202142262

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202142262 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：110103854 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 02 月 03 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/60 (2017.01)* *A61K47/62 (2017.01)*
A61K38/48 (2006.01) *A61P21/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/02/03 澳大利亞 2020900283

(71)申請人：澳大利亞商斯諾雷托克斯私人有限公司 (澳大利亞) SNORETOX PTY LTD (AU)
澳大利亞

(72)發明人：可洛伊 彼得 COLOE, PETER (AU)；康度伊特 羅賽爾 CONDUIT, RUSSELL (AU)；麥克萊恩 湯瑪士 MCLEAN, THOMAS (AU)；諾伯里 盧克 NORBURY, LUKE (AU)；薩斯 安東尼 SASSE, ANTHONY (AU)；思慕克 彼得 SMOOKER, PETER (AU)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：12 項 圖式數：27 共 159 頁

(54)名稱

組成物與方法

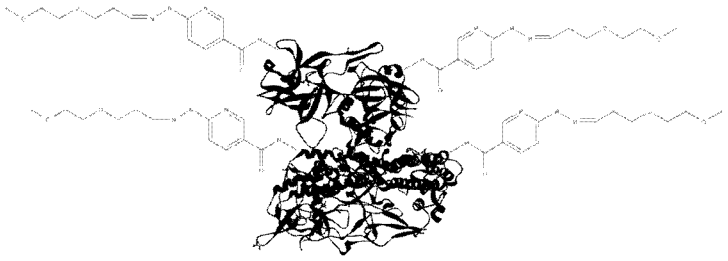
(57)摘要

本發明係關於一種破傷風神經毒素（TeNT）綴合物，其包含（i）經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分的 TeNT 或（ii）綴合至至少一個包含掩蔽多肽之掩蔽部分的 TeNT。本發明亦關於一種包含該 TeNT 綴合物之組成物、及該 TeNT 綴合物或組成物用於治療個體之低張症或增強肌肉力量及/或肌肉張力及/或肌肉癒合及/或運動表現的治療用途。

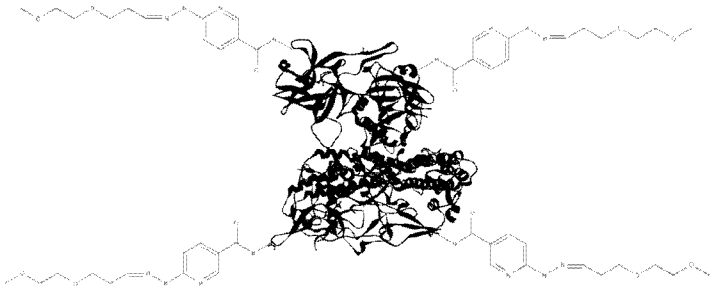
The invention relates to a tetanus neurotoxin (TeNT) conjugate comprising a TeNT conjugated to at least one masking moiety (i) through an acid labile linkage or (ii) comprising a masking polypeptide. The invention also relates to a composition comprising the TeNT conjugate and therapeutic use of the TeNT conjugate or composition for treating hypotonia in a subject or enhancing muscle power and/or muscle tone and/or muscle healing and/or sporting performance.

指定代表圖：

G.



H.



I.

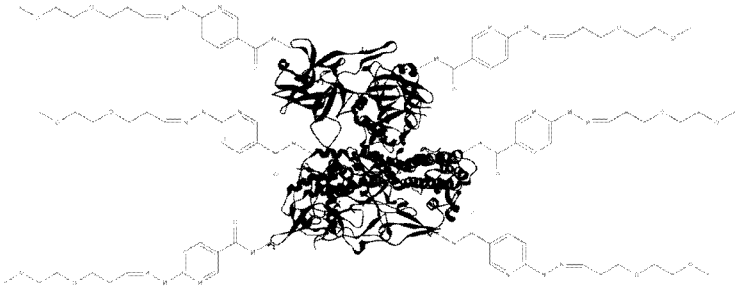


圖1

202142262

【發明摘要】

【中文發明名稱】　組成物與方法

【英文發明名稱】　COMPOSITION AND METHOD

【中文】

本發明係關於一種破傷風神經毒素（TeNT）綴合物，其包含（i）經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分的TeNT或（ii）綴合至至少一個包含掩蔽多肽之掩蔽部分的TeNT。本發明亦關於一種包含該TeNT綴合物之組成物、及該TeNT綴合物或組成物用於治療個體之低張症或增強肌肉力量及/或肌肉張力及/或肌肉癒合及/或運動表現的治療用途。

【英文】

The invention relates to a tetanus neurotoxin (TeNT) conjugate comprising a TeNT conjugated to at least one masking moiety (i) through an acid labile linkage or (ii) comprising a masking polypeptide. The invention also relates to a composition comprising the TeNT conjugate and therapeutic use of the TeNT conjugate or composition for treating hypotonia in a subject or enhancing muscle power and/or muscle tone and/or muscle healing and/or sporting performance.

【指定代表圖】　圖1

【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】　組成物與方法

【英文發明名稱】　COMPOSITION AND METHOD

【技術領域】

【0001】　本發明係關於破傷風神經毒素（tetanus neurotoxin；TeNT）綴合物或包含該TeNT綴合物之組成物。本發明亦關於該TeNT綴合物或組成物之治療用途。

【先前技術】

【0002】　破傷風神經毒素（TeNT）由破傷風梭菌（*Clostridium tetani*）產生。TeNT作用於脊髓，且阻斷為抑制性神經傳遞質的γ-胺基丁酸（γ-aminobutyric acid；GABA）及甘胺酸在脊髓抑制性中間神經元處釋放。因此，TeNT引起痙攣性麻痹。TeNT不以多種血清型存在。

【0003】　已提出利用TeNT或至少TeNT之片段的生物特性用於療法。然而，用蛋白質治療劑長期治療往往會引起靶向免疫反應。由於僅已知一種血清型之TeNT，因此進行血清型切換以規避免疫並非基於TeNT之療法的選項。此外，許多人群經針對TeNT之疫苗接種，從而排除基於TeNT之療法。

【0004】　US 2002/0197278 A1揭示聚乙二醇化肉毒桿菌毒素用於治療不當肌肉收縮之病症的用途。US 2002/0197278 A1亦提出聚乙二醇化TeNT用於治療不當肌肉收縮之病症，例如遷移頭痛或斜視之用途。然而，如上所指出，TeNT引起肌肉收縮，從而排除TeNT（經或未經聚乙二醇化）用於治療不當肌肉收縮之病症的用途。

【0005】　Wan等人*Process Biochemistry* (2017) 52: 183-191揭示聚乙二醇化

對由投予聚乙二醇化蛋白質引起之抗PEG免疫反應的影響，但並未利用其研究結果用於任何療法。

【0006】 WO 2016/001762 A1揭示聚乙二醇化TeNT片段c（c）用於增加肌肉質量之用途。片段c（50 kDa）在TeNT由木瓜蛋白酶進行酶裂解時產生，且對應於TeNT重鏈之C端的451個胺基酸。片段c保留未經消化之TeNT的結合、內化及跨突觸運輸能力，但不破壞任何神經元過程，且因此無毒性。

【0007】 對於避免經破傷風類毒素致免疫之個體中預先存在之抗TeNT免疫反應的基於TeNT之療法存在需要。

【0008】 應理解，若在本文中提及任何先前技術出版物，則此參考並不構成對該出版物在澳大利亞或任何其他國家中形成所屬技術領域中之通常常識之一部分的承認。

【發明內容】

【0009】 本發明之發明人已瞭解，尚未完全實現對TeNT之利用，而此歸因於後天性免疫系統，其在投予蛋白質治療劑後隨即產生抗體反應，從而降低蛋白質治療劑之功效。後天性免疫反應可為有意的（作為疫苗接種之結果），如由已針對TeNT致免疫之許多人群所顯示的。或者，後天性免疫反應可為無意的，由重複暴露於蛋白質治療劑引起。

【0010】 本發明之發明人已產生解決此等問題之經修飾TeNT的家族及治療方案。

【0011】 具體而言，本發明提供聚乙二醇化TeNT（PEGylated TeNT；PEG-TeNT）或肽掩蔽TeNT（Peptide-masked TeNT；Pep-TeNT）之家族，其等各自迴避免疫系統直至TeNT已到達中樞神經系統中之作用位置。在TeNT與掩蔽部分（例如PEG或重複肽）之間併入酸不穩定鍵聯賦予免於免疫反應之保護，直至進

入抑制性中間神經元細胞溶質後隨即在運輸囊泡中發生的pH降低，引起掩蔽劑自TeNT解離。此系統允許將在攝入之前迴避免疫的高度活性之TeNT遞送至中樞神經系統（central nervous system；CNS），使其可有效治療具有保護性抗體反應之個體的肌肉低張症。

【0012】 第一方面提供一種破傷風神經毒素綴合物，其包含經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分的破傷風神經毒素（TeNT）。

【0013】 在第一方面之一個實施方式中，掩蔽部分為聚乙二醇（polyethylene glycol；PEG）。

【0014】 在第一方面之一個實施方式中，掩蔽部分為掩蔽多肽。

【0015】 第二方面提供一種破傷風神經毒素綴合物，其包含綴合至至少一個掩蔽部分之TeNT，該掩蔽部分包含掩蔽多肽。

【0016】 在一個實施方式中，掩蔽多肽包含短重複肽序列。在一個實施方式中，短重複肽序列包含甘胺酸及蘇胺酸。

【0017】 在第二方面之一個實施方式中，破傷風神經毒素綴合物經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分。

【0018】 在一個實施方式中，掩蔽部分連接至TeNT輕鏈（light chain；LC），或TeNT重鏈（heavy chain；HC），或TeNT片段c（c）。

【0019】 在一個實施方式中，TeNT輕鏈（LC）經聚乙二醇化，TeNT重鏈（HC）經聚乙二醇化，或TeNT片段c（c）經聚乙二醇化。在一個實施方式中，LC經聚乙二醇化且HC經聚乙二醇化（PEG-TeNT-LC-HC），或LC經聚乙二醇化且c經聚乙二醇化（PEG-TeNT-LC-c）。

【0020】 在一個實施方式中，PEG綴合至TeNT之離胺酸殘基。在另一實施方式中，PEG綴合至TeNT之半胱胺酸殘基。在一個實施方式中，PEG綴合至TeNT之半胱胺酸殘基，其中半胱胺酸殘基為天然或引入的，可選地藉由相對於SEQ ID

NO: 1取代絲胺酸殘基引入。

【0021】 在一個實施方式中，PEG之分子量為約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa或約30 kDa。

【0022】 在一個實施方式中，掩蔽多肽綴合至TeNT之離胺酸殘基。在另一實施方式中，掩蔽多肽綴合至TeNT之半胱胺酸殘基。在一個實施方式中，掩蔽多肽綴合至TeNT之半胱胺酸殘基，其中半胱胺酸殘基為天然或引入的，可選地藉由相對於SEQ ID NO: 1取代絲胺酸殘基引入。

【0023】 在一個實施方式中，掩蔽多肽包含短重複胺基酸序列且綴合至TeNT之離胺酸殘基。在另一實施方式中，掩蔽多肽包含短重複胺基酸序列且綴合至TeNT之半胱胺酸殘基。在一個實施方式中，掩蔽多肽包含短重複胺基酸序列且綴合至TeNT之半胱胺酸殘基，其中半胱胺酸殘基為天然或引入的，可選地藉由相對於SEQ ID NO: 1取代絲胺酸殘基引入。

【0024】 在一個實施方式中，掩蔽多肽之分子量為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa或約30 kDa。

【0025】 第三方面提供一種組成物，其包含第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物。

【0026】 第四方面提供一種組成物，其包含：

（a）第一破傷風綴合物，其包含：

（i）破傷風神經毒素（TeNT）或其片段，其經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分；或

（ii）破傷風神經毒素（TeNT）或其片段，其經由非酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽多肽；及

（b）破傷風神經毒素或第二破傷風神經毒素綴合物。

【0027】 在一個實施方式中，組成物為治療組成物。

【0028】 在另一實施方式中，組成物為美容組成物。

【0029】 第五方面提供一種用於治療低張症之方法，該方法包含向個體投予第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物或第三或第四方面之組成物。

【0030】 第五方面可替代地提供第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物或第三或第四方面之組成物，其用於治療低張症；或第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物或第三或第四方面之組成物在製造用於治療低張症之醫藥品中的用途。

【0031】 第六方面提供一種用於治療個體之低張症之方法，該方法包含向個體投予第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物及破傷風神經毒素或第四方面之組成物。

【0032】 第六方面可替代地提供第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物及破傷風神經毒素或第四方面之組成物，其用於治療個體之低張症；或第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物及破傷風神經毒素或第四方面之組成物在製造用於治療個體之低張症之醫藥品中的用途。

【0033】 在一個實施方式中，低張症為阻塞性睡眠呼吸中止症。

【0034】 第七方面提供一種用於增強肌肉張力、肌肉力量、肌肉癒合及/或運動表現之方法，該方法包含向個體投予第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物或第三或第四方面之組成物。

【0035】 第七方面可替代地提供第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物或第三或第四方面之組成物，其用於增強肌肉張力、肌肉力量、肌肉癒合及/或運動表現；或第一或第二方面之破傷風神經毒素綴合物或第三或第四方面之組成物在製造用於增強肌肉張力、肌肉力量、肌肉癒合及/或運動表現之醫藥品中的用途。

【0036】 在一個實施方式中，第一TeNT綴合物或第二TeNT綴合物包含聚

乙二醇化TeNT輕鏈（LC）、聚乙二醇化TeNT重鏈（HC）、聚乙二醇化TeNT重鏈（HC）及聚乙二醇化TeNT輕鏈（LC）或聚乙二醇化TeNT片段c（c）。在一個實施方式中，第一TeNT綴合物或第二TeNT綴合物包含PEG-TeNT-LC-HC。

【0037】 在另一實施方式中，第一TeNT綴合物或第二TeNT綴合物為包含聚乙二醇化HC之PEG-TeNT-HC。在此實施方式中，LC未經聚乙二醇化。在另一實施方式中，第一TeNT綴合物或第二TeNT綴合物為包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化c之PEG-TeNT-LC-c。在此實施方式中，HN未經聚乙二醇化。

【0038】 在另一實施方式中，第一TeNT綴合物為PEG-TeNT-HC，且第二TeNT綴合物為PEG-TeNT-LC-c。

【0039】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c），直至功效降低；接著包含PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c之組成物，直至功效降低；接著包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC）。

【0040】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c）；接著包含PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c之組成物；接著包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC），以確定個體之抗TeNT抗體的免疫學輪廓，且基於該輪廓確定TeNT綴合物之有效組成物。

【0041】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予包含聚乙二醇化HC之第一TeNT綴合物（PEG-TeNT-HC），及包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化c之第二TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-c）。

【0042】 在另一實施方式中，治療包含向個體投予：包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c）；及/或包含聚乙二醇化HC之第一TeNT綴合物（PEG-TeNT-HC）及包含聚乙二醇化LC-c之第二TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-c）；及/或

包含聚乙二醇化HC及聚乙二醇化LC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC）。

【0043】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c），直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c，直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC）。

【0044】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c），直至功效降低；接著PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c，直至功效降低；接著包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC）。

【0045】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含分子量為約5 kDa之PEG的包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c），直至功效降低；接著包含分子量為約10 kDa之PEG的包含聚乙二醇化c之PEG-TeNT（PEG-TeNT-c），直至功效降低；接著包含分子量為約20 kDa之PEG的包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c），直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c（其中任一者或兩者包含分子量為5 kDa之PEG），直至功效降低；接著PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c（其中任一者或兩者包含分子量為10 kDa之PEG），直至功效降低；接著PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c（其中任一者或兩者包含分子量為20 kDa之PEG），直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC）（其中任一者或兩者包含分子量為5 kDa之PEG），直至功效降低；接著包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC）（其中任一者或兩者包含分子量為10 kDa之PEG），直至功效降低；接著包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之PEG-TeNT（PEG-TeNT-LC-HC）（其中任一者或兩者包含分子量為20 kDa之PEG）。

【0046】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含聚乙二醇化c之TeNT綴合物（PEG-TeNT-c）；接著包含PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c之組成物；接著包含聚乙二醇化LC及聚乙二醇化HC之TeNT綴合物（PEG-TeNT-LC-HC），以確定個體之抗TeNT抗體的免疫學輪廓，且基於該輪廓確定TeNT綴合物之有效組成物。

【0047】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予包含綴合至HC之掩蔽多肽的第一TeNT綴合物（PEP-TeNT-HC），及包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至片段c之掩蔽多肽的第二TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-c）。

【0048】 在另一實施方式中，治療包含向個體投予：包含綴合至片段c之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c）；及/或包含綴合至HC之掩蔽多肽的第一TeNT綴合物（PEP-TeNT-HC）及包含綴合至LC-c之掩蔽多肽的第二TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-c）；及/或包含綴合至HC之掩蔽多肽及綴合至LC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC）。

【0049】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含綴合至c之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c），直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c，直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至HC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC）。

【0050】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含綴合至c之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c），直至功效降低；接著PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c，直至功效降低；接著包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至HC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC）。

【0051】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含綴合至掩蔽多肽之片段c的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c）（掩蔽多肽包含分子量為約5 kDa之短重複

胺基酸序列的肽），直至功效降低；接著包含綴合至掩蔽多肽之片段c的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c）（掩蔽多肽包含分子量為約10 kDa之短重複胺基酸序列的肽），直至功效降低；接著包含綴合至掩蔽多肽之片段c的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c）（掩蔽多肽包含分子量為約20 kDa之短重複胺基酸序列的肽），直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c（其中任一者或兩者包含分子量為約5 kDa之短重複胺基酸序列的肽），直至功效降低；接著PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c（其中任一者或兩者包含分子量為約10 kDa之PEP），直至功效降低；接著PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c（其中任一者或兩者包含分子量為約20 kDa之短重複胺基酸序列的肽），直至功效降低。其後，治療可包含向個體投予：包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至HC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC）（其中任一種或兩種掩蔽多肽包含分子量為約5 kDa之短重複胺基酸序列的肽），直至功效降低；接著包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至HC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC）（任一種或兩種綴合物包含分子量為約10 kDa之掩蔽多肽），直至功效降低；接著包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至HC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC）（其中任一者或兩者包含分子量為約20 kDa之短重複胺基酸序列的肽）。

【0052】 在一個實施方式中，治療包含向個體投予：包含綴合至c之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-c）；接著包含PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c之組成物；接著包含綴合至LC之掩蔽多肽及綴合至HC之掩蔽多肽的TeNT綴合物（PEP-TeNT-LC-HC），以確定個體之抗TeNT抗體的免疫學輪廓，且基於該輪廓確定TeNT綴合物之有效組成物。

【0053】 第十方面提供一種套組，其包含第一或第二方面之TeNT、第三或第四方面之組成物。

【圖式簡單說明】

【0054】 [圖1]為腙聚乙二醇化、PEP化（PEPylated）及腙肽化TeNT之圖示：（A）PEG-HZN-TeNT-c；（B）PEP-TeNT-HC；（C）PEP-TeNT-LC-c；（D）PEP-TeNT-LC-HC；（E）PEP-HZN-TeNT-LC-HC；（F）PEP-TeNT-c；（G）PEG-HZN-TeNT-HC；（H）PEG-HZN-TeNT-LC-c；（I）PEG-HZN-TeNT-LC-HC。

【0055】 [圖2]為藉由pH不穩定腙鍵聯將PEG添加至TeNT之代表性化學反應。

【0056】 [圖3]為藉由pH不穩定腙鍵聯將掩蔽醣肽添加至TeNT之代表性化學反應。

【0057】 [圖4]為用於將掩蔽肽添加至TeNT之代表性化學反應。

【0058】 [圖5]為本發明之示例PEG-TeNT的示意圖示：（A）PEG-TeNT-c；（B）PEG-TeNT-HC；（C）PEG-TeNT-LC-c；（D）PEG-TeNT-LC-HC。

【0059】 [圖6]為包含1314個胺基酸之成熟TeNT的胺基酸序列（SEQ ID NO: 1）。

【0060】 [圖7]為編碼TeNT之載體pRSET-TeNT的核酸序列（SEQ ID NO: 2）。

【0061】 [圖8]為編碼TeNT的載體pRSET-TeNT的圖譜。TeNT以具有N端His_6標籤之形式表現。核酸插入pRSET-A載體之多重選殖位（multiple cloning site；MCS）內，且在T7啟動子控制下表現。

【0062】 [圖9]為HC之胺基酸序列（SEQ ID NO: 3），其包含SEQ ID NO: 1之胺基酸457至1314。

【0063】 [圖10]為c之胺基酸序列（SEQ ID NO: 4），其包含SEQ ID NO: 1之胺基酸864至1314。

【0064】 [圖11]為成熟1314胺基酸TeNT之胺基酸序列（SEQ ID NO: 5），

其相對於SEQ ID NO: 1包含表面絲胺酸至半胱胺酸胺基酸取代S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C。

【0065】 [圖12]為編碼圖11之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 5）的載體pRSET-TeNT之核酸序列（SEQ ID NO: 6）。

【0066】 [圖13]為編碼圖11之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 5）的圖12之載體pRSET-TeNT（SEQ ID NO: 6）的圖譜。經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之TeNT以具有N端His_6標籤之形式表現。核酸插入pRSET-A載體之MCS內，且在T7啟動子控制下表現。

【0067】 [圖14]為在LC及c區中相對於SEQ ID NO: 1包含表面絲胺酸至半胱胺酸胺基酸取代S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C的成熟1314胺基酸TeNT之胺基酸序列（SEQ ID NO: 7）。

【0068】 [圖15]為編碼圖14之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 7）的載體pRSET-TeNT之核酸序列（SEQ ID NO: 8）。

【0069】 [圖16]為編碼圖14之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 7）的圖15之載體pRSET-TeNT（SEQ ID NO: 8）的圖譜。經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之TeNT以具有N端His_6標籤之形式表現。核酸插入pRSET-A載體之MCS內，且在T7啟動子控制下表現。

【0070】 [圖17]為相對於SEQ ID NO: 1包含HC表面絲胺酸至半胱胺酸胺基酸取代S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的胺基酸序列（SEQ ID NO: 9）。

【0071】 [圖18]為編碼圖17之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 9）的載體pRSET-TeNT之核酸序列（SEQ ID NO: 10）。

【0072】 [圖19]為編碼圖17之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之TeNT（SEQ ID NO: 9）的18之載體pRSET-TeNT（SEQ ID NO: 10）的圖譜。經表面絲胺酸至

半胱胺酸取代之TeNT以具有N端His_6標籤之形式表現。核酸插入pRSET-A載體之MCS內，且在T7啟動子控制下表現。

【0073】 [圖20]為在LC及c區中相對於SEQ ID NO: 1包含表面絲胺酸至半胱胺酸胺基酸取代S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C的成熟1314胺基酸TeNT之胺基酸序列（SEQ ID NO: 11）。

【0074】 [圖21]為編碼圖20之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 11）的載體pRSET-TeNT之核酸序列（SEQ ID NO: 12）。

【0075】 [圖22]為編碼圖20之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 11）的圖21之載體pRSET-TeNT（SEQ ID NO: 12）的圖譜。經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之TeNT以具有N端His_6標籤之形式表現。核酸插入pRSET-A載體之MCS內，且在T7啟動子控制下表現。

【0076】 [圖23]為相對於SEQ ID NO: 1包含HC表面絲胺酸至半胱胺酸胺基酸取代S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的胺基酸序列（SEQ ID NO: 13）。

【0077】 [圖24]為編碼圖23之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT（SEQ ID NO: 13）的載體pRSET-TeNT之核酸序列（SEQ ID NO: 14）。

【0078】 [圖25]為編碼圖23之經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之TeNT（SEQ ID NO: 13）的圖24之載體pRSET-TeNT（SEQ ID NO: 14）的圖譜。經表面絲胺酸至半胱胺酸取代之TeNT以具有N端His_6標籤之形式表現。核酸插入pRSET-A載體之MCS內，且在T7啟動子控制下表現。

【0079】 [圖26]為自蛋白質資料庫中所寄存之結晶學資料（寄存ID PDB：5N0B）導出的TeNT之3維蛋白質結構模型，使用Discovery Studio將如Silva Antunes等人(2017)及Palermo等人(2017)所鑑別之主要人類抗體純系型所識別的抗原決定基映射至模型上。選擇所鑑別之抗原決定基中或周圍的表面絲胺酸殘

基用於後續聚乙二醇化。

【0080】 [圖27]為（A）SDS-PAGE凝膠之照片，其展現5 kDa PEG-醛由異雙官能交聯劑丁二醯亞胺基6-肼基菸鹼醯胺丙酮腙（Succinimidyl 6-hydrazinonicotinamide acetone hydrazone；SANH）連接至TeNT之表面離胺酸殘基，該交聯劑在PEG與TeNT之間引入酸不穩定腙鍵聯（PEG-HZN-TeNT-LC-HC），及（B）SDS-PAGE凝膠之照片，其展現胰蛋白酶消化為活性形式後之PEG-HZN-TeNT-LC-HC。

【實施方式】

【0081】 本發明在一個形式中係關於迴避免疫之TeNT綴合物，其包含在酸性環境中釋放之免疫掩蔽部分。本發明亦關於包含迴避免疫之TeNT綴合物的組成物，及其治療及美容用途。掩蔽部分在TeNT攝入至神經元中之前起作用，且在攝入至CNS抑制性中間神經元中之後自綴合物釋放，引起活性TeNT釋放至CNS中之作用位置。在不希望受理論束縛的情況下，本發明之發明人理解此發生在囊泡中，其中經掩蔽TeNT自周邊神經運輸至CNS。當囊泡進入抑制性神經元時，其酸化。TeNT接著經歷構形變化，其將活性TeNT釋放至細胞溶質中。在一個實施方式中，本發明之發明人已使用酸敏感掩蔽來利用此點。

【0082】 在一個實施方式中，本發明係關於治療低張症，可選地為阻塞性睡眠呼吸中止症。

【0083】 本文描述TeNT綴合物用於治療具有針對破傷風類毒素之保護性免疫反應的個體之低張症的用途。為達成該目的，將活性TeNT經由酸不穩定鍵聯綴合至掩蔽部分，諸如PEG或掩蔽多肽。在抑制性神經元間細胞內之酸性條件下，酸不穩定鍵聯水解或裂解以釋放活性TeNT。因此，本文所描述之TeNT綴合物可用於投予活性破傷風神經毒素適用的任何功能。舉例而言，綴合物可用於增

加個體，例如破傷風免疫患者之肌肉張力。

【0084】 本文所描述之TeNT綴合物的活性可藉由投予單位定義劑量之綴合物或其組成物來證明，其中在相同單位劑量下，TeNT在經疫苗接種個體中將不展現活性或展現降低之活性。在一些實施方式中，將突變引入至TeNT中以便連接掩蔽部分。基於對TeNT三維結構之分析，引入特定表面突變以便導引連接掩蔽部分（如多肽或PEG分子）允許掩蔽已知在經疫苗接種個體中由保護性抗體反應靶向的特定TeNT抗原決定基。相對於投予之等效單位TeNT，pH依賴性聚乙二醇化、多肽綴合及定點突變之組合極大地提高分子在經疫苗接種哺乳動物模型中增加肌肉張力之效果。

【0085】 本發明之發明人進一步設想增加肌肉張力將增強肌肉肌肉恢復及癒合、肌肉力量及張力，且最終增強運動表現。因此，本文亦描述TeNT綴合物用於增強肌肉恢復、增強肌肉力量及張力及增強運動表現之用途。

【0086】 US 2002/0197278揭示用於治療不當肌肉收縮之病症的一系列聚乙二醇化肉毒桿菌毒素，且表明TeNT可用作肉毒桿菌毒素之替代物。然而，TeNT無法用於治療肌肉收縮。此外，US 2002/0197278所宣稱之發明似乎無法實現，因為所揭示之方法不包括抗原決定基之定點掩蔽，且據本發明之發明人所知，有意掩蔽TeNT抗原決定基所必需之三維結構及抗原決定基鑑別在US 2002/0197278之優先權日期時不可用。

【0087】 Wan等人係關於聚乙二醇化對由投予聚乙二醇化蛋白質引起之**抗PEG**免疫反應的影響，但未利用其研究結果用於任何療法。儘管Wan等人揭示聚乙二醇化破傷風類毒素相對於非聚乙二醇化破傷風類毒素展現降低之免疫原性，但Wan等人未提出治療相關分子或調配物。此外，破傷風類毒素之聚乙二醇化與活性TeNT之修飾無關，因為破傷風類毒素為用於疫苗接種之無生物活性TeNT，其可藉由TeNT之甲醛交聯產生。亦即，經或未經聚乙二醇化之破傷風類

毒素不具有活性TeNT之酶促、結合及轉位活性組合。

【0088】 所屬技術領域中具有知識者應理解，聚乙二醇化TeNT與本發明之掩蔽為不同方法，因為聚乙二醇化不需要保持目標分子，例如TeNT之活性。相反，本發明需要以降低免疫原性同時保留TeNT活性之方式進行掩蔽。所屬技術領域中具有知識者應理解，後者比前者困難。

【0089】 WO 2016/001762 A1係關於單獨的TeNT c片段，其為除結合神經傳遞質及進入神經元外不具有特定活性的分子。

【0090】 需要避免經破傷風類毒素致免疫之個體中預先存在之抗TeNT免疫的改良的基於TeNT之療法。本文揭示經掩蔽、活性且治療相關TeNT綴合物，其包含典型地經由酸不穩定鍵聯綴合至掩蔽部分之TeNT。

破傷風神經毒素（TeNT）

【0091】 TeNT為大致150 kDa且由*tetX*基因表現。對應於*tetX*之編碼區但缺少起始甲硫胺酸密碼子的密碼子最佳化核酸序列提供於中圖3之載體序列（SEQ ID NO: 2）中。TeNT表現為一種蛋白質，其在轉譯後裂解，首先移除起始甲硫胺酸，且接著裂解成兩個部分：衍生自未裂解蛋白質之N端的50 kDa輕鏈（LC或A鏈）及衍生自未裂解蛋白質之C端的100 kDa重鏈（HC或B鏈）。兩條鏈由鏈間二硫鍵連接，其對神經毒性而言至關重要。成熟TeNT之1314胺基酸序列提供於圖2中（SEQ ID NO: 1）。

