSETFDDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDEQYNLEM
AKKSGDILERDLKKEEARVKKIEVEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV

【 0088】 SEQ ID No.32(“Der p 5_7_21 C1”)

YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKK
KAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIK
KLDELAKKVKAVNPDEYYDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDDPIHYDKIT
EEINKAVDEAVAAIEKSETFDGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGAN
SNNPDWDFNPIKDHHPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPP
ASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTV
NPAPNIASHISSISARTGDPVTNDYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFYLQDYQNE
FDLLMERIHEQIKKGELALFYLQDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDDPI
HYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIE
VEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV

【 0089】 SEQ ID No.33(“Der p 5_7_21 C2”)

YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKV
KAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYYYNYEFALESIKLLIK
KLDELAKKVKAVNPDEYYDYQNEFDLFLMERIHEQIKKGELALFYLQDYQNEFDLFL
MERIHEQIKKGELALFYLQGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSN
NPDWDFNPIKDHWAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPAS
TNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNP
APNIASHISSISARTGDPVTNDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDDPIHYD
KITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDDPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDDPI
HYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFDEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIE
VEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV

【 0090 】 SEQ ID No.36(“ Der f 1/2 C3”)

VRNSWDTTWGDSGYGYFQAGNNLMMIEQYPYVIMQNGVVEERSYPYVAREQQSRRP
NSQHYGISNHGSDPSIIHRGKPFNLEAIFDANQNTKTAKHGSDPSIIHRGKPFNLEA
IFDANQNTKTAKVRNSWDTTWGDSGYGYFQAGNNLMMIEQYPYVIMQNGVVEERSY
PYVAREQQSRRPNSQHYGISNGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGAN
SNNPDWDFNPIKDHWAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPP
ASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTV
NPAPNIASHISSISARTGDPVTNEVDVPGIDTNASHYIKSPLVKGQQYDAKYTWNVP
KIAPKSENEVDVPGIDTNASHYIKSPLVKGQQYDAKYTWNVPKIAPKSENATESAYL
AYRNTSLDLSEQELVDSASQHGSHGDTIPRGIEYIQTSASRINSVNVPSSELDLRLSLR
TVTPIRMQGGSGSSWAFSGVAATESAYLAYRNTSLDLSEQELVDSASQHGSHGDTIP
RGIEYIQTSASRINSVNVPSSELDLRLSLRTVTPIRMQGGSGSSWAFSG

【 0091 】 SEQ ID No.37(“ Der f 5 7 21 23_P6”)

YNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDDYNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVK
VKSDDYNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDDGYFADPKDPSKIFYISSNWEAI
HKSSPGNTRWNEKELTSTGYFADPKDPSKIFYISSNWEAIHKSSPGNTRWNEKELTST
GYFADPKDPSKIFYISSNWEAIHKSSPGNTRWNEKELTSTGGWSSKPRKGMGTNLSVP
NPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILG
WSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQD
PRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNDYQNEFDLFLMQRIHE
QMRKGEEALLHLQDYQNEFDLFLMQRIHEQMRKGEEALLHLQDPIHYDKITEEINKA
IDDAIAAIEQSETIDDPIHYDKITEEINKAIDDAIAAIEQSETIDERYNVEIALKSN
EILERDLKKEEQRVKKIEVERYNVEIALKSNEILERDLKKEEQRVKKIEV

【 0092 】 本發明之另一態樣關於包含至少一種根據本

發明之融合蛋白的藥物製劑(即，疫苗製劑)。

【0093】根據本發明之較佳的實施態樣，該製劑包含含有胺基酸序列SEQ ID No.27之融合蛋白和含有胺基酸序列SEQ ID No.28之融合蛋白。

【0094】根據本發明之另一較佳實施態樣，該製劑包含10 ng至1 g，較佳為100 ng至10 mg，尤其是0.5 µg至200 µg之本發明的融合蛋白或編碼該融合蛋白之核酸分子或包含該核酸分子之載體。

【0095】根據本發明之一特佳實施態樣，本發明之融合蛋白係以0.01 pg/kg體重至5 mg/kg體重，較佳為0.1 pg/kg體重至2 mg/kg體重之量投予該個體至少一次。

【0096】根據本發明之另一較佳實施態樣，該融合蛋白或是與體重無關地以5至100 µg，較佳為10至80 µg，更佳為10至40 µg之量(即，一個劑量可包含15、20、25、30或80 µg)之量投予患者，或以每公斤體重5至100 µg，較佳為10至80 µg，更佳為10至40 µg之量投予患者。

【0097】可與賦形劑組合以製造單一劑型之融合蛋白的量將根據所治療之宿主和該特定之投予模式而有所變化。該多胜肽構建體之劑量可根據，諸如該個體之疾病狀態、年齡、性別和體重，及在該個體中引起所需之抗體反應的能力等因子而變化。該劑量方案可經調整以提供最佳之治療反應。例如，可每天投予數個分割之劑量或者該劑量可依憑藉該治療情況之緊急性的指示按比例地減少。亦可根據情況改變該多胜肽構建體之劑量以提供最佳之預防

性劑量反應。例如，本發明之融合蛋白可每隔數天、一或二週或甚至幾個月投予個體，該期間總是取決於所誘導之過敏原特異性 IgG 水準。

【0098】於本發明之一較佳實施態樣中，本發明之融合蛋白和藥物製劑係施用 2 至 10 次，較佳為 2 至 7 次，甚至更佳為至多 5 次。於本發明之另一較佳實施態樣中，單一加強劑在第一次給藥時間表後之 3 個月至 5 年之間施用。這些加強劑之施用可重複 2 至 10 次，較佳為 2 至 5 次，且最佳為 2 至 3 次。於一特佳之實施態樣中，所選擇之後續疫苗接種的時間間隔為 2 週至 5 年，較佳為 3 週至 3 年，更佳為 3 週至 1 年。重複投予本發明之融合蛋白可將治療之最終效果最大化。

【0099】於本發明之特佳之實施態樣中，本發明之融合蛋白和 / 或藥物製劑可藉由每月注射施用 3 至 6 次，較佳為 5 次，再依上述每 1 至 6 個月，較佳為 3 至 4 個月給予加強注射至少 1 年，較佳為至少 2 年，更佳為 2 至 6 年，更佳為 3 至 5 年。

【0100】根據本發明之另一較佳實施態樣，該製劑進一步包含至少一種佐劑、醫藥上可接受之賦形劑和 / 或防腐劑。

【0101】本發明之融合蛋白和藥物製劑可經由皮下、肌肉內、靜脈內、黏膜等途徑投予。根據該劑型和投予途徑，本發明之多肽構建物可與賦形劑、稀釋劑、佐劑和 / 或載體組合。較佳之佐劑為氫氧化鋁。用於製造疫苗配

製劑之合適方案為本技藝之熟習技術人士所已知且可在，例如“Vaccine Protocols”(A.Robinson, M.P.Cranage, M. Hudson; Humana Press Inc.,U.S.; 2nd edition 2003)中找到。

【0102】本發明之融合蛋白亦可與常規用於疫苗中之其他佐劑一起配製。例如，合適之佐劑可為 MF59、磷酸鋁、磷酸鈣、細胞因子(例如 IL2、IL-12、GM-CSF)、皂苷(例如 QS21)、MDP衍生物、CpG寡核苷酸、LPS、MPL、聚磷腈(polyphosphazene)、乳劑(例如弗氏(Freund's)，SAF)、脂質體、病毒體、免疫刺激複合物(iscoms)、脂質卷(cochleate)、PLG微粒、泊洛沙姆(poloxamer)顆粒、病毒樣顆粒、熱不穩定性腸毒素(LT)、霍亂毒素(cholera toxin)(CT)、突變體毒素(例如 LTK63和LTR72)、微粒和/或聚合化脂質體。合適之佐劑可商購，例如 ASO1B(脂質體配製劑中之 MPL和 QS21)、ASO2A、AS15、AS-2、AS-03及其衍生物(GlaxoSmithKline，美國)；CWS(細胞壁骨架)、TDM(海藻糖-6,6'-二黴菌酸酯)、LeIF(利甚曼原蟲延伸起始因子)、鋁鹽，諸如氫氧化鋁凝膠(明礬)或磷酸鋁；鈣、鐵或鋅之鹽類；不可溶之醯化酪胺酸懸浮液；醯化之糖類；陽離子或陰離子衍生之多醣；聚磷腈；可生物降解之微球；單磷醯脂質 A和 quil A。亦可使用細胞因子，諸如 GM-CSF或介白素-2、-7或-12作為佐劑。用於引發主要為 Th1型反應之較佳佐劑包括，例如單磷醯脂質 A，較佳為 3-O-脫醯化單磷醯脂質 A(3D-MPL)，可選擇地具有鋁

鹽。包含單磷醯脂質 A 和表面活性劑之水性配製劑已描述於 WO 98/43670 中。

【0103】另一較佳之佐劑為皂苷或皂苷模擬物或衍生物，較佳為 QS21(Aquila Biopharmaceuticals Inc.)，其可單獨使用或與其他佐劑組合使用。例如，增強之系統涉及單磷醯脂質 A 和皂苷衍生物之組合，諸如 QS21 和 3D-MPL 之組合。其他較佳之配製劑包含水包油乳液和生育酚。特別有效之佐劑配製劑為 QS21、3D-MPL 和在水包油乳液中之生育酚。用於本發明之另外的皂苷佐劑包括 QS7(描述於 WO 96/33739 和 WO 96/11711 中)和 QS17(描述於 US 5,057,540 和 EP 0 362 279 B1 中)。

【0104】本發明之藥物製劑最佳為包含氫氧化鋁作為佐劑。

【0105】本發明之另一態樣關於編碼根據本發明之融合蛋白的核酸分子。本發明之核酸分子可為 RNA 或 DNA 分子。該核酸分子可為可被轉染或引入任何種類之生物細胞中的載體(例如蛋白表現載體、整合載體、選殖載體)之一部分。較佳之細胞包括細菌細胞，諸如大腸桿菌、酵母細胞(諸如巴斯德畢赤酵母(*Pichia pastoris*)或釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))、植物細胞、哺乳動物細胞和昆蟲細胞。用於取得該等核酸分子、載體和細胞之手段和方法為本技藝之熟習技術人士所周知。

【0106】編碼根據本發明之融合蛋白的核酸分子亦可直接用於為有此需要之個體進行疫苗接種。這些核酸分子

可為 RNA 和 / 或 DNA 分子。

【0107】本發明之另一態樣關於包含根據本發明之核酸分子的載體。

【0108】根據本發明之較佳實施態樣，該載體為表現或選殖載體。該載體可為細菌、真菌、昆蟲、病毒或哺乳動物載體。

【0109】較佳地，本發明之載體可在各種宿主(如細菌、酵母、絲狀真菌、哺乳動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞或任何其他原核或真核細胞)中用於選殖和表現之目的。因此，該載體除了包含編碼根據本發明之融合蛋白的核酸外，還包含宿主特異性調控序列。

【0110】本發明之另一態樣關於包含根據本發明之核酸分子或載體的宿主細胞。

【0111】本發明之另一態樣關於根據本發明之融合蛋白或根據本發明之藥物製劑於治療或預防由家塵蟎之過敏原引起之過敏，特別是由 Der p 1、Der p 2、Der p 5、Der p 7、Der p 21 或 Der p 23 引起之過敏。

【0112】如本文所使用之術語“預防(preventing and prevention)”係指由投予根據本發明之融合蛋白或藥物製劑所導致之預防或抑制個體中之過敏或其症狀復發、發作和發展。於一些實施態樣中，“預防(preventing and prevention)”係指降低發展出針對特定過敏原之過敏的風險。術語“預防(preventing)”不僅涵蓋預防過敏症發作之措施，亦在過敏症一旦確立後阻止其進展並減少其後果。

【0113】如本文所使用之術語“治療(treatment和treating)”係指減輕或抑制過敏進展和持續時間、減輕或改善過敏之嚴重程度及改善其一或多種症狀。“治療”亦包含改善和/或逆轉過敏或過敏反應之症狀。可改善與過敏相關之任何參數的融合蛋白可被鑑定為治療性融合蛋白或軛合物。術語“治療”係同時指治療性治療和預防措施。例如可從使用本發明之組合物和方法之治療中受益的人包括已經過敏者及要預防過敏者。

【0114】本發明藉由下列實施例進一步說明，但不限於此。

【圖式簡單說明】

【0115】第1圖顯示構建體Der p 1-2 C3和Der p 5 7 21 23_P6(大)之示意圖。PreS代表B型肝炎病毒之表面抗原PreS。“P”表示如表I所提及之源自家塵蟎過敏原Der p 1、Der p 2、Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23之胜肽。

【0116】第2圖顯示藉由SDS-PAGE分析經純化的PreS融合蛋白。

【0117】第3圖顯示藉由免疫點墨法測定Der p 1-2 C3和Der p 5 7 21 23_P6(大)之IgE反應性分析的結果。

【0118】第4圖顯示證明Der p 1-2 C3缺乏過敏原活性之嗜鹼性粒細胞活化分析的結果。

【0119】第5圖顯示嗜鹼性粒細胞活化分析之結果，其證明Der p 5 7 21 23_P6缺乏過敏原活性。

【0120】第6圖顯示使用特異於Der p 1-2 C3之抗血清抑制患者之IgE與Der p 1和Der p 2結合。

【0121】第7圖顯示使用特異於Der p 5 7 21 23_P6之抗血清抑制患者之IgE與Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23結合。

【0122】第8A至8F圖顯示藉由ELISA測定與家塵蟎過敏原Der p 1(第8A圖)、Der p 2(第8B圖)、Der p 5(第8C圖)、Der p 7(第8D圖)、Der p 21(第8E圖)和Der p 23(第8F圖)特異性結合之IgG的血清水平，該IgG係來自使用20 µg BM35(“BM35 20”)、40 µg BM35(“BM35 40”)、80 µg BM35(“BM35 80”)、Tyro-SIT(“Bencard”)、Alutard SQ 503(“ALK D.pter”)、Alutard SQ 510(“ALK Dp/Df”)、ACAROID(“Allergoph”)、PURETHAL Milbenmischung(“HAL”)、CLUSTOID Milben Injektionssuspension(“Roxal”)和nDer p1、rDer p 2、rDer p 5、rDer p 7、rDer p 21和rDer p 23免疫化之兔子血清。在第一次注射後之第38和66天取回樣品。

【0123】第9A至9F圖顯示藉由ELISA測定之與家塵蟎過敏原Der p 1(第9A圖)、Der p 2(第9B圖)、Der p 5(第9C圖)、Der p 7(第9D圖)、Der p 21(第9E圖)和Der p 23(第9F圖)特異性結合之IgG的血清力價，該IgG係來自使用20µg BM35(“ BM35 20”)、40µg BM35(“BM35 40”)和80µg BM35(“ BM35 80”)免疫化之兔子血清，該血清係在第一次注射該免疫原之前及第一次注射後之第38和66天回收。測

定使用過敏原 nDer p 1、rDer p 2、rDer p 5、rDer p 7、rDer p 21和rDer p 23進行免疫接種之兔子血清樣品中各別過敏原之IgG血清力價作為對照組。

【實施方式】

【0124】實施例1：設計欲用於本發明之融合蛋白的過敏原片段

【0125】如藉由來自 ExPASy 伺服器 (<http://web.expasy.org/protscale/>) 之 ProtScale 生物信息學工具所測定者，跨越所欲過敏原序列之胜肽係基於對胺基酸表面暴露之預測鑑定。若胜肽之序列中不含有半胱胺酸殘基，則在其N或C端添加半胱胺酸以令其與鎖孔戚血藍蛋白(keyhole limpet hemocyanin)(KLH)偶合。使用 Applied Biosystems 433A型胜肽合成儀(美國 Foster City)合成胜肽，且接著藉由製備型高效液相色層分析術(HPLC)(Dionex，Thermofischer Scientific，USA)純化(Focke等人，FASEB J.2001; 15 (11):2042-4)。藉由質譜法(Bruker，奧地利)確認胜肽之大小和特性。

【0126】表I列出源自下列家塵蟎過敏原之過敏原片段：

Der p 1

(TNACSGINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGCGSCWAFSGVAATESAYLAYRNQSLD
LAEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQHNGVVQESYYRYVAREQSCRPNARFGI
SNYCQIYPPNVNKIREALAQTHSAIAVIIIGIKDLDAFRHYDGRITIIQRDNGYQPNYH
AVNIVGYSNAQGVDYWIVRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVIL; SEQ
ID No. 34),

Der p 2

(DQVDVKDCANHEIKKVLVPGCHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKIEIKA
SIEGLEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENVVTVKVMet

GDNGVLACAIATHAKIRD; SEQ ID No. 35)、**Der p 5**(GenBank登錄編

號：X17699)、**Der p 7**(GenBank登錄編號：U37044)、**Der**

p 21(GenBank登錄編號：DQ354124)和**Der p 23**(GenBank登

錄編號：EU414751.1)，這些已相關於IgE反應性、嗜鹼性

粒細胞活化、免疫原性和對過敏原特異性IgE分子之阻斷

進行測試。

表 I：過敏原片段

胜肽	在過敏原上的位置	SEQ ID No.	胺基酸序列
Der p 1			
Der p 1 P1	1-41	1	TNACSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGCGSCWAFSGVA
Der p 1 P1	1-41	5	TNA <u>S</u> SINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGG <u>S</u> GSSWAFSGVA
Der p 1 P2	42-84	2	ATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ
Der p 1 P2	42-84	6	ATESAYLAYRNQSLDLAEQELVD <u>S</u> ASQHG <u>S</u> HGDTIPRGIEYIQ
Der p 1 P3	85-115	3	HNGVVQESYYRYVAREQSCRRPNAQRFGISN
Der p 1 P3	85-115	7	HNGVVQESYYRYVAREQ <u>S</u> RRPNAQRFGISN
Der p 1 P4	99-135	49	REQSCRRPNAQRFGISNYCQIYPPNVNKIREALAQTH
Der p 1 P5	145-175	50	KDLDAFRHYDGRITIIQRDNGYQPNYHAVNIV
Der p 1 P6	155-187	51	GRTIIQRDNGYQPNYHAVNIVGYSNAQGVVDYWI
Der p 1 P7	175-208	52	VGYSNAQGVVDYWIVRNSWDTNWGDNGYGYFAANI
Der p 1 P8	188-222	4	VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVIL
Der p 2			
Der p 2 P1	1-33	53	DQVDVKDCANHEIKKVLVPGCHGSEPCIIHRGK
Der p 2 P2	21-51	8	CHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK
Der p 2 P2a	22-51	10	HGSEP <u>S</u> IIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK
Der p 2 P3	42-73	54	EANQNSKTAKIEIKASIEGLEVDVPGIDPNAC
Der p 2 P4	62-103	9	EVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN
Der p 2 P4a	62-103	11	EVDVPGIDPN <u>A</u> <u>S</u> HYMK <u>S</u> PLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN
Der p 2 P5	98-129	55	APKSENVVTVKVMGDNGVLACAIATHAKIRD
Der p 5			
Der p 5 P1	1-34	56	EDKKHDYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFYLO
Der p 5 P2	24-59	57	KKGELALFYLOEQINHFEEKPTKEMKDKIVAEMDTI
Der p 5 P3	64-94	58	DGVRGVLDRLMQRKDLDFEQYNLEMAKKSG
Der p 5 P4	78-113	59	DLDFEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV
Der p 5 P1-1	1-29	60	EDKKHDYQNEFDLLMERIHEQIKKGELA
Der p 5 P1-2	6-34	12	DYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFYLO
Der p 5 P4-1	78-108	61	DLDFEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARV
Der p 5 P4-2	83-113	13	EQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV
Der p 21			
Der p 21 P1	1-34	62	FIVGDKKEDEWRMAFDRLMMEELETKIDQVEKGL
Der p 21 P2	35-71	63	LHLSEQYKELEKTKSKELKEQILRELTIGENFMKGAL
Der p 21 P3	67-95	64	MKGALKFFEMEAKRTDLNMFERYNYEFAL
Der p 21 P4	89-121	15	YNYEFALESIKLLIKKLDELAKVKAVNPDEYY
Der p 7			
Der p 7 P1	1-30	14	DPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFD
Der p 7 P2	20-50	65	VAAIEKSETFDPMKVPDHSKFERHIGIIDL
Der p 7 P3	50-80	66	LKGELDMRNIQVRGLKQMKRVGDANVKSSEDG
Der p 7 P4	90-125	67	VHDDVVSMEYDLAYKLGDLHPNTHVISDIQDFVVEL
Der p 7 P5	123-148	68	VELSLEVSEEGNMTLTSFEVRQFANV
Der p 7 P6	149-176	69	VNHIGGLSILDPIFAVLSDVLTAFQDT
Der p 7 P7	170-198	70	TAIFQDTVRAEMTKVLAPAFKKELERNNQ