【0092】 LC具有鋅內肽酶活性且攻擊囊泡融合至膜必需的囊泡相關膜蛋白（vesicle-associated membrane protein；VAMP），從而阻止神經傳遞質釋放。

【0093】 在用木瓜蛋白酶消化後，HC可裂解成各自50 kDa的兩個域：被命名為HN之N端轉位域；及被命名為片段c（c）之C端神經節苷脂（膜）結合域。缺少c之TeNT在本文中被稱作LC-HN。

【0094】 c具有兩個多唾液酸神經節苷脂結合位點，且結合至神經元膜上之多唾液酸神經節苷脂（GD2 GD1b及GT1b）。因此，c介導TeNT與周邊運動軸突之突觸前膜的結合，且幫助TeNT穿過膜移動至神經元中。

【0095】 以下各者之胺基酸序列：

缺少起始甲硫胺酸之TeNT提供於圖6中（SEQ ID NO: 1）；

HC提供於圖9中（SEQ ID NO: 3）；

c提供於圖10中（SEQ ID NO: 4）；且

編碼以下各者之載體的密碼子最佳化核酸序列及以下各者之載體圖譜：

缺少起始甲硫胺酸之TeNT提供於圖7（SEQ ID NO: 2）及圖8中；如本文所用，「TeNT」用於指代由重鏈及輕鏈組成之完整TeNT分子。子域及片段在本文中由其縮寫提及：輕鏈「LC」；重鏈「HC」；重鏈N端域「HN」；重鏈片段c「c」；輕鏈加重鏈N端域「LC-HN」（亦即缺少c之TeNT分子）。在任何子域或片段經聚乙二醇化之情況下，使用前綴PEG：PEG-LC；PEG-HC；PEG-HN；PEG-c；PEG-LC-HN。在包含聚乙二醇化片段或子域之完整TeNT分子中，使用前綴PEG且指定聚乙二醇化子域或片段：PEG-TeNT-LC；PEG-TeNT-HC；PEG-TeNT-LC-HC；PEG-TeNT-HN；PEG-TeNT-c；PEG-TeNT-LC-c；PEG-TeNT-LC-HN，諸如此類。

【0096】 在包含掩蔽多肽之完整TeNT分子或子域中，使用前綴PEP且指定PEP化子域或片段：PEP-TeNT-LC；PEP-TeNT-HC；PEP-TeNT-LC-HC；PEP-TeNT-HN；PEP-TeNT-c；PEP-TeNT-LC-c；PEP-TeNT-LC-HN，諸如此類。

【0097】 應瞭解，對於完整TeNT，子域及片段由於其特定功能而不可互換。

【0098】 本文所揭示之TeNT可為活性或無活性的。活性TeNT具有與天然TeNT相同之生物活性。無活性TeNT缺少天然TeNT之一或多種活性。在一個實施方式中，無活性TeNT不阻斷抑制性神經傳遞質之釋放。無活性TeNT包括破傷風

類毒素。在一個實施方式中，無活性TeNT為如本文所揭示之無活性TeNT。無活性TeNT可充當後天性免疫系統之假目標，從而改善本發明之活性TeNT的活性。

【0099】 在一個實施方式中，可綴合兩個或更多個TeNT。

【0100】 在另一實施方式中，TeNT未綴合。在本文所揭示之組成物、方法及用途之一個實施方式中，第一PEG-TeNT不綴合至第二TeNT。

【0101】 儘管不希望受理論束縛，但本發明之發明人認為未綴合之本發明TeNT中存在至少一個獨特且重要的優點。具體而言，在一個實施方式中，組成物提供一種藉由聚乙二醇化或肽掩蔽免於個體之後天性免疫反應的活性TeNT，與同時吸引後天性免疫反應之無活性、未經掩蔽之假目標TeNT的組合。若此等TeNT綴合，則即使存在經掩蔽活性TeNT，後天性免疫反應亦將藉助於未經掩蔽之假目標TeNT使綴合物失活。因此，在一個實施方式中，確保兩個TeNT未經綴合確保組成物具有活性。

【0102】 換言之，在需要兩種功能之一個實施方式中，功能意欲為獨立的，且因此本發明之TeNT未經綴合。

【0103】 儘管不希望受理論束縛，但本發明之發明人亦認為綴合兩個TeNT可能藉由基於綴合物之大小引起免疫反應，可損害一或多個活性TeNT之活性。

【0104】 不管此等感知到之優點如何，在一個實施方式中，兩個或更多個TeNT可彼此綴合。

【0105】 本文所揭示且在圖1中描繪之迴避免疫之PEG-TeNT及PEP-TeNT包括：

具有賴聚乙二醇化片段c之TeNT（PEG-HZN-TeNT-c）（圖1A）（實施例1）；

具有PEP化重鏈之TeNT（PEP-TeNT-HC）（圖1B）（實施例9）；

具有PEP化輕鏈及片段c之TeNT（PEP-TeNT-LC-c（圖1C）（實施例10）；

具有PEP化輕鏈及重鏈之TeNT（PEP-TeNT-LC-HC）（圖1D）（實施例11）；

具有脒PEP化輕鏈及重鏈之TeNT（PEP-HZN-TeNT-LC-HC）（圖1E）（實施例11）；

具有PEP化片段c之TeNT（PEP-TeNT-c）（圖1F）（實施例8）；

具有脒聚乙二醇化重鏈之TeNT（PEG-HZN-TeNT-HC）（圖1G）（實施例2）；

具有脒聚乙二醇化輕鏈及聚乙二醇化片段c之TeNT（PEG-HZN-TeNT-LC-c）（圖1H）（實施例3）；及

完全脒聚乙二醇化之TeNT（PEG-HZN-TeNT-LC-HC）（圖1I）（實施例5）。

【0106】 PEG-HZN-TeNT-c有利地迴避經疫苗接種個體中後天性免疫系統之預先存在的免疫反應。在一個實施方式中，PEG-TeNT-c提供待使用直至功效降低為止的第一層治療。

【0107】 PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c有利地迴避經疫苗接種個體中後天性免疫系統之預先存在的免疫反應，且亦迴避藉由重複暴露於PEG-TeNT-c而引發之後天性免疫系統的免疫反應。

【0108】 在一個實施方式中，PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c一起提供待使用直至其功效降低為止的第二層治療。

【0109】 PEG-TeNT-LC-HC有利地迴避經疫苗接種個體中後天性免疫系統之預先存在的免疫反應，且亦迴避藉由重複暴露於PEG-TeNT-c及PEG-TeNT-HC加PEG-TeNT-LC-c而引發之後天性免疫系統的免疫反應。

【0110】 在一個實施方式中，PEG-TeNT-LC-HC提供待使用直至其功效降低為止的第三層治療。

【0111】 亦揭示具有聚乙二醇化輕鏈之TeNT（PEG-TeNT-LC）、具有聚乙二醇化LC及HN之TeNT（PEG-TeNT-LC-HN）及具有聚乙二醇化HN之TeNT（PEG-TeNT-HN）。

【0112】 所屬技術領域中具有知識者應瞭解，PEG-TeNT之特定組合及用

彼等PEG-TeNT組合治療的次序可改變。

聚乙二醇（PEG）

【0113】 PEG可經由酸不穩定鍵聯綴合至例如TeNT中之離胺酸（例如胺基-聚乙二醇化），半胱胺酸（例如硫醇-聚乙二醇化及橋接聚乙二醇化），組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺（例如*N*-醣基-聚乙二醇化），麩胺酸、麩醯胺酸（例如轉麩醯胺酸酶介導之聚乙二醇化），絲胺酸（例如*O*-醣基-聚乙二醇化），蘇胺酸（例如*O*-醣基-聚乙二醇化），或酪胺酸殘基。聚乙二醇化之實例亦包括N端聚乙二醇化及C端聚乙二醇化。

【0114】 聚乙二醇化可藉由使PEG與羥基反應性官能基，例如酸酐、醯氯、氯甲酸酯及碳酸酯反應來達成。或者，聚乙二醇化可利用諸如醛、酯及醯胺之官能基來達成。

【0115】 PEG可為直鏈或分支鏈。

【0116】 PEG可為改質PEG，例如聚[寡聚(乙二醇)甲醚甲基丙烯酸酯]（poly[oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate]；POEGMA）。

【0117】 聚乙二醇化可為位點特異性聚乙二醇化。

【0118】 在一個實施方式中，TeNT或TeNT片段之表面絲胺酸殘基突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合。在此情形下，突變與取代，例如絲胺酸至半胱胺酸取代同義。此類突變或取代以任何組合包括以下中之一或多者：S81C；S120C；S144C；S248C；S335C；S428C；S600C；S963C；S1041C；S1155C；及S1187C。

【0119】 異雙官能PEG之官能基包括順丁烯二醯亞胺、乙烯基碸、吡啶基二硫化物、胺、羧酸及NHS酯。

【0120】 在一個實施方式中，使用碳二亞胺-EDC及磺基-NHS用羧基-胺交

聯將PEG綴合至TeNT。

【0121】 本發明亦設想包含綴合至TeNT之不同子域或片段的不同分子量PEG之PEG-TeNT。

【0122】 舉例而言，PEG可在4℃與25℃之間綴合或連接至本發明之TeNT，持續2與6小時之間。在一個實施方式中，PEG在室溫下綴合至TeNT持續6小時。

掩蔽多肽（PEP）

【0123】 掩蔽多肽可綴合至例如TeNT中之離胺酸（例如胺基-PEP化），半胱胺酸（例如硫醇-PEP化及橋接PEP化），組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺（例如*N*-醣基-PEP化），麩胺酸、麩醯胺酸（例如轉麩醯胺酸酶介導之PEP化）、絲胺酸（例如*O*-醣基-PEP化），蘇胺酸（例如*O*-醣基-PEP化），或酪胺酸殘基。PEP化之實例亦包括N端PEP化及C端PEP化。

【0124】 PEP化可藉由使PEP與羥基反應性官能基，例如酸酐、醯氯、氯甲酸酯及碳酸酯反應來達成。或者，聚乙二醇化可利用諸如醛、酯及醯胺之官能基來達成。

【0125】 PEP可為直鏈或分支鏈。

【0126】 PEP可為甘胺酸及蘇胺酸之重複或隨機序列（GT-PEP），具有或不具有O連接醣基化。

【0127】 PEP化可為位點特異性PEP化。

【0128】 在一個實施方式中，TeNT或TeNT片段之表面絲胺酸殘基突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEP綴合。在此情形下，突變與取代，例如絲胺酸至半胱胺酸取代同義。此類突變或取代以任何組合包括以下中之一或多者：S81C；S120C；S144C；S248C；S335C；S428C；S600C；

S963C；S1041C；S1155C；及S1187C。

【0129】 異雙官能PEP之官能基包括順丁烯二醯亞胺、乙烯基碸、吡啶基二硫化物、胺、羧酸及NHS酯。

【0130】 在一個實施方式中，使用碳二亞胺-EDC及磺基-NHS用羧基-胺交聯將PEP綴合至TeNT。

【0131】 本發明亦設想包含綴合至TeNT之不同子域或片段的不同分子量PEP之PEP-TeNT。

【0132】 舉例而言，PEP可在4℃與25℃之間綴合或連接至本發明之TeNT，持續2與6小時之間。在一個實施方式中，PEP在室溫下綴合至TeNT持續6小時。

【0133】 在不希望受理論束縛的情況下，本發明之發明人設想PEP之免疫原性可能比PEG低，且可尤其適用於對PEG過敏之個體，且藉由例如將TeNT之溶解度維持在接近於TeNT之內源溶解度及/或最小化膜相互作用，PEP相比於PEG可能對TeNT活性損害較少。

脲鍵聯

【0134】 脲鍵聯可在PEG分子與TeNT之間或在掩蔽多肽與TeNT之間引入，其中PEG或多肽可綴合至例如TeNT中之離胺酸（例如胺基-聚乙二醇化、胺基-PEP化），半胱胺酸（例如硫醇-聚乙二醇化及橋接聚乙二醇化、硫醇-聚乙二醇化及橋接聚乙二醇化），組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺（例如*N*-醣基-PEP化），麩胺酸、麩醯胺酸（例如轉麩醯胺酸酶介導之PEP化）、絲胺酸（例如*O*-醣基-PEP化），蘇胺酸（例如*O*-醣基-PEP化），或酪胺酸殘基。脲可藉由以下引入：使異雙官能交聯劑，諸如丁二醯亞胺基6-肼基菸鹼醯胺丙酮肼（SANH）、6-肼基菸鹼酸丁二醯亞胺酯鹽酸鹽（Succinimidyl 6-hydraziniumnicotinate hydrochloride；SHNH）、N-(β-順丁烯二醯亞胺基丙酸)醯肼（N-(β-

maleimidopropionic acid) hydrazide；BMPH）、N-ε-順丁烯二醯亞胺基已酸醯肼（N-ε-maleimidocaproic acid hydrazide；EMCH）或N-κ-順丁烯二醯亞胺基十一酸醯肼（N-κ-maleimidoundecanoic acid hydrazide；KMUH）與TeNT上之表面離胺酸或半胱胺酸及PEG或肽上之醛基反應。可藉由將菸鹼醯胺基引入至TeNT上之表面離胺酸或半胱胺酸上及連接至PEG或肽上之羰基，藉由化學方法引入脲。聚乙二醇化之實例亦包括N端聚乙二醇化及C端聚乙二醇化。可藉由使醯肼與二醇-肽上之氧化碳水化合物的羰基反應，接著用異雙官能交聯劑將TeNT交聯至半胱胺酸殘基來引入脲。

醣肽

【0135】 肽可藉由在真核宿主系統中表現以醣肽形式產生，其中碳水化合物藉由N連接醣基化或O連接醣基化連接至肽。醣肽可作為掩蔽劑直接綴合至TeNT，例如綴合至TeNT中之離胺酸（例如胺基-聚乙二醇化、胺基-PEP化），半胱胺酸（例如硫醇-聚乙二醇化及橋接聚乙二醇化、硫醇-聚乙二醇化及橋接聚乙二醇化），組胺酸、精胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺（例如N-醣基-PEP化），麩胺酸、麩醯胺酸（例如轉麩醯胺酸酶介導之PEP化）、絲胺酸（例如O-醣基-PEP化），蘇胺酸（例如O-醣基-PEP化），或酪胺酸殘基。聚乙二醇化之實例亦包括N端聚乙二醇化及C端聚乙二醇化。醣蛋白之碳水化合物殘基可經氧化以引入羰基，羰基可用於將醣肽直接綴合至TeNT或在醣肽與TeNT之間引入pH不穩定連接子。

適應症

【0136】 如本文所用，「低張症（hypotonia）」係指可藉由抑制抑制性神經傳遞質，例如GABA或甘胺酸來治療的包含非自主肌無力之任何病症。因此，「低張症」包括繼發於降低之神經驅動或降低或不充分肌肉張力、強度或神經驅動之

其他原因及病狀的肌肉張力降低。因此，在一個實施方式中，低張症可為神經低張症。在一個實施方式中，低張症可為睡眠誘導之低張症，亦即相對於清醒時段期間之肌肉，相同肌肉在睡眠期間可為低張的。

【0137】 可用本發明之TeNT綴合物、組成物或方法治療之低張症病症包括阻塞性睡眠呼吸中止症、呼吸中止、打鼾、上瞼下垂、霍納氏症候群（Horner's syndrome）、肌肉萎縮、神經受損肌肉、肌萎縮性側索硬化（amyotrophic lateral sclerosis；ALS）、運動神經元疾病、任何肌病、多發性硬化症、重症肌無力、面部肌肉張力降低、可選地為瞼外翻、弛緩性麻痹或任何原因之任何骨骼或平滑肌無力、任何原因之呼吸肌無力，包括呼吸器後無力、外傷誘導之肌無力或由肌肉鬆弛、骨盆底肌肉鬆弛或無力或鼻或上呼吸道鬆弛引起的不良姿勢。

【0138】 可用本發明之TeNT綴合物、組成物或方法治療的其他病症包括肌肉萎縮或肌肉質量減少。

【0139】 在待根據本發明治療之病症本身並非低張症病症的情況下，藉由用本發明之TeNT治療增加肌肉張力可減輕病症之症狀。

【0140】 本文所描述之TeNT綴合物的美容應用可包括收緊腹肌、收緊胸肌、收緊臀大肌、收緊骨骼肌或治療由肌肉鬆弛引起的臉下垂。

【0141】 可用本發明之TeNT綴合物、根據本發明之組成物或方法治療的平滑肌、骨骼肌、組織或器官包括上食道、食道壁、食道括約肌、下食道括約肌、肛門括約肌、膀胱、膀胱括約肌、陰道括約肌、幽門括約肌、歐迪氏括約肌（sphincter of Oddi）、迴盲腸括約肌、骨盆底肌肉、前列腺、頜下腺、腮腺、舌下腺、口腔黏膜小唾液腺、聲帶褶、聲帶、喉部肌肉、面部肌肉、下頜肌肉、下頜提拉肌、咀嚼肌、頭皮肌肉、胸肌、背肌、上肢肌肉、前臂肌肉、下肢肌肉、手部肌肉、足部肌肉、胃壁肌肉、大腸壁肌肉、頸部肌肉、喉擴張肌、嚼肌、翼內肌、翼外肌、頦舌骨肌、核舌肌、鄂帆張肌、鄂帆提肌、莖突咽肌、莖突舌肌、

下頜舌骨肌、莖突舌骨肌、舌骨舌肌、二腹肌、胸鎖乳突肌、斜方肌、顳肌、環咽肌、子宮肌及子宮頸、胃神經分佈、鼻內黏膜、肺黏膜、皮膚、胸腺、骨、冠狀動脈、肺平滑肌及心肌。

【0142】 在一個實施方式中，可用本發明之TeNT綴合物治療喉偏癱、復發性喉神經病變或羅勒症候群（Roarer Syndrome）。可在馬科或犬科個體，尤其馬或狗中治療此等適應症。

【0143】 本文所描述之TeNT綴合物亦可用於增強肌肉張力、肌肉力量、肌肉癒合及/或運動表現。

組成物及投予

【0144】 本發明之組成物可為治療組成物或美容組成物。亦即，組成物可用於治療或美容目的。

【0145】 如本文所用，術語「治療組成物（therapeutic composition）」或「美容組成物（cosmetic composition）」係指包含如本文所描述之抑制或治療個體之低張症之TeNT的組成物。組成物已調配用於向個體投予。在一個實施方式中，組成物為無菌的。在一個實施方式中，組成物為無熱原的。組成物可包含醫藥學上可接受之載劑。較佳地，組成物根據優良實驗室操作（Good Laboratory Practice；GLP）或優良藥品製造規範（Good Manufacturing Practice；GMP）來製造。

【0146】 本發明之TeNT綴合物可以高達10 mg/kg或更高投予。本發明之TeNT綴合物可以以下投予：約1 fg/kg、約5 fg/kg、約10 fg/kg、約50 fg/kg、約100 fg/kg、約500 fg/kg、約1 pg/kg、約5 pg/kg、約10 pg/kg、約50 pg/kg、約100 pg/kg、約500 pg/kg、約1 ng/kg、約2 ng/kg、約3 ng/kg、約4 ng/kg、約5 ng/kg、約6 ng/kg、約7 ng/kg、約8 ng/kg、約9 ng/kg、約10 ng/kg、約11 ng/kg、約12 ng/kg、約13 ng/kg、約14 ng/kg、約15 ng/kg、約16 ng/kg、約17 ng/kg、約18 ng/kg、約19 ng/kg、約20

ng/kg、約30 ng/kg、約40 ng/kg、約50 ng/kg、約60 ng/kg、約70 ng/kg、約80 ng/kg、約90 ng/kg、約100 ng/kg、約200 ng/kg、約300 ng/kg、約400 ng/kg、約500 ng/kg、約600 ng/kg、約700 ng/kg、約800 ng/kg、約900 ng/kg、約1 μg/kg、約5 μg/kg、約10 μg/kg、約50 μg/kg、約100 μg/kg、約500 μg/kg、約1 mg/kg或約10 mg/kg。本發明之TeNT綴合物可在上列劑量中之任一者的任何範圍內投予。

【0147】 本發明之TeNT綴合物可以高達1000 IU/kg或更高投予。本發明之TeNT綴合物可以以下投予：約0.1 IU/kg、約0.2 IU/kg、約0.3 IU/kg、約0.4 IU/kg、約0.5 IU/kg、約0.6 IU/kg、約0.7 IU/kg、約0.8 IU/kg、約0.9 IU/kg、約1 IU/kg、約2 IU/kg、約3 IU/kg、約4 IU/kg、約5 IU/kg、約6 IU/kg、約7 IU/kg、約8 IU/kg、約9 IU/kg、約10 IU/kg、約11 IU/kg、約12 IU/kg、約13 IU/kg、約14 IU/kg、約15 IU/kg、約16 IU/kg、約17 IU/kg、約18 IU/kg、約19 IU/kg、約20 IU/kg、約30 IU/kg、約40 IU/kg、約50 IU/kg、約60 IU/kg、約70 IU/kg、約80 IU/kg、約90 IU/kg、約100 IU/kg、約200 IU/kg、約300 IU/kg、約400 IU/kg、約500 IU/kg、約600 IU/kg、約700 IU/kg、約800 IU/kg、約900 IU/kg、約1 000 IU/kg。本發明之TeNT綴合物可在上列劑量中之任一者的任何範圍內投予。

【0148】 在包含兩種TeNT綴合物之組成物中，例如一種組成物，其包含第一TeNT綴合物，其中TeNT-HC經聚乙二醇化（PEG-TeNT-HC），及第二TeNT綴合物，其中TeNT-LC經聚乙二醇化且TeNT-c經聚乙二醇化（PEG-TeNT-LC-c），第一TeNT綴合物與第二TeNT綴合物之比可變化。舉例而言，第一TeNT綴合物與第二TeNT綴合物之比可為約1000:1、約500:1、約100:1、約50:1、約10:1、約5:1、約4:1、約3:1、約2:1、約1:1；約1:2、約1:3、約1:4、約1:5、約1:10、約1:50、約1:100、約1:500或約1:1000。

【0149】 組成物可包含TeNT綴合物之任何組合且不限於PEG-TeNT-HC與PEG-TeNT-LC-c之組合。組成物可包含：PEG-TeNT-c及PEG-TeNT-HC；PEG-

TeNT-c及PEG-TeNT-LC-c；PEG-TeNT-c及PEG-TeNT-LC-HC；PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-HC；及PEG-TeNT-LC-c及PEG-TeNT-LC-HC。亦揭示一種組成物，其包含：PEG-TeNT-c、PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-c；PEG-TeNT-c、PEG-TeNT-HC及PEG-TeNT-LC-HC；PEG-TeNT-c、PEG-TeNT-LC-c及PEG-TeNT-LC-HC；PEG-TeNT-HC、PEG-TeNT-LC-c及PEG-TeNT-LC-HC；及PEG-TeNT-c、PEG-TeNT-HC、PEG-TeNT-LC-c及PEG-TeNT-LC-HC。在組成物中，任何TeNT可取代為以下且任何組成物可進一步包含以下：PEG-TeNT-LC、PEG-TeNT-LC-HN及/或PEG-TeNT-HN。

【0150】 組成物可包含：PEP-TeNT-c及PEP-TeNT-HC；PEP-TeNT-c及PEP-TeNT-LC-c；PEP-TeNT-c及PEP-TeNT-LC-HC；PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-HC；及PEP-TeNT-LC-c及PEP-TeNT-LC-HC。亦揭示一種組成物，其包含：PEP-TeNT-c、PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c；PEP-TeNT-c、PEP-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-HC；PEP-TeNT-c、PEP-TeNT-LC-c及PEP-TeNT-LC-HC；PEP-TeNT-HC、PEP-TeNT-LC-c及PEP-TeNT-LC-HC；及PEP-TeNT-c、PEP-TeNT-HC、PEP-TeNT-LC-c及PEP-TeNT-LC-HC。

【0151】 本發明之TeNT綴合物或組成物可每週投予一次、兩次或三次，每月投予一次、兩次或三次，每季度投予一次、兩次或三次，每6個月投予一次、兩次或三次或每年投予一次、兩次或三次。

【0152】 TeNT綴合物或組成物可以單次劑量、分次劑量或多次劑量投予。在肌肉成對存在時，PEG-TeNT可單側投予至對中之一個肌肉或雙側投予至對中之兩個肌肉。

【0153】 作為包含本發明之兩種或更多種PEG-TeNT之組成物的替代方案，此類兩種或更多種TeNT綴合物或其組成物可組合地依序或同時投予。

【0154】 TeNT綴合物或組成物可藉由任何適合之方法向個體局部投予，

例如藉由注射、手術植入、局部施用或鼻內投予。在一個實施方式中，藉由注射至患病肌肉肌內投予TeNT綴合物。

【0155】 TeNT綴合物或組成物將以與藥品優良臨床試驗規範（good medical practice）一致之方式調配、給藥及投予。在此情形下，考慮因素包括所治療之特定類型的低張症、所治療之特定個體、個體之臨床病狀、投予部位、投予方法、投予時程及醫學（包括牙科）從業者已知的其他因素。待投予之TeNT綴合物的治療有效量將由此類考慮因素來決定。

【0156】 如所屬技術領域中具有知識者已知，TeNT綴合物或組成物可以持續釋放調配物調配。

【0157】 醫藥學上可接受之載劑包括水、緩衝水、生理食鹽水溶液，例如標準生理食鹽水或平衡生理食鹽水溶液，諸如漢克氏（Hank's）或厄爾氏（Earle's）平衡溶液，甘胺酸及玻尿酸。

【0158】 TeNT綴合物或組成物可調配用於肌內投予。用於肌內投予之組成物可包含醫藥學上可接受之無菌水溶液或非水溶液、分散液、懸浮液或乳液以及用於復原成無菌可注射溶液或分散液之無菌散劑。適合之水性及非水性載劑、溶劑、稀釋劑或媒劑之實例包括水、乙醇、多元醇（諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇）、羧甲基纖維素及其混合物、植物油（諸如橄欖油）及可注射有機酯（例如油酸乙酯）。

【0159】 組成物可包含滲透增強劑以增強其TeNT遞送。滲透增強劑可包括脂肪酸，諸如油酸、月桂酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、reclineate、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、辛酸、花生四烯酸、1-單癸酸甘油酯、單及二甘油酯及其生理學上可接受之鹽。

【0160】 組成物可進一步包括螯合劑，例如乙二胺四乙酸（ethylenediaminetetraacetic acid；EDTA）、檸檬酸、水楊酸鹽（例如水楊酸鈉、

5-甲氧基水楊酸鹽、高香草酸鹽）。

【0161】 亦提供製品及/或套組，其包含容器，該容器包含PEG-TeNT或包含TeNT綴合物之組成物。容器可為包含可選地呈單位劑型之TeNT綴合物或組成物的瓶、小瓶或注射器。舉例而言，TeNT綴合物或組成物可呈拋棄式容器，可選地為注射器中之可注射溶液形式。製品及/或套組可進一步包含印刷說明書及/或標籤或其類似物，指示根據本文所揭示之方法治療個體。

【0162】 術語「治療有效量（therapeutically effective amount）」係指有效治療個體之低張症的TeNT綴合物量。

【0163】 術語「治療（treat/treating/treatment）」係指治療性治療及防治性或預防性措施，其中目的為預防、減弱或改善個體之低張症或減緩（減輕）個體之低張症的進展。需要治療之個體包括已患有低張症之個體以及待預防或改善低張症之個體。

【0164】 術語「預防（preventing/prevention）」、「預防性（preventative）」或「防治性（prophylactic）」係指阻止發生或阻礙、防禦或保護免於發生低張症。需要預防之個體可易於罹患低張症。

【0165】 術語「改善（ameliorate/amelioration）」係指減輕、減弱或消除低張症。

【0166】 低張症可定量。低張症可以半定量尺度定量，例如0至5，其中0表示不存在，1至4表示嚴重程度之可鑑別提高，且5表示最大嚴重程度。或者，低張症可定量為二元事件，亦即存在或不存在，0或1。其他半定量尺度對於所屬技術領域中具有知識者而言將顯而易見。在另一實施方式中，可以定量尺度，例如使用測力計定量低張症。

【0167】 低張症之任何定量可與對照組進行比較，對照組例如未接受PEG-TeNT之健康對照組受試者，接受低張症治療但未經TeNT綴合物治療之患病

對照組個體，或群體。

【0168】 藉由投予TeNT綴合物治療低張症可為低張症之約1%減輕、約2%減輕、約3%減輕、約4%減輕、約5%減輕、約6%減輕、約7%減輕、約8%減輕、約9%減輕、約10%減輕、約20%減輕、約30%減輕、約40%減輕、約50%減輕、約60%減輕、約70%減輕、約80%減輕、約90%減輕或約100%減輕。

【0169】 如本文所用，術語「個體（subject）」可指哺乳動物。哺乳動物可為靈長類動物，特定言之人類，或可為家畜、動物園動物或伴侶動物。儘管特別設想了本文所揭示之PEG-TeNT、組成物及方法適合於人類之醫療治療，但其亦適用於獸醫治療，包括治療諸如馬、牛及綿羊之家畜，諸如狗及貓之伴侶動物或諸如貓科動物、犬科動物、牛科動物及有蹄動物之動物園動物。

【0170】 除非在本說明書中另外定義，否則本文所用之技術及科學術語具有與本發明所屬技術領域中具有知識者且參考公開本文通常所理解相同之含義。

【0171】 應注意，術語「一（a/an）」係指一或多，例如「一TeNT」應理解為表示一或多個TeNT。因此，術語「一」、「一或多個（one or more）」及「至少一個（at least one）」在本文中可互換使用。

【0172】 在隨附申請專利範圍中及在本發明之描述中，除上下文由於表述語言或必要暗示而另有要求外，詞「包含（comprise）」或其諸如「包含（comprises/comprising）」之變形以包括性含義使用，亦即，指明存在所陳述特點，但並不排除在本發明之各種實施方式中存在或增加其他特點。

【0173】 如本文所用，術語「約（about）」涵蓋給定數±25%該數之量值的值範圍。在其他實施方式中，術語「約」涵蓋給定數±20%、±15%、±10%、±5%、±4%、±3%、±2%或±1%該數之量值的值範圍。舉例而言，在一個實施方式中，「約3公克」指示2.7公克至3.3公克（亦即3公克±10%）的值，及其類似者。

【0174】 類似地，事件之時間選擇或持續時間可改變至少25%。舉例而言，儘管特定事件可在一個實施方式中揭示為持續一天，但該事件可持續多於或少於一天。舉例而言，「一天」可包括約18小時至約30小時之時段。在其他實施方式中，時間段可改變該時間段之±20%、±15%、±10%、±5%、±4%、±3%、±2%或±1%。

實施例

實施例1-PEG-HZN-TeNT-c（圖1A）之製備

【0175】 在此實施例中，TeNT-c之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合，以產生圖1A之分子。突變將為：S963C、S1041C、S1155C及S1187C。

【0176】 具有表面絲胺酸至半胱胺酸取代S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的基因將由商業提供者，例如Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至pRSET-A表現載體中，使得來自載體之6×組胺酸標籤添加至突變蛋白之N端。

【0177】 包含S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT將根據實施例5表現、聚乙二醇化及純化以產生PEG-TeNT-c。

實施例2-PEG-HZN-TeNT-HC（圖1G）之製備

【0178】 在此實施例中，TeNT-HC之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合，以產生圖1G之分子。突變將為：S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C（圖24 SEQ ID NO: 16）。

【0179】 具有表面絲胺酸至半胱胺酸取代S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的基因將由商業提供者，例如Integrated DNA Technologies合成。

基因將藉由限制性消化次選殖至pRSET-A表現載體中（圖25 SEQ ID NO: 17，圖26），使得來自載體之6×組胺酸標籤添加至突變蛋白之N端。

【0180】 包含S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT將根據實施例5表現、聚乙二醇化及純化以產生PEG-TeNT-HC。

2.1-內毒素移除

【0181】 根據實施例4自TeNT-LC-c絲胺酸突變體移除內毒素。

2.2-PEG-HZN-順丁烯二醯亞胺之產生

【0182】 1. 在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下，將莫耳過量之BMPH、EMCH或KMUH與PEG為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之PEG-丙醛在PBS（pH 6.5-7.5）或10-100% DMF中合併。

【0183】 2. 連接將在4與37℃之間進行1與16小時之間。

2.3-PEG連接至半胱胺酸殘基

【0184】 1. 將莫耳過量之PEG為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之PEG-HZN-順丁烯二醯亞胺與絲胺酸突變TeNT-LC-c（0.5-2 mg/mL）在pH 6.5-7.5下在PBS或<10% DMF中合併。

【0185】 2. 連接在室溫下進行6小時。

【0186】 3. 藉由尺寸排阻層析移除過量PEG。

2.4-蛋白質之胰蛋白酶消化活化

【0187】 根據實施例4進行用於活化TeNT-LC-c絲胺酸突變體之胰蛋白酶消化。

實施例3-PEG-HZN-TeNT-LC-c（圖1H）之製備

【0188】 在此實施例中，LC及c之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合，以產生圖1H之分子。突變為：S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C（圖21 SEQ ID NO: 14）。

【0189】 在LC及c中具有表面絲胺酸至半胱胺酸取代S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的基因將由商業提供者，Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至pRSET-A表現載體中（圖22 SEQ ID NO: 15，圖23），使得來自載體之6×組胺酸標籤添加至突變蛋白之N端。

【0190】 包含S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT將根據實施例5表現、聚乙二醇化及純化，以產生PEG-TeNT-LC-c。

3.1-內毒素移除

【0191】 將根據實施例4自TeNT-LC-c絲胺酸突變體移除內毒素。

3.2-PEG-HZN-順丁烯二醯亞胺之產生

【0192】 1. 在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下，將莫耳過量之BMPH、EMCH或KMUH與PEG為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之PEG-丙醛在PBS（pH 6.5-7.5）或10-100% DMF中合併。

【0193】 2. 連接將在4℃與37℃之間進行1與16小時之間。

3.3-PEG連接至半胱胺酸殘基

【0194】 1. 莫耳過量之PEG為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之PEG-HZN-順丁烯二醯亞胺與絲胺酸突變TeNT-LC-c（0.5-2 mg/mL）將在pH 6.5-7.5下在PBS或<10% DMF中合併。

【0195】 2. 連接將在室溫下進行6小時。

【0196】 3. 將藉由尺寸排阻層析移除過量PEG。

3.4-蛋白質之胰蛋白酶消化活化

【0197】 將根據實施例4進行用於活化TeNT-LC-c絲胺酸突變體之胰蛋白酶消化。

實施例4-PEG-HZN-TeNT-LC-HC（圖1I）之製備（方法1）

4.1-TeNT之製備

【0198】 1. 將大腸桿菌BL21 DE3 pLysS菌株用pRSET-TeNT載體電轉型，且在37℃下在1 mL LB培養基中回收1小時。

【0199】 2. 將200 mL誘導前培養液用回收培養物接種。誘導前培養液pH 7.2-7.4包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；2%葡萄糖；0.4%甘油；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；及選擇抗生素（安比西林（ampicillin）及氯黴素）。

【0200】 3. 將培養物在30℃下在快速振盪下培育隔夜。

【0201】 4. 藉由以4000 *g*離心10分鐘收集隔夜培養物。

【0202】 5. 將沈澱再懸浮於200 mL表現培養液pH 7.2-7.4中，培養液包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；0.4%甘油；1 mM IPTG；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；100 μg/mL安比西林；及10 μM $ZnCl_2$。

【0203】 6. 將蛋白質在30℃下在快速振盪下表現6小時。

【0204】 7. 藉由以4500 *g*離心15 min收集細胞，且將沈澱在pH 8下再懸浮於30 mL含20 mM咪唑之TBS中。

【0205】 8. 藉由音波處理溶解細胞。

【0206】 9. 藉由以4500 *g*離心20 min澄清細胞溶解產物，且將其經由0.45 μm過濾器過濾。

【0207】 10. 使用AKTA pure 25 FPLC系統（GE），藉由His標籤親和層析純化蛋白質。

【0208】 11. 純化蛋白質使用尺寸排阻層析經歷緩衝液交換至PBS，接著使用AKTA pure 25 FPLC用Superdex 200 increase 10/300 GL管柱藉由凝膠過濾進行第二段純化。

4.2-內毒素移除

【0209】 1. 將0.5 ***mL***內毒素移除旋轉管柱平衡至室溫。

【0210】 2. 移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於15 mL管中，接著以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。丟棄溶液。

【0211】 3. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將含0.2 N NaOH之95%乙醇添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮，接著在室溫下培育1-2 h。

【0212】 4. 移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，管柱置於15 mL管中，接著以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。丟棄溶液。

【0213】 5. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將無內毒素之2 M NaCl添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0214】 6. 移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於15 mL管中，接著以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。丟棄溶液。

【0215】 7. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將無內毒素超純水添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0216】 8. 移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於15 mL管中，且以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。丟棄溶液。

【0217】 9. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將無內毒素磷酸鹽緩衝液添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0218】 10. 移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，管柱置於15 mL管中，且以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。丟棄溶液。

【0219】 11. 將管柱用磷酸鹽緩衝液再沖洗兩次，且丟棄洗出液。

【0220】 12. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將樣品施加至樹脂，將管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0221】 13. 將管柱在4℃下底蓋翻轉混合培育至少1 h。

【0222】 14. 移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於無內毒素15 mL管中，且以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。保留樣品。

【0223】 15. 用再生旋轉管柱重複內毒素移除程序，直至樣品中內毒素水準處於等效或更低水準下，使得所有劑量將含有每公斤個體少於5 EU單位內毒素。

4.2-mPEG-HZN-NHS之產生

【0224】 1. 在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下，將莫耳過量之SANH或SHNH與PEG為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之PEG-丙醛在PBS（pH 6.5-7.5）或10-100% DMF中合併。

【0225】 2. 連接在4℃與37℃之間進行1與16小時之間。

4.3-PEG-HZN-TeNT-LC-HC之製備

【0226】 1. 在500 µL PBS pH 7或10% DMF總體積中，將3 µmol純化TeNT及0.5 mmol mpeg-HZN-NHS與2 kDa、5 kDa、10 kDa、20 kDa或30 kDa PEG之一者合併。

【0227】 2. 將樣品在室溫下混合3小時。

【0228】 3. 藉由尺寸排阻層析移除過量PEG。

4.4-胰蛋白酶將蛋白質消化成活性形式

【0229】 1. 將1 mg蛋白質溶解於0.5 mL消化緩衝液中，該緩衝液包含0.1 M NH_4HCO_3緩衝液，pH 8.0或0.1 M Tris緩衝液pH 8.5。

【0230】 2. 將0.10 mL至0.25 mL固定化TPCK胰蛋白酶用3×500 µL消化緩衝液洗滌。每次洗滌之後藉由離心將凝膠與緩衝液分離。

【0231】 3. 使凝膠再懸浮於約0.2 mL消化緩衝液中。

【0232】 4. 將固定化TPCK胰蛋白酶添加至蛋白質樣品中。

【0233】 5. 將反應混合物在快速振盪培育箱中在37℃下培育2小時至18小時。

【0234】 6. 藉由離心分離固定化TPCK胰蛋白酶。

實施例5-PEG-HZN-TeNT-LC-HC（圖1I）之製備（方法2）

【0235】 在此實施例中，將TeNT-LC-HC之表面絲胺酸殘基突變為表面半胱胺酸殘基（S至C突變體）以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合。TeNT突變為：S81C；S120C；S144C；S248C；S335C；S428C；S600C；S963C；S1041C；S1155C；及S1187C，相對於SEQ ID NO: 1。

5.1-絲胺酸突變TeNT-LC-HC之製備

【0236】 將大腸桿菌BL21（DE3）p*LysS*菌株用編碼包含S至C突變之圖11之胺基酸序列（SEQ ID NO: 6）的載體pRSET-TeNT SC（圖12及13）電轉型。根據實施例4表現及純化包含S至C突變之TeNT-LC-HC，其中在步驟10與11之間添加藉由0.5 mM DTT處理15分鐘。

5.2-內毒素移除

【0237】 根據實施例4自TeNT-LC-HC絲胺酸突變體移除內毒素。

5.3-PEG連接至半胱胺酸殘基

【0238】 1. 莫耳過量之PEG為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之PEG-HZN-順丁烯二醯亞胺與絲胺酸突變TeNT-LC-HC（0.5-2 mg/mL）將在pH 6.5-7.5下在PBS中合併。

【0239】 2. 連接將在室溫下進行2-16小時。

【0240】 3. 將藉由尺寸排阻層析移除過量PEG。

5.4-蛋白質之胰蛋白酶消化活化

【0241】 將根據**實施**例4進行用於活化TeNT-LC-HC絲胺酸突變體之胰蛋白酶消化。

實施例6 mPEG-HZN-NHS之合成

【0242】 在此實施例中，將各種大小（例如2 kDa、5 kDa、10 kDa、20 kDa或30 kDa）之甲氧基-聚乙二醇經由pH不穩定腙鍵聯連接至磺基-NHS基團。將mPEG-丙醛與莫耳過量之SANH或SHNH交聯劑在PBS、DMF或DMSO中合併。

在室溫下在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下進行連接2-16小時。未反應之交聯劑可藉由與1/10莫耳苯甲氧基苯甲醛在室溫下一起培育4-8小時來移除。

實施例7 mPEG-HZN-順丁烯二醯亞胺之合成

【0243】 在此實施例中，將各種大小（例如2 kDa、5 kDa、10 kDa、20 kDa或30 kDa）之甲氧基-聚乙二醇經由pH不穩定腙鍵聯連接至順丁烯二醯亞胺基。將mPEG-丙醛與n莫耳過量之N-β-順丁烯二醯亞胺基丙酸醯肼（BMPH）EMCH或KMUH交聯劑在DMF、DMSO或PBS中合併。在室溫下在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下進行連接1-16小時。

實施例8-PEP-TeNT-c（圖1F）之製備

【0244】 在此實施例中，TeNT-c之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向GT-PEP綴合，以產生圖1F之分子。突變將為：S963C、S1041C、S1155C及S1187C。

【0245】 具有表面絲胺酸至半胱胺酸取代S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的基因將由商業提供者，例如Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至pRSET-A表現載體中，使得來自載體之6×組胺酸標籤添加至突變蛋白之N端。

【0246】 包含S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT將根據實施例11表現、GT-PEP化及純化以產生PEP-TeNT-c。

實施例9-PEP-TeNT-HC（圖1B）之製備

【0247】 在此實施例中，TeNT-HC之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合，以產生圖1B之分子。突變

將為：S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C（圖24 SEQ ID NO: 16）。

【0248】 具有表面絲胺酸至半胱胺酸取代S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的基因將由商業提供者，例如Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至pRSET-A表現載體中（圖25 SEQ ID NO: 17，圖26），使得來自載體之6×組胺酸標籤添加至突變蛋白之N端。

【0249】 包含S600C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT將根據實施例11表現、GT-PEP化及純化以產生PEP-TeNT-HC。

實施例10-PEP-TeNT-LC-c（圖1C）之製備

【0250】 在此實施例中，LC及c之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基以促進免疫原性抗原決定基處之定向PEG綴合，以產生圖1C之分子。突變為：S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C（圖21 SEQ ID NO: 14）。

【0251】 在LC及c中具有表面絲胺酸至半胱胺酸取代S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT的基因將由商業提供者，Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至pRSET-A表現載體中（圖22 SEQ ID NO: 15，圖23），使得來自載體之6×組胺酸標籤添加至突變蛋白之N端。

【0252】 包含S81C、S120C、S144C、S248C、S335C、S428C、S963C、S1041C、S1155C及S1187C之TeNT將根據實施例11表現、GT-PEP化及純化，以產生PEP-TeNT-LC-c。

10.1-內毒素移除

【0253】 將根據實施例4自TeNT-LC-c絲胺酸突變體移除內毒素。

實施例11-PEP-TeNT-LC-HC（圖1E）之製備（方法1）

11.1-TeNT之製備

【0254】 1. 將大腸桿菌BL21 DE3 pLysS菌株用pRSET-TeNT（SEQ ID 2（圖7）載體電轉型，且在37℃下在1 mL LB培養基中回收1小時。

【0255】 2. 將用回收培養物接種200 mL誘導前培養液。誘導前培養液pH 7.2-7.4包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；2%葡萄糖；0.4%甘油；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；及選擇抗生素（安比西林及氯黴素）。

【0256】 3. 培養物將在30℃下在快速振盪下培育隔夜。

【0257】 4. 將藉由以4000 *g*離心10分鐘收集隔夜培養物。

【0258】 5. 沈澱將再懸浮於200 mL表現培養液pH 7.2-7.4中，培養液包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；0.4%甘油；1 mM IPTG；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；100 μg/mL安比西林；及10 μM $ZnCl_2$。

【0259】 6. 蛋白質將在30℃下在快速振盪下表現6小時。

【0260】 7. 將藉由以4500 *g*離心15 min收集細胞，且將沈澱在pH 8下再懸浮於30 mL含20 mM咪唑之TBS中。

【0261】 8. 將藉由音波處理溶解細胞。

【0262】 9. 將藉由以4500 *g*離心20 min澄清細胞溶解產物，且將其經由0.45 μm過濾器過濾。

【0263】 10. 將使用AKTA pure 25 FPLC系統（GE），藉由His標籤親和層析純化蛋白質。

【0264】 11. 純化蛋白質將使用尺寸排阻層析經歷緩衝液交換至PBS，接著使用AKTA pure 25 FPLC用Superdex 200 increase 10/300 GL管柱藉由凝膠過濾進行第二段純化。

11.2-內毒素移除

【0265】 1. 0.5 mL內毒素移除旋轉管柱將平衡至室溫。

【0266】 2. 將移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於15 mL管中，接著以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。將丟棄溶液。

【0267】 3. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將含0.2 N NaOH之95%乙醇添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮，接著在室溫下培育1-2 h。

【0268】 4. 將移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，管柱置於15 mL管中，接著以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。將丟棄溶液。

【0269】 5. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將無內毒素之2 M NaCl添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0270】 6. 將移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於15 mL管中，接著以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。將丟棄溶液。

【0271】 7. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將無內毒素超純水添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0272】 8. 將移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於15 mL管中，且以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。將丟棄溶液。

【0273】 9. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將無內毒素磷酸鹽緩衝液添加至樹脂中，將管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0274】 10. 將移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，管柱置於15 mL管中，且以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。將丟棄溶液。

【0275】 11. 將用磷酸鹽緩衝液再沖洗管柱兩次，且丟棄洗出液。

【0276】 12. 將管柱底塞放回原處，移除管柱蓋，將樣品施加至樹脂，將

管柱蓋放回原處，且倒轉管柱數次以使樹脂再懸浮。

【0277】 13. 管柱將在4℃下底蓋翻轉混合培育至少1 h。

【0278】 14. 將移除管柱底塞，鬆開管柱蓋，將管柱置放於無內毒素15 mL管中，且以500 *g*離心1分鐘以自管柱移除溶液。將保留樣品。

【0279】 15. 將用再生旋轉管柱重複內毒素移除程序，直至樣品中內毒素水準處於等效或更低水準下，使得所有劑量將含有每公斤個體少於5 EU單位內毒素。

11.3-方法1

【0280】 在此實施例中，GT-PEP-NHS將連接至TeNT表面上離胺酸殘基上之一級胺基上，以產生來自圖圖1D之分子。

【0281】 1. 莫耳過量之PEP為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之GT-PEP-NHS將與絲胺酸突變TeNT-LC-c（0.5-2 mg/mL）將在pH 6.5-7.5下在PBS中合併。

【0282】 2. 連接將在室溫下進行6小時。

【0283】 3. 將藉由尺寸排阻層析移除過量PEG。

11.4-蛋白質之胰蛋白酶消化活化

【0284】 將根據實施例4進行用於活化PEP-TeNT-LC-HC絲胺酸突變體之胰蛋白酶消化。

11.5-胰蛋白酶將蛋白質消化成活性形式

【0285】 1. 將1 mg蛋白質溶解於0.5 mL消化緩衝液中，該緩衝液包含0.1 M NH_4HCO_3緩衝液，pH 8.0或0.1 M Tris緩衝液pH 8.5。

【0286】 2. 將0.10 mL至0.25 mL固定化TPCK胰蛋白酶用3×500 μL消化緩衝液洗滌。每次洗滌之後藉由離心將凝膠與緩衝液分離。

【0287】 3. 將使凝膠再懸浮於約0.2 mL消化緩衝液中。

【0288】 4. 將固定化TPCK胰蛋白酶添加至蛋白質樣品中。

【0289】 5. 將反應混合物在快速振盪培育箱中在37℃下培育2小時至18小時。

【0290】 6. 將藉由離心分離固定化TPCK胰蛋白酶。

11.6-方法2

【0291】 在此實施例中，TeNT-LC-HC之表面絲胺酸殘基將突變為表面半胱胺酸殘基（S至C突變體），以促進免疫原性抗原決定基處之定向GT-PEP綴合且產生圖圖1D之分子。TeNT突變為：S81C；S120C；S144C；S248C；S335C；S428C；S600C；S963C；S1041C；S1155C；及S1187C，相對於SEQ ID NO: 1。

【0292】 1. 莫耳過量之PEP為約2 kDa、約5 kDa、約10 kDa或約20 kDa之GT-PEP-順丁烯二醯亞胺將與絲胺酸突變TeNT-LC-c（0.5-2 mg/mL）將在pH 6.5-7.5下在PBS中合併。

【0293】 2. 連接將在室溫下進行6小時。

【0294】 3. 將藉由尺寸排阻層析移除過量PEG。

11.7-蛋白質之胰蛋白酶消化活化

【0295】 將根據實施例4進行用於活化TeNT-LC-c絲胺酸突變體之胰蛋白酶消化。

11.8-胰蛋白酶將蛋白質消化成活性形式

【0296】 1. 將1 mg蛋白質溶解於0.5 mL消化緩衝液中，該緩衝液包含0.1 M NH_4HCO_3緩衝液，pH 8.0或0.1 M Tris緩衝液pH 8.5。

【0297】 2. 將0.10 mL至0.25 mL固定化TPCK胰蛋白酶用3×500 μL消化緩衝液洗滌。每次洗滌之後藉由離心將凝膠與緩衝液分離。

【0298】 3. 將使凝膠再懸浮於約0.2 mL消化緩衝液中。

【0299】 4. 將固定化TPCK胰蛋白酶添加至蛋白質樣品中。

【0300】 5. 將反應混合物在快速振盪培育箱中在37℃下培育2小時至18小時。

【0301】 6. 將藉由離心分離固定化TPCK胰蛋白酶。

實施例12-GT-PEP-NHS之合成

【0302】 1. 大致2 kDa至30 kDa之GT-肽的基因有將由商業提供者，Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至兩個表現載體中，使得來自載體之6×組胺酸標籤將或將不添加至突變蛋白之N端。

【0303】 2. 將大腸桿菌BL21 DE3 pLysS菌株用GT-肽載體電轉型，且在37℃下在1 mL LB培養基中回收1小時。

【0304】 3. 將用回收培養物接種200 mL誘導前培養液。誘導前培養液pH 7.2-7.4將包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；2%葡萄糖；0.4%甘油；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；及選擇抗生素（安比西林及氯黴素）。

【0305】 4. 培養物將在30℃下在快速振盪下培育隔夜。

【0306】 5. 將藉由以4000 *g*離心10分鐘收集隔夜培養物。

【0307】 6. 沈澱將再懸浮於200 mL表現培養液pH 7.2-7.4中，培養液包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；0.4%甘油；1 mM IPTG；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；100 μg/mL安比西林。

【0308】 6. 蛋白質將在30℃下在快速振盪下表現6小時。

【0309】 7. 將藉由以4500 *g*離心15 min收集細胞，且將沈澱在pH 8下再懸浮於30 mL含20 mM咪唑之TBS中。

【0310】 8. 將藉由音波處理溶解細胞。

【0311】 9. 將藉由以4500 *g*離心20 min澄清細胞溶解產物，且將其經由0.45 μm過濾器過濾。

【0312】 10. 將使用AKTA pure 25 FPLC系統（GE），藉由His標籤親和層析純化蛋白質。或藉由硫酸銨沈澱進行。

【0313】 11. 純化蛋白質將藉由尺寸排阻層析經歷緩衝液交換及濃縮至PBS。

【0314】 12. 磺基NHS酯將藉由與莫耳過量之1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺（1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide；EDC）及磺基-(N-羥基磺基丁二醯亞胺)（N-Hydroxysulfosuccinimide；NHS）在室溫下在PBS中一起培育2至8小時連接至GT-肽之羧基端。

【0315】 13. 過量EDC及磺基HNS將藉由透析、去鹽或緩衝液交換移除。

實施例13-GT-PEP-順丁烯二醯亞胺之合成

【0316】 1. 大致2 kDa至30 kDa之GT-肽的基因有將由商業提供者，Integrated DNA Technologies合成。基因將藉由限制性消化次選殖至兩個表現載體中，使得來自載體之6×組胺酸標籤將或將不添加至突變蛋白之N端。

【0317】 2. 將大腸桿菌BL21 DE3 pLysS菌株用GT-肽載體電轉型，且在37℃下在1 mL LB培養基中回收1小時。

【0318】 3. 將用回收培養物接種200 mL誘導前培養液。誘導前培養液pH 7.2-7.4將包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；2%葡萄糖；0.4%甘油；17 mM

KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；及選擇抗生素（安比西林及氯黴素）。

【0319】 4. 培養物將在30℃下在快速振盪下培育隔夜。

【0320】 5. 將藉由以4000 *g*離心10分鐘收集隔夜培養物。

【0321】 6. 沈澱將再懸浮於200 mL表現培養液pH 7.2-7.4中，培養液包含：1.2%胰化蛋白；2.4%酵母提取物；0.4%甘油；1 mM IPTG；17 mM KH_2PO_4；72 mM K_2HPO_4；100 μg/mL安比西林。

【0322】 6. 蛋白質將在30℃下在快速振盪下表現6小時。

【0323】 7. 將藉由以4500 *g*離心15 min收集細胞，且將沈澱在pH 8下再懸浮於30 mL含20 mM咪唑之TBS中。

【0324】 8. 將藉由音波處理溶解細胞。

【0325】 9. 將藉由以4500 *g*離心20 min澄清細胞溶解產物，且將其經由0.45 μm過濾器過濾。

【0326】 10. 將使用AKTA pure 25 FPLC系統（GE），藉由His標籤親和層析純化蛋白質。或藉由硫酸銨沈澱進行。

【0327】 11. 純化蛋白質將藉由尺寸排阻層析經歷緩衝液交換及濃縮至PBS。

【0328】 12. 順丁烯二醯亞胺基將藉由與莫耳過量之4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸磺基丁二醯亞胺酯（sulfosuccinimidyl 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate；磺基-SMCC）在室溫下在PBS中一起培育2至8小時連接至GT-肽之胺基端。

【0329】 13. 過量磺基-SMCC將藉由透析、去鹽或緩衝液交換移除。

實施例14醣基GT-HZN-PEP-NHS之合成

14.1醣基GT肽之產生

【0330】 1. 將**編碼**甘胺酸及蘇胺酸之重複或隨機序列的基因商業合成，且選殖至酵母或哺乳動物表現載體中。

【0331】 2. 將在醣基化酵母菌株，諸如啤酒酵母(sacharomyces cerivisie)或哺乳動物細胞系，諸如中國倉鼠卵巢中表現肽。

【0332】 3. 將藉由層析法，諸如陰離子交換及尺寸排阻純化肽。

14.2將醛基添加至醣基-肽

【0333】 為了確保醛基存在於碳水化合物殘基上，GT-醣肽將由甘胺酸或麩胱甘肽氧化。

14.3 Gly-HZN-NHS之合成

【0334】 1. 醣基GT-PEP將經由pH不穩定腙鍵聯連接至NHS酯。

【0335】 2. 醣基GT-PEP將與n莫耳過量之SHNH或SANH交聯劑在DMF、DMSO或PBS中合併。

【0336】 3. 將在室溫下在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下進行連接1-16小時。

實施例15醣基GT-HZN-PEP-順丁烯二醯亞胺之合成

15.1醣基GT肽之產生

【0337】 1. 將編碼甘胺酸及蘇胺酸之重複或隨機序列的基因商業合成，且選殖至酵母或哺乳動物表現載體中。

【0338】 2. 將在醣基化酵母菌株，諸如啤酒酵母或哺乳動物細胞系，諸如中國倉鼠卵巢中表現肽。

【0339】 3. 將藉由層析法，諸如陰離子交換及尺寸排阻純化肽。

15.2將醛基添加至醣基-肽

【0340】 為了確保醛基存在於碳水化合物殘基上，GT-醣肽將由甘胺酸或麩胱甘肽氧化。

15.3 Gly-HZN-順丁烯二醯亞胺之合成

【0341】 1. 醣基GT-PEP將經由pH不穩定腙鍵聯連接至順丁烯二醯亞胺基。

【0342】 2. 醣基GT-PEP將與n莫耳過量之N-β-順丁烯二醯亞胺基丙酸醯肼（BMPH）、3,3'-N-[ε-順丁烯二醯亞胺基己酸]醯肼（EMCH）或N-κ-順丁烯二醯亞胺基十一酸醯肼（KMUH）交聯劑在DMF、DMSO或PBS中合併。

【0343】 3. 將在室溫下在常態大氣、氮氣氛圍或氬氣氛圍下進行連接1-16小時。

實施例16-PEG-HZN-TeNT分析

【0344】 TeNT根據實施例4製備且聚乙二醇化，接著藉由SDS-PAGE分析（圖27），且（A）使用考馬斯藍（Coomassie blue）及（B）使用多株抗TeNT抗體藉由蛋白質印跡偵測。圖27（B）顯示抗體結合親和力與PEG分子量成比例。

實施例17-PEG-HZN-TeNT相對於TeNT降低之免疫原性

【0345】 將根據實施例4製備且聚乙二醇化四種各自包含不同分子量PEG（2 kDa、5 kDa、10 kDa及20 kDa）之PEG-HZN-TeNT。接著藉由針對TeNT之競爭性ELISA分析PEG-TeNT。

【0346】 在第一分析（圖29A）中，TeNT將吸附至ELISA盤。接著將用與

四種濃度（10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL及0.01 μg/mL）之四種PEG-TeNT抗原（2 kDa、5 kDa、10 kDa及20 kDa）中之各者一起預培育的多株抗TeNT抗體探測吸附的TeNT。在此分析中，較高反應（OD 450 nm）指示對TeNT之較大親和力，且因此對PEG-TeNT之降低的免疫原性。

【0347】 在第二分析（圖29B）中，各PEG-TeNT將吸附至獨立ELISA盤。接著將用與四種濃度（10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL及0.01 μg/mL）TeNT抗原中之各者一起預培育的多株抗TeNT抗體探測各吸附的PEG-TeNT（2 kDa、5 kDa、10 kDa及20 kDa）。在此分析中，較低反應（OD 450 nm）指示對TeNT之較大親和力，且因此對PEG-TeNT之降低的免疫原性。

【0348】 此實施例將顯示抗TeNT抗體優先結合至TeNT，且聚乙二醇化TeNT相對於TeNT（亦即非聚乙二醇化）具有降低之免疫原性。

實施例18-PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體相對於TeNT-LC-c絲胺酸突變體降低之免疫原性

【0349】 將根據實施例4製備TeNT-LC-c絲胺酸突變體。根據實施例4使四種TeNT-LC-c絲胺酸突變體聚乙二醇化，各樣品包含不同分子量PEG（2 kDa、5 kDa、10 kDa及20 kDa）。將藉由針對TeNT-LC-c絲胺酸突變體之競爭性ELISA分析PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體。