Der p 23			
Der p 23 P1	1-32	71	MANDNDDDP TTTVHPTTTEQPDDKFECPSRFG
Der p 23 P2	15-48	72	PTTTEQPDDKFECPSRFGYFADPKDPHKFYICSN
Der p 23 P3	32-70	16	GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT
Der p 23 P3a	32-70	73	GYFADPKDPHKF <u>A</u> ICSNW <u>A</u> AVHK <u>A</u> CPGNTRWN <u>AAAA</u> TCT
Der p 23 P3b	32-37	74	GYFADPKDPH <u>A</u> FYICSNWEAV <u>AA</u> DCPGNTRWNEDEETCT
Der p 23 P4	32-60	75	GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNT
Der p 23 P4a	32-60	76	GYFADPKDPHKFYI <u>S</u> SNWEAVHKD <u>S</u> PGNT
Der p 23 P5	42-70	77	KFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT
Der p 23 P5a	42-70	78	KFYI <u>S</u> SNWEAVHKD <u>S</u> PGNTRWNEDEET <u>S</u> T
Der p 23 P5b	47-70	79	SNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT
Der p 23 P6	32-70	17	GYFADPKDPHKFYI <u>S</u> SNWEAVHKD <u>S</u> PGNTRWNEDEET <u>S</u> T
Der p 23 P7	32-64	80	GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNE
Der p 23 P8	32-68	81	GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEET
Der f 1			
Der f 1 P1		38	TSACRINSVNPSELDLRSLRTVTPIRMQGGCGSCWAFSGVA
Der f 1 P2		39	ATESAYLAYRNTSLDLSEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ
Der f 1 P3		40	QNGVVEERSYPYVAREQQCRPNSQHYGISN
Der f 1 P8		41	VRNSWDTTWGD SGYGYFQAGNNLMMIEQYPYVIM
Der f 2			
Der f 2 P2a		42	HGSDPCIIHRGKPFNLEAIFDANQNTKTAK
Der f 2 P4a		43	EVDVPGIDTNACHYIKCPLVKGQQYDAKYTWNVPKIAPKSEN
Der f 5			
Der f 5 P1-2		44	DYQNEFDLLMQRIHEQMRKGEEALLHLQ
Der f 5 P4-2		45	ERYNVEIALKSNEILERDLKKEEQRVKKIEV
Der f 7			
Der f 7 P1		46	DPIHYDKITEEINKAIDDAIAAIEQSETID
Der f 21			
Der f 21 P4		47	YNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDD
Der f 23			
Der f 23 P6		48	GYFADPKDPCKFYICSNWEAIIHKSCPGNTRWNEKELTCT

【0127】藉由斑點墨跡分析測定胜肽之IgE反應性。為此，將0.5 μg等分之每種胜肽、0.5 μg等分之對應過敏原和作為對照組之人血清白蛋白(HSA)點在Whatman Protran硝酸纖維素膜(GE healthcare，Little Chalfont，UK)上。使用金緩衝液(50 mM磷酸鈉[pH 7.4]、0.5%[v/v] Tween-20、0.5%[w/v] BSA和0.05%[w/v] 疊氮化鈉)阻斷3次，每次20

分鐘後，將膜與HDM過敏患者之血清(1:10，在金緩衝液中)或與來自非過敏人士之血清(1:10，在金緩衝液中)在4℃下培育過夜。使用1:10稀釋之經 I^{125} 標記的抗人IgE Ab(Demeditec Diagnostics，德國Kiel)檢測經結合之IgE抗體並藉由自動放射造影(柯達XOMAT軟片)可視化。

【0128】為了測定該胜肽類之免疫原性，使用每一與KLH軛合之胜肽(200 µg/注射)將兔子免疫化三次(4週後注射第一次加強劑量且7週後注射第二次加強劑量)，並使用各別過敏原(200 µg/注射)作為對照組(使用一次弗氏完全佐劑和二次弗氏不完全佐劑(Charles River，Chatillon sur Chalaronnne，法國)和/或 $Al(OH)_3$ (Serva))。藉由ELISA滴定分析兔子免疫反應。為了測量特異性兔子IgG抗體，使用各別過敏原將ELISA盤塗覆過夜。阻斷後，將ELISA盤與對應之兔子抗血清或來自未免疫化之兔子之血清的連續稀釋液(1:500、1:2,000、1:10,000和1:20,000)一起培育過夜。使用1:1,000稀釋之辣根過氧化物酶標記之驢抗兔子IgG抗血清(Amersham Biosciences，Little Chalfont，UK)檢測經結合之兔子IgG抗體。

【0129】為了測定胜肽IgG之阻斷能力，將經塗覆1 µg/ mL之各別過敏原過夜的ELISA盤(Nunc，Roskilde，丹麥)與每一種抗胜肽抗血清、抗過敏原抗血清預先培育24小時，或與來自未免疫化之兔子的血清(均為1:50稀釋)預先培育24小時以作為對照組，然後洗滌之。與來自HDM過敏患者之血清(稀釋1:10)培育過夜後，使用經辣根過氧化

物酶標記之山羊抗人IgE抗體(KPL, Gaithersburg, MD)檢測經結合之IgE抗體。依下式計算藉由與兔子抗血清預先培育而達到之IgE結合減少百分比： $100 - (ODI/ODP) \times 100$ 。ODI和ODP分別代表與兔子免疫血清或正常兔子血清預先培育後之光密度值。

【0130】為了測試該胜肽之過敏原活性，在表現人高親和力IgE受體FcεRI之大鼠嗜鹼白血病細胞(RBL)(1×10^5 /孔)上加載來自HDM過敏患者之血清過夜，並使用來自非過敏個體之血清作為對照組(1:10稀釋)。使用Tyrode緩衝液(Sigma, 奧地利)洗滌細胞三次並將細胞暴露於過敏原和胜肽類之連續稀釋液1小時。依前述分析上清液之β-己糖胺酶活性(以一式三份進行實驗，結果係以加入1% Triton X-100後釋出之總β-己糖胺酶之平均百分比 $\pm$ 該平均值之SE(SEM)表示。

表 II

胜肽	<i>IgE</i> 反應性 (斑點墨跡)	嗜鹼性 粒細胞活化	免疫原性	阻斷 <i>IgE</i>
Der p 1				
Der p 1 P1	-	-	是	52% CFA
Der p 1 P2	-	-	是	51% CFA
Der p 1 P3	-	-	是	19% CFA
Der p 1 P4	-	-	是	25% CFA
Der p 1 P5	-	-	是	18% CFA
Der p 1 P6	-	-	是	4% CFA
Der p 1 P7	-	-	是	35% CFA
Der p 1 P8	-	-	是	45% CFA
Der p 2				
Der p 2 P1	-	-	是	41% CFA
Der p 2 P2	-	-	是	70% CFA
Der p 2 P3	-	-	是	78% CFA
Der p 2 P4	-	-	是	73% CFA
Der p 2 P5	-	-	不佳	3% CFA
Der p 5				
Der p 5 P1	+	nd	是	35% A1OH, 53% CFA
Der p 5 P2	-	-	是	23% A1OH, 37% CFA
Der p 5 P3	+	-	是	31% A1OH, 69% CFA
Der p 5 P4	+	nd	是	42% A1OH, 83% CFA
Der p 5 P1-1	+	nd	nd	nd
Der p 5 P1-2	-	-	是	45% A1OH, 69% CFA
Der p 5 P4-1	+	nd	nd	nd
Der p 5 P4-2	-	nd	是	45% A1OH, 78% CFA
Der p 21				
Der p 21 P1	+	-	是	54% A1OH, 55% CFA
Der p 21 P2	+	-	是	14% A1OH, 39% CFA
Der p 21 P3	+	-	不佳	<10%
Der p 21 P4	-	-	是	64% A1OH, 81% CFA
Der p 7				
Der p 7 P1	-	-	是	66%A1OH, 65% CFA

Der p 7 P2	-	-	是	26% A1OH, 62% CFA
Der p 7 P3	-	-	是	26% A1OH, 33% CFA
Der p 7 P4	-	-	是	15% A1OH, 46% CFA
Der p 7 P5	-	-	不佳	0% A1OH, 0% CFA
Der p 7 P6	-	-	不佳	5% A1OH, 9% CFA
Der p 7 P7	-	-	是	22% A1OH, 52% CFA
Der p 23				
Der p 23 P1	-	-	不佳	nd
Der p 23 P2	-	-	是	19%
Der p 23 P3	+	nd	是	nd
Der p 23 P3a	+	nd	不佳	nd
Der p 23 P3b	+	nd	無	nd
Der p 23 P4	-	-	是	33%
Der p 23 P4a	*	*	*	*
Der p 23 P5	+	-	是	39%
Der p 23 P5a	*	*	*	*
Der p 23 P5b	*	*	*	*
Der p 23 P6	-	nd	是	70%
Der p 23 P7	-	nd	是	5%
Der p 23 P8	-	nd	是	6%

nd：未做；粗體和下方劃線之字母：被絲胺酸或丙胺酸殘基替代之半胱胺酸殘基；
+表示IgE反應性；-表示無IgE反應性或無嗜鹼性粒細胞活化。

【 0131】 實施例2：重組產生蛋白質

【 0132】 合成(ATG：biosynthetics，德國 Merzhausen 和 GenScript，美國 Piscataway)編碼融合蛋白 Der p 1-2 C3 和 Der p 5 7 21 23_P6(大)之基因(密碼子優化以用於大腸桿菌表現)並將其插入 pET-27b之 NdeI/XhoI位點(Novagen，德國)。在大腸桿菌菌株 BL21-Gold(DE3)中表現重組蛋白。藉由在細菌培養物中添加 0.5 mM IPTG並在 37℃ 下培育 3小時來誘導在 OD 600 0.4處之 Der p 1-2 C3(參見第 1圖；SEQ ID No.27)表現。藉由添加 1 mM IPTG並在 37℃ 下培育

2.5小時來誘導在OD 600 0.6處之Der p 5 7 21 23_P6(大)(參見第1圖；SEQ ID No.28)表現。

【0133】當收穫和添加蛋白酶抑制劑時，進行製備包涵體以除去可溶性細菌蛋白質。將含有部分純化之Der p 1-2 C3蛋白的小丸溶於6 M尿素、10 mM Tris pH 8、4% 異丙醇中並使用HiTrap DEAE瓊脂糖FF(GE healthcare)管柱，藉由陰離子交換色層分析法繼續純化。使用線性增加之NaCl濃度達成從該管柱洗提出該蛋白質。將高純度之洗提餾分合併並進行逐步透析以除去尿素和鹽，並使蛋白質再折疊而不聚集。隨後將Der p 1-2 C3蛋白質在4℃下，在下列溶液中培育最少4-5小時：1)6 M尿素、154 mM NaCl、10 mM Tris，pH 8、4% 異丙醇，2)4 M尿素、103 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 8，3)2 M尿素、50.2 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 8，4)1 M尿素、25 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 8，5)0.5 M尿素、12.5 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 8，6)2 mM Hepes，PH 8。

【0134】將含有Der p 5 7 21 23_P6(大)之細胞裂解物溶解於6 M尿素中，將10 mM Tris PH 7.5、4% 異丙醇施用於HiTrap DEAE瓊脂糖FF(GE healthcare)柱並使用線性增加之NaCl濃度達成從該管柱洗提出該蛋白質。將純餾分合併並依下述透析。逐步透析條件Der p 5 7 21 23_P6(大)：接著將蛋白質在4℃下，在下列溶液中培育最少4-5小時：1)6 M尿素、100 mM NaCl、10 mM Tris，pH 7.5、4%異丙醇，2)4 M尿素、100 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，3)2

M 尿素、100 mM NaCl、2 mM Hepes、PH 7.5，4)1 M 尿素、100 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，5)0.5 M 尿素、100 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，6) 100 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，7) 50 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，8)25 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，9) 12.5 mM NaCl、2 mM Hepes，PH 7.5，10) 2 mM Hepes，PH 7.5。

【0135】藉由 SDS-PAGE 和考馬斯 (Coomasie) 染色檢查該蛋白質之純度(參見第 2 圖)。使用尺寸排阻色層分析法確認該再折疊之蛋白質沒有發生寡聚化。

【0136】實施例 3：測定 IgE 反應性

【0137】藉由免疫點墨測定實施例 2 之構建體的 IgE 反應性 (Curin M 等人 Sci Rep.22(2017):12135)。將含有 0.5 µg 之下列純化之等分試樣點在硝酸纖維素膜 (Schleicher 和 Schuell 公司，德國) 上：nDer p 1 (天然分離物；登錄編號：PDB：3RVW_A；方法之參考資料：Hales, B.J. 等人 Clin Exp Allergy.30(2000): 934-943)、rDer p 2 (重組產生之 Der p 2；序列發表於 Chen KW 等人, Allergy.67(2012):609-21；方法之參考資料：Chen, K., 等人 Mol I mMunol.45(2008): 2486-2498)、rDer p 5 (GeneBank：X17699；參考方法：Weghofer M, 等人 Int Arch Allergy I mMunol.147(2008):101-9.)、rDer p 7 (GeneBank：U37044；方法之參考資料：Resch Y, 等人 Clin Exp Allergy.41(2011):1468-77)、rDer p 21 (GeneBank：DQ354124；參考方法：Weghofer M, 等人 Allergy.63(2008):758-67.)、rDer p 23 (GeneBank：

EU414751.1；參考方法：Weghofer M, 等人 J I mMunol. 190 (2013):3059-67)、Der p 1-2 C3 (參見實施例2)、Der p 5 7 21 23_P6(大)(參見實施例2)和用於對照目的之BSA。使用金緩衝液(50 mM磷酸鈉[pH 7.4]、0.5%[v/v] Tween-20、0.5%[w/v] BSA和0.05%[w/v]疊氮化鈉)阻斷膜三次，持續20分鐘，然後與家塵蟎過敏患者之血清(在金緩衝液中稀釋1:10)和與來自非過敏之人士之血清(在金緩衝液中稀釋1:10)在4°C下培育過夜。使用1:10稀釋之¹²⁵I-標記的抗人IgE抗體檢測經結合之IgE(Demeditec診斷，德國Kiel)並依前述藉由自動放射造影(柯達XOMAT軟片)可視化(Curin等人 Sci Rep.22(2017):12135)。

【0138】藉由斑點墨跡分析比較在20位HDM-致敏化患者中之Der p 1-2 C3的IgE反應性與Der p 1和Der p 2之IgE反應性(第3A圖)。當過敏患者與Der p 1和Der p 2反應時，沒有患者顯示出與Der p 1-2 C3相關之IgE反應性。來自非過敏性個體(NA)之血清未觀察到反應性且對照蛋白BSA亦未顯示出IgE反應性(第3A圖)。在接下去之實驗中，將Der p 5 7 21 23_P6(大)之IgE反應性與Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23之IgE反應性相比較。18位HDM-致敏化患者以患者依賴性方式與Der p 5、Der p 7、Der p 21和Der p 23反應但測試之患者無一與Der p 5 7 21 23_P6(大)或與對照蛋白BSA(第3B圖)反應。

【0139】實施例4：IgE競爭分析

【0140】由於阻斷抗體顯示出在過敏之免疫療法中發

揮重要作用，因關於胜肽誘導阻斷抗體之能力的信息是重要的。

【0141】進行ELISA競爭實驗以檢查藉由投予哺乳動物Der p 1-2 C3和Der p 5 7 21 23_P6(大)所誘導之免疫球蛋白(特別是IgG)抑制家塵蟎過敏患者之IgE與家塵蟎過敏原結合的能力。

【0142】進行IgE ELISA競爭分析以分析藉由抗Der p 1-2 C3 和抗Der p 5 7 21 23_P6(大)特異性兔子IgG抑制人IgE與nDer p 1、rDer p 2、rDer p 5、rDer p 7、rDer p 21、rDer p 23結合。簡單地說，將使用1 µg/mL之各別過敏原塗覆過夜之ELISA盤(Nunc，丹麥)與抗-Der p 1-2 C3抗血清、抗Der p 5 7 21 23_P6(大)、用於比較之各別抗過敏原抗血清(抗nDer p 1、抗rDer p 2、抗rDer p 5、抗rDer p 7、抗rDer p 21或抗rDer p 23抗血清)、或與用於對照目的之來自未經免疫化之兔子的血清(全部均1：3稀釋)預先培育24小時，然後洗滌之。與來自HDM過敏患者之血清(稀釋1:10)培育過夜後，使用辣根過氧化物酶標記之山羊抗人IgE抗體(KPL，馬利蘭州Gaithersburg)檢測經結合之IgE抗體。依下述計算藉由與兔子抗血清預先培育而減少之經結合之IgE百分比： $100 - (\text{ODI}/\text{ODP}) \times 100$ (參見第6和7圖)。ODI和ODP分別表示預先與兔子免疫血清或正常兔子血清溫育後之光密度值(參見Curin M，等人Sci Rep.22(2017): 12135)。

【0143】依下述取得該用於本實施例中之抗Der p 1-2

C3和抗Der p 5 7 21 23_P6(大)特異性兔子IgG。使用Der p 1-2 C3或Der p 5 7 21 23_P6(大)(200 µg/注射)將兔子(Charles River, 法國)免疫化三次(4週後第一次加強注射且7週後第二次加強注射)。使用Al(OH)₃(Serva)作為佐劑。每一蛋白質將2隻兔子免疫化。藉由ELISA滴定分析兔子免疫反應。

【0144】使用抗Der p 1-2 C3抗體所實現之對患者IgE與nDer p 1結合之抑制率(53%和58%平均抑制)略低於，但接近使用抗nDer p 1實現之抑制率(78%平均抑制)。使用兔子抗Der p 1-2 C3抗體所實現之對IgE與rDer p 2結合之抑制率(平均89%和85%)與使用兔子抗Der p 2所實現之抑制率(平均84%)相當(第6圖)。使用抗Der p 5 7 21 23_P6(大)所實現之對患者IgE與Der p 5結合之抑制率(平均抑制76%和85%)與使用抗Der p 5所實現之抑制率(平均抑制88%)相當，而使用Der p 5 7 21 23_P6(大)所實現之對與Der p 21結合之抑制率(平均抑制58%和58%)略低於使用抗Der p 21所實現之抑制率(平均抑制87%)。使用Der p 5 7 21 23_P6(大)所實現之對IgE與Der p 7和Der p 23結合之抑制率(在Der p 7方面，二隻兔子的結果均為74%，在Der p 23方面，二隻兔子的結果為47%和42%)高於使用抗Der p 7(58%)和抗Der p 23(7%)所實現之抑制率(第7圖)。

【0145】實施例5：藉由嗜鹼性粒細胞活化分析測定之過敏原活性

【0146】為了測試本發明構建體，尤其是Der p 1-2 C3

和 Der p 5 7 21 23_P6(大)之過敏原活性，在表現人高親和力 IgE 受體 FcεRI 之大鼠嗜鹼性粒細胞白血病細胞(RBL)(1×10^5 /孔)上加載來自家塵蟎過敏患者之血清(稀釋 1:10)過夜。使用 Tyrode 緩衝液(Sigma、奧地利)洗滌細胞三次並將細胞暴露於過敏原之連續稀釋液(分別為 100 ng/mL、10 ng/mL 和 1 ng/mL 之 nDer p 1、rDer p 2、rDer p 5、rDer p 7、rDer p 21、rDer p 23、Der p 1-2 C3 和 Der p 5 7 21 23_P6(大))1 小時。使用不含過敏原之血清或無血清之過敏原作為陰性對照組。依前述(Hartlet al Allergy 59(2004): 65-73)分析上清液之 β -己糖胺酶活性。以一式三份進行實驗並以加入 1% Triton X-100 後釋出之總 β -胺基己糖苷酶的平均百分比 $\pm$ 平均值之 SE(SEM) 表示結果(參見第 4 和 5 圖)。

【0147】Der p 1 和 Der p 2 被發現可誘導 β 胺基己糖苷酶從加載來自 HDM 過敏患者之血清 IgE 的嗜鹼性粒細胞釋出，而 Der p 1-2 C3 不會活化該嗜鹼性粒細胞(第 4 圖)。下一組實驗顯示 Der p 5、Der p 7、Der p 21 和 Der p 23 以患者依賴性方式誘導 β 胺基己糖苷酶從加載血清 IgE 的嗜鹼性粒細胞釋出，而 Der p 5 7 21 23_P6(大)不會誘導加載相同患者血清之嗜鹼性粒細胞釋出(第 5 圖)。這些數據表明構建體 Der p 1-2 C3 和 Der p 5 7 21 23_P6(大)不會顯現出過敏原活性。

【0148】實施例 6：與商購之 HDM 疫苗相比較之藉由 BM35 誘導形成過敏原特異性 IgG

【0149】使用各種劑量之BM35(一種包含融合蛋白之製劑，該融合蛋白包含重量比為1：1之胺基酸序列SEQ ID No.27和28)和商購製劑，根據製造商之指示(參見表III)經由皮下注射為二隻一組的紐西蘭白兔各自進行免疫接種。使用過敏原nDer p 1、rDer p 2、rDer p 5、rDer p 7、rDer p 21和rDer p 23將對照組兔子免疫化。

表 III

產品	公司	投予方案
Tyro-SIT	Bencard Allergie GmbH	第 1 週: 0.1 ml 第 2 週: 0.3 ml 第 3 週: 0.5 ml 第 4 週: 0.1 ml 第 5 週: 0.3 ml 第 6 週: 0.5 ml 第 9 週: 0.5 ml 第 13 週: 0.5 ml 第 17 週: 0.5 ml
Alutard SQ 503 和 510	ALK-Abelló	第 1 週: 0.2 ml 第 2 週: 0.4 ml 第 3 週: 0.8 ml 第 4 週: 0.2 ml 第 5 週: 0.4 ml 第 6 週: 0.8 ml 第 7 週: 0.2 ml 第 8 週: 0.4 ml 第 9 週: 0.8 ml 第 10 週: 0.2 ml 第 11 週: 0.4 ml 第 12 週: 0.6 ml 第 13 週: 0.8 ml 第 14 週: 1 ml 第 18 週: 1 ml

ACAROID	Allergopharma	第 1 週: 0.1 ml 第 2 週: 0.2 ml 第 3 週: 0.4 ml 第 4 週: 0.6 ml 第 5 週: 0.1 ml 第 6 週: 0.2 ml 第 7 週: 0.4 ml 第 8 週: 0.6 ml 第 10 週: 0.6 ml 第 13 週: 0.6 ml 第 17 週: 0.6 ml
PURETHAL Milbenmischung	HAL Allergy	第 1 週: 0.05 ml 第 2 週: 0.1 ml 第 3 週: 0.2 ml 第 4 週: 0.3 ml 第 5 週: 0.4 ml 第 6 週: 0.5 ml 第 8 週: 0.5 ml 第 10 週: 0.5 ml 第 12 週: 0.5 ml 第 15 週: 0.5 ml 第 19 週: 0.5 ml
CLUSTOID Milben Injektionssuspension	Roxall Medizin GmbH	第 1 週: 0.2 ml (15 分鐘後 0.5 ml) 第 4 週: 0.5 ml 第 8 週: 0.5 ml 第 12 週: 0.5 ml 第 16 週: 0.5 ml

【0150】在第一次免疫化當天和第一次免疫化後第 38 和 66 天從兔子中採集血清樣品，以監測特異結合家塵蟎過敏原 nDer p 1、rDer p 2、rDer p 5、rDer p 7、rDer p 21 和 rDer p 23 之 IgG 的形成，以測定家塵蟎過敏原特異性抗體反應。藉由將血清稀釋 1：500 及使用 ELISA 來測量過敏原

特異性兔子 IgG 反應。使用 1：2000 稀釋之驢抗兔子辣根過氧化物酶偶合之 IgG 抗體 (NA 934；GE Healthcare UK Limited，聯合王國 Chalfont St Giles) 檢測經結合之兔子 IgG。使用 2,2'-次偶氮基-雙(3-乙基苯並噻唑啉-6-磺酸) 完成顯色。使用野生型家塵蟎過敏原免疫化後所取得之血清作為陽性對照組。

【0151】描繪於第8圖和第9圖中之結果清楚地顯示，與商購產品相比較，BM35能夠誘導力價高出許多之過敏原特異性 IgG 形成。尤其令人驚訝的是，BM35誘導針對所有6種家塵蟎過敏原之抗體形成，而商購產品導致力價低得多且僅針對單一過敏原之過敏原特異性 IgG。因此，與 BM35相比較，所有商購產品顯示出在誘導特異性結合數量非常有限之過敏原的 IgG 方面之能力較弱。

【序列表】

<110> 奧地利商拜歐邁公司(Biomay AG)
<120> 家塵蟎過敏的治療及預防
<130> 25108-WO
<150> EP 18173258.7
<151> 2018-05-18
<160> 81
<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 1

Thr Asn Ala Cys Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu
1 5 10 15

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Cys Gly
20 25 30

Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala
35 40

<210> 2
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 2

Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp Leu
1 5 10 15

Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Cys Ala Ser Gln His Gly Cys His Gly
20 25 30

Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln
35 40

<210> 3
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 3
His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Val Ala Arg Glu
1 5 10 15

Gln Ser Cys Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser Asn
20 25 30

<210> 4
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 4
Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Leu
35

<210> 5
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 5
Thr Asn Ala Ser Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu
1 5 10 15

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Ser Ser Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala
35 40

<210> 6
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 6
Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp Leu
1 5 10 15

Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser Gln His Gly Ser His Gly
20 25 30

Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln
35 40

<210> 7
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 7

His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Val Ala Arg Glu
1 5 10 15

Gln Ser Ser Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser Asn
20 25 30

<210> 8
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 8

Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln
1 5 10 15

Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys
20 25 30

<210> 9
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 9

Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys
1 5 10 15

Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile
20 25 30

Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn
35 40

<210> 10
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 10
His Gly Ser Glu Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu
1 5 10 15

Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys
20 25 30

<210> 11
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 11
Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Ser His Tyr Met Lys
1 5 10 15

Ser Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile
20 25 30

Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn
35 40

<210> 12
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 12
Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His Glu
1 5 10 15

Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln
20 25

<210> 13
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 13

Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly Asp Ile Leu Glu
1 5 10 15

Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys Lys Ile Glu Val
20 25 30

<210> 14
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 14

Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val
1 5 10 15

Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp
20 25 30

<210> 15
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 15

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys
1 5 10 15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr
20 25 30

Tyr

<210> 16
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 16

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr
35

<210> 17
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 17

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr
35

<210> 18
<211> 192
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 18

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Leu His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Val
35 40 45

Ala Arg Glu Gln Ser Ser Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile
50 55 60

Ser Asn His Gly Ser Glu Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe
65 70 75 80

Gln Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys
85 90 95

His Gly Ser Glu Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu
100 105 110

Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Val Arg
115 120 125

Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr Phe Ala
130 135 140

Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val Val Ile
145 150 155 160

Leu His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Val Ala Arg
165 170 175

Glu Gln Ser Ser Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser Asn
180 185 190

<210> 19
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 19

Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Ser His Tyr Met Lys
1 5 10 15

Ser Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile
20 25 30

Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro Gly
35 40 45

Ile Asp Pro Asn Ala Ser His Tyr Met Lys Ser Pro Leu Val Lys Gly
50 55 60

Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro
65 70 75 80

Lys Ser Glu Asn Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln
85 90 95

Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser Gln His
100 105 110

Gly Ser His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln Thr
115 120 125

Asn Ala Ser Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu Arg
130 135 140

Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly Ser
145 150 155 160

Ser Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala
165 170 175

Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser
180 185 190

Ala Ser Gln His Gly Ser His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu
195 200 205

Tyr Ile Gln Thr Asn Ala Ser Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu
210 215 220

Ile Asp Leu Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Ser Ser Trp Ala Phe Ser Gly
245 250

<210> 20
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 20

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys
1 5 10 15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr
20 25 30

Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys
35 40 45

Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu
50 55 60

Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile
65 70 75 80

Lys Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp
85 90 95

Glu Tyr Tyr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr
100 105 110

Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr
115 120 125

Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro

130 135 140

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

Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser
165 170 175

Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Ser
180 185 190

Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp
195 200 205

Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr
210 215

<210> 21
<211> 180
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 21

Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His Glu
1 5 10 15

Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Asp Tyr Gln
20 25 30

Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys
35 40 45

Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Asp Pro Ile His Tyr Asp
50 55 60

Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala
65 70 75 80

Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile
85 90 95

Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu
100 105 110

Lys Ser Glu Thr Phe Asp Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys
115 120 125

Ser Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val
130 135 140

Lys Lys Ile Glu Val Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser
145 150 155 160

Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys
165 170 175

Lys Ile Glu Val
180

<210> 22
<211> 192
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 22

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Thr Trp Gly Asp Ser Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Gln Ala Gly Asn Asn Leu Met Met Ile Glu Gln Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Met Gln Asn Gly Val Val Glu Glu Arg Ser Tyr Pro Tyr Val
35 40 45

Ala Arg Glu Gln Gln Cys Arg Arg Pro Asn Ser Gln His Tyr Gly Ile
50 55 60

Ser Asn His Gly Ser Asp Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe
65 70 75 80

Asn Leu Glu Ala Ile Phe Asp Ala Asn Gln Asn Thr Lys Thr Ala Lys
85 90 95

His Gly Ser Asp Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Asn Leu
100 105 110

Glu Ala Ile Phe Asp Ala Asn Gln Asn Thr Lys Thr Ala Lys Val Arg
115 120 125

Asn Ser Trp Asp Thr Thr Trp Gly Asp Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Gln
130 135 140

Ala Gly Asn Asn Leu Met Met Ile Glu Gln Tyr Pro Tyr Val Val Ile
145 150 155 160

Met Gln Asn Gly Val Val Glu Glu Arg Ser Tyr Pro Tyr Val Ala Arg
165 170 175

Glu Gln Gln Cys Arg Arg Pro Asn Ser Gln His Tyr Gly Ile Ser Asn
180 185 190

<210> 23
<211> 254
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 23

Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Thr Asn Ala Cys His Tyr Ile Lys
1 5 10 15

Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ala Lys Tyr Thr Trp Asn
20 25 30

Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro Gly
35 40 45

Ile Asp Thr Asn Ala Cys His Tyr Ile Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly
50 55 60

Gln Gln Tyr Asp Ala Lys Tyr Thr Trp Asn Val Pro Lys Ile Ala Pro
65 70 75 80

Lys Ser Glu Asn Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Thr
85 90 95

Ser Leu Asp Leu Ser Glu Gln Glu Leu Val Asp Cys Ala Ser Gln His
100 105 110

Gly Cys His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln Thr
115 120 125

Ser Ala Cys Arg Ile Asn Ser Val Asn Val Pro Ser Glu Leu Asp Leu
130 135 140

Arg Ser Leu Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Cys Gly
145 150 155 160

Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu
165 170 175

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

Cys Ala Ser Gln His Gly Cys His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile
195 200 205

Glu Tyr Ile Gln Thr Ser Ala Cys Arg Ile Asn Ser Val Asn Val Pro
210 215 220

Ser Glu Leu Asp Leu Arg Ser Leu Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met
225 230 235 240

Gln Gly Gly Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala
245 250

<210> 24
<211> 210
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 24

Tyr Asn Phe Glu Thr Ala Val Ser Thr Ile Glu Ile Leu Val Lys Asp
1 5 10 15

Leu Ala Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp Tyr
20 25 30

Asn Phe Glu Thr Ala Val Ser Thr Ile Glu Ile Leu Val Lys Asp Leu
35 40 45

Ala Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp Tyr Asn
50 55 60

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

Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp Gly Tyr Phe
85 90 95

Ala Asp Pro Lys Asp Pro Cys Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu
100 105 110

Ala Ile His Lys Ser Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Lys Glu
115 120 125

Leu Thr Cys Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro Cys Lys Phe
130 135 140

Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu Ala Ile His Lys Ser Cys Pro Gly Asn
145 150 155 160

Thr Arg Trp Asn Glu Lys Glu Leu Thr Cys Thr Gly Tyr Phe Ala Asp
165 170 175

Pro Lys Asp Pro Cys Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu Ala Ile

180 185 190

His Lys Ser Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Lys Glu Leu Thr
195 200 205

Cys Thr
210

<210> 25
<211> 180
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 25

Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Gln Arg Ile His Glu
1 5 10 15

Gln Met Arg Lys Gly Glu Glu Ala Leu Leu His Leu Gln Asp Tyr Gln
20 25 30

Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Gln Arg Ile His Glu Gln Met Arg
35 40 45

Lys Gly Glu Glu Ala Leu Leu His Leu Gln Asp Pro Ile His Tyr Asp
50 55 60

Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Ile Asp Asp Ala Ile Ala Ala
65 70 75 80

Ile Glu Gln Ser Glu Thr Ile Asp Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile
85 90 95

Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Ile Asp Asp Ala Ile Ala Ala Ile Glu
100 105 110

Gln Ser Glu Thr Ile Asp Glu Arg Tyr Asn Val Glu Ile Ala Leu Lys
115 120 125

Ser Asn Glu Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Gln Arg Val
130 135 140

Lys Lys Ile Glu Val Glu Arg Tyr Asn Val Glu Ile Ala Leu Lys Ser
145 150 155 160

Asn Glu Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Gln Arg Val Lys
165 170 175

Lys Ile Glu Val
180

<210> 26
<211> 173
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PreS 載體蛋白

<400> 26

Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser
1 5 10 15

Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala
20 25 30

Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys
35 40 45

Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro
50 55 60

Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala
65 70 75 80

Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr
85 90 95

Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg
100 105 110

Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln
115 120 125

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

Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile
145 150 155 160

Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn
165 170

<210> 27
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 27

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr

1	5				10				15						
Phe	Ala	Ala	Asn	Ile	Asp	Leu	Met	Met	Ile	Glu	Glu	Tyr	Pro	Tyr	Val
			20					25					30		
Val	Ile	Leu	His	Asn	Gly	Val	Val	Gln	Glu	Ser	Tyr	Tyr	Arg	Tyr	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Glu	Gln	Ser	Ser	Arg	Arg	Pro	Asn	Ala	Gln	Arg	Phe	Gly	Ile
	50					55					60				
Ser	Asn	His	Gly	Ser	Glu	Pro	Ser	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Lys	Pro	Phe
65					70					75					80
Gln	Leu	Glu	Ala	Val	Phe	Glu	Ala	Asn	Gln	Asn	Ser	Lys	Thr	Ala	Lys
				85					90					95	
His	Gly	Ser	Glu	Pro	Ser	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Lys	Pro	Phe	Gln	Leu
			100					105					110		
Glu	Ala	Val	Phe	Glu	Ala	Asn	Gln	Asn	Ser	Lys	Thr	Ala	Lys	Val	Arg
		115					120					125			
Asn	Ser	Trp	Asp	Thr	Asn	Trp	Gly	Asp	Asn	Gly	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Ala
	130					135					140				
Ala	Asn	Ile	Asp	Leu	Met	Met	Ile	Glu	Glu	Tyr	Pro	Tyr	Val	Val	Ile
145					150					155					160
Leu	His	Asn	Gly	Val	Val	Gln	Glu	Ser	Tyr	Tyr	Arg	Tyr	Val	Ala	Arg
				165					170					175	
Glu	Gln	Ser	Ser	Arg	Arg	Pro	Asn	Ala	Gln	Arg	Phe	Gly	Ile	Ser	Asn
			180					185					190		
Gly	Gly	Trp	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser
		195					200					205			
Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala
	210					215					220				
Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys
225					230					235					240
Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro
				245					250					255	
Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala
			260					265					270		

Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr	
	275						280					285				
Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg	
	290					295					300					
Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln	
305					310					315					320	
Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly	
			325						330					335		
Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Asn	Pro	Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	His	Ile	
			340					345					350			
Ser	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg	Thr	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Asn	Glu	Val	Asp	
		355					360					365				
Val	Pro	Gly	Ile	Asp	Pro	Asn	Ala	Ser	His	Tyr	Met	Lys	Ser	Pro	Leu	
	370					375					380					
Val	Lys	Gly	Gln	Gln	Tyr	Asp	Ile	Lys	Tyr	Thr	Trp	Ile	Val	Pro	Lys	
385					390					395					400	
Ile	Ala	Pro	Lys	Ser	Glu	Asn	Glu	Val	Asp	Val	Pro	Gly	Ile	Asp	Pro	
				405					410					415		
Asn	Ala	Ser	His	Tyr	Met	Lys	Ser	Pro	Leu	Val	Lys	Gly	Gln	Gln	Tyr	
			420					425					430			
Asp	Ile	Lys	Tyr	Thr	Trp	Ile	Val	Pro	Lys	Ile	Ala	Pro	Lys	Ser	Glu	
		435					440					445				
Asn	Ala	Thr	Glu	Ser	Ala	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Arg	Asn	Gln	Ser	Leu	Asp	
	450					455					460					
Leu	Ala	Glu	Gln	Glu	Leu	Val	Asp	Ser	Ala	Ser	Gln	His	Gly	Ser	His	
465					470					475					480	
Gly	Asp	Thr	Ile	Pro	Arg	Gly	Ile	Glu	Tyr	Ile	Gln	Thr	Asn	Ala	Ser	
				485					490					495		
Ser	Ile	Asn	Gly	Asn	Ala	Pro	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Arg	Gln	Met	Arg	
			500					505					510			
Thr	Val	Thr	Pro	Ile	Arg	Met	Gln	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Trp	Ala	
		515					520					525				
Phe	Ser	Gly	Val	Ala	Ala	Thr	Glu	Ser	Ala	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Arg	Asn	
	530					535					540					

Gln Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser Gln
545 550 555 560

His Gly Ser His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln
565 570 575

Thr Asn Ala Ser Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu
580 585 590

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Ser Ser Trp Ala Phe Ser Gly
610 615

<210> 28
<211> 569
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 28

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys
1 5 10 15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr
20 25 30

Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys
35 40 45

Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu
50 55 60

Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile
65 70 75 80

Lys Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp
85 90 95

Glu Tyr Tyr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr
100 105 110

Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr
115 120 125

Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro
130 135 140

Lys	Asp	Pro	His	Lys	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Val	His
145					150					155					160
Lys	Asp	Ser	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Trp	Asn	Glu	Asp	Glu	Glu	Thr	Ser
				165					170					175	
Thr	Gly	Tyr	Phe	Ala	Asp	Pro	Lys	Asp	Pro	His	Lys	Phe	Tyr	Ile	Ser
			180					185					190		
Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Val	His	Lys	Asp	Ser	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Trp
		195					200					205			
Asn	Glu	Asp	Glu	Glu	Thr	Ser	Thr	Gly	Gly	Trp	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg
210						215					220				
Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser	Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe
225					230					235					240
Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala	Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro
			245						250					255	
Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys	Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln
			260					265					270		
Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro	Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly
	275						280					285			
Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser
290						295					300				
Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr	Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro
305					310					315					320
Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg	Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln
				325					330					335	
Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln	Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg
			340					345					350		
Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Asn	Pro
	355						360					365			
Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	His	Ile	Ser	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg	Thr	Gly
370						375					380				
Asp	Pro	Val	Thr	Asn	Asp	Tyr	Gln	Asn	Glu	Phe	Asp	Phe	Leu	Leu	Met
385					390					395					400
Glu	Arg	Ile	His	Glu	Gln	Ile	Lys	Lys	Gly	Glu	Leu	Ala	Leu	Phe	Tyr
				405					410					415	

Leu Gln Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile
420 425 430

His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Asp
435 440 445

Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp
450 455 460

Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile
465 470 475 480

His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala
485 490 495

Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Glu Gln Tyr Asn Leu
500 505 510

Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys
515 520 525

Glu Glu Ala Arg Val Lys Lys Ile Glu Val Glu Gln Tyr Asn Leu Glu
530 535 540

Met Ala Lys Lys Ser Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu
545 550 555 560

Glu Ala Arg Val Lys Lys Ile Glu Val
565

<210> 29
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 29

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Leu His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Val
35 40 45