【0350】 在第一分析中，TeNT-LC-c絲胺酸突變體將吸附至ELISA盤。接著將用與四種濃度（10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL及0.01 μg/mL）之四種PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體抗原（2 kDa、5 kDa、10 kDa及20 kDa）中之各者一起預培育的多株抗TeNT抗體探測吸附的TeNT絲胺酸突變體。在此分析中，較高反應（OD 450 nm）指示對TeNT-LC-c絲胺酸突變體之較大親和力，且因此對PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體之降低的免疫原性。

【0351】 在第二分析中，各PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體將吸附至獨立ELISA盤。接著將用與四種濃度（10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL及0.01 μg/mL）之TeNT-LC-c絲胺酸突變體抗原中之各者一起預培育的多株抗TeNT抗體探測各吸附的PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體（2 kDa、5 kDa、10 kDa及20 kDa）。在此分析中，較低反應（OD 450 nm）指示對TeNT-LC-c絲胺酸突變體之較大親和力，且因此對PEG-HZN-TeNT-LC-c絲胺酸突變體之降低的免疫原性。

【0352】 此實施例將顯示抗TeNT抗體優先結合至TeNT-LC-c絲胺酸突變體，且PEG-HZNTeNT-LC-c絲胺酸突變體相對於TeNT-LC-c絲胺酸突變體（亦即非聚乙二醇化）具有降低之免疫原性。

實施例19-PEG-HZN-TeNT相對於TeNT降低之免疫原性

【0353】 將根據實施例9進行競爭性ELISA分析，其例外之處在於多株抗體將由自已在先前12個月內接受追加破傷風類毒素疫苗接種之一或多個個體收集的人類血清置換。血清中之抗體將顯示相對於PEG-HZN-TeNT，對TeNT（亦即非聚乙二醇化TeNT）之親和力較高。

實施例20-活體內模型

【0354】 將根據實施例4將PEG（約2 kDa、5 kDa、約10 kDa或約20 kDa）連接至重組TeNT之表面暴露離胺酸殘基來製備PEG-HZN-TeNT-LC-HC。

【0355】 將含一或多個單位PEG-HZN-TeNT-LC-HC之15 μL PBS注射至雌性C57BL/6小鼠之後肢中。各動物在注射48小時內展現局部肢體抽搐。

實施例21-活體內模型

【0356】 將根據實施例11藉由將GT肽（約2 kDa、5 kDa、約10 kDa或約20

kDa）連接至重組TeNT或重組TeNT絲胺酸突變體之表面暴露離胺酸或半胱胺酸殘基來製備PEP-TeNT-LC-HC。

【0357】 將含一或多個單位PEP-TeNT-LC-HC之15 μL PBS注射至雌性C57BL/6小鼠之後肢中。各動物將在注射48小時內展現局部肢體抽搐。

實施例22

【0358】 包含2 kDa、5 kDa、10 kDa或20 kDa PEG之PEG-HZN-TeNT-LC-HC將以50-500 000 ng/kg肌內投予至先前經破傷風類毒素致免疫之小鼠的後腿肌肉。將在經注射肌肉中觀測到增加的肌肉收縮至多3天，且將大於在投予相同單位TeNT之小鼠中觀測到的效果。

實施例23

【0359】 包含2 kDa、5 kDa、10 kDa或20 kDa PEP之PEP-TeNT-LC-HC將以50-500 000 ng/kg肌內投予至先前經破傷風類毒素致免疫之小鼠的後腿肌肉。將在經注射肌肉中觀測到增加的肌肉收縮至多3天，且將大於在投予相同單位TeNT之小鼠中觀測到的效果。

實施例24

【0360】 包含2 kDa、5 kDa、10 kDa或20 kDa PEP之PEP-HZN-TeNT-LC-HC將以50-500 000 ng/kg肌內投予至先前經破傷風類毒素致免疫之小鼠的後腿肌肉。將在經注射肌肉中觀測到增加的肌肉收縮至多3天，且將大於在投予相同單位TeNT或PEP-TeNT-LC-HC之小鼠中觀測到的效果。

實施例25

【0361】 包含2 kDa、5 kDa、10 kDa或20 kDa PEG之醣基PEG-HZN-TeNT-LC-HC將以50-500 000 ng/kg肌內投予至先前經破傷風類毒素致免疫之小鼠的後腿肌肉。將在經注射肌肉中觀測到增加的肌肉收縮至多3天，且將大於在投予相同單位TeNT或PEP-TeNT-LC-HC之小鼠中觀測到的效果。

實施例26

【0362】 大致30 kg之英國鬥犬（bulldog）將肌內投予25-50 000 ng/kg包含20 kDa PEG之PEG-HZN-TeNT-c，其中劑量雙側分至左及右頦舌骨肌。在投予後，與經單獨媒劑處理之動物相比，經PEG-HZN-TeNT處理之動物的阻塞性睡眠呼吸中止症（obstructive sleep apnoea；OSA）將減少。將每週觀測一次英國鬥犬之OSA，且將按需要重複PEG-HZN-TeNT-c劑量，直至功效降低，如藉由與經單獨媒劑處理之動物相當的OSA返回判定。

【0363】 其後，英國鬥犬將投予25-50 000 ng/kg PEG-HZN-TeNT-HC或25-50 000 ng/kg PEG-HZN-TeNT-LC-c，各自包含20 kDa PEG，雙側分至左及右頦舌骨肌。在投予後，與經單獨媒劑處理之動物相比，經PEG-HZN-TeNT處理之動物的OSA將減少。將每週觀測一次英國鬥犬之OSA，且將按需要重複PEG-HZN-TeNT-HC及PEG-HZN-TeNT-LC-c劑量，直至功效降低，如藉由與經單獨媒劑處理之動物相當的OSA返回判定。

【0364】 其後，英國鬥犬將投予25-50 000 ng/kg PEG-HZN-TeNT-LC-HC，包含20 kDa PEG，雙側分至左及右頦舌骨肌。在投予後，與經單獨媒劑處理之動物相比，經PEG-HZN-TeNT處理之動物的OSA將減少。將每週觀測一次英國鬥犬之OSA，且將按需要重複PEG-HZN-TeNT-LC-HC劑量，直至功效降低，如藉由與經單獨媒劑處理之動物相當的OSA返回判定。

實施例27

【0365】 大致30 kg之英國鬥犬將肌內投予25-50 000 ng/kg包含20 kDa PEP之PEP-TeNT-c或PEP-HZN-TeNT-c，其中劑量雙側分至左及右頦舌骨肌。在投予後，與經單獨媒劑處理之動物相比，經PEP-TeNT或PEP-HZN-TeNT處理之動物的阻塞性睡眠呼吸中止症（OSA）將減少。將每週觀測一次英國鬥犬之OSA，且將按需要重複PEG-HZN-TeNT-c劑量，直至功效降低，如藉由與經單獨媒劑處理之動物相當的OSA返回判定。

【0366】 其後，英國鬥犬將投予25-50 000 ng/kg PEP-TeNT-HC或PEP-HZN-TeNT-HC或25-50 000 ng/kg PEP-TeNT-LC-c或PEP-HZN-TeNT-LC-c，各自包含20 kDa PEP，雙側分至左及右頦舌骨肌。在投予後，與經單獨媒劑處理之動物相比，經PEP-TeNT或PEP-HZN-TeNT處理之動物的OSA將減少。將每週觀測一次英國鬥犬之OSA，且將按需要重複PEP-TeNT-HC或PEP-HZN-TeNT-HC及PEP-TeNT-LC-c或PEP-HZN-TeNT-LC-c劑量，直至功效降低，如藉由與經單獨媒劑處理之動物相當的OSA返回判定。

【0367】 其後，英國鬥犬將投予25-50 000 ng/kg PEP -TeNT-LC-HC或PEP-HZN-TeNT-LC-HC，包含20 kDa PEP，雙側分至左及右頦舌骨肌。在投予後，與經單獨媒劑處理之動物相比，經PEP-TeNT或PEP-HZN-TeNT處理之動物的OSA將減少。將每週觀測一次英國鬥犬之OSA，且將按需要重複PEP-TeNT-LC-HC或PEP-HZN-TeNT-LC-HC劑量，直至功效降低，如藉由與經單獨媒劑處理之動物相當的OSA返回判定。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 澳大利亞商斯諾雷托克斯私人有限公司（Snoretox Pty Ltd）

<120> 組成物與方法

<130> P112158.PCT

<140> 110103854
<141> 2021-02-02

<150> AU 2020900283
<151> 2020-02-03

<160> 14

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1314
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 1

```
Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn Asp
1               5                  10                  15


Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
            20                  25                  30


Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu Arg
        35                  40                  45


Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser Leu
    50                  55                  60


Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr Asp
65                  70                  75                  80


Ser Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn Arg
                85                  90                  95
```

Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile Asn
100 105 110

Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe Asp
115 120 125

Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro Ser
130 135 140

Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly
145 150 155 160

Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu Arg
165 170 175

Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser Ile
180 185 190

Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn Val
195 200 205

Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Gln
210 215 220

Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly
225 230 235 240

Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Ser His Glu Ile Ile Pro Ser Lys Gln
245 250 255

Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu Phe
260 265 270

Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys Asn
275 280 285

Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn Lys
290 295 300

Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Ser Asn
325 330 335

Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn Ser
340 345 350

Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn Ile
355 360 365

Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys Ile
370 375 380

Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met Arg
405 410 415

Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Ser Gly Leu Val Ser
420 425 430

Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg
435 440 445

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

Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys
465 470 475 480

Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn
485 490 495

Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile
500 505 510

Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg Thr
515 520 525

Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn
530 535 540

Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr
545 550 555 560

Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr
565 570 575

Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr
580 585 590

Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly
595 600 605

Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn
610 615 620

Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr
625 630 635 640

Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr
645 650 655

Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu
660 665 670

Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser
675 680 685

Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp
690 695 700

```
Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu
705                 710                 715                 720

Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg
                725                 730                 735

Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys
            740                 745                 750

Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu
        755                 760                 765

Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys
    770                 775                 780

Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser
785                 790                 795                 800

Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu
                805                 810                 815

Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys
            820                 825                 830

Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser
        835                 840                 845

Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys
    850                 855                 860

Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu
865                 870                 875                 880

Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser
                885                 890                 895
```

```
Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln
            900                 905                 910

Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu
        915                 920                 925

Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp
    930                 935                 940

Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val
945                 950                 955                 960

Ser Ala Ser His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile
                965                 970                 975

Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val
            980                 985                 990

Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile  Trp Thr Leu Lys Asp  Ser Ala Gly
        995                 1000                1005

Glu Val  Arg Gln Ile Thr Phe  Arg Asp Leu Pro Asp  Lys Phe Asn
    1010                1015                1020

Ala Tyr  Leu Ala Asn Lys Trp  Val Phe Ile Thr Ile  Thr Asn Asp
    1025                1030                1035

Arg Leu  Ser Ser Ala Asn Leu  Tyr Ile Asn Gly Val  Leu Met Gly
    1040                1045                1050

Ser Ala  Glu Ile Thr Gly Leu  Gly Ala Ile Arg Glu  Asp Asn Asn
    1055                1060                1065

Ile Thr  Leu Lys Leu Asp Arg  Cys Asn Asn Asn Asn  Gln Tyr Val
    1070                1075                1080

Ser Ile  Asp Lys Phe Arg Ile  Phe Cys Lys Ala Leu  Asn Pro Lys
    1085                1090                1095
```

Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr
1115 1120 1125

Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn
1130 1135 1140

Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Ser Tyr Thr Asn
1145 1150 1155

Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys
1160 1165 1170

Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Ser Phe
1175 1180 1185

Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn
1205 1210 1215

Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile
1220 1225 1230

Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys
1235 1240 1245

Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
1250 1255 1260

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro
1265 1270 1275

Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu
1280 1285 1290

Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp
1295 1300 1305

Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310

<210> 2
<211> 6816
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼TeNT之載體pRSET-TeNT

<400> 2
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actataggga gaccacaacg gtttccctct 60

agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgcggggttc tcatcatcat 120

catcatcatg gtatggctag catgactggt ggacagcaaa tgggtcggga tctgtacgac 180

gatgacgata aggatcgatg gggatccgag ctcgagccga ttaccatcaa taattttcgt 240

tattcagatc cggtgaataa tgataccatc atcatgatgg aaccaccgta ctgtaaaggg 300

ctggatattt attataaagc gttcaaaatc accgaccgca tctggatcgt gccggaacgc 360

tacgaattcg gcaccaaacc ggaagatttt aatccgccga gtagtctgat cgaaggtgca 420

tcggaatact acgatccgaa ttatctgcgt actgactctg ataaagatcg ctttctgcaa 480

acgatggtaa aactgttcaa tcgtatcaaa aacaatgtag caggcgaagc cctgctggat 540

aaaatcatca acgccattcc gtatctggga aacagttatt ctctgctgga taaattcgat 600

acaaactcga actctgtgtc attcaacctg ctggaacagg acccgagcgg cgcgaccact 660

aagagtgcga tgctgactaa cctgattatt ttcggtccgg gaccggtact gaataaaaat 720

gaagttcgcg gcattgtact gcgtgtcgat aataaaaact atttcccatg tcgtgatggc 780

ttcggcagca tcatgcagat ggccttttgt ccggaatatg tgccaacttt cgataatgtg 840

attgagaaca tcacctctct gacgattggt aaaagtaaat atttccagga tccggctctg 900

ctgctgatgc atgaactgat ccatgttctg catggcctgt atggcatgca ggtttcatcc 960

cacgaaatta tcccatccaa acaggaaatt tacatgcagc atacatatcc gattagtgcc 1020

gaagaactgt tcacttttgg cggccaggat gcgaacctga tttcgattga cattaaaaac 1080

gatctgtatg aaaaaactct gaacgattat aaagcgattg ccaacaaact gtctcaggta 1140

acctcctgta acgatccgaa tattgatatt gacagttata aacaaattta tcagcagaag 1200

tatcagttcg ataaagactc taatggccag tatattgtta acgaagataa attccagatt 1260

ctgtacaata gcattatgta tggctttact gagatcgaac tgggtaaaaa atttaacatc 1320

aagactcgtc tgagctattt tagcatgaat catgatccag tgaaaatccc gaatctgctg 1380

gatgatacga tttataatga taccgaagga tttaacatcg aaagcaagga tctgaaatcc 1440

gaatataaag ggcagaacat gcgcgttaat accaatgcat ttcgcaatgt tgatggttca 1500

ggcctggtgt cgaaactgat tgggctgtgt aagaaaatca ttccaccgac aaatattcgc 1560

gaaaatctgt acaaccgtac ggcgagcctg accgatctgg ggggagaact gtgtattaaa 1620

atcaaaaatg aagatctgac cttcattgct gagaagaata gcttttccga agagccattc 1680

caggacgaaa tcgtgtctta taacaccaag aataaaccgc tgaatttcaa ctactccctg 1740

gacaaaatca ttgtggatta caacctgcag agtaaaatta ccctgccgaa tgatcgtacc 1800

accccggtga cgaaaggcat cccttacgca ccagaatata aatcaaatgc agcctcgact 1860

atcgagatcc ataatattga tgacaacact atttaccagt acctgtatgc tcagaaatct 1920

ccgacgacgc tgcagcgcat caccatgact aacagcgtgg acgatgccct gattaatagc 1980

accaaaatct actcttactt tccgtcggtg atctctaagg ttaatcaggg cgcgcaaggt 2040

atcctgtttc tgcaatgggt gcgtgatatt attgatgatt tcactaatga atctagccag 2100

aaaacgacaa ttgataaaat ttcggatgtt tccaccatcg tgccttacat cggcccagcg 2160

ctgaacatcg tgaagcaggg ttatgagggt aactttatcg gagcactgga aacgaccggc 2220

gtggttctgc tgctggaata tattccggag attactctgc cagttattgc ggctctgtcg 2280

attgcagaga gctcaacgca gaaagaaaaa attattaaga cgatcgacaa tttcctggaa 2340

aagcgctacg aaaaatggat cgaagtgtat aagctggtga aagcgaaatg gctggggacc 2400

gtgaacaccc agttccaaaa acgttcctat caaatgtatc gtagcctgga atatcaggtg 2460

gacgccatta aaaagatcat cgattacgaa tataagatct actccggtcc ggacaaagaa 2520

cagattgcgg acgaaattaa caatctgaaa aataaactgg aggaaaaagc caacaaagcg 2580

atgattaata tcaatatttt catgcgtgaa agcagccgta gcttcctggt caatcagatg 2640

attaatgaag cgaagaaaca actgctggaa tttgatacgc aatctaaaaa tattctgatg 2700

caatacatca aagccaattc taaatttatt gggatcacgg aactgaaaaa gctggaatcg 2760

aaaatcaata aagtctttag caccccgatt ccgttctcct actcgaaaaa tctggattgt 2820

tgggttgaca atgaagaaga tattgatgtt attctgaaaa agagcacgat cctgaacctg 2880

gatattaata acgatattat ctctgatatc agtggtttta attcatcagt tattacttac 2940

ccagacgctc aactggtgcc gggaatcaat gggaaagcca ttcatctggt gaataatgaa 3000

tcaagtgaag tgatcgtgca taaagcgatg gatatcgagt acaacgatat gtttaataat 3060

ttcacggtgt cgttctggct gcgtgttccg aaagtgagtg cctcccacct ggaacaatat 3120

ggaaccaacg aatactcaat cattagcagc atgaagaaac attcgctgag tattggttca 3180

ggttggagcg tttccctgaa agggaacaat ctgatctgga cactgaagga ctcagcgggc 3240

gaagtgcgtc agattacgtt tcgtgatctg ccggataaat ttaatgcata cctggctaac 3300

aaatgggtgt tcatcacaat caccaatgac cgtctgtcgt ctgcaaacct gtatattaat 3360

ggggtactga tgggctcggc agaaattaca gggctgggcg ccattcgtga agataacaat 3420

attacgctga aactggatcg ttgtaataac aataatcagt atgtgagcat tgataaattt 3480

cgtattttct gcaaagcgct gaacccgaaa gaaattgaaa aactgtatac ctcgtatctg 3540

tcaattacgt ttctgcgcga tttctgggga aacccgctgc gttacgatac ggaatactac 3600

ctgatcccgg tagccagttc tagtaaagac gttcaactga aaaatattac cgactacatg 3660

tatctgacaa acgctccatc atacacaaac ggcaaactga acatctatta ccgtcgcctg 3720

tacaatgggc tgaaattcat cattaaacgt tataccccga ataacgaaat tgattccttt 3780

gtgaagtccg gtgacttcat taagctgtat gtatcctata acaataatga acacatcgtt 3840

ggctatccga aggatggcaa tgcctttaac aacctggatc gtattctgcg tgtaggttac 3900

aacgccccgg gtattccgct gtataagaaa atggaagcag tgaaactgcg tgatctgaaa 3960

acatattccg tgcaactgaa gctgtatgat gacaaaaatg ctagcctggg tctggtaggc 4020

acgcataacg gtcagattgg aaacgatcct aatcgtgaca tcctgatcgc ctctaactgg 4080

tattttaacc acctgaaaga taaaattctg ggctgcgatt ggtattttgt ccctaccgat 4140

gaaggctgga cgaacgatta aaagcttgat ccggctgcta acaaagcccg aaaggaagct 4200

gagttggctg ctgccaccgc tgagcaataa ctagcataac cccttggggc ctctaaacgg 4260

gtcttgaggg gttttttgct gaaaggagga actatatccg gatctggcgt aatagcgaag 4320

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc 4380

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 4440

ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4500

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgctt 4560

tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4620

cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4680

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta ttcttttgat ttataaggga 4740

ttttgccgat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4800

attttaacaa aatattaacg cttacaattt aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg 4860

aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata 4920

accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg 4980

tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac 5040

gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact 5100

ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat 5160

gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga 5220

gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac 5280

agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat 5340

gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac 5400

cgctttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct 5460

gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac 5520

gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga 5580

ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg 5640

gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact 5700

ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac 5760

tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcactgatta agcattggta 5820

actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt 5880

taaaaggatc taggtgaaga tccttttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga 5940

gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc 6000

ttttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt 6060

ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc 6120

gcagatacca aatactgttc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc 6180

tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg 6240

cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg 6300

gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga 6360

actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc 6420

ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg 6480

gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg 6540

atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt 6600

tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc 6660

tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg 6720

aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc 6780

gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcag 6816

<210> 3
<211> 858
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 3

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

Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe
20 25 30

Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe
35 40 45

Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys
50 55 60

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

Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His
85 90 95

Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser
100 105 110

Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala
115 120 125

Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser
130 135 140

Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg
145 150 155 160

Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile
165 170 175

```
Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala
            180                 185                 190

Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu
        195                 200                 205

Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr
    210                 215                 220

Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys
225                 230                 235                 240

Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu
                245                 250                 255

Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr
            260                 265                 270

Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu
        275                 280                 285

Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys
    290                 295                 300

Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn
305                 310                 315                 320

Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile
                325                 330                 335

Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met
            340                 345                 350

Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys
        355                 360                 365

Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile
```

370 375 380

Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr
385 390 395 400

Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn
405 410 415

Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu
420 425 430

Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser
435 440 445

Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys
450 455 460

Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys
465 470 475 480

Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser
485 490 495

Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser Ala Ser His Leu Glu Gln Tyr
500 505 510

Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu
515 520 525

Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile
530 535 540

Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala Gly Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg
545 550 555 560

Asp Leu Pro Asp Lys Phe Asn Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe
565 570 575

Ile Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Ser Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn
580 585 590

Gly Val Leu Met Gly Ser Ala Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg
595 600 605

Glu Asp Asn Asn Ile Thr Leu Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn
610 615 620

Gln Tyr Val Ser Ile Asp Lys Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn
625 630 635 640

Pro Lys Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe
645 650 655

Leu Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr
660 665 670

Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn Ile
675 680 685

Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Ser Tyr Thr Asn Gly Lys
690 695 700

Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys Phe Ile Ile
705 710 715 720

Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Ser Phe Val Lys Ser Gly
725 730 735

Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn Asn Glu His Ile Val
740 745 750

Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn Asn Leu Asp Arg Ile Leu
755 760 765

Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu

770 775 780

Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu
785 790 795 800

Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly
805 810 815

Gln Ile Gly Asn Asp Pro Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp
820 825 830

Tyr Phe Asn His Leu Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe
835 840 845

Val Pro Thr Asp Glu Gly Trp Thr Asn Asp
850 855

<210> 4
<211> 451
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 4

Lys Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile
1 5 10 15

Leu Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile
20 25 30

Ser Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala
35 40 45

Gln Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn
50 55 60

Glu Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn
65 70 75 80

Asp Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys
85 90 95

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

Ile Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser
115 120 125

Val Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala
130 135 140

Gly Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg Asp Leu Pro Asp Lys Phe Asn
145 150 155 160

Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe Ile Thr Ile Thr Asn Asp Arg
165 170 175

Leu Ser Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn Gly Val Leu Met Gly Ser Ala
180 185 190

Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg Glu Asp Asn Asn Ile Thr Leu
195 200 205

Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr Val Ser Ile Asp Lys
210 215 220

Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro Lys Glu Ile Glu Lys Leu
225 230 235 240

Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu Arg Asp Phe Trp Gly Asn
245 250 255

Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser
260 265 270

Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr
275 280 285

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

Leu Tyr Asn Gly Leu Lys Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn
305 310 315 320

Glu Ile Asp Ser Phe Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val
325 330 335

Ser Tyr Asn Asn Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn
340 345 350

Ala Phe Asn Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro
355 360 365

Gly Ile Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu
370 375 380

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

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro Asn
405 410 415

Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu Lys Asp
420 425 430

Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp Glu Gly Trp
435 440 445

Thr Asn Asp
450

<210> 5
<211> 1314
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 5

```
Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn Asp
1               5                  10                  15

Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
            20                  25                  30

Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu Arg
        35                  40                  45

Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser Leu
    50                  55                  60

Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr Asp
65                  70                  75                  80

Cys Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn Arg
                85                  90                  95

Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile Asn
            100                 105                 110

Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Cys Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe Asp
        115                 120                 125

Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro Cys
    130                 135                 140

Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly
145                 150                 155                 160

Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu Arg
                165                 170                 175

Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser Ile
            180                 185                 190
```

```
Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn Val
        195                 200                 205

Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Gln
    210                 215                 220

Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly
225                 230                 235                 240

Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Cys His Glu Ile Ile Pro Ser Lys Gln
                245                 250                 255

Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu Phe
            260                 265                 270

Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys Asn
        275                 280                 285

Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn Lys
    290                 295                 300

Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp Ser
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Cys Asn
                325                 330                 335

Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn Ser
            340                 345                 350

Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn Ile
        355                 360                 365

Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys Ile
    370                 375                 380

Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe Asn
```

385 390 395 400

Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met Arg
405 410 415

Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Cys Gly Leu Val Ser
420 425 430

Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg
435 440 445

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

Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys
465 470 475 480

Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn
485 490 495

Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile
500 505 510

Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg Thr
515 520 525

Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn
530 535 540

Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr
545 550 555 560

Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr
565 570 575

Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr
580 585 590

Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Cys Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly
595 600 605

Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn
610 615 620

Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr
625 630 635 640

Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr
645 650 655

Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu
660 665 670

Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser
675 680 685

Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp
690 695 700

Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu
705 710 715 720

Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg
725 730 735

Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys
740 745 750

Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu
755 760 765

Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys
770 775 780

Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser

785 790 795 800

Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu
805 810 815

Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys
820 825 830

Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser
835 840 845

Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys
850 855 860

Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu
865 870 875 880

Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser
885 890 895

Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln
900 905 910

Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu
915 920 925

Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp
930 935 940

Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val
945 950 955 960

Ser Ala Cys His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile
965 970 975

Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val
980 985 990

Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala Gly
995 1000 1005

Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg Asp Leu Pro Asp Lys Phe Asn
1010 1015 1020

Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe Ile Thr Ile Thr Asn Asp
1025 1030 1035

Arg Leu Cys Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn Gly Val Leu Met Gly
1040 1045 1050

Ser Ala Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg Glu Asp Asn Asn
1055 1060 1065

Ile Thr Leu Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr Val
1070 1075 1080

Ser Ile Asp Lys Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro Lys
1085 1090 1095

Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr
1115 1120 1125

Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn
1130 1135 1140

Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Cys Tyr Thr Asn
1145 1150 1155

Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys
1160 1165 1170

Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Cys Phe

1175 1180 1185

Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn
1205 1210 1215

Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile
1220 1225 1230

Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys
1235 1240 1245

Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
1250 1255 1260

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro
1265 1270 1275

Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu
1280 1285 1290

Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp
1295 1300 1305

Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310

<210> 6
<211> 6816
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼SEQ ID NO: 5之表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT的載體pRSET-TeNT