Ala Arg Glu Gln Ser Ser Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile
50 55 60

Ser	Asn	Val	Arg	Asn	Ser	Trp	Asp	Thr	Asn	Trp	Gly	Asp	Asn	Gly	Tyr
65					70					75					80
Gly	Tyr	Phe	Ala	Ala	Asn	Ile	Asp	Leu	Met	Met	Ile	Glu	Glu	Tyr	Pro
				85					90					95	
Tyr	Val	Val	Ile	Leu	His	Asn	Gly	Val	Val	Gln	Glu	Ser	Tyr	Tyr	Arg
			100					105					110		
Tyr	Val	Ala	Arg	Glu	Gln	Ser	Ser	Arg	Arg	Pro	Asn	Ala	Gln	Arg	Phe
		115						120				125			
Gly	Ile	Ser	Asn	His	Gly	Ser	Glu	Pro	Ser	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Lys
	130					135					140				
Pro	Phe	Gln	Leu	Glu	Ala	Val	Phe	Glu	Ala	Asn	Gln	Asn	Ser	Lys	Thr
145					150					155					160
Ala	Lys	His	Gly	Ser	Glu	Pro	Ser	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Lys	Pro	Phe
				165					170					175	
Gln	Leu	Glu	Ala	Val	Phe	Glu	Ala	Asn	Gln	Asn	Ser	Lys	Thr	Ala	Lys
			180					185					190		
Gly	Gly	Trp	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser
		195					200					205			
Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala
	210					215					220				
Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys
225					230				235						240
Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro
				245					250					255	
Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala
			260					265					270		
Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr
		275					280					285			
Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg
	290					295					300				
Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln
305					310				315						320
Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly
				325					330					335	

Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile
340 345 350

Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Glu Val Asp
355 360 365

Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Ser His Tyr Met Lys Ser Pro Leu
370 375 380

Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys
385 390 395 400

Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro
405 410 415

Asn Ala Ser His Tyr Met Lys Ser Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr
420 425 430

Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu
435 440 445

Asn Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp
450 455 460

Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser Gln His Gly Ser His
465 470 475 480

Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln Thr Asn Ala Ser
485 490 495

Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu Arg Gln Met Arg
500 505 510

Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly Ser Ser Trp Ala
515 520 525

Phe Ser Gly Val Ala Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn
530 535 540

Gln Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser Gln
545 550 555 560

His Gly Ser His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln
565 570 575

Thr Asn Ala Ser Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu
580 585 590

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Ser Ser Trp Ala Phe Ser Gly
610 615

<210> 30
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 30

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Leu His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Val
35 40 45

Ala Arg Glu Gln Ser Ser Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile
50 55 60

Ser Asn Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr
65 70 75 80

Gly Tyr Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro
85 90 95

Tyr Val Val Ile Leu His Asn Gly Val Val Gln Glu Ser Tyr Tyr Arg
100 105 110

Tyr Val Ala Arg Glu Gln Ser Ser Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe
115 120 125

Gly Ile Ser Asn His Gly Ser Glu Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys
130 135 140

Pro Phe Gln Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr
145 150 155 160

Ala Lys His Gly Ser Glu Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe
165 170 175

Gln Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys
180 185 190

Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser
195 200 205

Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala	
210						215					220					
Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys	
225					230					235					240	
Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro	
				245					250					255		
Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala	
			260					265						270		
Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr	
		275					280						285			
Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg	
	290					295					300					
Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln	
305					310					315					320	
Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly	
				325					330					335		
Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Asn	Pro	Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	His	Ile	
			340					345					350			
Ser	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg	Thr	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Asn	Ala	Thr	Glu	
		355					360					365				
Ser	Ala	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Arg	Asn	Gln	Ser	Leu	Asp	Leu	Ala	Glu	Gln	
	370					375					380					
Glu	Leu	Val	Asp	Ser	Ala	Ser	Gln	His	Gly	Ser	His	Gly	Asp	Thr	Ile	
385					390					395					400	
Pro	Arg	Gly	Ile	Glu	Tyr	Ile	Gln	Thr	Asn	Ala	Ser	Ser	Ile	Asn	Gly	
				405					410					415		
Asn	Ala	Pro	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Arg	Gln	Met	Arg	Thr	Val	Thr	Pro	
			420					425					430			
Ile	Arg	Met	Gln	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Trp	Ala	Phe	Ser	Gly	Val	
		435					440					445				
Ala	Glu	Val	Asp	Val	Pro	Gly	Ile	Asp	Pro	Asn	Ala	Ser	His	Tyr	Met	
	450					455					460					
Lys	Ser	Pro	Leu	Val	Lys	Gly	Gln	Gln	Tyr	Asp	Ile	Lys	Tyr	Thr	Trp	
465					470					475					480	

Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro
485 490 495

Gly Ile Asp Pro Asn Ala Ser His Tyr Met Lys Ser Pro Leu Val Lys
500 505 510

Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala
515 520 525

Pro Lys Ser Glu Asn Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn
530 535 540

Gln Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser Gln
545 550 555 560

His Gly Ser His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln
565 570 575

Thr Asn Ala Ser Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu
580 585 590

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Ser Ser Trp Ala Phe Ser Gly
610 615

<210> 31
<211> 568
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 31

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys
1 5 10 15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr
20 25 30

Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys
35 40 45

Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu
50 55 60

Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile
65 70 75 80

Lys	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Val	Asn	Pro	Asp	
			85						90					95		
Glu	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Ala	Asp	Pro	Lys	Asp	Pro	His	Lys	Phe	Tyr	
			100					105					110			
Ile	Cys	Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Val	His	Lys	Asp	Cys	Pro	Gly	Asn	Thr	
		115					120					125				
Gly	Tyr	Phe	Ala	Asp	Pro	Lys	Asp	Pro	His	Lys	Phe	Tyr	Ile	Cys	Ser	
	130					135					140					
Asn	Trp	Glu	Ala	Val	His	Lys	Asp	Cys	Pro	Gly	Asn	Thr	Gly	Gly	Trp	
145					150					155					160	
Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser	Val	Pro	Asn	
				165					170					175		
Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala	Phe	Gly	Ala	
			180					185					190			
Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys	Asp	His	Trp	
		195					200					205				
Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro	Gly	Leu	Thr	
	210					215					220					
Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ile	
225					230					235					240	
Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr	Asn	Arg	Gln	
				245						250				255		
Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg	Asp	Ser	His	
			260					265					270			
Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln	Ala	Leu	Gln	
		275					280					285				
Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	
		290				295					300					
Gly	Thr	Val	Asn	Pro	Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	His	Ile	Ser	Ser	Ile	
305					310					315					320	
Ser	Ala	Arg	Thr	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ile	Cys	Ser	
				325					330					335		
Asn	Trp	Glu	Ala	Val	His	Lys	Asp	Cys	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Trp	Asn	
			340					345					350			

Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu
355 360 365

Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu
370 375 380

Glu Thr Cys Thr Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu
385 390 395 400

Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu
405 410 415

Gln Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His
420 425 430

Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Asp Pro
435 440 445

Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu
450 455 460

Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile His
465 470 475 480

Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val
485 490 495

Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Glu Gln Tyr Asn Leu Glu
500 505 510

Met Ala Lys Lys Ser Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu
515 520 525

Glu Ala Arg Val Lys Lys Ile Glu Val Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met
530 535 540

Ala Lys Lys Ser Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu
545 550 555 560

Ala Arg Val Lys Lys Ile Glu Val
565

<210> 32
<211> 545
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 32

Tyr	Asn	Tyr	Glu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Lys	Leu	Leu	Ile	Lys	Lys	
1				5					10					15		
Leu	Asp	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Val	Asn	Pro	Asp	Glu	Tyr	
		20						25					30			
Tyr	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Lys	Leu	Leu	Ile	Lys	
		35					40					45				
Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Val	Asn	Pro	Asp	Glu	
	50					55					60					
Tyr	Tyr	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Lys	Leu	Leu	Ile	
65					70					75					80	
Lys	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Val	Asn	Pro	Asp	
			85						90					95		
Glu	Tyr	Tyr	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Lys	Leu	Leu	
			100					105						110		
Ile	Lys	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Val	Asn	Pro	
		115					120					125				
Asp	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Ile	His	Tyr	Asp	Lys	Ile	Thr	Glu	Glu	Ile	
	130					135					140					
Asn	Lys	Ala	Val	Asp	Glu	Ala	Val	Ala	Ala	Ile	Glu	Lys	Ser	Glu	Thr	
145					150					155					160	
Phe	Asp	Asp	Pro	Ile	His	Tyr	Asp	Lys	Ile	Thr	Glu	Glu	Ile	Asn	Lys	
				165					170					175		
Ala	Val	Asp	Glu	Ala	Val	Ala	Ala	Ile	Glu	Lys	Ser	Glu	Thr	Phe	Asp	
			180					185					190			
Gly	Gly	Trp	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser	
		195					200						205			
Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala	
	210					215					220					
Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys	
225					230					235					240	
Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro	
				245					250					255		
Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala	
			260					265						270		

Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr
275 280 285

Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg
290 295 300

Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln
305 310 315 320

Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly
325 330 335

Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile
340 345 350

Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Asp Tyr Gln
355 360 365

Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys
370 375 380

Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Asp Tyr Gln Asn Glu Phe
385 390 395 400

Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu
405 410 415

Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr
420 425 430

Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys
435 440 445

Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu
450 455 460

Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu
465 470 475 480

Thr Phe Asp Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly Asp
485 490 495

Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys Lys Ile
500 505 510

Glu Val Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly Asp Ile
515 520 525

Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys Lys Ile Glu

530

535

540

Val
545

<210> 33
<211> 545
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 33

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys
1 5 10 15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr
20 25 30

Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys
35 40 45

Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu
50 55 60

Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile
65 70 75 80

Lys Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp
85 90 95

Glu Tyr Tyr Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu
100 105 110

Ile Lys Lys Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro
115 120 125

Asp Glu Tyr Tyr Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu
130 135 140

Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu
145 150 155 160

Gln Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Glu Arg Ile His
165 170 175

Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Gly Gly
180 185 190

Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro
195 200 205

Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly
210 215 220

Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His
225 230 235 240

Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu
245 250 255

Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly
260 265 270

Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg
275 280 285

Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser
290 295 300

His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu
305 310 315 320

Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser
325 330 335

Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser
340 345 350

Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Asp Pro Ile His Tyr
355 360 365

Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala
370 375 380

Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys
385 390 395 400

Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile
405 410 415

Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr
420 425 430

Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys
435 440 445

Ser Glu Thr Phe Asp Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu
450 455 460

Ile Asn Lys Ala Val Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu

I848947

465						470												480
Thr	Phe	Asp	Glu	Gln	Tyr	Asn	Leu	Glu	Met	Ala	Lys	Lys	Ser	Gly	Asp			
				485					490					495				
Ile	Leu	Glu	Arg	Asp	Leu	Lys	Lys	Glu	Glu	Ala	Arg	Val	Lys	Lys	Ile			
			500					505					510					
Glu	Val	Glu	Gln	Tyr	Asn	Leu	Glu	Met	Ala	Lys	Lys	Ser	Gly	Asp	Ile			
		515					520					525						
Leu	Glu	Arg	Asp	Leu	Lys	Lys	Glu	Glu	Ala	Arg	Val	Lys	Lys	Ile	Glu			
	530					535					540							
Val																		
545																		
<210>	34																	
<211>	222																	
<212>	PRT																	
<213>	人工序列																	
<220>																		
<223>	融合蛋白																	
<400>	34																	
Thr	Asn	Ala	Cys	Ser	Ile	Asn	Gly	Asn	Ala	Pro	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu			
1				5					10					15				
Arg	Gln	Met	Arg	Thr	Val	Thr	Pro	Ile	Arg	Met	Gln	Gly	Gly	Cys	Gly			
			20					25					30					
Ser	Cys	Trp	Ala	Phe	Ser	Gly	Val	Ala	Ala	Thr	Glu	Ser	Ala	Tyr	Leu			
		35					40					45						
Ala	Tyr	Arg	Asn	Gln	Ser	Leu	Asp	Leu	Ala	Glu	Gln	Glu	Leu	Val	Asp			
	50					55					60							
Cys	Ala	Ser	Gln	His	Gly	Cys	His	Gly	Asp	Thr	Ile	Pro	Arg	Gly	Ile			
65					70				75						80			
Glu	Tyr	Ile	Gln	His	Asn	Gly	Val	Val	Gln	Glu	Ser	Tyr	Tyr	Arg	Tyr			
			85						90					95				
Val	Ala	Arg	Glu	Gln	Ser	Cys	Arg	Arg	Pro	Asn	Ala	Gln	Arg	Phe	Gly			
			100					105					110					
Ile	Ser	Asn	Tyr	Cys	Gln	Ile	Tyr	Pro	Pro	Asn	Val	Asn	Lys	Ile	Arg			
		115					120					125						
Glu	Ala	Leu	Ala	Gln	Thr	His	Ser	Ala	Ile	Ala	Val	Ile	Ile	Gly	Ile			
	130					135					140							

Lys Asp Leu Asp Ala Phe Arg His Tyr Asp Gly Arg Thr Ile Ile Gln
145 150 155 160

Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His Ala Val Asn Ile Val Gly
165 170 175

Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp Ile Val Arg Asn Ser Trp
180 185 190

Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr Phe Ala Ala Asn Ile
195 200 205

Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val Val Ile Leu
210 215 220

<210> 35
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 35

Asp Gln Val Asp Val Lys Asp Cys Ala Asn His Glu Ile Lys Lys Val
1 5 10 15

Leu Val Pro Gly Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly
20 25 30

Lys Pro Phe Gln Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys
35 40 45

Thr Ala Lys Ile Glu Ile Lys Ala Ser Ile Glu Gly Leu Glu Val Asp
50 55 60

Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu
65 70 75 80

Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys
85 90 95

Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Val Val Val Thr Val Lys Val Met Glu
100 105 110

Thr Gly Asp Asn Gly Val Leu Ala Cys Ala Ile Ala Thr His Ala Lys
115 120 125

Ile Arg Asp
130

<210> 36
<211> 617
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 36

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Thr Trp Gly Asp Ser Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Gln Ala Gly Asn Asn Leu Met Met Ile Glu Gln Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Met Gln Asn Gly Val Val Glu Glu Arg Ser Tyr Pro Tyr Val
35 40 45

Ala Arg Glu Gln Gln Ser Arg Arg Pro Asn Ser Gln His Tyr Gly Ile
50 55 60

Ser Asn His Gly Ser Asp Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe
65 70 75 80

Asn Leu Glu Ala Ile Phe Asp Ala Asn Gln Asn Thr Lys Thr Ala Lys
85 90 95

His Gly Ser Asp Pro Ser Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Asn Leu
100 105 110

Glu Ala Ile Phe Asp Ala Asn Gln Asn Thr Lys Thr Ala Lys Val Arg
115 120 125

Asn Ser Trp Asp Thr Thr Trp Gly Asp Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Gln
130 135 140

Ala Gly Asn Asn Leu Met Met Ile Glu Gln Tyr Pro Tyr Val Val Ile
145 150 155 160

Met Gln Asn Gly Val Val Glu Glu Arg Ser Tyr Pro Tyr Val Ala Arg
165 170 175

Glu Gln Gln Ser Arg Arg Pro Asn Ser Gln His Tyr Gly Ile Ser Asn
180 185 190

Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser
195 200 205

Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala
210 215 220

Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys
225					230					235					240
Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro
				245					250					255	
Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala
			260					265						270	
Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr
		275					280						285		
Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg
	290					295					300				
Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln
305					310					315					320
Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly
				325					330					335	
Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Asn	Pro	Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	His	Ile
			340					345					350		
Ser	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg	Thr	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Asn	Glu	Val	Asp
		355					360					365			
Val	Pro	Gly	Ile	Asp	Thr	Asn	Ala	Ser	His	Tyr	Ile	Lys	Ser	Pro	Leu
	370					375					380				
Val	Lys	Gly	Gln	Gln	Tyr	Asp	Ala	Lys	Tyr	Thr	Trp	Asn	Val	Pro	Lys
385					390					395					400
Ile	Ala	Pro	Lys	Ser	Glu	Asn	Glu	Val	Asp	Val	Pro	Gly	Ile	Asp	Thr
				405					410					415	
Asn	Ala	Ser	His	Tyr	Ile	Lys	Ser	Pro	Leu	Val	Lys	Gly	Gln	Gln	Tyr
			420					425					430		
Asp	Ala	Lys	Tyr	Thr	Trp	Asn	Val	Pro	Lys	Ile	Ala	Pro	Lys	Ser	Glu
		435					440					445			
Asn	Ala	Thr	Glu	Ser	Ala	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Arg	Asn	Thr	Ser	Leu	Asp
	450					455					460				
Leu	Ser	Glu	Gln	Glu	Leu	Val	Asp	Ser	Ala	Ser	Gln	His	Gly	Ser	His
465					470				475					480	
Gly	Asp	Thr	Ile	Pro	Arg	Gly	Ile	Glu	Tyr	Ile	Gln	Thr	Ser	Ala	Ser
				485					490					495	

Arg Ile Asn Ser Val Asn Val Pro Ser Glu Leu Asp Leu Arg Ser Leu
500 505 510

Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Ser Gly Ser Ser Trp
515 520 525

Ala Phe Ser Gly Val Ala Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg
530 535 540

Asn Thr Ser Leu Asp Leu Ser Glu Gln Glu Leu Val Asp Ser Ala Ser
545 550 555 560

Gln His Gly Ser His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile
565 570 575

Gln Thr Ser Ala Ser Arg Ile Asn Ser Val Asn Val Pro Ser Glu Leu
580 585 590

Asp Leu Arg Ser Leu Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly
595 600 605

Ser Gly Ser Ser Trp Ala Phe Ser Gly
610 615

<210> 37
<211> 563
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 融合蛋白

<400> 37

Tyr Asn Phe Glu Thr Ala Val Ser Thr Ile Glu Ile Leu Val Lys Asp
1 5 10 15

Leu Ala Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp Tyr
20 25 30

Asn Phe Glu Thr Ala Val Ser Thr Ile Glu Ile Leu Val Lys Asp Leu
35 40 45

Ala Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp Tyr Asn
50 55 60

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

Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp Gly Tyr Phe
85 90 95

Ala	Asp	Pro	Lys	Asp	Pro	Ser	Lys	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asn	Trp	Glu	
			100					105					110			
Ala	Ile	His	Lys	Ser	Ser	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Trp	Asn	Glu	Lys	Glu	
		115					120					125				
Leu	Thr	Ser	Thr	Gly	Tyr	Phe	Ala	Asp	Pro	Lys	Asp	Pro	Ser	Lys	Phe	
	130					135					140					
Tyr	Ile	Ser	Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Ile	His	Lys	Ser	Ser	Pro	Gly	Asn	
145					150					155					160	
Thr	Arg	Trp	Asn	Glu	Lys	Glu	Leu	Thr	Ser	Thr	Gly	Tyr	Phe	Ala	Asp	
				165					170					175		
Pro	Lys	Asp	Pro	Ser	Lys	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Ile	
			180					185					190			
His	Lys	Ser	Ser	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Trp	Asn	Glu	Lys	Glu	Leu	Thr	
		195					200					205				
Ser	Thr	Gly	Gly	Trp	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	
	210						215				220					
Leu	Ser	Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	
225					230					235					240	
Pro	Ala	Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	
				245					250					255		
Ile	Lys	Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	
			260					265					270			
Gly	Pro	Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	
		275					280					285				
Gln	Ala	Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	
	290					295					300					
Ser	Thr	Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	
305					310					315					320	
Leu	Arg	Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	
				325					330					335		
His	Gln	Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	
			340					345					350			
Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Asn	Pro	Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	
		355					360					365				

His	Ile	Ser	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg	Thr	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Asn	Asp	
	370					375					380					
Tyr	Gln	Asn	Glu	Phe	Asp	Phe	Leu	Leu	Met	Gln	Arg	Ile	His	Glu	Gln	
385					390					395					400	
Met	Arg	Lys	Gly	Glu	Glu	Ala	Leu	Leu	His	Leu	Gln	Asp	Tyr	Gln	Asn	
			405						410					415		
Glu	Phe	Asp	Phe	Leu	Leu	Met	Gln	Arg	Ile	His	Glu	Gln	Met	Arg	Lys	
		420						425					430			
Gly	Glu	Glu	Ala	Leu	Leu	His	Leu	Gln	Asp	Pro	Ile	His	Tyr	Asp	Lys	
	435					440						445				
Ile	Thr	Glu	Glu	Ile	Asn	Lys	Ala	Ile	Asp	Asp	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	
	450					455					460					
Glu	Gln	Ser	Glu	Thr	Ile	Asp	Asp	Pro	Ile	His	Tyr	Asp	Lys	Ile	Thr	
465					470					475					480	
Glu	Glu	Ile	Asn	Lys	Ala	Ile	Asp	Asp	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	Glu	Gln	
			485						490					495		
Ser	Glu	Thr	Ile	Asp	Glu	Arg	Tyr	Asn	Val	Glu	Ile	Ala	Leu	Lys	Ser	
		500						505					510			
Asn	Glu	Ile	Leu	Glu	Arg	Asp	Leu	Lys	Lys	Glu	Glu	Gln	Arg	Val	Lys	
	515						520					525				
Lys	Ile	Glu	Val	Glu	Arg	Tyr	Asn	Val	Glu	Ile	Ala	Leu	Lys	Ser	Asn	
	530					535					540					
Glu	Ile	Leu	Glu	Arg	Asp	Leu	Lys	Lys	Glu	Glu	Gln	Arg	Val	Lys	Lys	
545					550					555					560	
Ile	Glu	Val														
<210>	38															
<211>	42															
<212>	PRT															
<213>	人工序列															
<220>																
<223>	過敏原片段															
<400>	38															
Thr	Ser	Ala	Cys	Arg	Ile	Asn	Ser	Val	Asn	Val	Pro	Ser	Glu	Leu	Asp	
1			5						10					15		

Leu Arg Ser Leu Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Cys
20 25 30

Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala
35 40

<210> 39
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 39

Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Thr Ser Leu Asp Leu
1 5 10 15

Ser Glu Gln Glu Leu Val Asp Cys Ala Ser Gln His Gly Cys His Gly
20 25 30

Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln
35 40

<210> 40
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 40

Gln Asn Gly Val Val Glu Glu Arg Ser Tyr Pro Tyr Val Ala Arg Glu
1 5 10 15

Gln Gln Cys Arg Arg Pro Asn Ser Gln His Tyr Gly Ile Ser Asn
20 25 30

<210> 41
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 41

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Thr Trp Gly Asp Ser Gly Tyr Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Gln Ala Gly Asn Asn Leu Met Met Ile Glu Gln Tyr Pro Tyr Val
20 25 30

Val Ile Met

35

<210> 42
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 42

His Gly Ser Asp Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Asn Leu
1 5 10 15

Glu Ala Ile Phe Asp Ala Asn Gln Asn Thr Lys Thr Ala Lys
20 25 30

<210> 43
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 43

Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Thr Asn Ala Cys His Tyr Ile Lys
1 5 10 15

Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ala Lys Tyr Thr Trp Asn
20 25 30

Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn
35 40

<210> 44
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 44

Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met Gln Arg Ile His Glu
1 5 10 15

Gln Met Arg Lys Gly Glu Glu Ala Leu Leu His Leu Gln
20 25

<210> 45
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 45

Glu Arg Tyr Asn Val Glu Ile Ala Leu Lys Ser Asn Glu Ile Leu Glu
1 5 10 15

Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Gln Arg Val Lys Lys Ile Glu Val
20 25 30

<210> 46

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 46

Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Ile
1 5 10 15

Asp Asp Ala Ile Ala Ala Ile Glu Gln Ser Glu Thr Ile Asp
20 25 30

<210> 47

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 47

Tyr Asn Phe Glu Thr Ala Val Ser Thr Ile Glu Ile Leu Val Lys Asp
1 5 10 15

Leu Ala Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Lys Ser Asp Asp
20 25 30

<210> 48

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 48

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro Cys Lys Phe Tyr Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Ile His Lys Ser Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Glu Lys Glu Leu Thr Cys Thr

35

<210> 49
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 49

Arg Glu Gln Ser Cys Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser
1 5 10 15

Asn Tyr Cys Gln Ile Tyr Pro Pro Asn Val Asn Lys Ile Arg Glu Ala
20 25 30

Leu Ala Gln Thr His
35

<210> 50
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 50

Lys Asp Leu Asp Ala Phe Arg His Tyr Asp Gly Arg Thr Ile Ile Gln
1 5 10 15

Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His Ala Val Asn Ile Val
20 25 30

<210> 51
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 51

Gly Arg Thr Ile Ile Gln Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His
1 5 10 15

Ala Val Asn Ile Val Gly Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp
20 25 30

Ile

<210> 52
<211> 34

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 52

Val Gly Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp Ile Val Arg Asn
1 5 10 15

Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr Phe Ala Ala
20 25 30

Asn Ile

<210> 53
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 53

Asp Gln Val Asp Val Lys Asp Cys Ala Asn His Glu Ile Lys Lys Val
1 5 10 15

Leu Val Pro Gly Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly
20 25 30

Lys

<210> 54
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 54

Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Ile Glu Ile Lys Ala Ser
1 5 10 15

Ile Glu Gly Leu Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys
20 25 30

<210> 55
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 55

Ala Pro Lys Ser Glu Asn Val Val Val Thr Val Lys Val Met Gly Asp
1 5 10 15

Asn Gly Val Leu Ala Cys Ala Ile Ala Thr His Ala Lys Ile Arg Asp
20 25 30

<210> 56
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 56

Glu Asp Lys Lys His Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met
1 5 10 15

Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr
20 25 30

Leu Gln

<210> 57
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 57

Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Glu Gln Ile Asn His
1 5 10 15

Phe Glu Glu Lys Pro Thr Lys Glu Met Lys Asp Lys Ile Val Ala Glu
20 25 30

Met Asp Thr Ile
35

<210> 58
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 58

Asp Gly Val Arg Gly Val Leu Asp Arg Leu Met Gln Arg Lys Asp Leu
1 5 10 15

Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly
20 25 30

<210> 59
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 59

Asp Leu Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser
1 5 10 15

Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys
20 25 30

Lys Ile Glu Val
35

<210> 60
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 60

Glu Asp Lys Lys His Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu Met
1 5 10 15

Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala
20 25

<210> 61
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 61

Asp Leu Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser
1 5 10 15

Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val
20 25 30

<210> 62
<211> 34
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 62

Phe Ile Val Gly Asp Lys Lys Glu Asp Glu Trp Arg Met Ala Phe Asp
1 5 10 15

Arg Leu Met Met Glu Glu Leu Glu Thr Lys Ile Asp Gln Val Glu Lys
20 25 30

Gly Leu

<210> 63

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 63

Leu His Leu Ser Glu Gln Tyr Lys Glu Leu Glu Lys Thr Lys Ser Lys
1 5 10 15

Glu Leu Lys Glu Gln Ile Leu Arg Glu Leu Thr Ile Gly Glu Asn Phe
20 25 30

Met Lys Gly Ala Leu
35

<210> 64

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 64

Met Lys Gly Ala Leu Lys Phe Phe Glu Met Glu Ala Lys Arg Thr Asp
1 5 10 15

Leu Asn Met Phe Glu Arg Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu
20 25

<210> 65

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 過敏原片段

<400> 65
Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Pro Met Lys Val Pro
1 5 10 15

Asp His Ser Asp Lys Phe Glu Arg His Ile Gly Ile Ile Asp Leu
20 25 30

<210> 66
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 66
Leu Lys Gly Glu Leu Asp Met Arg Asn Ile Gln Val Arg Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Met Lys Arg Val Gly Asp Ala Asn Val Lys Ser Glu Asp Gly
20 25 30

<210> 67
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 67
Val His Asp Asp Val Val Ser Met Glu Tyr Asp Leu Ala Tyr Lys Leu
1 5 10 15

Gly Asp Leu His Pro Asn Thr His Val Ile Ser Asp Ile Gln Asp Phe
20 25 30

Val Val Glu Leu
35

<210> 68
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 68
Val Glu Leu Ser Leu Glu Val Ser Glu Glu Gly Asn Met Thr Leu Thr
1 5 10 15

Ser Phe Glu Val Arg Gln Phe Ala Asn Val
20 25

<210> 69
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 69

Val Asn His Ile Gly Gly Leu Ser Ile Leu Asp Pro Ile Phe Ala Val
1 5 10 15

Leu Ser Asp Val Leu Thr Ala Ile Phe Gln Asp Thr
20 25

<210> 70
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 70

Thr Ala Ile Phe Gln Asp Thr Val Arg Ala Glu Met Thr Lys Val Leu
1 5 10 15

Ala Pro Ala Phe Lys Lys Glu Leu Glu Arg Asn Asn Gln
20 25

<210> 71
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 71

Met Ala Asn Asp Asn Asp Asp Asp Pro Thr Thr Thr Val His Pro Thr
1 5 10 15

Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg Phe Gly
20 25 30

<210> 72
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 72

Pro Thr Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg
1 5 10 15

Phe Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys
20 25 30

Ser Asn

<210> 73
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 73

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Ala Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Ala Ala Val His Lys Ala Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Ala Ala Ala Ala Thr Cys Thr
35

<210> 74
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 74

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Ala Phe Tyr Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val Ala Ala Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr
35

<210> 75
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 75

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr
20 25

<210> 76
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 76

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr
20 25

<210> 77
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 77

Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro
1 5 10 15

Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr
20 25

<210> 78
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 78

Lys Phe Tyr Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro
1 5 10 15

Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr
20 25

<210> 79
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 79
Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp
1 5 10 15

Asn Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr
20

<210> 80
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 80
Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Glu

<210> 81
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 過敏原片段

<400> 81
Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn
20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr
35

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種具有式(I)之融合蛋白

X_1 -Y- X_2 (I) ,

其中 X_1 和 X_2 包含各 4 至 8 個彼此融合之過敏原片段或彼等之變體，其中該過敏原片段係源自至少二種室塵蟎 (*Dermatophagoides*) 屬之過敏原，且其中 Y 為載體蛋白；且其中該至少二種過敏原為歐洲室塵蟎之過敏原或美洲室塵蟎之過敏原且係選自由下列所組成之群組: Der p 1、Der p 2、Der p 5、Der p 7、Der p 21、Der p 23、Der f 1、Der f 2、Der f 5、Der f 7、Der f 21 和 Der f 23；其中該融合蛋白包含至少一種胜肽，該胜肽具有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列: SEQ ID No.18、SEQ ID No.19、SEQ ID No.20、SEQ ID No.21、SEQ ID No.22、SEQ ID No.23、SEQ ID No.24 和 / 或 SEQ ID No.25；其中

a) 該 Der p 1 之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90% 同一性之胺基酸序列所組成 : TNAC SINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGCG SCWAFSGVA (SEQ ID No.1)、ATESAYLAYRNQSLDLAEQ ELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ (SEQ ID No.2)、HNGVV QESYYRYVAREQSCRRPNAQRFGISN (SEQ ID No.3)、VRN SWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVIL (SEQ ID No.4)、TNASSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGSGSSW AFSGVA (SEQ ID No.5)、ATESAYLAYRNQSLDLAEQELV

DSASQHGSHGDTIPRGIEYIQ(SEQ ID No.6)和 HNGVVQESYYRYVAREQSSRRPNAQRFGISN(SEQ ID No.7)，和/或

b) 該 Der p 2之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成:CHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK (SEQ ID No.8)、EVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN(SEQ ID No.9)、HGSEPSIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK(SEQ ID No.10)和 EVDVPGIDPNASHYMK SPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN(SEQ ID No. 11)，和/或

c) 該 Der p 5之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成: DYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFY LQ(SEQ ID No.12) 和 EQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV (SEQ ID No.13)，和/或

d) 該 Der p 7之過敏原片段係由與胺基酸序列 DPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFD(SEQ ID No.14)具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成，和/或

e) 該 Der p 21之過敏原片段係由與胺基酸序列 YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYY(SEQ ID No.15)具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成，和/或

f) 該 Der p 23之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成:GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDE

ETCT(SEQ ID No.16)和 GYFADPKDPHKFYISSNWEAVHK
DSPGNTRWNEDEETST(SEQ ID No.17)，和/或

g) 該 Der f 1之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成:TSACRINSVNVPSELDLRSLRTVTPIRMQGGCGSCWAFSGVA(SEQ ID No.38)、ATESAYLAYRNTSLDLSEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ(SEQ ID No. 39)、QNGVVEERSYPYVAREQQCRRPNSQHYGISN(SEQ ID No.40)和VRNSWDTTWGDSGYGYFQAGNNLMMIEQYPYVVIM(SEQ ID No.41)，和/或

h) 該 Der f 2之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成:HGSDPCIHRGKPFNLEAIFDANQNTKTAK(SEQ ID No.42) 和 EVDVPGIDTNACHYIKCPLVKGQQYDAKYTWNVPKIAPKSEN(SEQ ID No.43)，和/或

i) 該 Der f 5之過敏原片段係由與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成:DYQNEFDLLMQRIHEQMRKGEEALLHLQ(SEQ ID No.44) 和 ERYNVEIALKSNEILERDLKKEEQRVKKIEV(SEQ ID No.45)，和/或

j) 該 Der f 7之過敏原片段係由與胺基酸序列DPIHYDKITEEINKAIDDAIAAIEQSETID(SEQ ID No.46)具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成，和/或

k) 該 Der f 21之過敏原片段係由與胺基酸序列

YNFETAVSTIEILVKDLAELAKKVKAVKSDD(SEQ ID No. 47)具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成，和/或

1) 該 Der f 23 之過敏原片段係由與胺基酸序列 GYFADPKDPCKFYICSNWEAIIHKSCPGNTRWNEKELTCT(SEQ ID No.48)具有至少90%同一性之胺基酸序列所組成。

【第2項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該至少二種過敏原之過敏原片段係由25至50個胺基酸殘基所組成。

【第3項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該至少二種過敏原之過敏原片段係由28至48個胺基酸殘基所組成。

【第4項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該至少二種過敏原之過敏原片段係由30至45個胺基酸殘基所組成。

【第5項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該過敏原片段之至少一個半胱胺酸殘基被絲胺酸、蘇胺酸、甘胺酸、丙胺酸或亮胺酸替代。

【第6項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該過敏原片段之至少二個半胱胺酸殘基被絲胺酸、蘇胺酸、甘胺酸、丙胺酸或亮胺酸替代。

【第7項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該過敏原片段

之至少三個半胱胺酸殘基被絲胺酸、蘇胺酸、甘胺酸、丙胺酸或亮胺酸替代。

【第8項】

如申請專利範圍1中之融合蛋白，其中該過敏原片段之所有半胱胺酸殘基被絲胺酸、蘇胺酸、甘胺酸、丙胺酸或亮胺酸替代。

【第9項】

如申請專利範圍第1中之融合蛋白，其中該載體蛋白為肝病毒(hepadnaviridae)科之病毒的表面胜肽或該表面胜肽之片段。

【第10項】

如申請專利範圍第1中之融合蛋白，其中該融合蛋白包含胺基酸序列 SEQ ID No.27 或胺基酸序列 SEQ ID No.28。

【第11項】

一種核酸分子，其編碼如申請專利範圍第1中之融合蛋白。

【第12項】

一種載體，其包含如申請專利範圍第11項之核酸分子。

【第13項】

一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第11項之核酸分子或如申請專利範圍第12項之載體。

【第14項】

一種藥物製劑，其包含至少一種如申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之融合蛋白或至少一種如申請專利範圍第 11 項之核酸分子。

【第 15 項】

如申請專利範圍第 14 項之藥物製劑，其中包含在該製劑中之二種融合蛋白或核酸分子之重量比為 1:10 至 10:1。

【第 16 項】

如申請專利範圍第 14 項之藥物製劑，其中包含在該製劑中之二種融合蛋白或核酸分子之重量比為 1:5 至 5:1。

【第 17 項】

如申請專利範圍第 14 項之藥物製劑，其中包含在該製劑中之二種融合蛋白或核酸分子之重量比為 2:1 至 1:2。

【第 18 項】

如申請專利範圍第 14 項之藥物製劑，其中包含在該製劑中之二種融合蛋白或核酸分子之重量比為 1:1。

【第 19 項】

如申請專利範圍第 14 或 15 項之藥物製劑，其中該製劑包含融合蛋白或核酸分子，該融合蛋白為包含胺基酸序列 SEQ ID No.27 之融合蛋白和 / 或包含胺基酸序列 SEQ ID No.28 之融合蛋白，而該核酸分子為編碼包含胺基酸序列 SEQ ID No.27 之融合蛋白和 / 或包含胺基酸序列 SEQ ID No.28 之融合蛋白的核酸分子。