<400> 6
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actataggga gaccacaacg gtttccctct 60

agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgcggggttc tcatcatcat 120

catcatcatg gtatggctag catgactggt ggacagcaaa tgggtcggga tctgtacgac 180

gatgacgata aggatcgatg gggatccgag ctcgagccga tcaccatcaa caacttccgt 240

tactctgacc cggttaacaa cgacaccatc atcatgatgg aaccgccgta ctgcaaaggt 300

ctggacatct actacaaagc gttcaaaatc accgaccgta tctggatcgt tccggaacgt 360

tacgaattcg gtaccaaacc ggaagacttc aacccgccgt cttctctgat cgaaggtgcg 420

tctgaatact acgacccgaa ctacctgcgt accgactgcg acaaagaccg tttcctgcag 480

accatggtta aactgttcaa ccgtatcaaa aacaacgttg cgggtgaagc gctgctggac 540

aaaatcatca acgcgatccc gtacctgggt aactgctact ctctgctgga caaattcgac 600

accaactcta actctgtttc tttcaacctg ctggaacagg acccgtgcgg tgcgaccacc 660

aaatctgcga tgctgaccaa cctgatcatc ttcggtccgg gtccggttct gaacaaaaac 720

gaagttcgtg gtatcgttct gcgtgttgac aacaaaaact acttcccgtg ccgtgacggt 780

ttcggttcta tcatgcagat ggcgttctgc ccggaatacg ttccgacctt cgacaacgtt 840

atcgaaaaca tcacctctct gaccatcggt aaatctaaat acttccagga cccggcgctg 900

ctgctgatgc acgaactgat ccacgttctg cacggtctgt acggtatgca ggtttcttgc 960

cacgaaatca tcccgtctaa acaggaaatc tacatgcagc acacctaccc gatctctgcg 1020

gaagaactgt tcaccttcgg tggtcaggac gcgaacctga tctctatcga catcaaaaac 1080

gacctgtacg aaaaaaccct gaacgactac aaagcgatcg cgaacaaact gtctcaggtt 1140

acctcttgca acgacccgaa catcgacatc gactcttaca aacagatcta ccagcagaaa 1200

taccagttcg acaaagactg caacggtcag tacatcgtta acgaagacaa attccagatc 1260

ctgtacaact ctatcatgta cggtttcacc gaaatcgaac tgggtaaaaa attcaacatc 1320

aaaacccgtc tgtcttactt ctctatgaac cacgacccgg ttaaaatccc gaacctgctg 1380

gacgacacca tctacaacga caccgaaggt ttcaacatcg aatctaaaga cctgaaatct 1440

gaatacaaag gtcagaacat gcgtgttaac accaacgcgt tccgtaacgt tgacggttgc 1500

ggtctggttt ctaaactgat cggtctgtgc aaaaaaatca tcccgccgac caacatccgt 1560

gaaaacctgt acaaccgtac cgcgtctctg accgacctgg gtggtgaact gtgcatcaaa 1620

atcaaaaacg aagacctgac cttcatcgcg gaaaaaaact ctttctctga agaaccgttc 1680

caggacgaaa tcgtttctta caacaccaaa aacaaaccgc tgaacttcaa ctactctctg 1740

gacaaaatca tcgttgacta caacctgcag tctaaaatca ccctgccgaa cgaccgtacc 1800

accccggtta ccaaaggtat cccgtacgcg ccggaataca aatctaacgc ggcgtctacc 1860

atcgaaatcc acaacatcga cgacaacacc atctaccagt acctgtacgc gcagaaatct 1920

ccgaccaccc tgcagcgtat caccatgacc aactctgttg acgacgcgct gatcaactct 1980

accaaaatct actcttactt cccgtctgtt atctgcaaag ttaaccaggg tgcgcagggt 2040

atcctgttcc tgcagtgggt tcgtgacatc atcgacgact tcaccaacga atcttctcag 2100

aaaaccacca tcgacaaaat ctctgacgtt tctaccatcg ttccgtacat cggtccggcg 2160

ctgaacatcg ttaaacaggg ttacgaaggt aacttcatcg gtgcgctgga aaccaccggt 2220

gttgttctgc tgctggaata catcccggaa atcaccctgc cggttatcgc ggcgctgtct 2280

atcgcggaat cttctaccca gaaagaaaaa atcatcaaaa ccatcgacaa cttcctggaa 2340

aaacgttacg aaaaatggat cgaagtttac aaactggtta aagcgaaatg gctgggtacc 2400

gttaacaccc agttccagaa acgttcttac cagatgtacc gttctctgga ataccaggtt 2460

gacgcgatca aaaaaatcat cgactacgaa tacaaaatct actctggtcc ggacaaagaa 2520

cagatcgcgg acgaaatcaa caacctgaaa aacaaactgg aagaaaaagc gaacaaagcg 2580

atgatcaaca tcaacatctt catgcgtgaa tcttctcgtt ctttcctggt taaccagatg 2640

atcaacgaag cgaaaaaaca gctgctggaa ttcgacaccc agtctaaaaa catcctgatg 2700

cagtacatca aagcgaactc taaattcatc ggtatcaccg aactgaaaaa actggaatct 2760

aaaatcaaca aagttttctc taccccgatc ccgttctctt actctaaaaa cctggactgc 2820

tgggttgaca acgaagaaga catcgacgtt atcctgaaaa aatctaccat cctgaacctg 2880

gacatcaaca acgacatcat ctctgacatc tctggtttca actcttctgt tatcacctac 2940

ccggacgcgc agctggttcc gggtatcaac ggtaaagcga tccacctggt taacaacgaa 3000

tcttctgaag ttatcgttca caaagcgatg gacatcgaat acaacgacat gttcaacaac 3060

ttcaccgttt ctttctggct gcgtgttccg aaagtttctg cgtgccacct ggaacagtac 3120

ggtaccaacg aatactctat catctcttct atgaaaaaac actctctgtc tatcggttct 3180

ggttggtctg tttctctgaa aggtaacaac ctgatctgga ccctgaaaga ctctgcgggt 3240

gaagttcgtc agatcacctt ccgtgacctg ccggacaaat tcaacgcgta cctggcgaac 3300

aaatgggttt tcatcaccat caccaacgac cgtctgtgct ctgcgaacct gtacatcaac 3360

ggtgttctga tgggttctgc ggaaatcacc ggtctgggtg cgatccgtga agacaacaac 3420

atcaccctga aactggaccg ttgcaacaac aacaaccagt acgtttctat cgacaaattc 3480

cgtatcttct gcaaagcgct gaacccgaaa gaaatcgaaa aactgtacac ctcttacctg 3540

tctatcacct tcctgcgtga cttctggggt aacccgctgc gttacgacac cgaatactac 3600

ctgatcccgg ttgcgtcttc ttctaaagac gttcagctga aaaacatcac cgactacatg 3660

tacctgacca acgcgccgtg ctacaccaac ggtaaactga acatctacta ccgtcgtctg 3720

tacaacggtc tgaaattcat catcaaacgt tacaccccga acaacgaaat cgactgcttc 3780

gttaaatctg gtgacttcat caaactgtac gtttcttaca acaacaacga acacatcgtt 3840

ggttacccga aagacggtaa cgcgttcaac aacctggacc gtatcctgcg tgttggttac 3900

aacgcgccgg gtatcccgct gtacaaaaaa atggaagcgg ttaaactgcg tgacctgaaa 3960

acctactctg ttcagctgaa actgtacgac gacaaaaacg cgtctctggg tctggttggt 4020

acccacaacg gtcagatcgg taacgacccg aaccgtgaca tcctgatcgc gtctaactgg 4080

tacttcaacc acctgaaaga caaaatcctg ggttgcgact ggtacttcgt tccgaccgac 4140

gaaggttgga ccaacgacta aaagcttgat ccggctgcta acaaagcccg aaaggaagct 4200

gagttggctg ctgccaccgc tgagcaataa ctagcataac cccttggggc ctctaaacgg 4260

gtcttgaggg gttttttgct gaaaggagga actatatccg gatctggcgt aatagcgaag 4320

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc 4380

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 4440

ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4500

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgctt 4560

tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4620

cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4680

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta ttcttttgat ttataaggga 4740

ttttgccgat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4800

attttaacaa aatattaacg cttacaattt aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg 4860

aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata 4920

accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg 4980

tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac 5040

gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact 5100

ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat 5160

gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga 5220

gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac 5280

agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat 5340

gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac 5400

cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct 5460

gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac 5520

gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga 5580

ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg 5640

gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact 5700

ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac 5760

tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcactgatta agcattggta 5820

actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt 5880

taaaaggatc taggtgaaga tccttttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga 5940

gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc 6000

ttttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt 6060

ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc 6120

gcagatacca aatactgttc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc 6180

tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg 6240

cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg 6300

gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga 6360

actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc 6420

ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg 6480

gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg 6540

atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt 6600

tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc 6660

tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg 6720

aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc 6780

gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcag 6816

<210> 7
<211> 1314
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 7

Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn Asp
1 5 10 15

Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
20 25 30

Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu Arg
35 40 45

Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser Leu
50 55 60

Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr Asp
65 70 75 80

Cys Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn Arg
85 90 95

Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile Asn
100 105 110

Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Cys Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe Asp
115 120 125

Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro Cys
130 135 140

Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly
145 150 155 160

Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu Arg
165 170 175

Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser Ile
180 185 190

Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn Val
195 200 205

Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Gln
210 215 220

Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly
225 230 235 240

Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Cys His Glu Ile Ile Pro Ser Lys Gln
245 250 255

Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu Phe
260 265 270

Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys Asn
275 280 285

Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn Lys
290 295 300

Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Cys Asn
325 330 335

Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn Ser
340 345 350

Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn Ile
355 360 365

Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys Ile
370 375 380

Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met Arg
405 410 415

Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Cys Gly Leu Val Ser
420 425 430

Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg
435 440 445

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

Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys
465 470 475 480

Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn
485 490 495

Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile
500 505 510

Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg Thr
515 520 525

Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn
530 535 540

Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr
545 550 555 560

Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr
565 570 575

Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr
580 585 590

Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly
595 600 605

Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn
610 615 620

Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr
625 630 635 640

Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr
645 650 655

Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu
660 665 670

Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser
675 680 685

Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp
690 695 700

Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu
705 710 715 720

Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg
725 730 735

Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys
740 745 750

Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu
755 760 765

Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys
770 775 780

Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser
785 790 795 800

Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu
805 810 815

Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys
820 825 830

Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser
835 840 845

Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys
850 855 860

```
Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu
865                 870                 875                 880

Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser
                885                 890                 895

Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln
            900                 905                 910

Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu
        915                 920                 925

Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp
    930                 935                 940

Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val
945                 950                 955                 960

Ser Ala Cys His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile
                965                 970                 975

Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val
            980                 985                 990

Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile  Trp Thr Leu Lys Asp  Ser Ala Gly
        995                 1000                1005

Glu Val  Arg Gln Ile Thr Phe  Arg Asp Leu Pro Asp  Lys Phe Asn
    1010                1015                1020

Ala Tyr  Leu Ala Asn Lys Trp  Val Phe Ile Thr Ile  Thr Asn Asp
    1025                1030                1035

Arg Leu  Cys Ser Ala Asn Leu  Tyr Ile Asn Gly Val  Leu Met Gly
    1040                1045                1050

Ser Ala  Glu Ile Thr Gly Leu  Gly Ala Ile Arg Glu  Asp Asn Asn
    1055                1060                1065
```

Ile Thr Leu Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr Val
1070 1075 1080

Ser Ile Asp Lys Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro Lys
1085 1090 1095

Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr
1115 1120 1125

Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn
1130 1135 1140

Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Cys Tyr Thr Asn
1145 1150 1155

Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys
1160 1165 1170

Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Cys Phe
1175 1180 1185

Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn
1205 1210 1215

Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile
1220 1225 1230

Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys
1235 1240 1245

Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
1250 1255 1260

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro
1265 1270 1275

Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu
1280 1285 1290

Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp
1295 1300 1305

Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310

<210> 8
<211> 6816
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼SEQ ID NO: 7之表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT的載體pRSET-TeNT

<400> 8
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actataggga gaccacaacg gtttccctct 60

agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgcggggttc tcatcatcat 120

catcatcatg gtatggctag catgactggt ggacagcaaa tgggtcggga tctgtacgac 180

gatgacgata aggatcgatg gggatccgag ctcgagccga tcaccatcaa caacttccgt 240

tactctgacc cggttaacaa cgacaccatc atcatgatgg aaccgccgta ctgcaaaggt 300

ctggacatct actacaaagc gttcaaaatc accgaccgta tctggatcgt tccggaacgt 360

tacgaattcg gtaccaaacc ggaagacttc aacccgccgt cttctctgat cgaaggtgcg 420

tctgaatact acgacccgaa ctacctgcgt accgactgcg acaaagaccg tttcctgcag 480

accatggtta aactgttcaa ccgtatcaaa aacaacgttg cgggtgaagc gctgctggac 540

aaaatcatca acgcgatccc gtacctgggt aactgctact ctctgctgga caaattcgac 600

accaactcta actctgtttc tttcaacctg ctggaacagg acccgtgcgg tgcgaccacc 660

aaatctgcga tgctgaccaa cctgatcatc ttcggtccgg gtccggttct gaacaaaaac 720

gaagttcgtg gtatcgttct gcgtgttgac aacaaaaact acttcccgtg ccgtgacggt 780

ttcggttcta tcatgcagat ggcgttctgc ccggaatacg ttccgacctt cgacaacgtt 840

atcgaaaaca tcacctctct gaccatcggt aaatctaaat acttccagga cccggcgctc 900

tgctgatgca cgaactgatc cacgttctgc acggtctgta cggtatgcag gtttcttgcc 960

acgaaatcat cccgtctaaa caggaaatct acatgcagca cacctacccg atctctgcgg 1020

aagaactgtt caccttcggt ggtcaggacg cgaacctgat ctctatcgac atcaaaaacg 1080

acctgtacga aaaaaccctg aacgactaca aagcgatcgc gaacaaactg tctcaggtta 1140

cctcttgcaa cgacccgaac atcgacatcg actcttacaa acagatctac cagcagaaat 1200

accagttcga caaagactgc aacggtcagt acatcgttaa cgaagacaaa ttccagatcc 1260

tgtacaactc tatcatgtac ggtttcaccg aaatcgaact gggtaaaaaa ttcaacatca 1320

aaacccgtct gtcttacttc tctatgaacc acgacccggt taaaatcccg aacctgctgg 1380

acgacaccat ctacaacgac accgaaggtt tcaacatcga atctaaagac ctgaaatctg 1440

aatacaaagg tcagaacatg cgtgttaaca ccaacgcgtt ccgtaacgtt gacggttgcg 1500

gtctggtttc taaactgatc ggtctgtgca aaaaaatcat cccgccgacc aacatccgtg 1560

aaaacctgta caaccgtacc gcgtctctga ccgacctggg tggtgaactg tgcatcaaaa 1620

tcaaaaacga agacctgacc ttcatcgcgg aaaaaaactc tttctctgaa gaaccgttcc 1680

aggacgaaat cgtttcttac aacaccaaaa acaaaccgct gaacttcaac tactctctgg 1740

acaaaatcat cgttgactac aacctgcagt ctaaaatcac cctgccgaac gaccgtacca 1800

ccccggttac caaaggtatc ccgtacgcgc cggaatacaa atctaacgcg gcgtctacca 1860

tcgaaatcca caacatcgac gacaacacca tctaccagta cctgtacgcg cagaaatctc 1920

cgaccaccct gcagcgtatc accatgacca actctgttga cgacgcgctg atcaactcta 1980

ccaaaatcta ctcttacttc ccgtctgtta tctctaaagt taaccagggt gcgcagggta 2040

tcctgttcct gcagtgggtt cgtgacatca tcgacgactt caccaacgaa tcttctcaga 2100

aaaccaccat cgacaaaatc tctgacgttt ctaccatcgt tccgtacatc ggtccggcgc 2160

tgaacatcgt taaacagggt tacgaaggta acttcatcgg tgcgctggaa accaccggtg 2220

ttgttctgct gctggaatac atcccggaaa tcaccctgcc ggttatcgcg gcgctgtcta 2280

tcgcggaatc ttctacccag aaagaaaaaa tcatcaaaac catcgacaac ttcctggaaa 2340

aacgttacga aaaatggatc gaagtttaca aactggttaa agcgaaatgg ctgggtaccg 2400

ttaacaccca gttccagaaa cgttcttacc agatgtaccg ttctctggaa taccaggttg 2460

acgcgatcaa aaaaatcatc gactacgaat acaaaatcta ctctggtccg gacaaagaac 2520

agatcgcgga cgaaatcaac aacctgaaaa acaaactgga agaaaaagcg aacaaagcga 2580

tgatcaacat caacatcttc atgcgtgaat cttctcgttc tttcctggtt aaccagatga 2640

tcaacgaagc gaaaaaacag ctgctggaat tcgacaccca gtctaaaaac atcctgatgc 2700

agtacatcaa agcgaactct aaattcatcg gtatcaccga actgaaaaaa ctggaatcta 2760

aaatcaacaa agttttctct accccgatcc cgttctctta ctctaaaaac ctggactgct 2820

gggttgacaa cgaagaagac atcgacgtta tcctgaaaaa atctaccatc ctgaacctgg 2880

acatcaacaa cgacatcatc tctgacatct ctggtttcaa ctcttctgtt atcacctacc 2940

cggacgcgca gctggttccg ggtatcaacg gtaaagcgat ccacctggtt aacaacgaat 3000

cttctgaagt tatcgttcac aaagcgatgg acatcgaata caacgacatg ttcaacaact 3060

tcaccgtttc tttctggctg cgtgttccga aagtttctgc gtgccacctg gaacagtacg 3120

gtaccaacga atactctatc atctcttcta tgaaaaaaca ctctctgtct atcggttctg 3180

gttggtctgt ttctctgaaa ggtaacaacc tgatctggac cctgaaagac tctgcgggtg 3240

aagttcgtca gatcaccttc cgtgacctgc cggacaaatt caacgcgtac ctggcgaaca 3300

aatgggtttt catcaccatc accaacgacc gtctgtgctc tgcgaacctg tacatcaacg 3360

gtgttctgat gggttctgcg gaaatcaccg gtctgggtgc gatccgtgaa gacaacaaca 3420

tcaccctgaa actggaccgt tgcaacaacc aacaaccagt acgtttctat cgacaaattc 3480

cgtatcttct gcaaagcgct gaacccgaaa gaaatcgaaa aactgtacac ctcttacctg 3540

tctatcacct tcctgcgtga cttctggggt aacccgctgc gttacgacac cgaatactac 3600

ctgatcccgg ttgcgtcttc ttctaaagac gttcagctga aaaacatcac cgactacatg 3660

tacctgacca acgcgccgtg ctacaccaac ggtaaactga acatctacta ccgtcgtctg 3720

tacaacggtc tgaaattcat catcaaacgt tacaccccga acaacgaaat cgactgcttc 3780

gttaaatctg gtgacttcat caaactgtac gtttcttaca acaacaacga acacatcgtt 3840

ggttacccga aagacggtaa cgcgttcaac aacctggacc gtatcctgcg tgttggttac 3900

aacgcgccgg gtatcccgct gtacaaaaaa atggaagcgg ttaaactgcg tgacctgaaa 3960

acctactctg ttcagctgaa actgtacgac gacaaaaacg cgtctctggg tctggttggt 4020

acccacaacg gtcagatcgg taacgacccg aaccgtgaca tcctgatcgc gtctaactgg 4080

tacttcaacc acctgaaaga caaaatcctg ggttgcgact ggtacttcgt tccgaccgac 4140

gaaggttgga ccaacgacta aaagcttgat ccggctgcta acaaagcccg aaaggaagct 4200

gagttggctg ctgccaccgc tgagcaataa ctagcataac cccttggggc ctctaaacgg 4260

gtcttgaggg gttttttgct gaaaggagga actatatccg gatctggcgt aatagcgaag 4320

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc 4380

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 4440

ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4500

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgctt 4560

tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4620

cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4680

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta ttcttttgat ttataaggga 4740

ttttgccgat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4800

attttaacaa aatattaacg cttacaattt aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg 4860

aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata 4920

accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg 4980

tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac 5040

gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact 5100

ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat 5160

gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga 5220

gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac 5280

agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat 5340

gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac 5400

cgctttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct 5460

gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac 5520

gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga 5580

ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg 5640

gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact 5700

ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac 5760

tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcactgatta agcattggta 5820

actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt 5880

taaaaggatc taggtgaaga tccttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga 5940

gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc 6000

ttttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt 6060

ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc 6120

gcagatacca aatactgttc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc 6180

tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg 6240

cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg 6300

gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga 6360

actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc 6420

ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg 6480

gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg 6540

atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt 6600

tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc 6660

tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg 6720

aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc 6780

gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcag 6816

<210> 9
<211> 1314
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 9

Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn Asp
1 5 10 15

Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
20 25 30

Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu Arg
35 40 45

Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser Leu
50 55 60

Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr Asp
65 70 75 80

Ser Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn Arg
85 90 95

Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile Asn
100 105 110

Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe Asp
115 120 125

Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro Ser
130 135 140

```
Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly
145                 150                 155                 160

Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu Arg
                165                 170                 175

Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser Ile
            180                 185                 190

Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn Val
        195                 200                 205

Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Gln
    210                 215                 220

Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly
225                 230                 235                 240

Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Ser His Glu Ile Ile Pro Ser Lys Gln
                245                 250                 255

Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu Phe
            260                 265                 270

Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys Asn
        275                 280                 285

Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn Lys
    290                 295                 300

Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp Ser
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Ser Asn
                325                 330                 335

Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn Ser
```

340 345 350

Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn Ile
355 360 365

Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys Ile
370 375 380

Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met Arg
405 410 415

Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Ser Gly Leu Val Ser
420 425 430

Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg
435 440 445

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

Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys
465 470 475 480

Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn
485 490 495

Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile
500 505 510

Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg Thr
515 520 525

Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn
530 535 540

Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr
545 550 555 560

Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr
565 570 575

Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr
580 585 590

Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Cys Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly
595 600 605

Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn
610 615 620

Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr
625 630 635 640

Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr
645 650 655

Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu
660 665 670

Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser
675 680 685

Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp
690 695 700

Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu
705 710 715 720

Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg
725 730 735

Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys

740 745 750

Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu
755 760 765

Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys
770 775 780

Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser
785 790 795 800

Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu
805 810 815

Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys
820 825 830

Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser
835 840 845

Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys
850 855 860

Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu
865 870 875 880

Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser
885 890 895

Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln
900 905 910

Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu
915 920 925

Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp
930 935 940

```
Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val
945                 950                 955                 960

Ser Ala Cys His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile
                965                 970                 975

Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val
            980                 985                 990

Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile  Trp Thr Leu Lys Asp  Ser Ala Gly
        995                 1000                1005

Glu Val  Arg Gln Ile Thr Phe  Arg Asp Leu Pro Asp  Lys Phe Asn
    1010                1015                1020

Ala Tyr  Leu Ala Asn Lys Trp  Val Phe Ile Thr Ile  Thr Asn Asp
    1025                1030                1035

Arg Leu  Cys Ser Ala Asn Leu  Tyr Ile Asn Gly Val  Leu Met Gly
    1040                1045                1050

Ser Ala  Glu Ile Thr Gly Leu  Gly Ala Ile Arg Glu  Asp Asn Asn
    1055                1060                1065

Ile Thr  Leu Lys Leu Asp Arg  Cys Asn Asn Asn Asn  Gln Tyr Val
    1070                1075                1080

Ser Ile  Asp Lys Phe Arg Ile  Phe Cys Lys Ala Leu  Asn Pro Lys
    1085                1090                1095

Glu Ile  Glu Lys Leu Tyr Thr  Ser Tyr Leu Ser Ile  Thr Phe Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Phe Trp Gly Asn Pro  Leu Arg Tyr Asp Thr  Glu Tyr Tyr
    1115                1120                1125

Leu Ile  Pro Val Ala Ser Ser  Ser Lys Asp Val Gln  Leu Lys Asn
```

1130 1135 1140

Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Cys Tyr Thr Asn
1145 1150 1155

Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys
1160 1165 1170

Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Cys Phe
1175 1180 1185

Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn
1205 1210 1215

Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile
1220 1225 1230

Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys
1235 1240 1245

Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
1250 1255 1260

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro
1265 1270 1275

Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu
1280 1285 1290

Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp
1295 1300 1305

Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310

<210> 10
<211> 6816
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼SEQ ID NO: 9之表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT的載體pRSET-TeNT

<400> 10
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actatagggga gaccacaacg gtttccctct 60

agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgcggggttc tcatcatcat 120

catcatcatg gtatggctag catgactggt ggacagcaaa tgggtcggga tctgtacgac 180

gatgacgata aggatcgatg gggatccgag ctcgagccga tcaccatcaa caacttccgt 240

tactctgacc cggttaacaa cgacaccatc atcatgatgg aaccgccgta ctgcaaaggt 300

ctggacatct actacaaagc gttcaaaatc accgaccgta tctggatcgt tccggaacgt 360

tacgaattcg gtaccaaacc ggaagacttc aacccgccgt cttctctgat cgaaggtgcg 420

tctgaatact acgacccgaa ctacctgcgt accgactctg acaaagaccg tttcctgcag 480

accatggtta aactgttcaa ccgtatcaaa aacaacgttg cgggtgaagc gctgctggac 540

aaaatcatca acgcgatccc gtacctgggt aactcttact ctctgctgga caaattcgac 600

accaactcta actctgtttc tttcaacctg ctggaacagg acccgtctgg tgcgaccacc 660

aaatctgcga tgctgaccaa cctgatcatc ttcggtccgg gtccggttct gaacaaaaac 720

gaagttcgtg gtatcgttct gcgtgttgac aacaaaaact acttcccgtg ccgtgacggt 780

ttcggttcta tcatgcagat ggcgttctgc ccggaatacg ttccgacctt cgacaacgtt 840

atcgaaaaca tcacctctct gaccatcggt aaatctaaat acttccagga cccggcgctg 900

ctgctgatgc acgaactgat ccacgttctg cacggtctgt acggtatgca ggtttcttct 960

cacgaaatca tcccgtctaa acaggaaatc tacatgcagc acacctaccc gatctctgcg 1020

gaagaactgt tcaccttcgg tggtcaggac gcgaacctga tctctatcga catcaaaaac 1080

gacctgtacg aaaaaaccct gaacgactac aaagcgatcg cgaacaaact gtctcaggtt 1140

acctcttgca acgacccgaa catcgacatc gactcttaca aacagatcta ccagcagaaa 1200

taccagttcg acaaagactc taacggtcag tacatcgtta acgaagacaa attccagatc 1260

ctgtacaact ctatcatgta cggtttcacc gaaatcgaac tgggtaaaaa attcaacatc 1320

aaaacccgtc tgtcttactt ctctatgaac cacgacccgg ttaaaatccc gaacctgctg 1380

gacgacacca tctacaacga caccgaaggt ttcaacatcg aatctaaaga cctgaaatct 1440

gaatacaaag gtcagaacat gcgtgttaac accaacgcgt tccgtaacgt tgacggttct 1500

ggtctggttt ctaaactgat cggtctgtgc aaaaaaatca tcccgccgac caacatccgt 1560

gaaaacctgt acaaccgtac cgcgtctctg accgacctgg gtggtgaact gtgcatcaaa 1620

atcaaaaacg aagacctgac cttcatcgcg gaaaaaaact ctttctctga agaaccgttc 1680

caggacgaaa tcgtttctta caacaccaaa aacaaaccgc tgaacttcaa ctactctctg 1740

gacaaaatca tcgttgacta caacctgcag tctaaaatca ccctgccgaa cgaccgtacc 1800

accccggtta ccaaaggtat cccgtacgcg ccggaataca aatctaacgc ggcgtctacc 1860

atcgaaatcc acaacatcga cgacaacacc atctaccagt acctgtacgc gcagaaatct 1920

ccgaccaccc tgcagcgtat caccatgacc aactctgttg acgacgcgct gatcaactct 1980

accaaaatct actcttactt cccgtctgtt atctgcaaag ttaaccaggg tgcgcagggt 2040

atcctgttcc tgcagtgggt tcgtgacatc atcgacgact tcaccaacga atcttctcag 2100

aaaaccacca tcgacaaaat ctctgacgtt tctaccatcg ttccgtacat cggtccggcg 2160

ctgaacatcg ttaaacaggg ttacgaaggt aacttcatcg gtgcgctgga aaccaccggt 2220

gttgttctgc tgctggaata catcccggaa atcaccctgc cggttatcgc ggcgctgtct 2280

atcgcggaat cttctaccca gaaagaaaaa atcatcaaaa ccatcgacaa cttcctggaa 2340

aaacgttacg aaaaatggat cgaagtttac aaactggtta aagcgaaatg gctgggtacc 2400

gttaacaccc agttccagaa acgttcttac cagatgtacc gttctctgga ataccaggtt 2460

gacgcgatca aaaaaatcat cgactacgaa tacaaaatct actctggtcc ggacaaagaa 2520

cagatcgcgg acgaaatcaa caacctgaaa aacaaactgg aagaaaaagc gaacaaagcg 2580

atgatcaaca tcaacatctt catgcgtgaa tcttctcgtt ctttcctggt taaccagatg 2640

atcaacgaag cgaaaaaaca gctgctggaa ttcgacaccc agtctaaaaa catcctgatg 2700

cagtacatca aagcgaactc taaattcatc ggtatcaccg aactgaaaaa actggaatct 2760

aaaatcaaca aagttttctc taccccgatc ccgttctctt actctaaaaa cctggactgc 2820

tgggttgaca acgaagaaga catcgacgtt atcctgaaaa aatctaccat cctgaacctg 2880

gacatcaaca acgacatcat ctctgacatc tctggtttca actcttctgt tatcacctac 2940

ccggacgcgc agctggttcc gggtatcaac ggtaaagcga tccacctggt taacaacgaa 3000

tcttctgaag ttatcgttca caaagcgatg gacatcgaat acaacgacat gttcaacaac 3060

ttcaccgttt ctttctggct gcgtgttccg aaagtttctg cgtgccacct ggaacagtac 3120

ggtaccaacg aatactctat catctcttct atgaaaaaac actctctgtc tatcggttct 3180

ggttggtctg tttctctgaa aggtaacaac ctgatctgga ccctgaaaga ctctgcgggt 3240

gaagttcgtc agatcacctt ccgtgacctg ccggacaaat tcaacgcgta cctggcgaac 3300

aaatgggttt tcatcaccat caccaacgac cgtctgtgct ctgcgaacct gtacatcaac 3360

ggtgttctga tgggttctgc ggaaatcacc ggtctgggtg cgatccgtga agacaacaac 3420

atcaccctga aactggaccg ttgcaacaac aacaaccagt acgtttctat cgacaaattc 3480

cgtatcttct gcaaagcgct gaacccgaaa gaaatcgaaa aactgtacac ctcttacctg 3540

tctatcacct tcctgcgtga cttctggggt aacccgctgc gttacgacac cgaatactac 3600

ctgatcccgg ttgcgtcttc ttctaaagac gttcagctga aaaacatcac cgactacatg 3660

tacctgacca acgcgccgtg ctacaccaac ggtaaactga acatctacta ccgtcgtctg 3720

tacaacggtc tgaaattcat catcaaacgt tacaccccga acaacgaaat cgactgcttc 3780

gttaaatctg gtgacttcat caaactgtac gtttcttaca acaacaacga acacatcgtt 3840

ggttacccga aagacggtaa cgcgttcaac aacctggacc gtatcctgcg tgttggttac 3900

aacgcgccgg gtatcccgct gtacaaaaaa atggaagcgg ttaaactgcg tgacctgaaa 3960

acctactctg ttcagctgaa actgtacgac gacaaaaacg cgtctctggg tctggttggt 4020

acccacaacg gtcagatcgg taacgacccg aaccgtgaca tcctgatcgc gtctaactgg 4080

tacttcaacc acctgaaaga caaaatcctg ggttgcgact ggtacttcgt tccgaccgac 4140

gaaggttgga ccaacgacta aaagcttgat ccggctgcta acaaagcccg aaaggaagct 4200

gagttggctg ctgccaccgc tgagcaataa ctagcataac cccttggggc ctctaaacgg 4260

gtcttgaggg gttttttgct gaaaggagga actatatccg gatctggcgt aatagcgaag 4320

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc 4380

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 4440

ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4500

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgctt 4560

tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4620

cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4680

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta ttcttttgat ttataaggga 4740

ttttgccgat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4800

attttaacaa aatattaacg cttacaattt aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg 4860

aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata 4920

accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg 4980

tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac 5040

gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact 5100

ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat 5160

gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga 5220

gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac 5280

agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat 5340

gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac 5400

cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct 5460

gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac 5520

gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga 5580

ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg 5640

gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact 5700

ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac 5760

tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcactgatta agcattggta 5820

actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt 5880

taaaaggatc taggtgaaga tccttttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga 5940

gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc 6000

ttttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt 6060

ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc 6120

gcagatacca aatactgttc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc 6180

tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg 6240

cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg 6300

gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga 6360

actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc 6420

ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg 6480

gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg 6540

atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt 6600

tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc 6660

tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg 6720

aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc 6780

gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcag 6816

<210> 11
<211> 1314
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 11

Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn Asp
1 5 10 15

```
Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
            20                  25                  30

Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu Arg
        35                  40                  45

Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser Leu
    50                  55                  60

Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr Asp
65                  70                  75                  80

Cys Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn Arg
                85                  90                  95

Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile Asn
            100                 105                 110

Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Cys Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe Asp
        115                 120                 125

Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro Cys
    130                 135                 140

Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly
145                 150                 155                 160

Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu Arg
                165                 170                 175

Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser Ile
            180                 185                 190

Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn Val
        195                 200                 205

Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Gln
    210                 215                 220
```

Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly
225 230 235 240

Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Cys His Glu Ile Ile Pro Ser Lys Gln
245 250 255

Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu Phe
260 265 270

Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys Asn
275 280 285

Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn Lys
290 295 300

Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Cys Asn
325 330 335

Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn Ser
340 345 350

Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn Ile
355 360 365

Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys Ile
370 375 380

Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met Arg
405 410 415

Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Cys Gly Leu Val Ser
420 425 430

Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg
435 440 445

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

Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys
465 470 475 480

Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn
485 490 495

Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile
500 505 510

Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg Thr
515 520 525

Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn
530 535 540

Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr
545 550 555 560

Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr
565 570 575

Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr
580 585 590

Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly
595 600 605

Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn
610 615 620

Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr
625 630 635 640

Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr
645 650 655

Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu
660 665 670

Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser
675 680 685

Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp
690 695 700

Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu
705 710 715 720

Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg
725 730 735

Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys
740 745 750

Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu
755 760 765

Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys
770 775 780

Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser
785 790 795 800

Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu
805 810 815

Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys
820 825 830

Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser
835 840 845

Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys
850 855 860

Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu
865 870 875 880

Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser
885 890 895

Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln
900 905 910

Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu
915 920 925

Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp
930 935 940

Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val
945 950 955 960

Ser Ala Cys His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile
965 970 975

Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val
980 985 990

Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala Gly
995 1000 1005

Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg Asp Leu Pro Asp Lys Phe Asn
1010 1015 1020

Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe Ile Thr Ile Thr Asn Asp
1025 1030 1035

Arg Leu Cys Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn Gly Val Leu Met Gly
1040 1045 1050

Ser Ala Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg Glu Asp Asn Asn
1055 1060 1065

Ile Thr Leu Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr Val
1070 1075 1080

Ser Ile Asp Lys Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro Lys
1085 1090 1095

Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr
1115 1120 1125

Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn
1130 1135 1140

Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Cys Tyr Thr Asn
1145 1150 1155

Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys
1160 1165 1170

Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Cys Phe
1175 1180 1185

Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn
1205 1210 1215

Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile
1220 1225 1230

Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys
1235 1240 1245

Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
1250 1255 1260

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro
1265 1270 1275

Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu
1280 1285 1290

Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp
1295 1300 1305

Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310

<210> 12
<211> 6816
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼SEQ ID NO: 11之表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT的載體pRSET-TeNT

<400> 12
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actataggga gaccacaacg gtttccctct 60

agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgcggggttc tcatcatcat 120

catcatcatg gtatggctag catgactggt ggacagcaaa tgggtcggga tctgtacgac 180

gatgacgata aggatcgatg gggatccgag ctcgagccga tcaccatcaa caacttccgt 240

tactctgacc cggttaacaa cgacaccatc atcatgatgg aaccgccgta ctgcaaaggt 300

ctggacatct actacaaagc gttcaaaatc accgaccgta tctggatcgt tccggaacgt 360

tacgaattcg gtaccaaacc ggaagacttc aacccgccgt cttctctgat cgaaggtgcg 420

tctgaatact acgacccgaa ctacctgcgt accgactgcg acaaagaccg tttcctgcag 480

accatggtta aactgttcaa ccgtatcaaa aacaacgttg cgggtgaagc gctgctggac 540

aaaatcatca acgcgatccc gtacctgggt aactgctact ctctgctgga caaattcgac 600

accaactcta actctgtttc tttcaacctg ctggaacagg acccgtgcgg tgcgaccacc 660

aaatctgcga tgctgaccaa cctgatcatc ttcggtccgg gtccggttct gaacaaaaac 720

gaagttcgtg gtatcgttct gcgtgttgac aacaaaaact acttcccgtg ccgtgacggt 780

ttcggttcta tcatgcagat ggcgttctgc ccggaatacg ttccgacctt cgacaacgtt 840

atcgaaaaca tcacctctct gaccatcggt aaatctaaat acttccagga cccggcgctg 900

ctgctgatgc acgaactgat ccacgttctg cacggtctgt acggtatgca ggtttcttgc 960

cacgaaatca tcccgtctaa acaggaaatc tacatgcagc acacctaccc gatctctgcg 1020

gaagaactgt tcaccttcgg tggtcaggac gcgaacctga tctctatcga catcaaaaac 1080

gacctgtacg aaaaaaccct gaacgactac aaagcgatcg cgaacaaact gtctcaggtt 1140

acctcttgca acgacccgaa catcgacatc gactcttaca aacagatcta ccagcagaaa 1200

taccagttcg acaaagactg caacggtcag tacatcgtta acgaagacaa attccagatc 1260

ctgtacaact ctatcatgta cggtttcacc gaaatcgaac tgggtaaaaa attcaacatc 1320

aaaacccgtc tgtcttactt ctctatgaac cacgacccgg ttaaaatccc gaacctgctg 1380

gacgacacca tctacaacga caccgaaggt ttcaacatcg aatctaaaga cctgaaatct 1440

gaatacaaag gtcagaacat gcgtgttaac accaacgcgt tccgtaacgt tgacggttgc 1500

ggtctggttt ctaaactgat cggtctgtgc aaaaaaatca tcccgccgac caacatccgt 1560

gaaaacctgt acaaccgtac cgcgtctctg accgacctgg gtggtgaact gtgcatcaaa 1620

atcaaaaacg aagacctgac cttcatcgcg gaaaaaaact ctttctctga agaaccgttc 1680

caggacgaaa tcgtttctta caacaccaaa aacaaaccgc tgaacttcaa ctactctctg 1740

gacaaaatca tcgttgacta caacctgcag tctaaaatca ccctgccgaa cgaccgtacc 1800

accccggtta ccaaaggtat cccgtacgcg ccggaataca aatctaacgc ggcgtctacc 1860

atcgaaatcc acaacatcga cgacaacacc atctaccagt acctgtacgc gcagaaatct 1920

ccgaccaccc tgcagcgtat caccatgacc aactctgttg acgacgcgct gatcaactct 1980

accaaaatct actcttactt cccgtctgtt atctctaaag ttaaccaggg tgcgcagggt 2040

atcctgttcc tgcagtgggt tcgtgacatc atcgacgact tcaccaacga atcttctcag 2100

aaaaccacca tcgacaaaat ctctgacgtt tctaccatcg ttccgtacat cggtccggcg 2160

ctgaacatcg ttaaacaggg ttacgaaggt aacttcatcg gtgcgctgga aaccaccggt 2220

gttgttctgc tgctggaata catcccggaa atcaccctgc cggttatcgc ggcgctgtct 2280

atcgcggaat cttctaccca gaaagaaaaa atcatcaaaa ccatcgacaa cttcctggaa 2340

aaacgttacg aaaaatggat cgaagtttac aaactggtta aagcgaaatg gctgggtacc 2400

gttaacaccc agttccagaa acgttcttac cagatgtacc gttctctgga ataccaggtt 2460

gacgcgatca aaaaaatcat cgactacgaa tacaaaatct actctggtcc ggacaaagaa 2520

cagatcgcgg acgaaatcaa caacctgaaa aacaaactgg aagaaaaagc gaacaaagcg 2580

atgatcaaca tcaacatctt catgcgtgaa tcttctcgtt ctttcctggt taaccagatg 2640

atcaacgaag cgaaaaaaca gctgctggaa ttcgacaccc agtctaaaaa catcctgatg 2700

cagtacatca aagcgaactc taaattcatc ggtatcaccg aactgaaaaa actggaatct 2760

aaaatcaaca aagttttctc taccccgatc ccgttctctt actctaaaaa cctggactgc 2820

tgggttgaca acgaagaaga catcgacgtt atcctgaaaa aatctaccat cctgaacctg 2880

gacatcaaca acgacatcat ctctgacatc tctggtttca actcttctgt tatcacctac 2940

ccggacgcgc agctggttcc gggtatcaac ggtaaagcga tccacctggt taacaacgaa 3000

tcttctgaag ttatcgttca caaagcgatg gacatcgaat acaacgacat gttcaacaac 3060

ttcaccgttt ctttctggct gcgtgttccg aaagtttctg cgtgccacct ggaacagtac 3120

ggtaccaacg aatactctat catctcttct atgaaaaaac actctctgtc tatcggttct 3180

ggttggtctg tttctctgaa aggtaacaac ctgatctgga ccctgaaaga ctctgcgggt 3240

gaagttcgtc agatcacctt ccgtgacctg ccggacaaat tcaacgcgta cctggcgaac 3300

aaatgggttt tcatcaccat caccaacgac cgtctgtgct ctgcgaacct gtacatcaac 3360

ggtgttctga tgggttctgc ggaaatcacc ggtctgggtg cgatccgtga agacaacaac 3420

atcaccctga aactggaccg ttgcaacaac aacaaccagt acgtttctat cgacaaattc 3480

cgtatcttct gcaaagcgct gaacccgaaa gaaatcgaaa aactgtacac ctcttacctg 3540

tctatcacct tcctgcgtga cttctggggt aacccgctgc gttacgacac cgaatactac 3600

ctgatcccgg ttgcgtcttc ttctaaagac gttcagctga aaaacatcac cgactacatg 3660

tacctgacca acgcgccgtg ctacaccaac ggtaaactga acatctacta ccgtcgtctg 3720

tacaacggtc tgaaattcat catcaaacgt tacaccccga acaacgaaat cgactgcttc 3780

gttaaatctg gtgacttcat caaactgtac gtttcttaca acaacaacga acacatcgtt 3840

ggttacccga aagacggtaa cgcgttcaac aacctggacc gtatcctgcg tgttggttac 3900

aacgcgccgg gtatcccgct gtacaaaaaa atggaagcgg ttaaactgcg tgacctgaaa 3960

acctactctg ttcagctgaa actgtacgac gacaaaaacg cgtctctggg tctggttggt 4020

acccacaacg gtcagatcgg taacgacccg aaccgtgaca tcctgatcgc gtctaactgg 4080

tacttcaacc acctgaaaga caaaatcctg ggttgcgact ggtacttcgt tccgaccgac 4140

gaaggttgga ccaacgacta aaagcttgat ccggctgcta acaaagcccg aaaggaagct 4200

gagttggctg ctgccaccgc tgagcaataa ctagcataac cccttggggc ctctaaacgg 4260

gtcttgaggg gttttttgct gaaaggagga actatatccg gatctggcgt aatagcgaag 4320

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc 4380

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 4440

ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4500

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgctt 4560

tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4620

cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4680

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta ttcttttgat ttataaggga 4740

ttttgccgat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4800

attttaacaa aatattaacg cttacaattt aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg 4860

aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata 4920

accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg 4980

tgtcgcccct attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac 5040

gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact 5100

ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat 5160

gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga 5220

gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac 5280

agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat 5340

gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac 5400

cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct 5460

gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac 5520

gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga 5580

ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg 5640

gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact 5700

ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac 5760

tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcactgatta agcattggta 5820

actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt 5880

taaaaggatc taggtgaaga tccttttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga 5940

gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc 6000

ttttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt 6060

ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc 6120

gcagatacca aatactgttc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc 6180

tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg 6240

cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg 6300

gtcgggctga acgggggttt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga 6360

actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc 6420

ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg 6480

gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg 6540

atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt 6600

tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc 6660

tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg 6720

aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc 6780

gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcag 6816

<210> 13
<211> 1314
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 13

Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asn Asp
1 5 10 15

Thr Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Tyr Cys Lys Gly Leu Asp Ile Tyr
20 25 30

Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Val Pro Glu Arg
35 40 45

Tyr Glu Phe Gly Thr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Pro Pro Ser Ser Leu
50 55 60

Ile Glu Gly Ala Ser Glu Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Arg Thr Asp
65 70 75 80

Ser Asp Lys Asp Arg Phe Leu Gln Thr Met Val Lys Leu Phe Asn Arg
85 90 95

```
Ile Lys Asn Asn Val Ala Gly Glu Ala Leu Leu Asp Lys Ile Ile Asn
            100                 105                 110

Ala Ile Pro Tyr Leu Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Leu Asp Lys Phe Asp
        115                 120                 125

Thr Asn Ser Asn Ser Val Ser Phe Asn Leu Leu Glu Gln Asp Pro Ser
    130                 135                 140

Gly Ala Thr Thr Lys Ser Ala Met Leu Thr Asn Leu Ile Ile Phe Gly
145                 150                 155                 160

Pro Gly Pro Val Leu Asn Lys Asn Glu Val Arg Gly Ile Val Leu Arg
                165                 170                 175

Val Asp Asn Lys Asn Tyr Phe Pro Cys Arg Asp Gly Phe Gly Ser Ile
            180                 185                 190

Met Gln Met Ala Phe Cys Pro Glu Tyr Val Pro Thr Phe Asp Asn Val
        195                 200                 205

Ile Glu Asn Ile Thr Ser Leu Thr Ile Gly Lys Ser Lys Tyr Phe Gln
    210                 215                 220

Asp Pro Ala Leu Leu Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly
225                 230                 235                 240

Leu Tyr Gly Met Gln Val Ser Ser His Glu Ile Ile Pro Ser Lys Gln
                245                 250                 255

Glu Ile Tyr Met Gln His Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Glu Glu Leu Phe
            260                 265                 270

Thr Phe Gly Gly Gln Asp Ala Asn Leu Ile Ser Ile Asp Ile Lys Asn
        275                 280                 285

Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Leu Asn Asp Tyr Lys Ala Ile Ala Asn Lys
```

290 295 300

Leu Ser Gln Val Thr Ser Cys Asn Asp Pro Asn Ile Asp Ile Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Lys Gln Ile Tyr Gln Gln Lys Tyr Gln Phe Asp Lys Asp Ser Asn
325 330 335

Gly Gln Tyr Ile Val Asn Glu Asp Lys Phe Gln Ile Leu Tyr Asn Ser
340 345 350

Ile Met Tyr Gly Phe Thr Glu Ile Glu Leu Gly Lys Lys Phe Asn Ile
355 360 365

Lys Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Ser Met Asn His Asp Pro Val Lys Ile
370 375 380

Pro Asn Leu Leu Asp Asp Thr Ile Tyr Asn Asp Thr Glu Gly Phe Asn
385 390 395 400

Ile Glu Ser Lys Asp Leu Lys Ser Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Met Arg
405 410 415

Val Asn Thr Asn Ala Phe Arg Asn Val Asp Gly Ser Gly Leu Val Ser
420 425 430

Lys Leu Ile Gly Leu Cys Lys Lys Ile Ile Pro Pro Thr Asn Ile Arg
435 440 445

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

Leu Cys Ile Lys Ile Lys Asn Glu Asp Leu Thr Phe Ile Ala Glu Lys
465 470 475 480

Asn Ser Phe Ser Glu Glu Pro Phe Gln Asp Glu Ile Val Ser Tyr Asn
485 490 495

Thr Lys Asn Lys Pro Leu Asn Phe Asn Tyr Ser Leu Asp Lys Ile Ile
500 505 510

Val Asp Tyr Asn Leu Gln Ser Lys Ile Thr Leu Pro Asn Asp Arg Thr
515 520 525

Thr Pro Val Thr Lys Gly Ile Pro Tyr Ala Pro Glu Tyr Lys Ser Asn
530 535 540

Ala Ala Ser Thr Ile Glu Ile His Asn Ile Asp Asp Asn Thr Ile Tyr
545 550 555 560

Gln Tyr Leu Tyr Ala Gln Lys Ser Pro Thr Thr Leu Gln Arg Ile Thr
565 570 575

Met Thr Asn Ser Val Asp Asp Ala Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr
580 585 590

Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Cys Lys Val Asn Gln Gly Ala Gln Gly
595 600 605

Ile Leu Phe Leu Gln Trp Val Arg Asp Ile Ile Asp Asp Phe Thr Asn
610 615 620

Glu Ser Ser Gln Lys Thr Thr Ile Asp Lys Ile Ser Asp Val Ser Thr
625 630 635 640

Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Val Lys Gln Gly Tyr
645 650 655

Glu Gly Asn Phe Ile Gly Ala Leu Glu Thr Thr Gly Val Val Leu Leu
660 665 670

Leu Glu Tyr Ile Pro Glu Ile Thr Leu Pro Val Ile Ala Ala Leu Ser
675 680 685

Ile Ala Glu Ser Ser Thr Gln Lys Glu Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp

690 695 700

Asn Phe Leu Glu Lys Arg Tyr Glu Lys Trp Ile Glu Val Tyr Lys Leu
705 710 715 720

Val Lys Ala Lys Trp Leu Gly Thr Val Asn Thr Gln Phe Gln Lys Arg
725 730 735

Ser Tyr Gln Met Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr Gln Val Asp Ala Ile Lys
740 745 750

Lys Ile Ile Asp Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr Ser Gly Pro Asp Lys Glu
755 760 765

Gln Ile Ala Asp Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Lys Leu Glu Glu Lys
770 775 780

Ala Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile Asn Ile Phe Met Arg Glu Ser Ser
785 790 795 800

Arg Ser Phe Leu Val Asn Gln Met Ile Asn Glu Ala Lys Lys Gln Leu
805 810 815

Leu Glu Phe Asp Thr Gln Ser Lys Asn Ile Leu Met Gln Tyr Ile Lys
820 825 830

Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Lys Lys Leu Glu Ser
835 840 845

Lys Ile Asn Lys Val Phe Ser Thr Pro Ile Pro Phe Ser Tyr Ser Lys
850 855 860

Asn Leu Asp Cys Trp Val Asp Asn Glu Glu Asp Ile Asp Val Ile Leu
865 870 875 880

Lys Lys Ser Thr Ile Leu Asn Leu Asp Ile Asn Asn Asp Ile Ile Ser
885 890 895

Asp Ile Ser Gly Phe Asn Ser Ser Val Ile Thr Tyr Pro Asp Ala Gln
900 905 910

Leu Val Pro Gly Ile Asn Gly Lys Ala Ile His Leu Val Asn Asn Glu
915 920 925

Ser Ser Glu Val Ile Val His Lys Ala Met Asp Ile Glu Tyr Asn Asp
930 935 940

Met Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val
945 950 955 960

Ser Ala Cys His Leu Glu Gln Tyr Gly Thr Asn Glu Tyr Ser Ile Ile
965 970 975

Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser Val
980 985 990

Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala Gly
995 1000 1005

Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg Asp Leu Pro Asp Lys Phe Asn
1010 1015 1020

Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe Ile Thr Ile Thr Asn Asp
1025 1030 1035

Arg Leu Cys Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn Gly Val Leu Met Gly
1040 1045 1050

Ser Ala Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg Glu Asp Asn Asn
1055 1060 1065

Ile Thr Leu Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr Val
1070 1075 1080

Ser Ile Asp Lys Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro Lys

1085 1090 1095

Glu Ile Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr
1115 1120 1125

Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn
1130 1135 1140

Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr Asn Ala Pro Cys Tyr Thr Asn
1145 1150 1155

Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg Leu Tyr Asn Gly Leu Lys
1160 1165 1170

Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Glu Ile Asp Cys Phe
1175 1180 1185

Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val Ser Tyr Asn Asn
1190 1195 1200

Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn Ala Phe Asn
1205 1210 1215

Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro Gly Ile
1220 1225 1230

Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu Lys
1235 1240 1245

Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
1250 1255 1260

Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro
1265 1270 1275

Asn Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu
1280 1285 1290

Lys Asp Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp
1295 1300 1305

Glu Gly Trp Thr Asn Asp
1310

<210> 14
<211> 6816
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼SEQ ID NO: 13之表面絲胺酸至半胱胺酸取代之成熟TeNT的載體pRSET-TeNT

<400> 14
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actatagggga gaccacaacg gtttccctct 60

agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgcggggttc tcatcatcat 120

catcatcatg gtatggctag catgactggt ggacagcaaa tgggtcggga tctgtacgac 180

gatgacgata aggatcgatg gggatccgag ctcgagccga tcaccatcaa caacttccgt 240

tactctgacc cggttaacaa cgacaccatc atcatgatgg aaccgccgta ctgcaaaggt 300

ctggacatct actacaaagc gttcaaaatc accgaccgta tctggatcgt tccggaacgt 360

tacgaattcg gtaccaaacc ggaagacttc aacccgccgt cttctctgat cgaaggtgcg 420

tctgaatact acgacccgaa ctacctgcgt accgactctg acaaagaccg tttcctgcag 480

accatggtta aactgttcaa ccgtatcaaa aacaacgttg cgggtgaagc gctgctggac 540

aaaatcatca acgcgatccc gtacctgggt aactcttact ctctgctgga caaattcgac 600

accaactcta actctgtttc tttcaacctg ctggaacagg acccgtctgg tgcgaccacc 660

aaatctgcga tgctgaccaa cctgatcatc ttcggtccgg gtccggttct gaacaaaaac 720

gaagttcgtg gtatcgttct gcgtgttgac aacaaaaact acttcccgtg ccgtgacggt 780

ttcggttcta tcatgcagat ggcgttctgc ccggaatacg ttccgacctt cgacaacgtt 840

atcgaaaaca tcacctctct gaccatcggt aaatctaaat acttccagga cccggcgctg 900

ctgctgatgc acgaactgat ccacgttctg cacggtctgt acggtatgca ggtttcttct 960

cacgaaatca tcccgtctaa acaggaaatc tacatgcagc acacctaccc gatctctgcg 1020

gaagaactgt tcaccttcgg tggtcaggac gcgaacctga tctctatcga catcaaaaac 1080

gacctgtacg aaaaaaccct gaacgactac aaagcgatcg cgaacaaact gtctcaggtt 1140

acctcttgca acgacccgaa catcgacatc gactcttaca aacagatcta ccagcagaaa 1200

taccagttcg acaaagactc taacggtcag tacatcgtta acgaagacaa attccagatc 1260

ctgtacaact ctatcatgta cggtttcacc gaaatcgaac tgggtaaaaa attcaacatc 1320

aaaacccgtc tgtcttactt ctctatgaac cacgacccgg ttaaaatccc gaacctgctg 1380

gacgacacca tctacaacga caccgaaggt ttcaacatcg aatctaaaga cctgaaatct 1440

gaatacaaag gtcagaacat gcgtgttaac accaacgcgt tccgtaacgt tgacggttct 1500

ggtctggttt ctaaactgat cggtctgtgc aaaaaaatca tcccgccgac caacatccgt 1560

gaaaacctgt acaaccgtac cgcgtctctg accgacctgg gtggtgaact gtgcatcaaa 1620

atcaaaaacg aagacctgac cttcatcgcg gaaaaaaact ctttctctga agaaccgttc 1680

caggacgaaa tcgtttctta caacaccaaa aacaaaccgc tgaacttcaa ctactctctg 1740

gacaaaatca tcgttgacta caacctgcag tctaaaatca ccctgccgaa cgaccgtacc 1800

accccggtta ccaaaggtat cccgtacgcg ccggaataca aatctaacgc ggcgtctacc 1860

atcgaaatcc acaacatcga cgacaacacc atctaccagt acctgtacgc gcagaaatct 1920

ccgaccaccc tgcagcgtat caccatgacc aactctgttg acgacgcgct gatcaactct 1980

accaaaatct actcttactt cccgtctgtt atctgcaaag ttaaccaggg tgcgcagggt 2040

atcctgttcc tgcagtgggt tcgtgacatc atcgacgact tcaccaacga atcttctcag 2100

aaaaccacca tcgacaaaat ctctgacgtt tctaccatcg ttccgtacat cggtccggcg 2160

ctgaacatcg ttaaacaggg ttacgaaggt aacttcatcg gtgcgctgga aaccaccggt 2220

gttgttctgc tgctggaata catcccggaa atcaccctgc cggttatcgc ggcgctgtct 2280

atcgcggaat cttctaccca gaaagaaaaa atcatcaaaa ccatcgacaa cttcctggaa 2340

aaacgttacg aaaaatggat cgaagtttac aaactggtta aagcgaaatg gctgggtacc 2400

gttaacaccc agttccagaa acgttcttac cagatgtacc gttctctgga ataccaggtt 2460

gacgcgatca aaaaaatcat cgactacgaa tacaaaatct actctggtcc ggacaaagaa 2520

cagatcgcgg acgaaatcaa caacctgaaa aacaaactgg aagaaaaagc gaacaaagcg 2580

atgatcaaca tcaacatctt catgcgtgaa tcttctcgtt ctttcctggt taaccagatg 2640

atcaacgaag cgaaaaaaca gctgctggaa ttcgacaccc agtctaaaaa catcctgatg 2700

cagtacatca aagcgaactc taaattcatc ggtatcaccg aactgaaaaa actggaatct 2760

aaaatcaaca aagttttctc taccccgatc ccgttctctt actctaaaaa cctggactgc 2820

tgggttgaca acgaagaaga catcgacgtt atcctgaaaa aatctaccat cctgaacctg 2880

gacatcaaca acgacatcat ctctgacatc tctggtttca actcttctgt tatcacctac 2940

ccggacgcgc agctggttcc gggtatcaac ggtaaagcga tccacctggt taacaacgaa 3000

tcttctgaag ttatcgttca caaagcgatg gacatcgaat acaacgacat gttcaacaac 3060

ttcaccgttt ctttctggct gcgtgttccg aaagtttctg cgtgccacct ggaacagtac 3120

ggtaccaacg aatactctat catctcttct atgaaaaaac actctctgtc tatcggttct 3180

ggttggtctg tttctctgaa aggtaacaac ctgatctgga ccctgaaaga ctctgcgggt 3240

gaagttcgtc agatcacctt ccgtgacctg ccggacaaat tcaacgcgta cctggcgaac 3300

aaatgggttt tcatcaccat caccaacgac cgtctgtgct ctgcgaacct gtacatcaac 3360

ggtgttctga tgggttctgc ggaaatcacc ggtctgggtg cgatccgtga agacaacaac 3420

atcaccctga aactggaccg ttgcaacaac aacaaccagt acgtttctat cgacaaattc 3480

cgtatcttct gcaaagcgct gaacccgaaa gaaatcgaaa aactgtacac ctcttacctg 3540

tctatcacct tcctgcgtga cttctggggt aacccgctgc gttacgacac cgaatactac 3600

ctgatcccgg ttgcgtcttc ttctaaagac gttcagctga aaaacatcac cgactacatg 3660

tacctgacca acgcgccgtg ctacaccaac ggtaaactga acatctacta ccgtcgtctg 3720

tacaacggtc tgaaattcat catcaaacgt tacaccccga acaacgaaat cgactgcttc 3780

gttaaatctg gtgacttcat caaactgtac gtttcttaca acaacaacga acacatcgtt 3840

ggttacccga aagacggtaa cgcgttcaac aacctggacc gtatcctgcg tgttggttac 3900

aacgcgccgg gtatcccgct gtacaaaaaa atggaagcgg ttaaactgcg tgacctgaaa 3960

acctactctg ttcagctgaa actgtacgac gacaaaaacg cgtctctggg tctggttggt 4020

acccacaacg gtcagatcgg taacgacccg aaccgtgaca tcctgatcgc gtctaactgg 4080

tacttcaacc acctgaaaga caaaatcctg ggttgcgact ggtacttcgt tccgaccgac 4140

gaaggttgga ccaacgacta aaagcttgat ccggctgcta acaaagcccg aaaggaagct 4200

gagttggctg ctgccaccgc tgagcaataa ctagcataac cccttggggc ctctaaacgg 4260

gtcttgaggg gttttttgct gaaaggagga actatatccg gatctggcgt aatagcgaag 4320

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc 4380

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 4440

ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4500

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgctt 4560

tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4620

cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4680

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta ttcttttgat ttataaggga 4740

ttttgccgat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4800

attttaacaa aatattaacg cttacaattt aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg 4860

aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata 4920

accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg 4980

tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac 5040

gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact 5100

ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat 5160

gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga 5220

gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac 5280

agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat 5340

gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac 5400

cgctttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct 5460

gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac 5520

gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga 5580

ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg 5640

gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact 5700

ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac 5760

tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcactgatta agcattggta 5820

actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt 5880

taaaaggatc taggtgaaga tccttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga 5940

gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc 6000

ttttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt 6060

ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc 6120

gcagatacca aatactgttc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc 6180

tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg 6240

cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg 6300

gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga 6360

actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc 6420

ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg 6480

gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg 6540

atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt 6600

tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc 6660

tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg 6720

aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc 6780

gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcag 6816

202142262

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種破傷風神經毒素（TeNT）綴合物，其包含經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分的TeNT。

【請求項2】如請求項1之破傷風神經毒素綴合物，其中該掩蔽部分包含PEG及/或掩蔽多肽。

【請求項3】一種破傷風神經毒素（TeNT）綴合物，其包含綴合至至少一個掩蔽部分之TeNT，該掩蔽部分包含掩蔽多肽。

【請求項4】如請求項3之破傷風神經毒素綴合物，其經由酸不穩定鍵聯綴合至至少一個掩蔽部分。

【請求項5】如請求項1至4中任一項之破傷風神經毒素綴合物，其中該掩蔽部分綴合至該TeNT之離胺酸或半胱胺酸殘基。

【請求項6】如請求項5之破傷風神經毒素綴合物，其中半胱胺酸係引入之胺基酸。

【請求項7】如請求項1至6中任一項之破傷風神經毒素綴合物，其中該破傷風神經毒素包含由SEQ ID NO: 1表示之胺基酸序列。

【請求項8】如請求項7之破傷風神經毒素綴合物，其中所引入之半胱胺酸係相對於SEQ ID NO: 1之絲胺酸至半胱胺酸胺基酸取代。

【請求項9】如請求項1、2或4至7中任一項之破傷風神經毒素綴合物，其中該酸不穩定鍵聯包含腙。

【請求項10】一種組成物，其包含如請求項1至9中任一項之破傷風神經毒素綴合物。

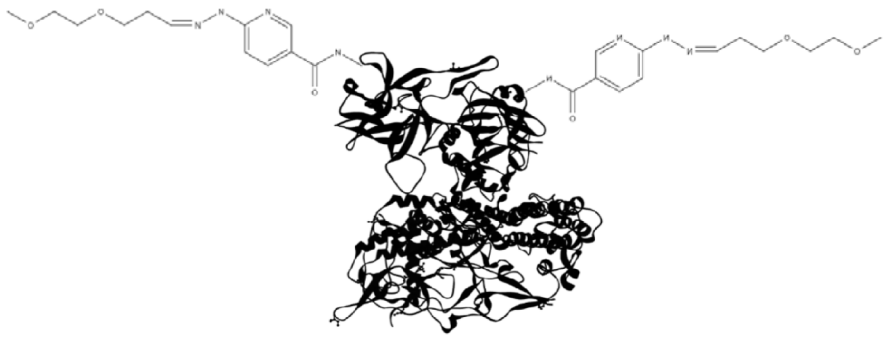
【請求項11】一種治療個體之低張症的方法，其包含投予如請求項1至9中任一項之破傷風神經毒素綴合物或如請求項10之組成物。

【請求項12】一種增強個體之肌肉力量及/或肌肉張力及/或肌肉癒合及/或運

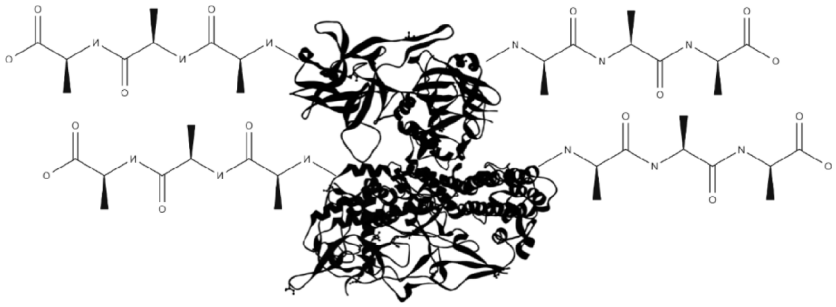
動表現的方法，其包含投予如請求項1至9中任一項之破傷風神經毒素綴合物或如請求項10之組成物。

【發明圖式】

A.