【第 20 項】

如申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之融合蛋白，其

係用於治療或預防由家室塵蟎之過敏原引起之過敏。

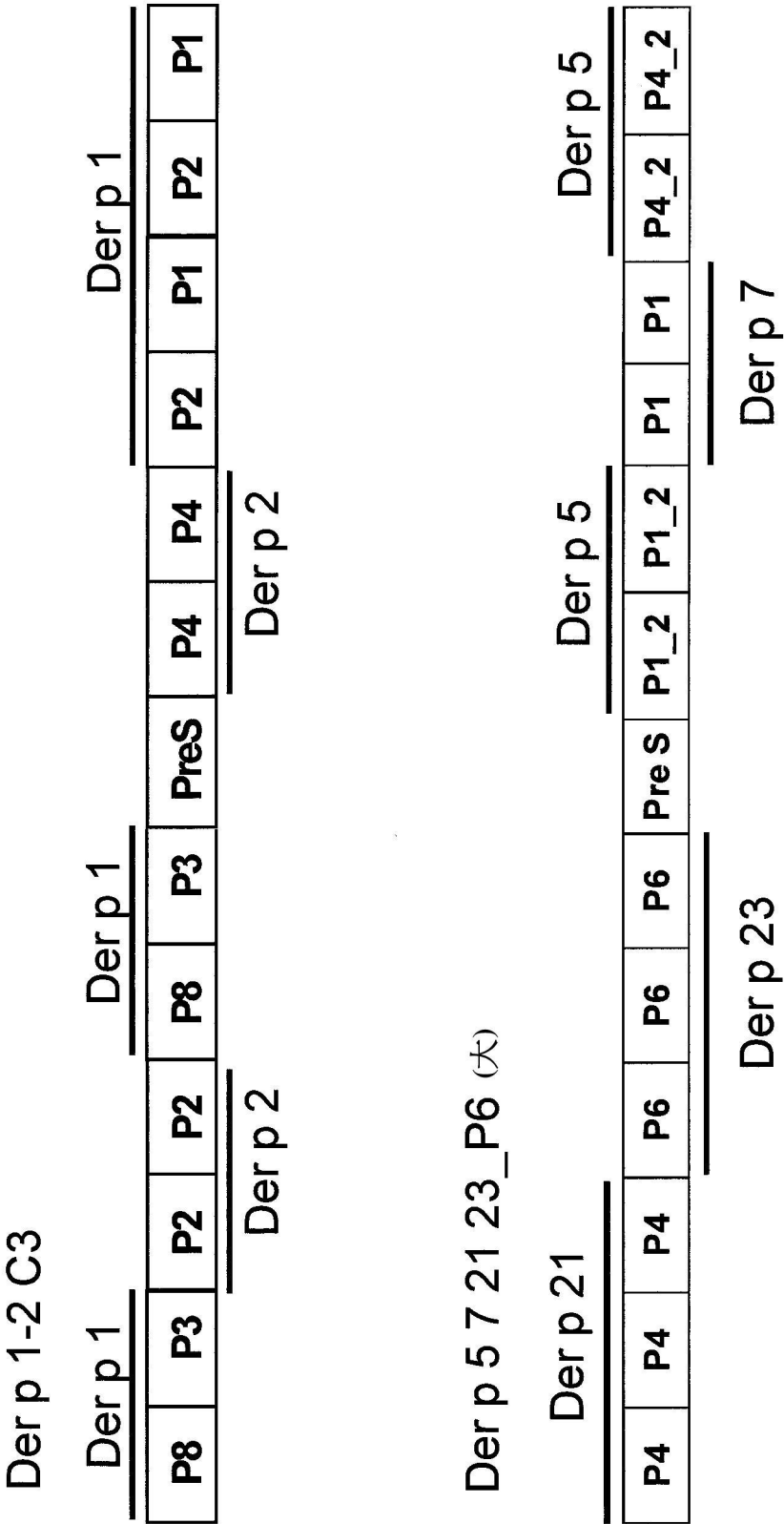
【第 21 項】

如申請專利範圍第 11 項之核酸分子，其係用於治療或預防由家室塵蟎之過敏原引起之過敏。

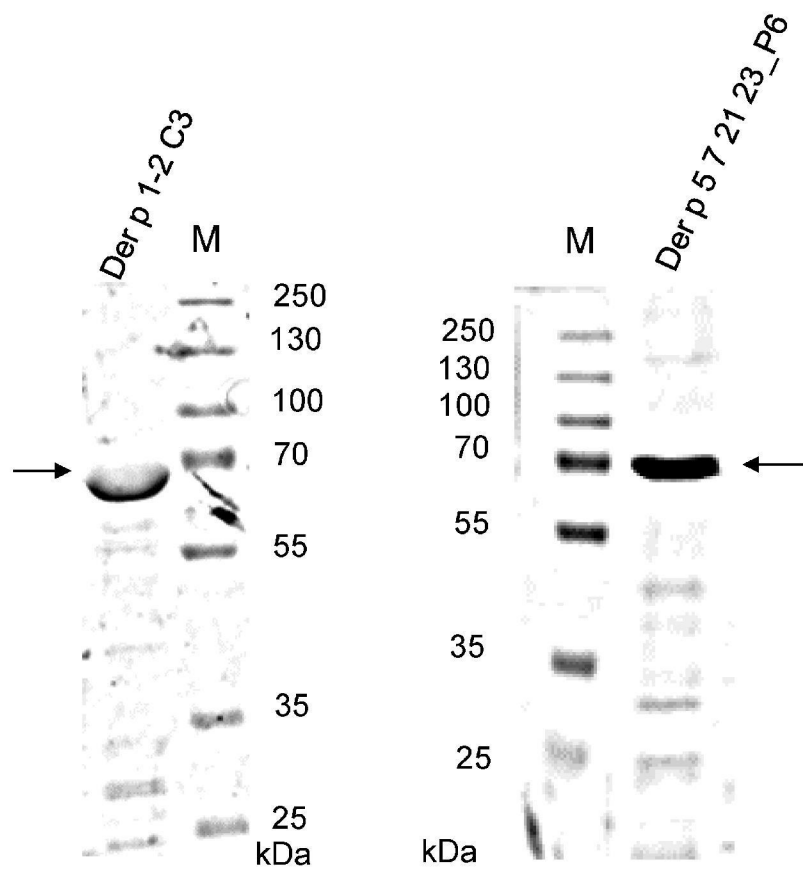
【第 22 項】

如申請專利範圍第 14 項之藥物製劑，其係用於治療或預防由家室塵蟎之過敏原引起之過敏。

【發明圖式】

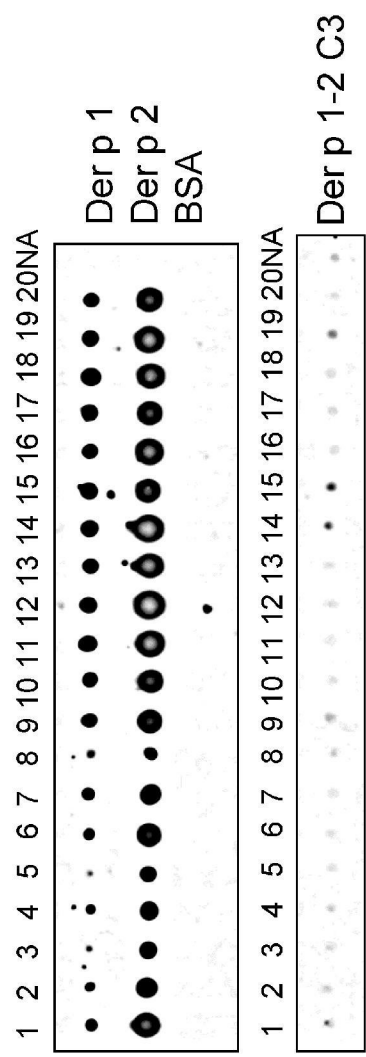


【第 1 圖】

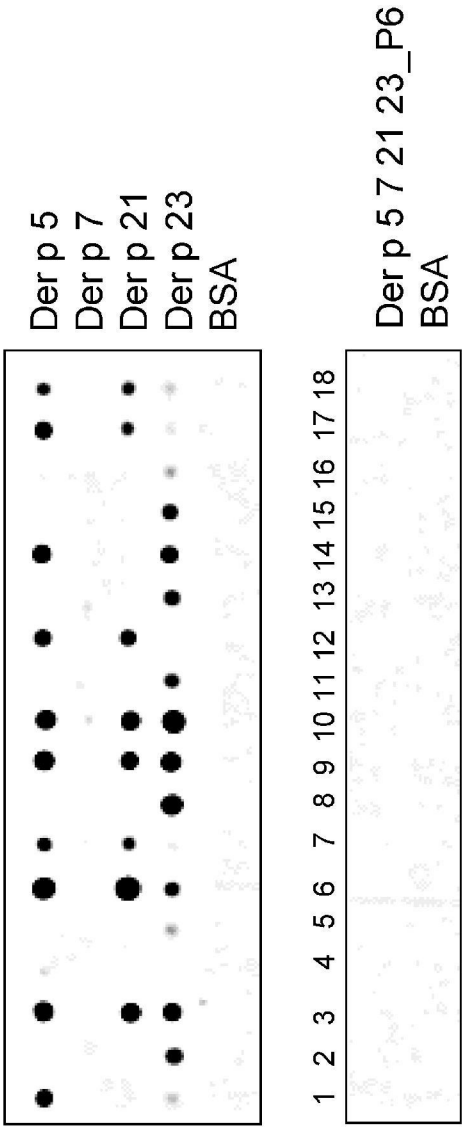


【第 2 圖】

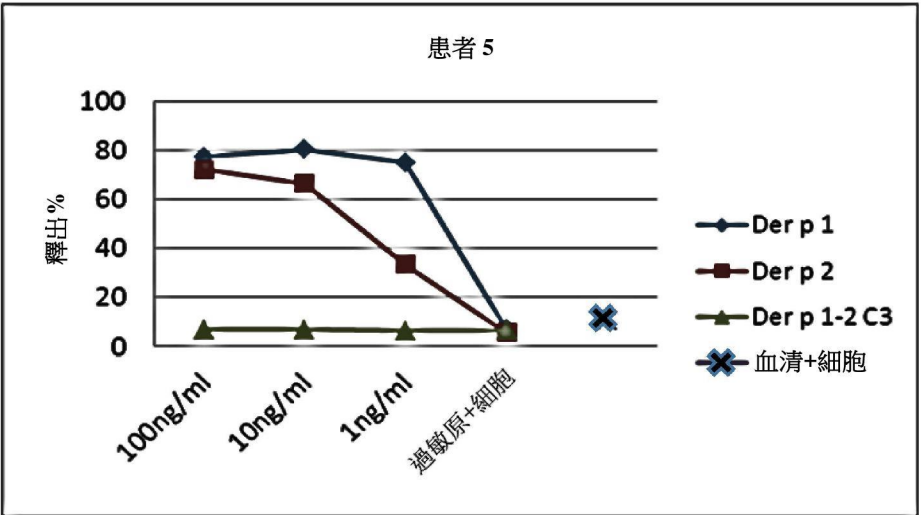
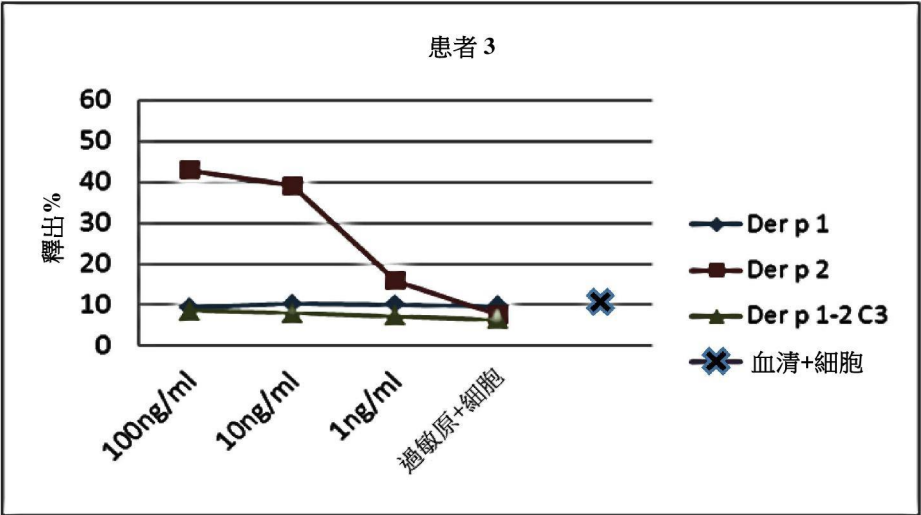
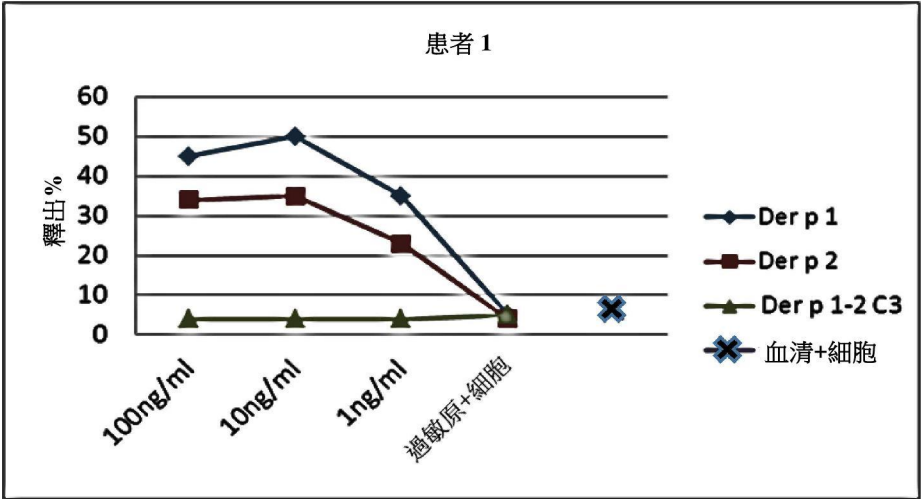
A



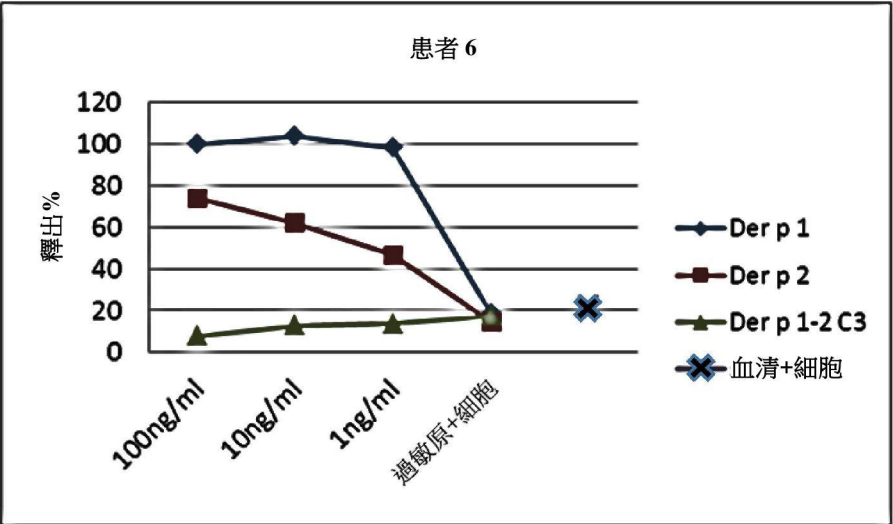
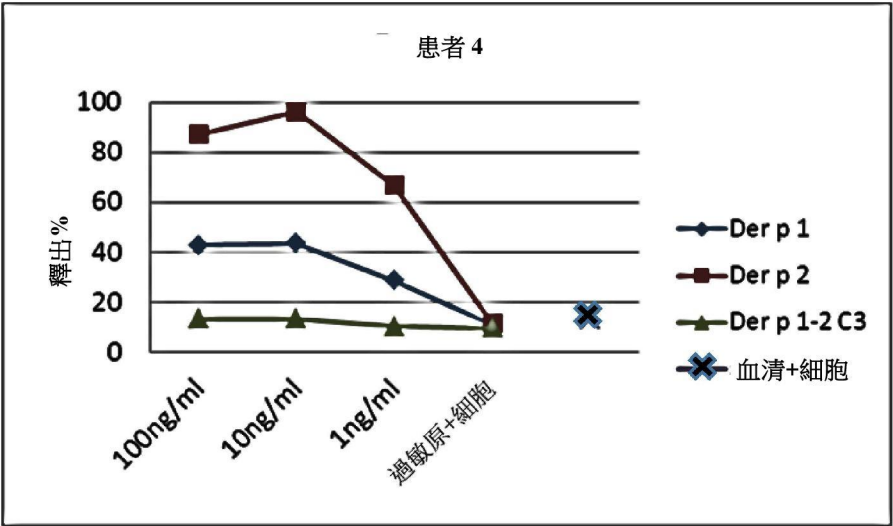
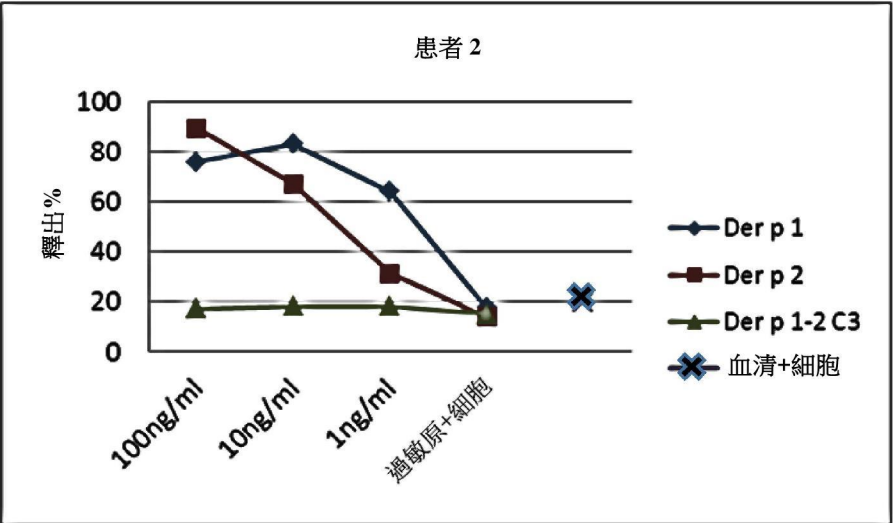
B



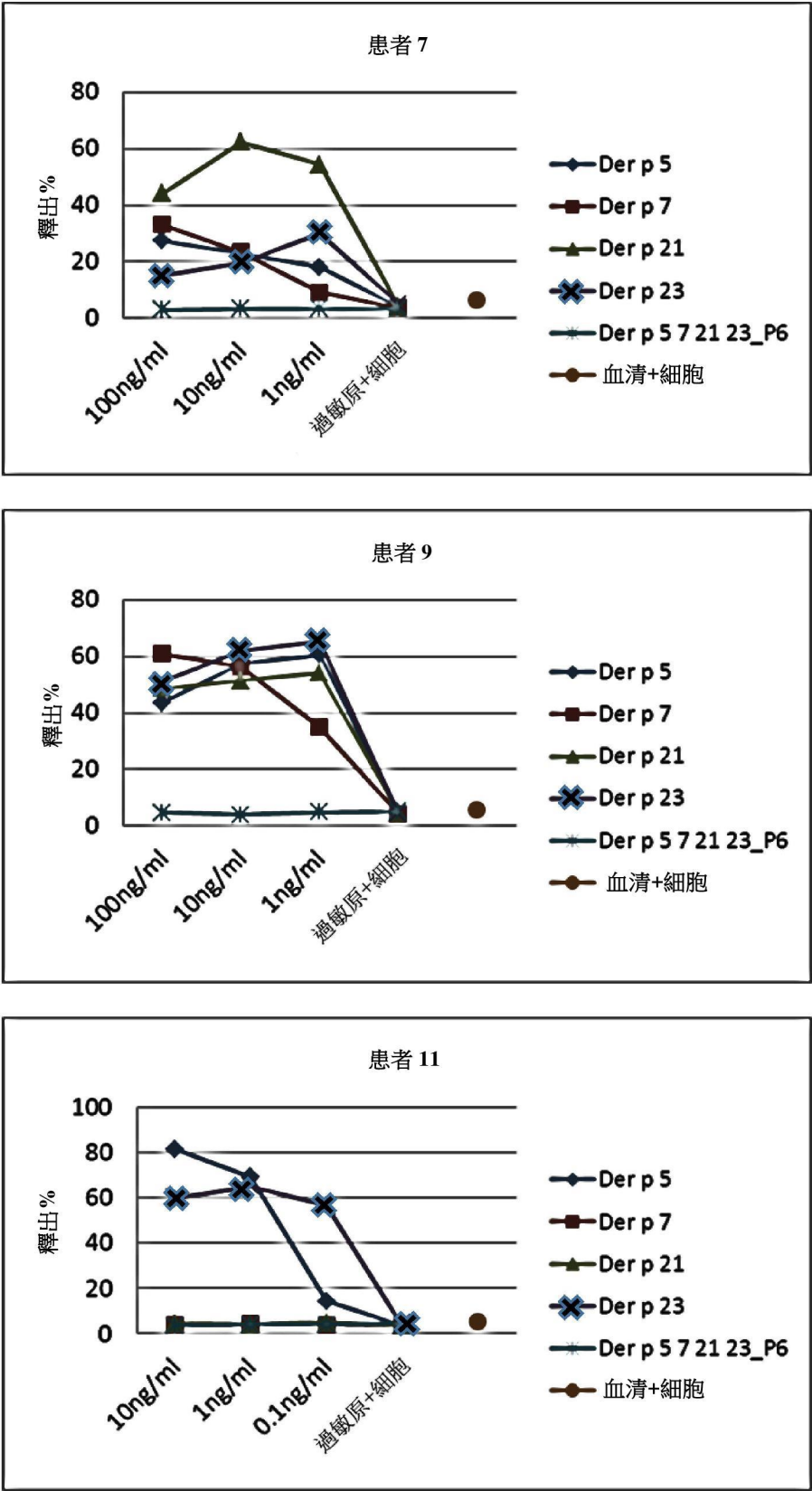
【第 3 圖】



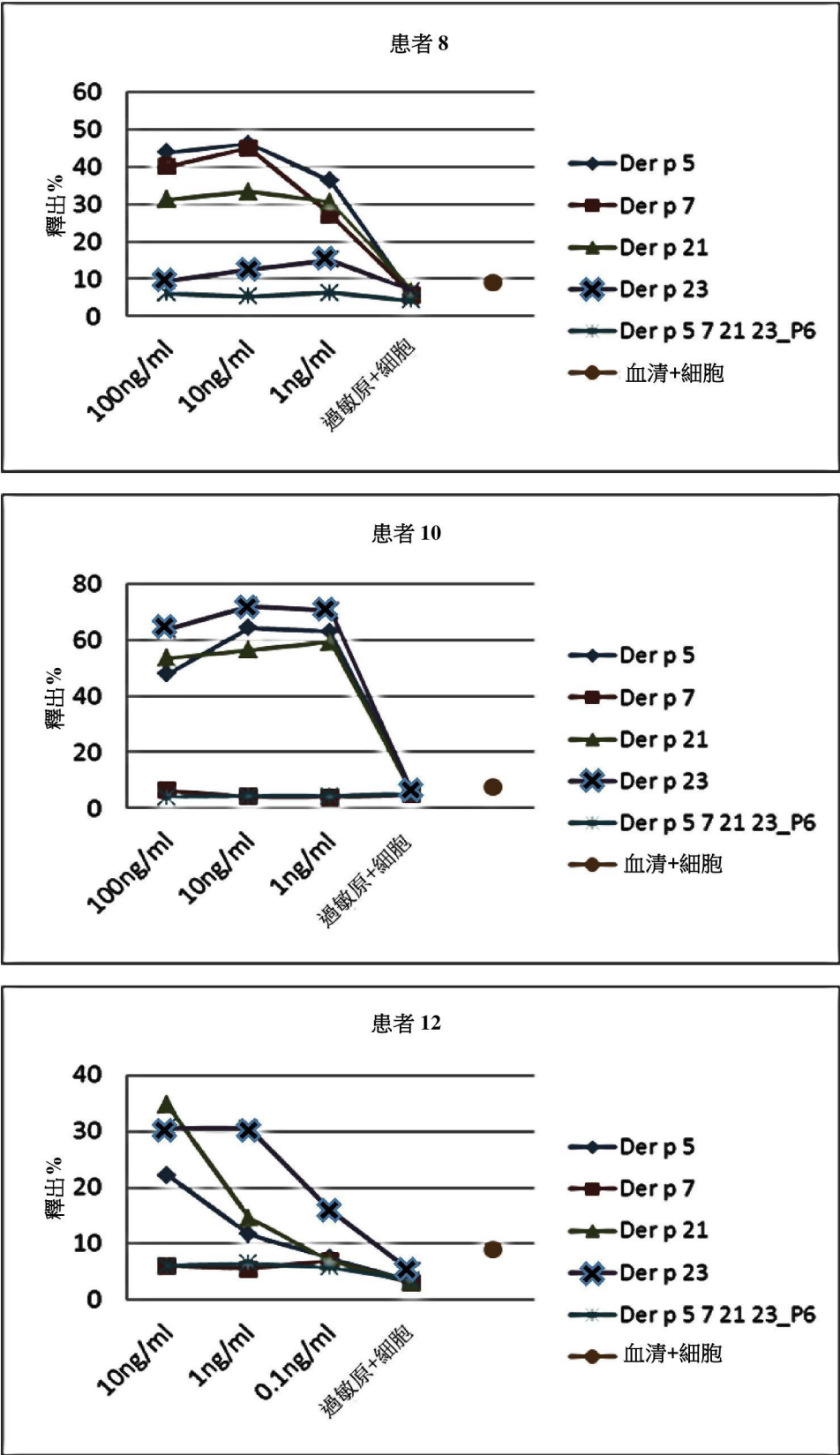
【第 4 圖】



【第 4 圖】(續)



【第 5 圖】



【第 5 圖】(續)

nDer p 1 塗層

患者	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均值
a-C3#1 Alum	58	66	69	55	32	60	57	56	64	61	58
a-C3#2 Alum	52	60	63	53	25	56	55	50	60	56	53
a-nDer p 1 Alum	78	89	90	63	48	86	70	80	98	79	78

rDer p 2 塗層

患者	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均值
a-C3#1 Alum	89	96	91	89	56	93	88	93	91	94	89
a-C3#2 Alum	84	93	90	85	54	91	83	88	88	91	85
a-rDer p 2 Alum	84	96	85	80	50	91	86	93	90	92	84

【第6圖】

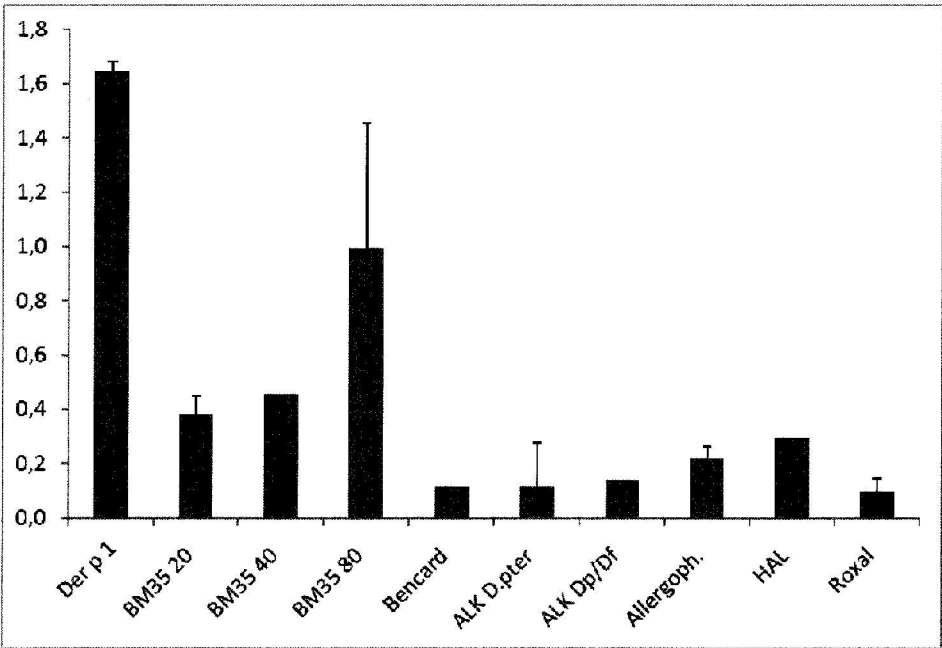
Der p 5 塗層	患者	1	2	3	4	平均值
α- Der p 5 7 21 23_P6 #1 Alum		77	68	80	80	76
α- Der p 5 7 21 23_P6 #2 Alum		91	87	83	79	85
α- Der p 5 Alum		90	92	85	84	88

Der p 7 塗層	患者	1	2	3	4	平均值
α- Der p 5 7 21 23_P6 #1 Alum		89	77	89	40	74
α- Der p 5 7 21 23_P6 #2 Alum		92	74	88	42	74
α- Der p 7 Alum		76	54	81	22	58

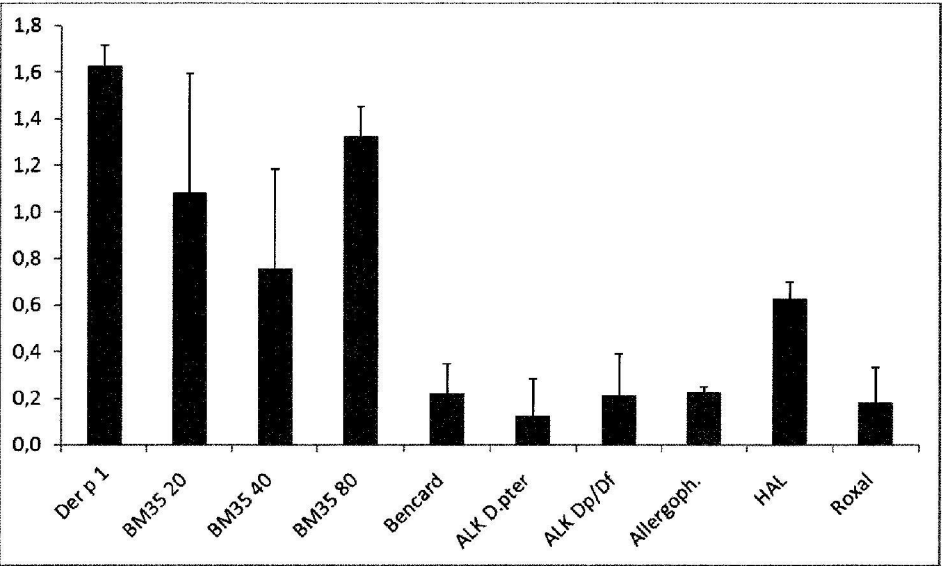
Der p 21 塗層	患者	1	2	3	4	平均值
α- Der p 5 7 21 23_P6 #1 Alum		53	55	60	64	58
α- Der p 5 7 21 23_P6 #2 Alum		46	50	64	72	58
α- Der p 21 Alum		87	88	80	94	87

Der p 23 塗層	患者	1	2	3	4	5	6	平均值
α- Der p 5 7 21 23_P6 #1 Alum		29	34	40	31	41	44	37
α- Der p 5 7 21 23_P6 #2 Alum		37	39	43	35	45	54	42
α- Der p 23 Alum		6	1	1	10	10	15	7