B.



C.

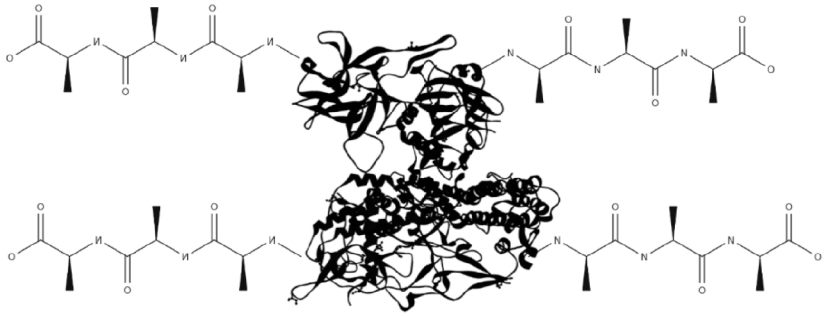
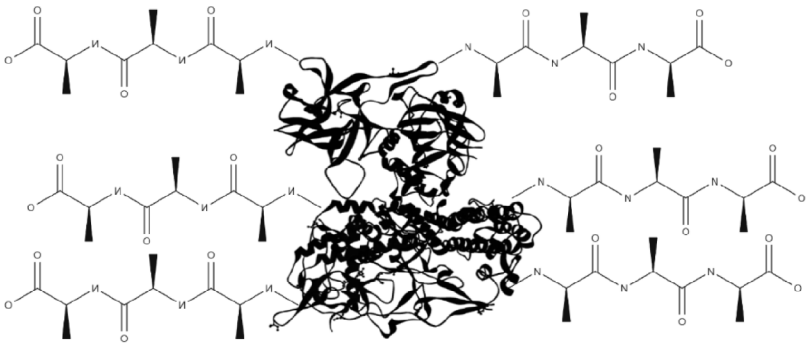
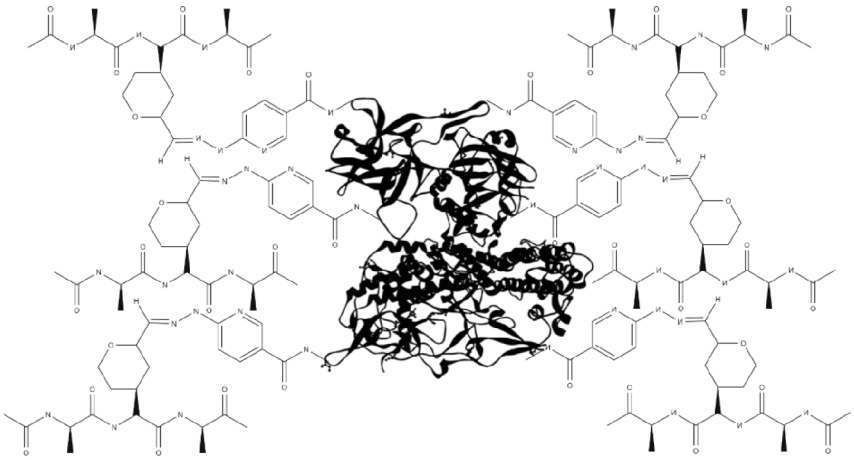


圖1（接下頁）

D.



E.



F.

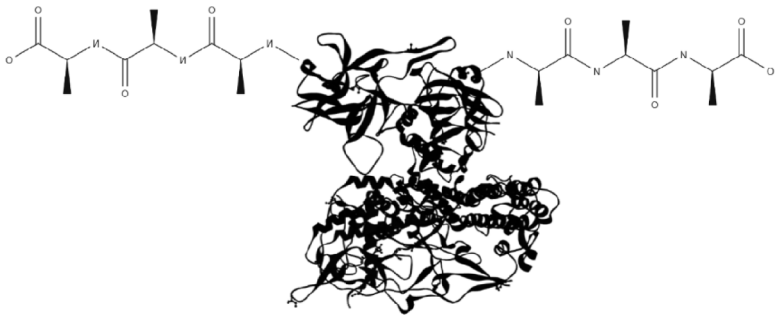
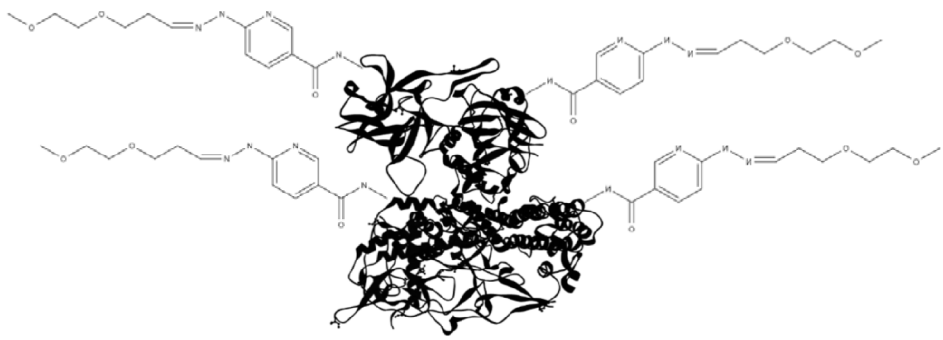
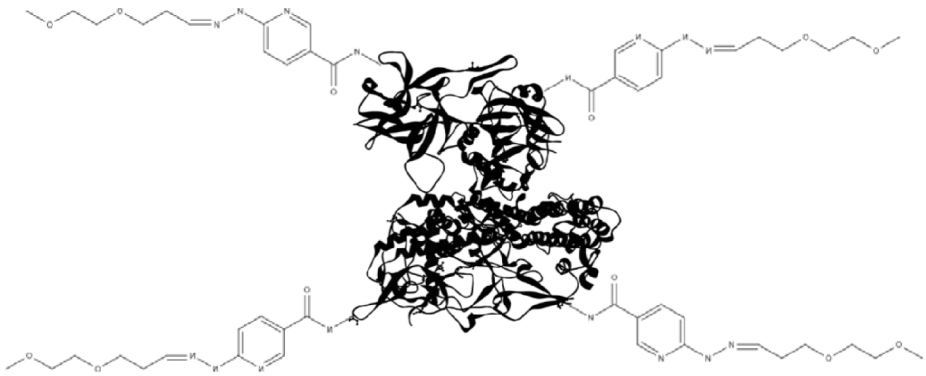


圖1（接下頁）

G.



H.



I.

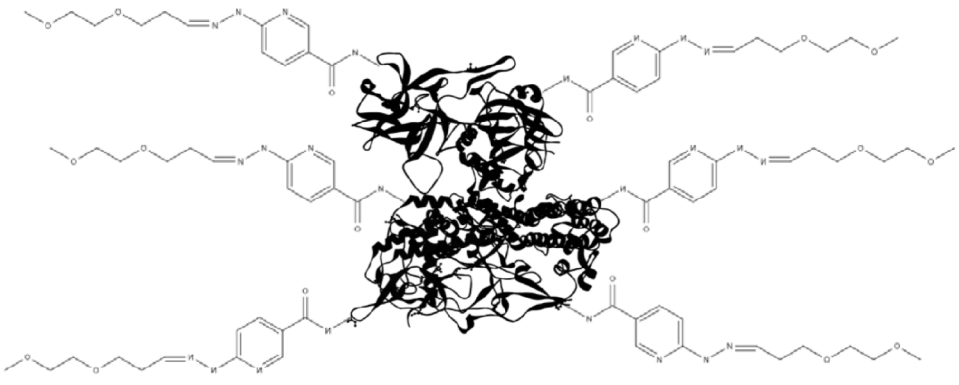


圖1

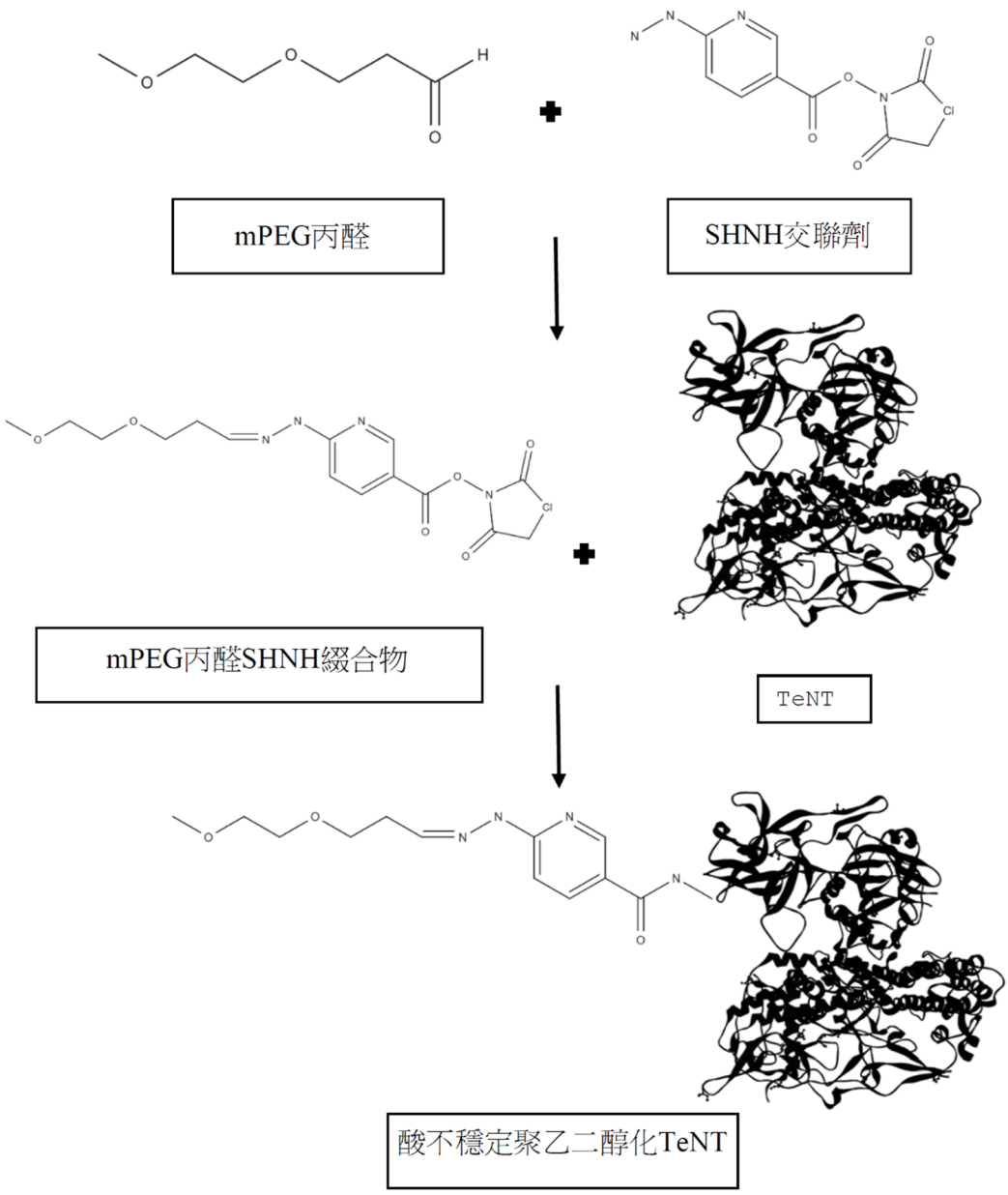


圖2

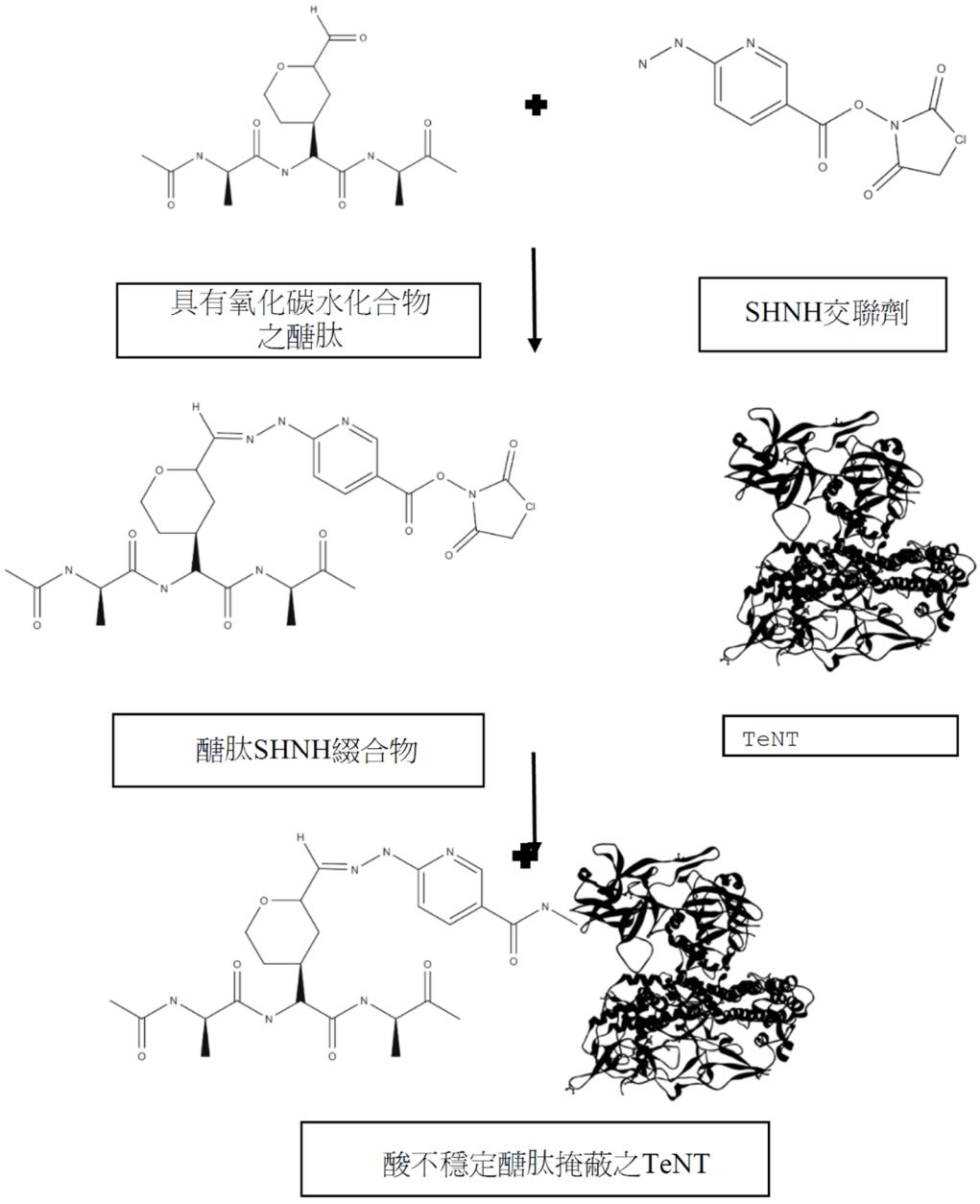


圖3

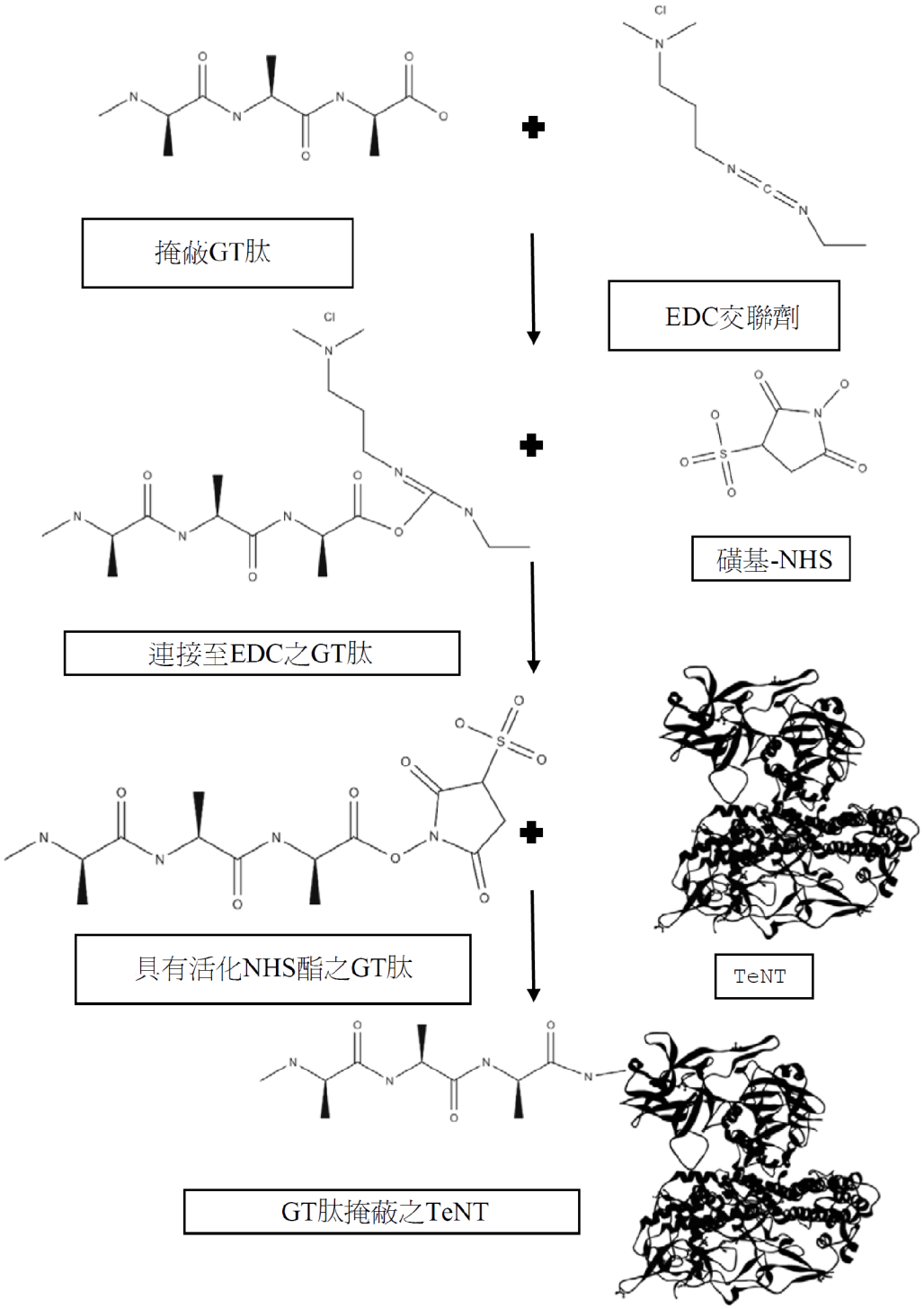

掩蔽GT肽
EDC交聯劑
磺基-NHS
連接至EDC之GT肽
具有活化NHS酯之GT肽
TeNT
GT肽掩蔽之TeNT

圖4

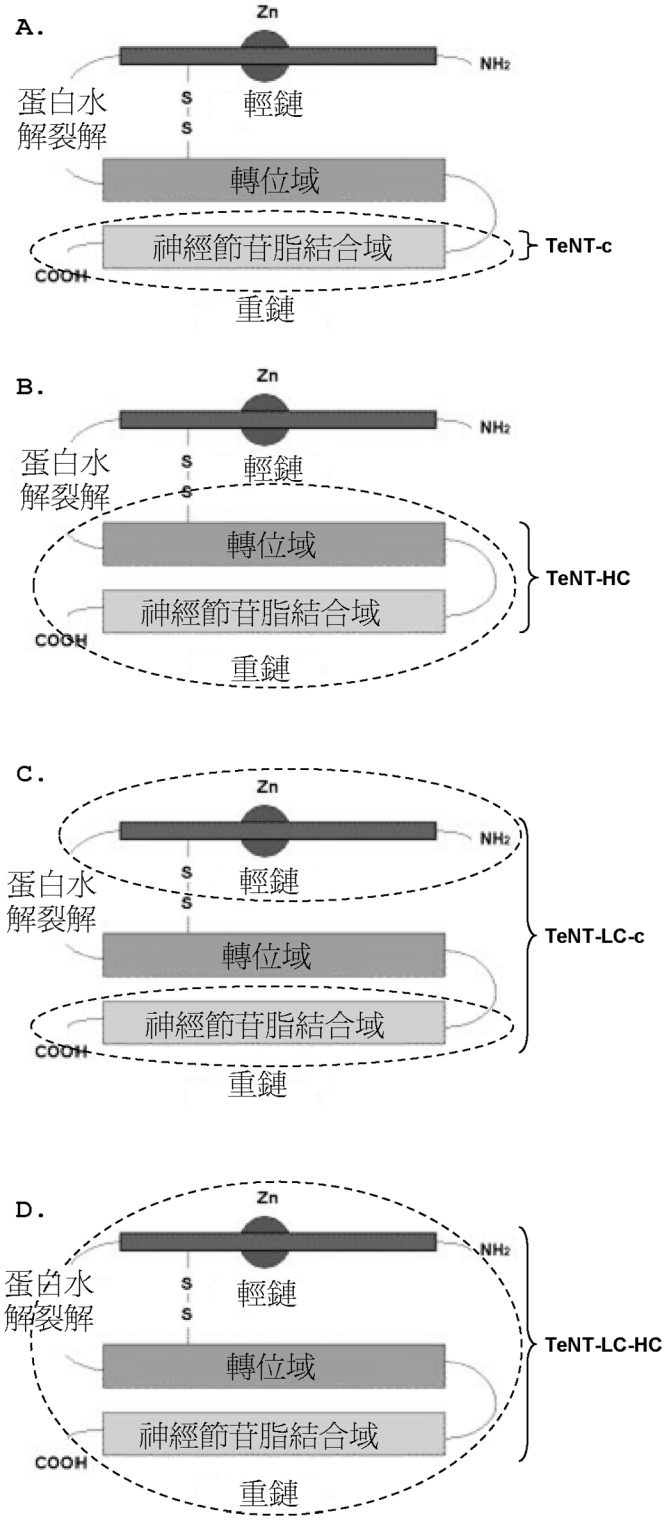

A.
Zn
NH2
蛋白水解裂解
S
S
輕鏈
轉位域
神經節苷脂結合域
TeNT-c
COOH
重鏈
B.
Zn
NH2
蛋白水解裂解
S
S
輕鏈
轉位域
神經節苷脂結合域
TeNT-HC
COOH
重鏈
C.
Zn
NH2
蛋白水解裂解
S
S
輕鏈
轉位域
神經節苷脂結合域
TeNT-LC-c
COOH
重鏈
D.
Zn
NH2
蛋白水解裂解
S
S
輕鏈
轉位域
神經節苷脂結合域
TeNT-LC-HC
COOH
重鏈

圖5

PITINNFRYS DPVNNDTIIM MEPPYCKGLD IYYKAFKITD RIWIVPERYE FGTKPEDFNP
PSSLIEGASE YYDPNYLRTD SDKDRFLQTM VKLFNRIKNN VAGEALLDKI INAIPYLGNS
YSLLDKFDTN SNSVSFNLLE QDPSGATTKS AMLTNLIIFG PGPVLNKNEV RGIVLRVDNK
NYFPCRDGFG SIMQMAFCPE YVPTFDNVIE NITSLTIGKS KYFQDPALLL MHELIHVLHG
LYGMQVSSHE IIPSKQEIYM QHTYPISAEE LFTFGGQDAN LISIDIKNDL YEKTLNDYKA
IANKLSQVTS CNDPNIDIDS YKQIYQQKYQ FDKDSNGQYI VNEDKFQILY NSIMYGFTEI
ELGKKFNIKT RLSYFSMNHD PVKIPNLLDD TIYNDTEGFN IESKDLKSEY KGQNMRVNTN
AFRNVDGSGL VSKLIGLCKK IIPPTNIREN LYNRTASLTD LGGELCIKIK NEDLTFIAEK
NSFSEEPFQD EIVSYNTKNK PLNFNYSLDK IIVDYNLQSK ITLPNDRTTP VTKGIPYAPE
YKSNAASTIE IHNIDDNTIY QYLYAQKSPT TLQRITMTNS VDDALINSTK IYSYFPSVIS
KVNQGAQGIL FLQWVRDIID DFTNESSQKT TIDKISDVST IVPYIGPALN IVKQGYEGNF
IGALETTGVV LLLEYIPEIT LPVIAALSIA ESSTQKEKII KTIDNFLEKR YEKWIEVYKL
VKAKWLGTVN TQFQKRSYQM YRSLEYQVDA IKKIIDYEYK IYSGPDKEQI ADEINNLKNK
LEEKANKAMI NINIFMRESS RSFLVNQMIN EAKKQLLEFD TQSKNILMQY IKANSKFIGI
TELKKLESKI NKVFSTPIPF SYSKNLDCWV DNEEDIDVIL KKSTILNLDI NNDIISDISG
FNSSVITYPD AQLVPGINGK AIHLVNNESS EVIVHKAMDI EYNDMFNNFT VSFWLRVPKV
SASHLEQYGT NEYSIISSMK KHSLSIGSGW SVSLKGNNLI WTLKDSAGEV RQITFRDLPD
KFNAYLANKW VFITITNDRL SSANLYINGV LMGSAEITGL GAIREDNNIT LKLDRCNNNN
QYVSIDKFRI FCKALNPKEI EKLYTSYLSI TFLRDFWGNP LRYDTEYYLI PVASSSKDVQ
LKNITDYMYL TNAPSYTNGK LNIYYRRLYN GLKFIIKRYT PNNEIDSFVK SGDFIKLYVS
YNNNEHIVGY PKDGNAFNNL DRILRVGYNA PGIPLYKKME AVKLRDLKTY SVQLKLYDDK
NASLGLVGTH NGQIGNDPNR DILIASNWYF NHLKDKILGC DWYFVPTDEG WTND

SEQ ID NO: 1.

圖6

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGT
GGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGGGATCCGAGCTCGAGCCGATTACC
ATCAATAATTTTCGTTATTCAGATCCGGTGAATAATGATACCATCATCATGATGGAACCACCGTACTGTAAAGGG
CTGGATATTTATTATAAAGCGTTCAAAATCACCGACCGCATCTGGATCGTGCCGGAACGCTACGAATTCGGCACC
AAACCGGAAGATTTTAATCCGCCGAGTAGTCTGATCGAAGGTGCATCGGAATACTACGATCCGAATTATCTGCGT
ACTGACTCTGATAAAGATCGCTTTCTGCAAACGATGGTAAAACTGTTCAATCGTATCAAAAACAATGTAGCAGGC
GAAGCCCTGCTGGATAAAATCATCAACGCCATTCCGTATCTGGGAAACAGTTATTCTCTGCTGGATAAATTCGAT
ACAAACTCGAACTCTGTGTCATTCAACCTGCTGGAACAGGACCCGAGCGGCGCGACCACTAAGAGTGCGATGCTG
ACTAACCTGATTATTTTCGGTCCGGGACCGGTACTGAATAAAAATGAAGTTCGCGGCATTGTACTGCGTGTCGAT
AATAAAAACTATTTCCCATGTCGTGATGGCTTCGGCAGCATCATGCAGATGGCCTTTTGTCCGGAATATGTGCCA
ACTTTCGATAATGTGATTGAGAACATCACCTCTCTGACGATTGGTAAAAGTAAATATTTCCAGGATCCGGCTCTG
CTGCTGATGCATGAACTGATCCATGTTCTGCATGGCCTGTATGGCATGCAGGTTTCATCCCACGAAATTATCCCA
TCCAAACAGGAAATTTACATGCAGCATACATATCCGATTAGTGCCGAAGAACTGTTCACTTTTGGCGGCCAGGAT
GCGAACCTGATTTCGATTGACATTAAAAACGATCTGTATGAAAAAACTCTGAACGATTATAAAGCGATTGCCAAC
AAACTGTCTCAGGTAACCTCCTGTAACGATCCGAATATTGATATTGACAGTTATAAACAAATTTATCAGCAGAAG
TATCAGTTCGATAAAGACTCTAATGGCCAGTATATTGTTAACGAAGATAAATTCCAGATTCTGTACAATAGCATT
ATGTATGGCTTTACTGAGATCGAACTGGGTAAAAAATTTAACATCAAGACTCGTCTGAGCTATTTTAGCATGAAT
CATGATCCAGTGAAAATCCCGAATCTGCTGGATGATACGATTTATAATGATACCGAAGGATTTAACATCGAAAGC
AAGGATCTGAAATCCGAATATAAAGGGCAGAACATGCGCGTTAATACCAATGCATTTCGCAATGTTGATGGTTCA
GGCCTGGTGTCGAAACTGATTGGGCTGTGTAAGAAAATCATTCCACCGACAAATATTCGCGAAAATCTGTACAAC
CGTACGGCGAGCCTGACCGATCTGGGGGGAGAACTGTGTATTAAAATCAAAAATGAAGATCTGACCTTCATTGCT
GAGAAGAATAGCTTTTCCGAAGAGCCATTCCAGGACGAAATCGTGTCTTATAACACCAAGAATAAACCGCTGAAT
TTCAACTACTCCCTGGACAAAATCATTGTGGATTACAACCTGCAGAGTAAAATTACCCTGCCGAATGATCGTACC
ACCCCGGTGACGAAAGGCATCCCTTACGCACCAGAATATAAATCAAATGCAGCCTCGACTATCGAGATCCATAAT
ATTGATGACAACACTATTTACCAGTACCTGTATGCTCAGAAATCTCCGACGACGCTGCAGCGCATCACCATGACT
AACAGCGTGGACGATGCCCTGATTAATAGCACCAAAATCTACTCTTACTTTCCGTCGGTGATCTCTAAGGTTAAT
CAGGGCGCGCAAGGTATCCTGTTTCTGCAATGGGTGCGTGATATTATTGATGATTTCACTAATGAATCTAGCCAG
AAAACGACAATTGATAAAATTTCGGATGTTTCCACCATCGTGCCTTACATCGGCCCAGCGCTGAACATCGTGAAG
CAGGGTTATGAGGGTAACTTTATCGGAGCACTGGAAACGACCGGCGTGGTTCTGCTGCTGGAATATATTCCGGAG
ATTACTCTGCCAGTTATTGCGGCTCTGTCGATTGCAGAGAGCTCAACGCAGAAAGAAAAAATTATTAAGACGATC
GACAATTTCCTGGAAAAGCGCTACGAAAAATGGATCGAAGTGTATAAGCTGGTGAAAGCGAAATGGCTGGGGACC
GTGAACACCCAGTTCCAAAAACGTTCCTATCAAATGTATCGTAGCCTGGAATATCAGGTGGACGCCATTAAAAAG
ATCATCGATTACGAATATAAGATCTACTCCGGTCCGGACAAAGAACAGATTGCGGACGAAATTAACAATCTGAAA

SEQ ID NO: 2.