【第 7 圖】

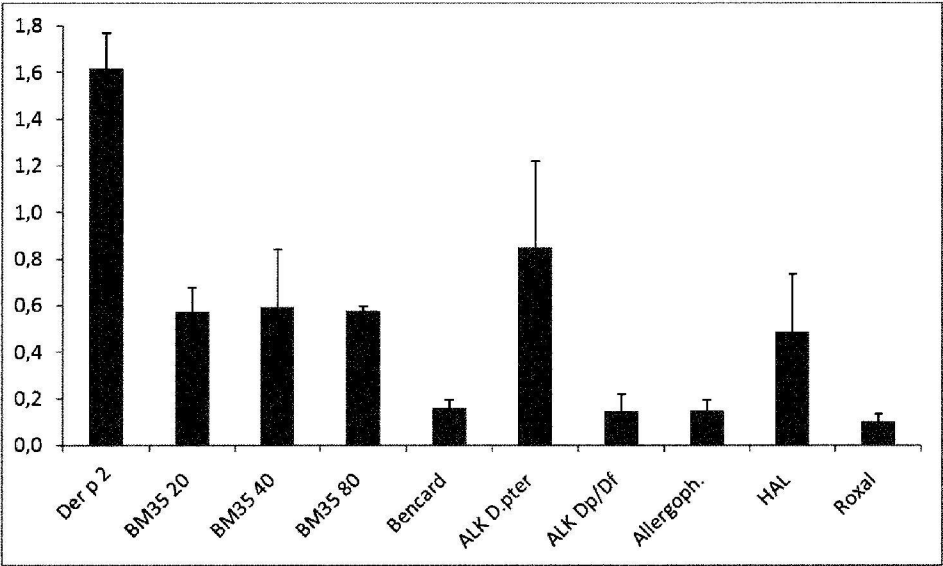


38天後之IgG力價

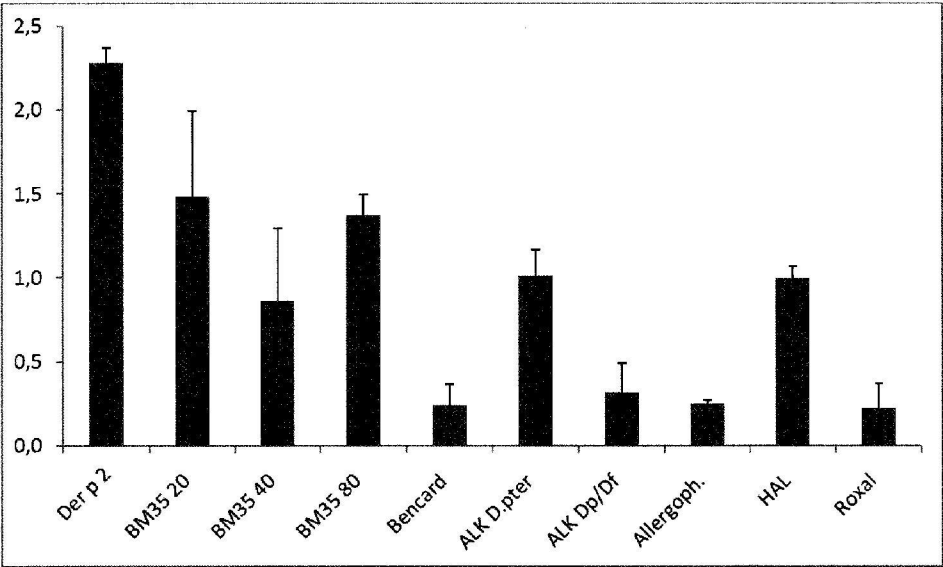


66天後之IgG力價

【第 8A 圖】

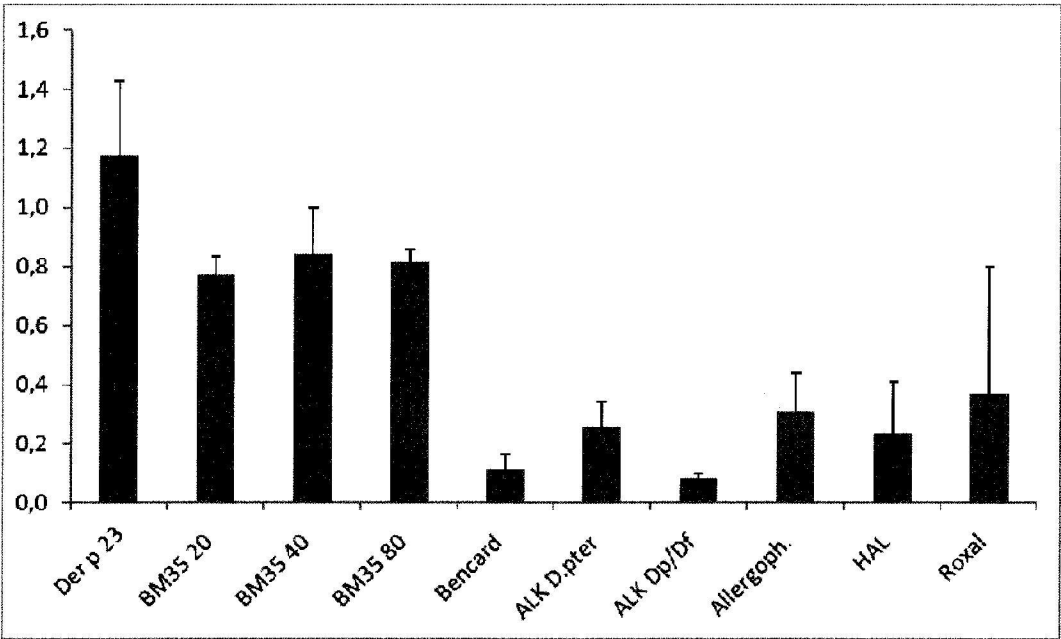


38天後之IgG力價

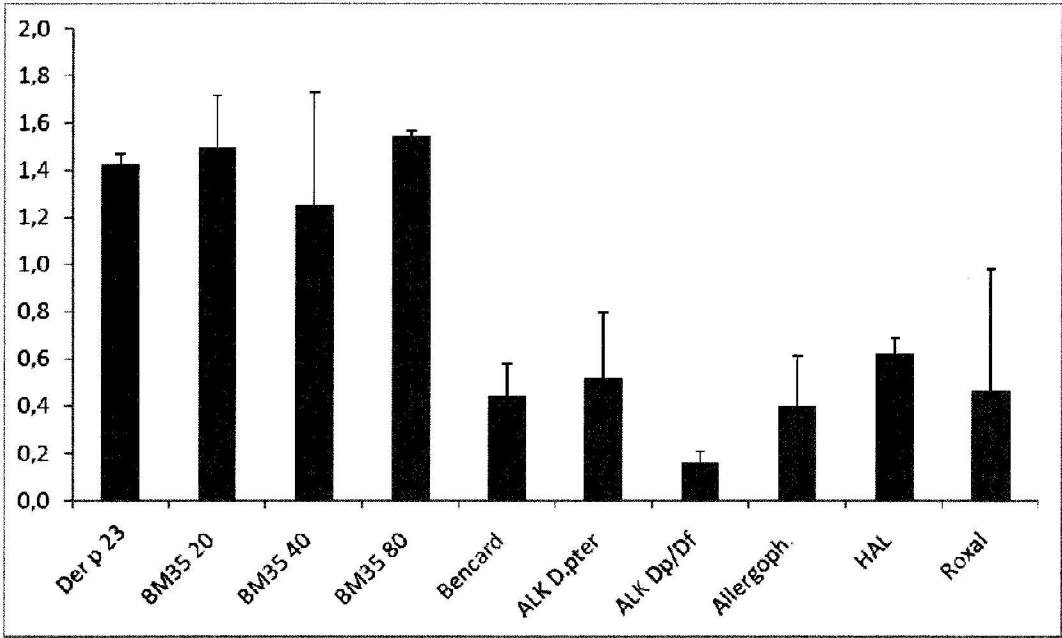


66天後之IgG力價

【第 8B 圖】

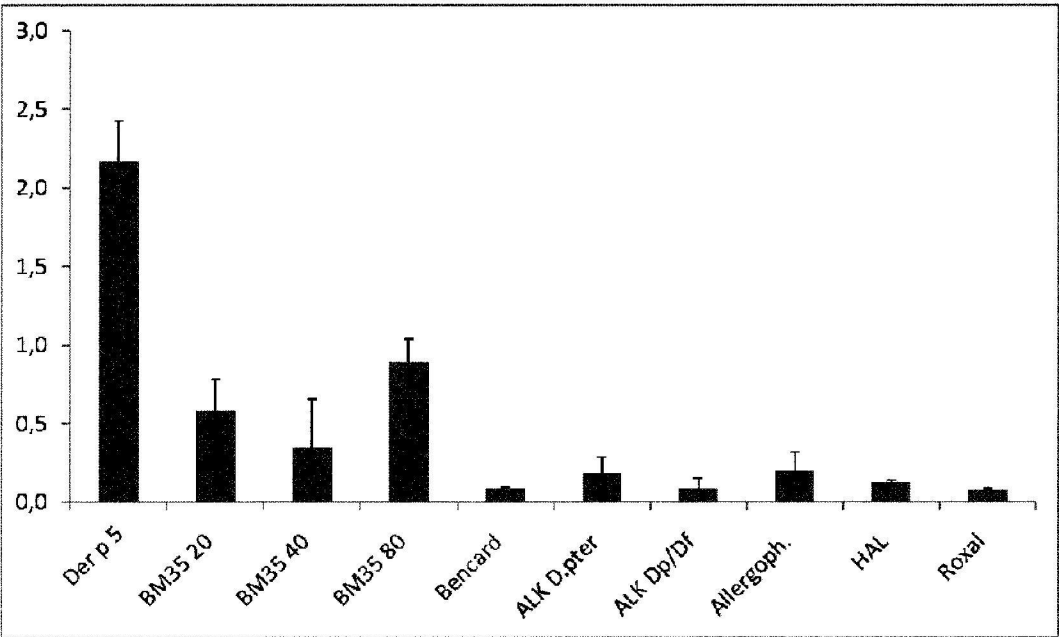


38天後之IgG力價

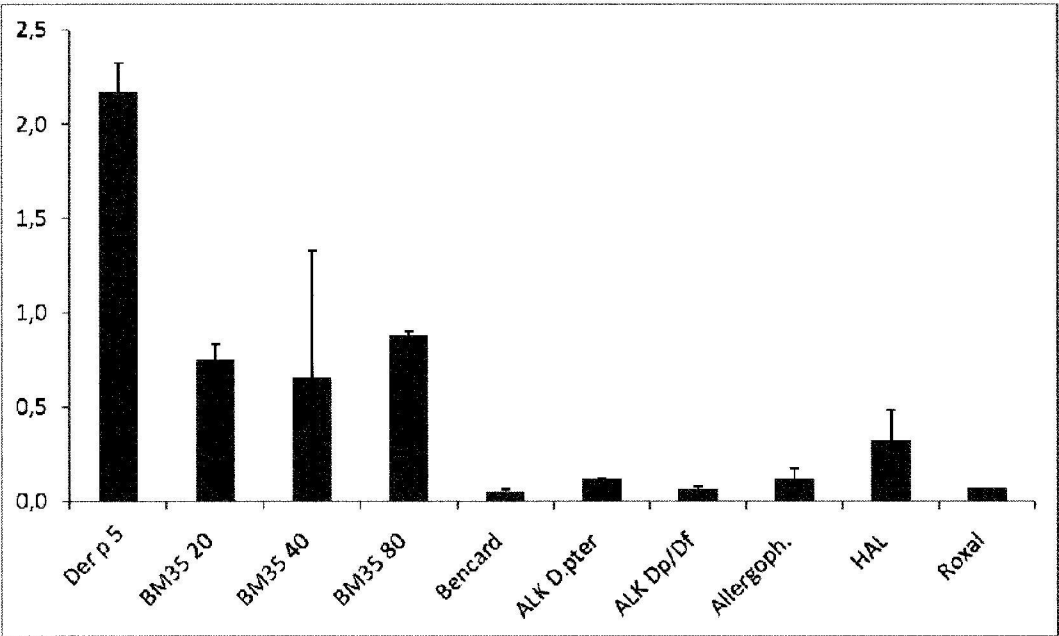


66天後之IgG力價

【第 8C 圖】

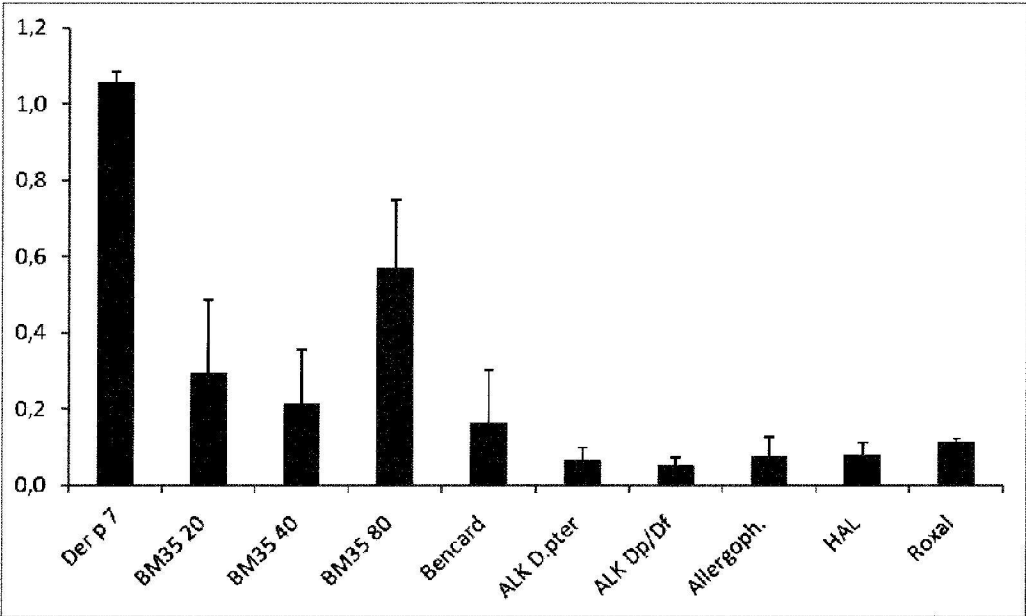


38天後之IgG力價

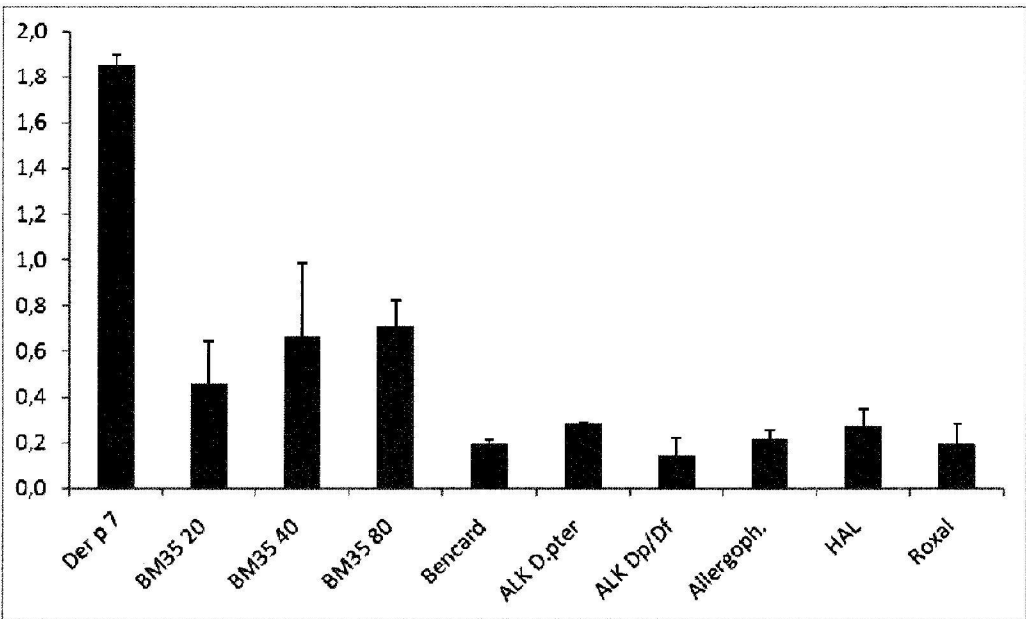


66天後之IgG力價

【第 8D 圖】

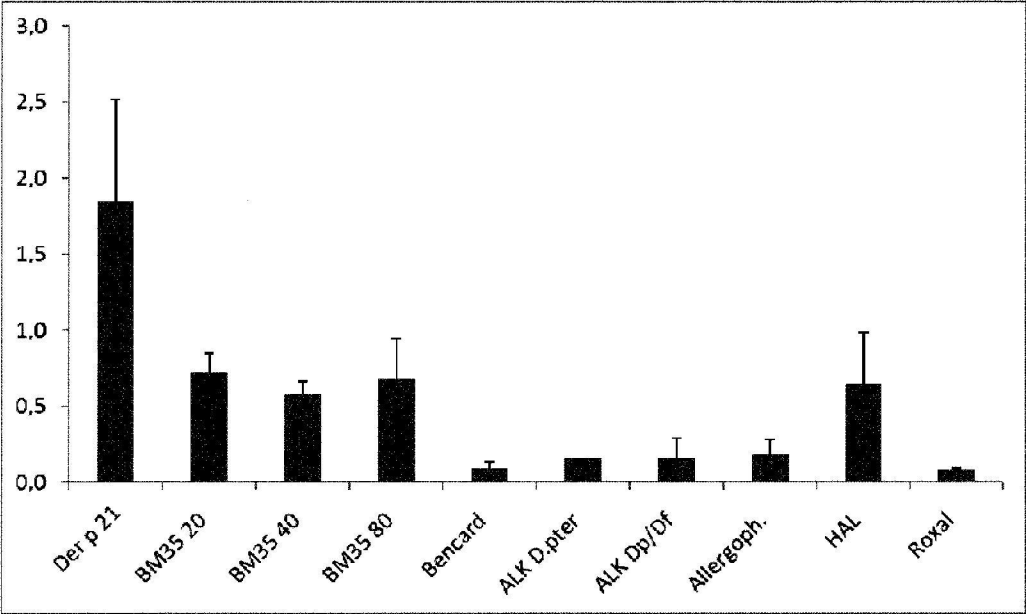


38天後之IgG力價

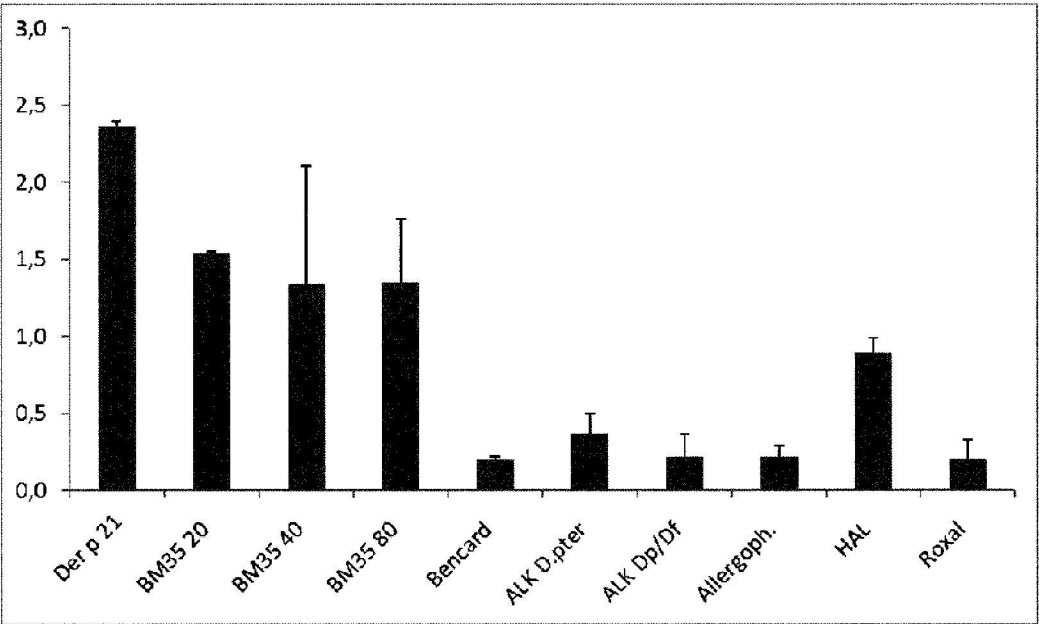


66天後之IgG力價

【第 8E 圖】

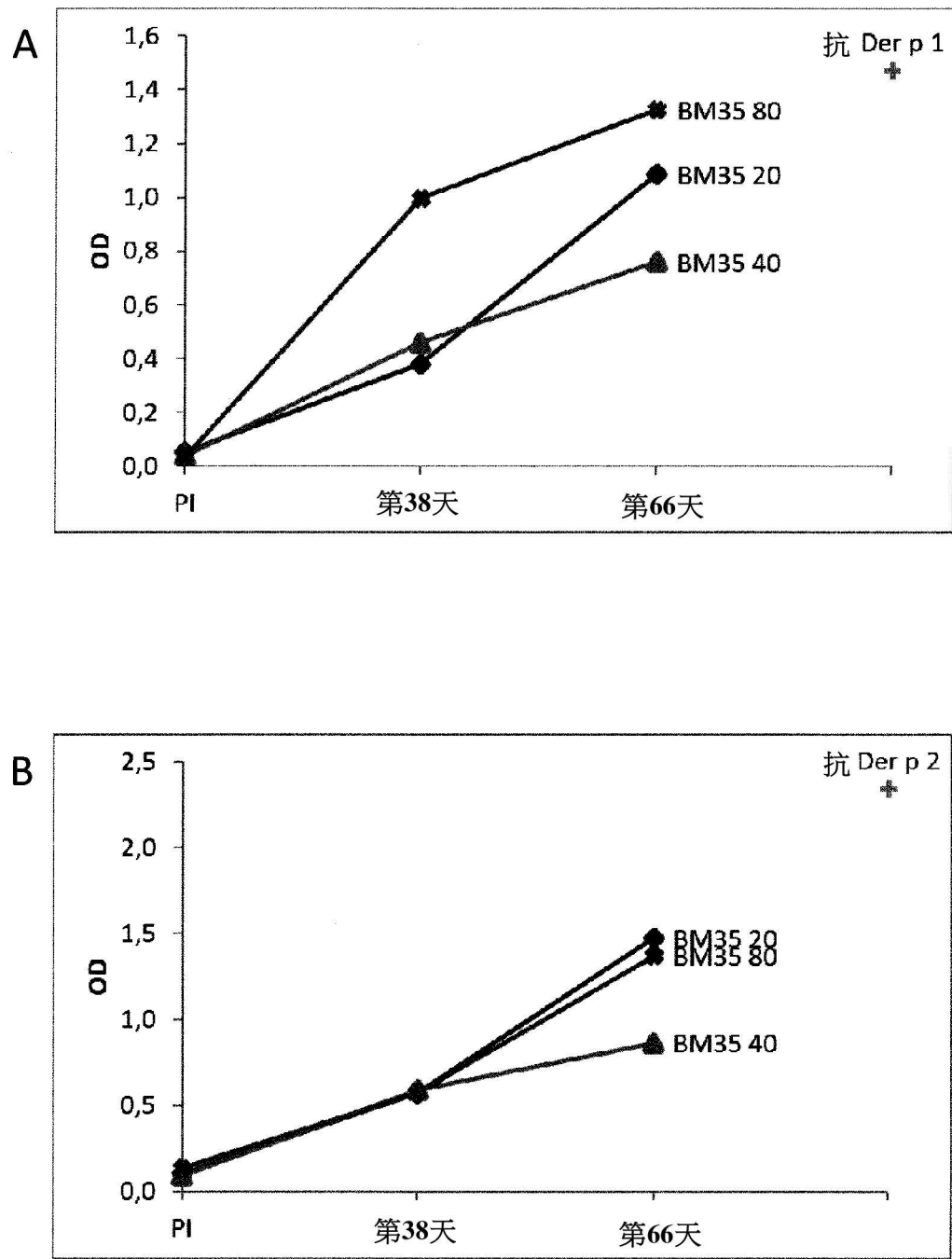


38天後之IgG力價

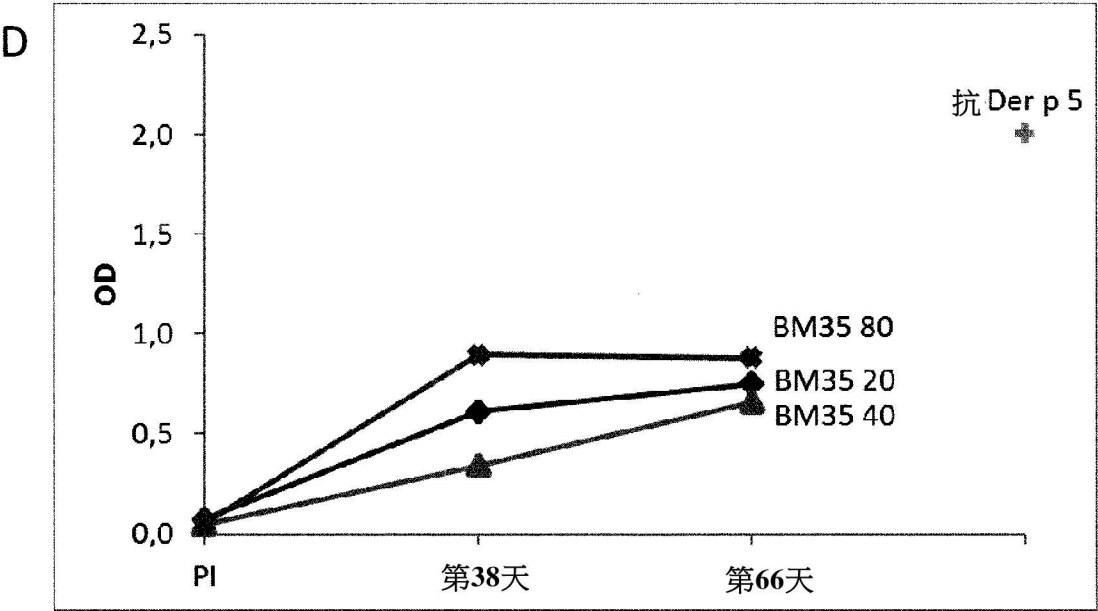
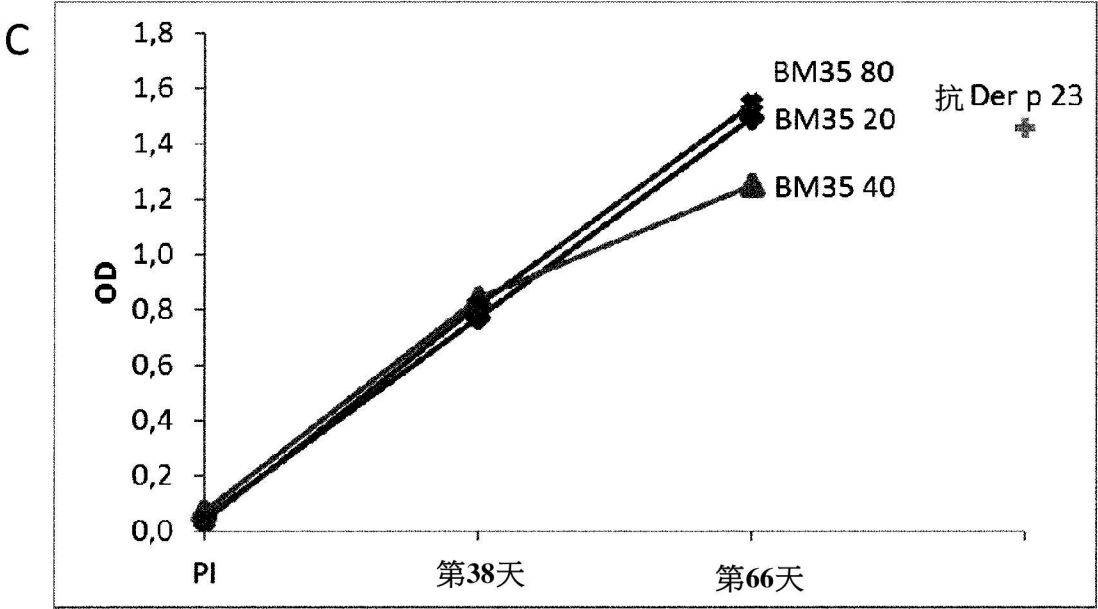


66天後之IgG力價

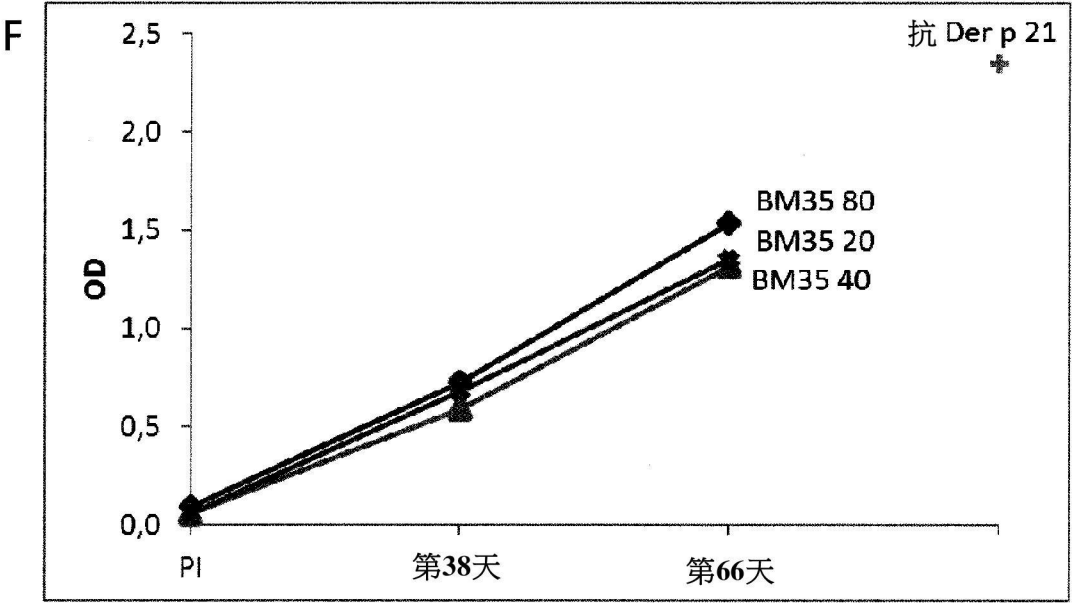
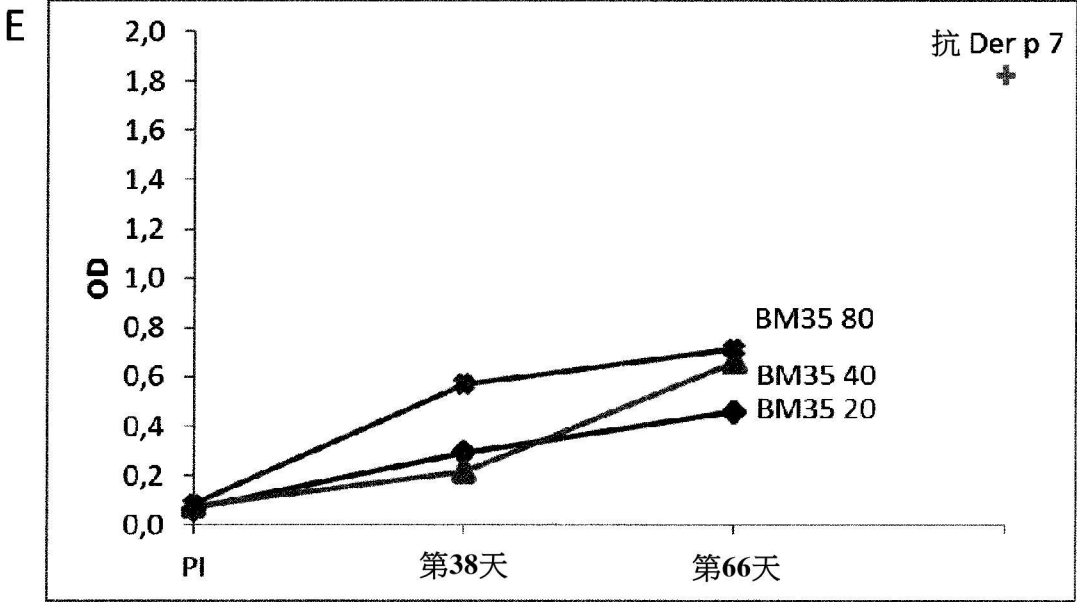
【第 8F 圖】



【第 9 圖】



【第 9 圖】 (續)



【第 9 圖】 (續)