圖7（接下頁）

AATAAACTGGAGGAAAAAGCCAACAAAGCGATGATTAATATCAATATTTTCATGCGTGAAAGCAGCCGTAGCTTC
CTGGTCAATCAGATGATTAATGAAGCGAAGAAACAACTGCTGGAATTTGATACGCAATCTAAAAATATTCTGATG
CAATACATCAAAGCCAATTCTAAATTTATTGGGATCACGGAACTGAAAAAGCTGGAATCGAAAATCAATAAAGTC
TTTAGCACCCCGATTCCGTTCTCCTACTCGAAAAATCTGGATTGTTGGGTTGACAATGAAGAAGATATTGATGTT
ATTCTGAAAAAGAGCACGATCCTGAACCTGGATATTAATAACGATATTATCTCTGATATCAGTGGTTTTAATTCA
TCAGTTATTACTTACCCAGACGCTCAACTGGTGCCGGGAATCAATGGGAAAGCCATTCATCTGGTGAATAATGAA
TCAAGTGAAGTGATCGTGCATAAAGCGATGGATATCGAGTACAACGATATGTTTAATAATTTCACGGTGTCGTTC
TGGCTGCGTGTTCCGAAAGTGAGTGCCTCCCACCTGGAACAATATGGAACCAACGAATACTCAATCATTAGCAGC
ATGAAGAAACATTCGCTGAGTATTGGTTCAGGTTGGAGCGTTTCCCTGAAAGGGAACAATCTGATCTGGACACTG
AAGGACTCAGCGGGCGAAGTGCGTCAGATTACGTTTCGTGATCTGCCGGATAAATTTAATGCATACCTGGCTAAC
AAATGGGTGTTCATCACAATCACCAATGACCGTCTGTCGTCTGCAAACCTGTATATTAATGGGGTACTGATGGGC
TCGGCAGAAATTACAGGGCTGGGCGCCATTCGTGAAGATAACAATATTACGCTGAAACTGGATCGTTGTAATAAC
AATAATCAGTATGTGAGCATTGATAAATTTCGTATTTTCTGCAAAGCGCTGAACCCGAAAGAAATTGAAAAACTG
TATACCTCGTATCTGTCAATTACGTTTCTGCGCGATTTCTGGGGAAACCCGCTGCGTTACGATACGGAATACTAC
CTGATCCCGGTAGCCAGTTCTAGTAAAGACGTTCAACTGAAAAATATTACCGACTACATGTATCTGACAAACGCT
CCATCATACACAAACGGCAAACTGAACATCTATTACCGTCGCCTGTACAATGGGCTGAAATTCATCATTAAACGT
TATACCCCGAATAACGAAATTGATTCCTTTGTGAAGTCCGGTGACTTCATTAAGCTGTATGTATCCTATAACAAT
AATGAACACATCGTTGGCTATCCGAAGGATGGCAATGCCTTTAACAACCTGGATCGTATTCTGCGTGTAGGTTAC
AACGCCCCGGGTATTCCGCTGTATAAGAAAATGGAAGCAGTGAAACTGCGTGATCTGAAAACATATTCCGTGCAA
CTGAAGCTGTATGATGACAAAAATGCTAGCCTGGGTCTGGTAGGCACGCATAACGGTCAGATTGGAAACGATCCT
AATCGTGACATCCTGATCGCCTCTAACTGGTATTTTAACCACCTGAAAGATAAAATTCTGGGCTGCGATTGGTAT
TTTGTCCCTACCGATGAAGGCTGGACGAACGATTAAAAGCTTGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCT
GAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTT
TTGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGATCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGT
TGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCA
GCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCG
CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACC
CCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTT
TTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTT
ATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAA
AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTT
TGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACT
GGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT
TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCA
GAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAG
TGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAAC
CGCTTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACT
TACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC
CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
GGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAA
TAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACT
TTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAA
AATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
TTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA
AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGT
GGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCG
GTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGG
AACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCT
CTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTT
TTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAA
CCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA
GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG

SEQ ID NO: 2.

圖7

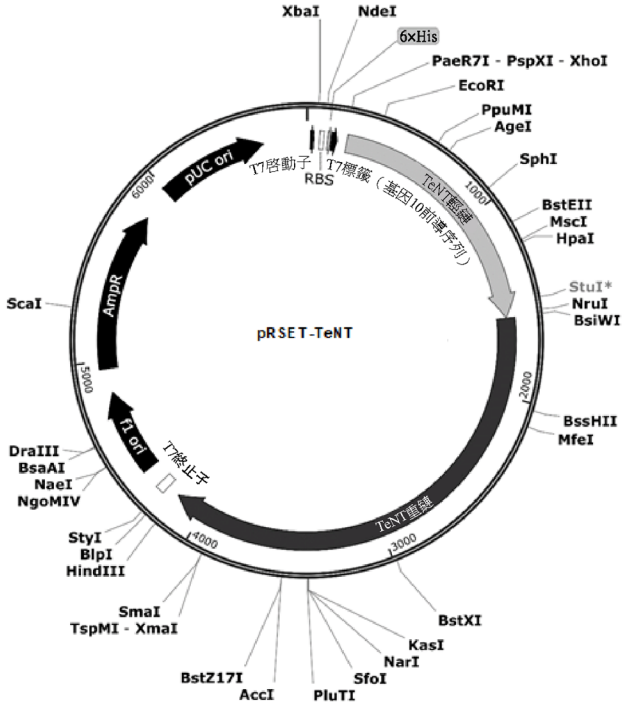


圖8

SLTDLG
GELCIKIKNE DLTFIAEKNS FSEEPFQDEI VSYNTKNKPL NFNYSLDKII VDYNLQSKIT
LPNDRTTPVT KGIPYAPEYK SNAASTIEIH NIDDNTIYQY LYAQKSPTTL QRITMTNSVD
DALINSTKIY SYFPSVISKV NQGAQGILFL QWVRDIIDDF TNESSQKTTI DKISDVSTIV
PYIGPALNIV KQGYEGNFIG ALETTGVVLL LEYIPEITLP VIAALSIAES STQKEKIIKT
IDNFLEKRYE KWIEVYKLVK AKWLGTVNTQ FQKRSYQMYR SLEYQVDAIK KIIDYEYKIY
SGPDKEQIAD EINNLKNKLE EKANKAMINI NIFMRESSRS FLVNQMINEA KKQLLEFDTQ
SKNILMQYIK ANSKFIGITE LKKLESKINK VFSTPIPFSY SKNLDCWVDN EEDIDVILKK
STILNLDINN DIISDISGFN SSVITYPDAQ LVPGINGKAI HLVNNESSEV IVHKAMDIEY
NDMFNNFTVS FWLRVPKVSA SHLEQYGTNE YSIISSMKKH SLSIGSGWSV SLKGNNLIWT
LKDSAGEVRQ ITFRDLPDKF NAYLANKWVF ITITNDRLSS ANLYINGVLM GSAEITGLGA
IREDNNITLK LDRCNNNNQY VSIDKFRIFC KALNPKEIEK LYTSYLSITF LRDFWGNPLR
YDTEYYLIPV ASSSKDVQLK NITDYMYLTN APSYTNGKLN IYYRRLYNGL KFIIKRYTPN
NEIDSFVKSG DFIKLYVSYN NNEHIVGYPK DGNAFNNLDR ILRVGYNAPG IPLYKKMEAV
KLRDLKTYSV QLKLYDDKNA SLGLVGTHNG QIGNDPNRDI LIASNWYFNH LKDKILGCDW
YFVPTDEGWT ND

SEQ ID NO: 3.

圖9

KNLDCWVDN EEDIDVILKK STILNLDINN DIISDISGFN SSVITYPDAQ LVPGINGKAI
HLVNNESSEV IVHKAMDIEY NDMFNNFTVS FWLRVPKVSA SHLEQYGTNE YSIISSMKKH
SLSIGSGWSV SLKGNNLIWT LKDSAGEVRQ ITFRDLPDKF NAYLANKWVF ITITNDRLSS
ANLYINGVLM GSAEITGLGA IREDNNITLK LDRCNNNNQY VSIDKFRIFC KALNPKEIEK
LYTSYLSITF LRDFWGNPLR YDTEYYLIPV ASSSKDVQLK NITDYMYLTN APSYTNGKLN
IYYRRLYNGL KFIIKRYTPN NEIDSFVKSG DFIKLYVSYN NNEHIVGYPK DGNAFNNLDR
ILRVGYNAPG IPLYKKMEAV KLRDLKTYSV QLKLYDDKNA SLGLVGTHNG QIGNDPNRDI
LIASNWYFNH LKDKILGCDW YFVPTDEGWT ND

SEQ ID NO: 4.

圖10

PITINNFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPEDFNPPSSLIEGASEYYDPN
YLRTDCDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIPYLGNCYSLLDKFDTNSNSVSFNLLEQDPCGATTKS
AMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVLRVDNKNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQD
PALLLMHELIHVLHGLYGMQVSCHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLNDYKA
IANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQQKYQFDKDCNGQYIVNEDKFQILYNSIMYGFTEIELGKKFNIKTRLSYF
SMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNMRVNTNAFRNVDGCGLVSKLIGLCKKIIPPTNIREN
LYNRTASLTDLGGELCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPN
DRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVIC
KVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLEY
IPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDA
IKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKN
ILMQYIKANSKFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDISG
FNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESSEVIVHKAMDIEYNDMFNNFTVSFWLRVPKVSACHLEQYGTNEYSI
ISSMKKHSLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITFRDLPDKFNAYLANKWVFITITNDRLCSANLYINGV
LMGSAEITGLGAIREDNNITLKLDRCNNNNQYVSIDKFRIFCKALNPKEIEKLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDT
EYYLIPVASSSKDVQLKNITDYMYLTNAPCYTNGKLNIYYRRLYNGLKFIIKRYTPNNEIDCFVKSGDFIKLYVS
YNNNEHIVGYPKDGNAFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQLKLYDDKNASLGLVGTHNGQIG
NDPNRDILIASNWYFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWTND

SEQ ID NO: 5.

圖11

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGT
GGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGGGATCCGAGCTCGAGCCGATCACC
ATCAACAACTTCCGTTACTCTGACCCGGTTAACAACGACACCATCATCATGATGGAACCGCCGTACTGCAAAGGT
CTGGACATCTACTACAAAGCGTTCAAAATCACCGACCGTATCTGGATCGTTCCGGAACGTTACGAATTCGGTACC
AAACCGGAAGACTTCAACCCGCCGTCTTCTCTGATCGAAGGTGCGTCTGAATACTACGACCCGAACTACCTGCGT
ACCGACTGCGACAAAGACCGTTTCCTGCAGACCATGGTTAAACTGTTCAACCGTATCAAAAACAACGTTGCGGGT
GAAGCGCTGCTGGACAAAATCATCAACGCGATCCCGTACCTGGGTAACTGCTACTCTCTGCTGGACAAATTCGAC
ACCAACTCTAACTCTGTTTCTTTCAACCTGCTGGAACAGGACCCGTGCGGTGCGACCACCAAATCTGCGATGCTG
ACCAACCTGATCATCTTCGGTCCGGGTCCGGTTCTGAACAAAAACGAAGTTCGTGGTATCGTTCTGCGTGTTGAC
AACAAAAACTACTTCCCGTGCCGTGACGGTTTCGGTTCTATCATGCAGATGGCGTTCTGCCCGGAATACGTTCCG
ACCTTCGACAACGTTATCGAAAACATCACCTCTCTGACCATCGGTAAATCTAAATACTTCCAGGACCCGGCGCTG
CTGCTGATGCACGAACTGATCCACGTTCTGCACGGTCTGTACGGTATGCAGGTTTCTTGCCACGAAATCATCCCG
TCTAAACAGGAAATCTACATGCAGCACACCTACCCGATCTCTGCGGAAGAACTGTTCACCTTCGGTGGTCAGGAC
GCGAACCTGATCTCTATCGACATCAAAAACGACCTGTACGAAAAAACCCTGAACGACTACAAAGCGATCGCGAAC
AAACTGTCTCAGGTTACCTCTTGCAACGACCCGAACATCGACATCGACTCTTACAAACAGATCTACCAGCAGAAA
TACCAGTTCGACAAAGACTGCAACGGTCAGTACATCGTTAACGAAGACAAATTCCAGATCCTGTACAACTCTATC
ATGTACGGTTTCACCGAAATCGAACTGGGTAAAAAATTCAACATCAAAACCCGTCTGTCTTACTTCTCTATGAAC
CACGACCCGGTTAAAATCCCGAACCTGCTGGACGACACCATCTACAACGACACCGAAGGTTTCAACATCGAATCT
AAAGACCTGAAATCTGAATACAAAGGTCAGAACATGCGTGTTAACACCAACGCGTTCCGTAACGTTGACGGTTGC
GGTCTGGTTTCTAAACTGATCGGTCTGTGCAAAAAAATCATCCCGCCGACCAACATCCGTGAAAACCTGTACAAC
CGTACCGCGTCTCTGACCGACCTGGGTGGTGAACTGTGCATCAAAATCAAAAACGAAGACCTGACCTTCATCGCG
GAAAAAAACTCTTTCTCTGAAGAACCGTTCCAGGACGAAATCGTTTCTTACAACACCAAAAACAAACCGCTGAAC
TTCAACTACTCTCTGGACAAAATCATCGTTGACTACAACCTGCAGTCTAAAATCACCCTGCCGAACGACCGTACC
ACCCCGGTTACCAAAGGTATCCCGTACGCGCCGGAATACAAATCTAACGCGGCGTCTACCATCGAAATCCACAAC
ATCGACGACAACACCATCTACCAGTACCTGTACGCGCAGAAATCTCCGACCACCCTGCAGCGTATCACCATGACC
AACTCTGTTGACGACGCGCTGATCAACTCTACCAAAATCTACTCTTACTTCCCGTCTGTTATCTGCAAAGTTAAC
CAGGGTGCGCAGGGTATCCTGTTCCTGCAGTGGGTTCGTGACATCATCGACGACTTCACCAACGAATCTTCTCAG
AAAACCACCATCGACAAAATCTCTGACGTTTCTACCATCGTTCCGTACATCGGTCCGGCGCTGAACATCGTTAAA
CAGGGTTACGAAGGTAACTTCATCGGTGCGCTGGAAACCACCGGTGTTGTTCTGCTGCTGGAATACATCCCGGAA
ATCACCCTGCCGGTTATCGCGGCGCTGTCTATCGCGGAATCTTCTACCCAGAAAGAAAAAATCATCAAAACCATC
GACAACTTCCTGGAAAAACGTTACGAAAAATGGATCGAAGTTTACAAACTGGTTAAAGCGAAATGGCTGGGTACC
GTTAACACCCAGTTCCAGAAACGTTCTTACCAGATGTACCGTTCTCTGGAATACCAGGTTGACGCGATCAAAAAA
ATCATCGACTACGAATACAAAATCTACTCTGGTCCGGACAAAGAACAGATCGCGGACGAAATCAACAACCTGAAA
AACAAACTGGAAGAAAAAGCGAACAAAGCGATGATCAACATCAACATCTTCATGCGTGAATCTTCTCGTTCTTTC
CTGGTTAACCAGATGATCAACGAAGCGAAAAAACAGCTGCTGGAATTCGACACCCAGTCTAAAAACATCCTGATG
CAGTACATCAAAGCGAACTCTAAATTCATCGGTATCACCGAACTGAAAAAACTGGAATCTAAAATCAACAAAGTT
TTCTCTACCCCGATCCCGTTCTCTTACTCTAAAAACCTGGACTGCTGGGTTGACAACGAAGAAGACATCGACGTT
ATCCTGAAAAAATCTACCATCCTGAACCTGGACATCAACAACGACATCATCTCTGACATCTCTGGTTTCAACTCT

SEQ ID NO: 6.

圖12（接下頁）

TCTGTTATCACCTACCCGGACGCGCAGCTGGTTCCGGGTATCAACGGTAAAGCGATCCACCTGGTTAACAACGAA
TCTTCTGAAGTTATCGTTCACAAAGCGATGGACATCGAATACAACGACATGTTCAACAACTTCACCGTTTCTTTC
TGGCTGCGTGTTCCGAAAGTTTCTGCGTGCCACCTGGAACAGTACGGTACCAACGAATACTCTATCATCTCTTCT
ATGAAAAAACACTCTCTGTCTATCGGTTCTGGTTGGTCTGTTTCTCTGAAAGGTAACAACCTGATCTGGACCCTG
AAAGACTCTGCGGGTGAAGTTCGTCAGATCACCTTCCGTGACCTGCCGGACAAATTCAACGCGTACCTGGCGAAC
AAATGGGTTTTCATCACCATCACCAACGACCGTCTGTGCTCTGCGAACCTGTACATCAACGGTGTTCTGATGGGT
TCTGCGGAAATCACCGGTCTGGGTGCGATCCGTGAAGACAACAACATCACCCTGAAACTGGACCGTTGCAACAAC
AACAACCAGTACGTTTCTATCGACAAATTCCGTATCTTCTGCAAAGCGCTGAACCCGAAAGAAATCGAAAAACTG
TACACCTCTTACCTGTCTATCACCTTCCTGCGTGACTTCTGGGGTAACCCGCTGCGTTACGACACCGAATACTAC
CTGATCCCGGTTGCGTCTTCTTCTAAAGACGTTCAGCTGAAAAACATCACCGACTACATGTACCTGACCAACGCG
CCGTGCTACACCAACGGTAAACTGAACATCTACTACCGTCGTCTGTACAACGGTCTGAAATTCATCATCAAACGT
TACACCCCGAACAACGAAATCGACTGCTTCGTTAAATCTGGTGACTTCATCAAACTGTACGTTTCTTACAACAAC
AACGAACACATCGTTGGTTACCCGAAAGACGGTAACGCGTTCAACAACCTGGACCGTATCCTGCGTGTTGGTTAC
AACGCGCCGGGTATCCCGCTGTACAAAAAAATGGAAGCGGTTAAACTGCGTGACCTGAAAACCTACTCTGTTCAG
CTGAAACTGTACGACGACAAAAACGCGTCTCTGGGTCTGGTTGGTACCCACAACGGTCAGATCGGTAACGACCCG
AACCGTGACATCCTGATCGCGTCTAACTGGTACTTCAACCACCTGAAAGACAAAATCCTGGGTTGCGACTGGTAC
TTCGTTCCGACCGACGAAGGTTGGACCAACGACTAAAAGCTTGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCT
GAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTT
TTGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGATCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGT
TGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCA
GCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCG
CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACC
CCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTT
TTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTT
ATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAA
AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTT
TGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACT
GGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT
TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCA
GAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAG
TGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAAC
CGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACT
TACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC
CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
GGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAA
TAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACT
TTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAA
AATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
TTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA
AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGT
GGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCG
GTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGG
AACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCT
CTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTT
TTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAA
CCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA
GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG

SEQ ID NO: 6.

圖12

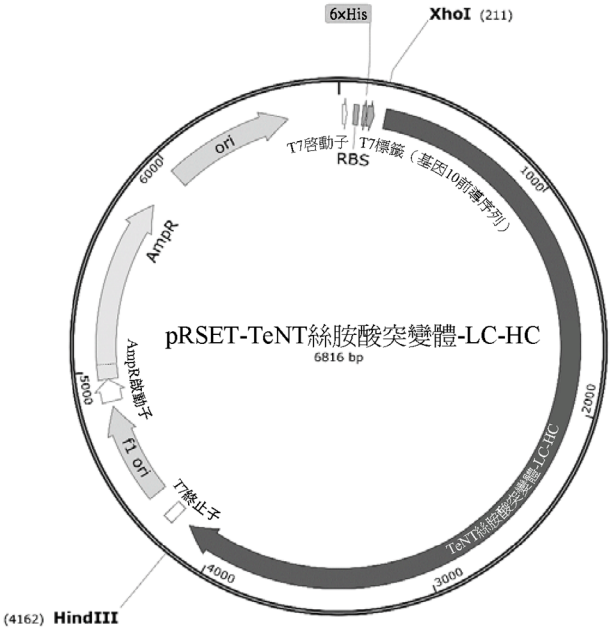


圖13

PITINNFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPEDFNPPSSLIEGASEYYDPN
YLRTDCDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIPYLGNCYSLLDKFDTNSNSVSFNLLEQDPCGATTKS
AMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVLRVDNKNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQD
PALLLMHELIHVLHGLYGMQVSCHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLNDYKA
IANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQQKYQFDKDCNGQYIVNEDKFQILYNSIMYGFTEIELGKKFNIKTRLSYF
SMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNMRVNTNAFRNVDGCGLVSKLIGLCKKIIPPTNIREN
LYNRTASLTDLGGELCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPN
DRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVIS
KVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLEY
IPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDA
IKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKN
ILMQYIKANSKFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDISG
FNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESSEVIVHKAMDIEYNDMFNNFTVSFWLRVPKVSACHLEQYGTNEYSI
ISSMKKHSLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITFRDLPDKFNAYLANKWVFITITNDRLCSANLYINGV
LMGSAEITGLGAIREDNNITLKLDRCNNNNQYVSIDKFRIFCKALNPKEIEKLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDT
EYYLIPVASSSKDVQLKNITDYMYLTNAPCYTNGKLNIYYRRLYNGLKFIIKRYTPNNEIDCFVKSGDFIKLYVS
YNNNEHIVGYPKDGNAFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQLKLYDDKNASLGLVGTHNGQIG
NDPNRDILIASNWYFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWTND

SEQ ID NO: 7.

圖14

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGT
GGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGGGATCCGAGCTCGAGCCGATCACC
ATCAACAACTTCCGTTACTCTGACCCGGTTAACAACGACACCATCATCATGATGGAACCGCCGTACTGCAAAGGT
CTGGACATCTACTACAAAGCGTTCAAAATCACCGACCGTATCTGGATCGTTCCGGAACGTTACGAATTCGGTACC
AAACCGGAAGACTTCAACCCGCCGTCTTCTCTGATCGAAGGTGCGTCTGAATACTACGACCCGAACTACCTGCGT
ACCGACTGCGACAAAGACCGTTTCCTGCAGACCATGGTTAAACTGTTCAACCGTATCAAAAACAACGTTGCGGGT
GAAGCGCTGCTGGACAAAATCATCAACGCGATCCCGTACCTGGGTAACTGCTACTCTCTGCTGGACAAATTCGAC
ACCAACTCTAACTCTGTTTCTTTCAACCTGCTGGAACAGGACCCGTGCGGTGCGACCACCAAATCTGCGATGCTG
ACCAACCTGATCATCTTCGGTCCGGGTCCGGTTCTGAACAAAAACGAAGTTCGTGGTATCGTTCTGCGTGTTGAC
AACAAAAACTACTTCCCGTGCCGTGACGGTTTCGGTTCTATCATGCAGATGGCGTTCTGCCCGGAATACGTTCCG

SEQ ID NO: 8 .

圖15（接下頁）

ACCTTCGACAACGTTATCGAAAACATCACCTCTCTGACCATCGGTAAATCTAAATACTTCCAGGACCCGGCGCT
CTGCTGATGCACGAACTGATCCACGTTCTGCACGGTCTGTACGGTATGCAGGTTTCTTGCCACGAAATCATCCCG
TCTAAACAGGAAATCTACATGCAGCACACCTACCCGATCTCTGCGGAAGAACTGTTCACCTTCGGTGGTCAGGAC
GCGAACCTGATCTCTATCGACATCAAAAACGACCTGTACGAAAAAACCCTGAACGACTACAAAGCGATCGCGAAC
AAACTGTCTCAGGTTACCTCTTGCAACGACCCGAACATCGACATCGACTCTTACAAACAGATCTACCAGCAGAAA
TACCAGTTCGACAAAGACTGCAACGGTCAGTACATCGTTAACGAAGACAAATTCCAGATCCTGTACAACTCTATC
ATGTACGGTTTCACCGAAATCGAACTGGGTAAAAAATTCAACATCAAAACCCGTCTGTCTTACTTCTCTATGAAC
CACGACCCGGTTAAAATCCCGAACCTGCTGGACGACACCATCTACAACGACACCGAAGGTTTCAACATCGAATCT
AAAGACCTGAAATCTGAATACAAAGGTCAGAACATGCGTGTTAACACCAACGCGTTCCGTAACGTTGACGGTTGC
GGTCTGGTTTCTAAACTGATCGGTCTGTGCAAAAAAATCATCCCGCCGACCAACATCCGTGAAAACCTGTACAAC
CGTACCGCGTCTCTGACCGACCTGGGTGGTGAACTGTGCATCAAAATCAAAAACGAAGACCTGACCTTCATCGCG
GAAAAAAACTCTTTCTCTGAAGAACCGTTCCAGGACGAAATCGTTTCTTACAACACCAAAAACAAACCGCTGAAC
TTCAACTACTCTCTGGACAAAATCATCGTTGACTACAACCTGCAGTCTAAAATCACCCTGCCGAACGACCGTACC
ACCCCGGTTACCAAAGGTATCCCGTACGCGCCGGAATACAAATCTAACGCGGCGTCTACCATCGAAATCCACAAC
ATCGACGACAACACCATCTACCAGTACCTGTACGCGCAGAAATCTCCGACCACCCTGCAGCGTATCACCATGACC
AACTCTGTTGACGACGCGCTGATCAACTCTACCAAAATCTACTCTTACTTCCCGTCTGTTATCTCTAAAGTTAAC
CAGGGTGCGCAGGGTATCCTGTTCCTGCAGTGGGTTCGTGACATCATCGACGACTTCACCAACGAATCTTCTCAG
AAAACCACCATCGACAAAATCTCTGACGTTTCTACCATCGTTCCGTACATCGGTCCGGCGCTGAACATCGTTAAA
CAGGGTTACGAAGGTAACTTCATCGGTGCGCTGGAAACCACCGGTGTTGTTCTGCTGCTGGAATACATCCCGGAA
ATCACCCTGCCGGTTATCGCGGCGCTGTCTATCGCGGAATCTTCTACCCAGAAAGAAAAAATCATCAAAACCATC
GACAACTTCCTGGAAAAACGTTACGAAAAATGGATCGAAGTTTACAAACTGGTTAAAGCGAAATGGCTGGGTACC
GTTAACACCCAGTTCCAGAAACGTTCTTACCAGATGTACCGTTCTCTGGAATACCAGGTTGACGCGATCAAAAAA
ATCATCGACTACGAATACAAAATCTACTCTGGTCCGGACAAAGAACAGATCGCGGACGAAATCAACAACCTGAAA
AACAAACTGGAAGAAAAAGCGAACAAAGCGATGATCAACATCAACATCTTCATGCGTGAATCTTCTCGTTCTTTC
CTGGTTAACCAGATGATCAACGAAGCGAAAAAACAGCTGCTGGAATTCGACACCCAGTCTAAAAACATCCTGATG
CAGTACATCAAAGCGAACTCTAAATTCATCGGTATCACCGAACTGAAAAAACTGGAATCTAAAATCAACAAAGTT
TTCTCTACCCCGATCCCGTTCTCTTACTCTAAAAACCTGGACTGCTGGGTTGACAACGAAGAAGACATCGACGTT
ATCCTGAAAAAATCTACCATCCTGAACCTGGACATCAACAACGACATCATCTCTGACATCTCTGGTTTCAACTCT
TCTGTTATCACCTACCCGGACGCGCAGCTGGTTCCGGGTATCAACGGTAAAGCGATCCACCTGGTTAACAACGAA
TCTTCTGAAGTTATCGTTCACAAAGCGATGGACATCGAATACAACGACATGTTCAACAACTTCACCGTTTCTTTC
TGGCTGCGTGTTCCGAAAGTTTCTGCGTGCCACCTGGAACAGTACGGTACCAACGAATACTCTATCATCTCTTCT
ATGAAAAAACACTCTCTGTCTATCGGTTCTGGTTGGTCTGTTTCTCTGAAAGGTAACAACCTGATCTGGACCCTG
AAAGACTCTGCGGGTGAAGTTCGTCAGATCACCTTCCGTGACCTGCCGGACAAATTCAACGCGTACCTGGCGAAC
AAATGGGTTTTCATCACCATCACCAACGACCGTCTGTGCTCTGCGAACCTGTACATCAACGGTGTTCTGATGGGT
TCTGCGGAAATCACCGGTCTGGGTGCGATCCGTGAAGACAACAACATCACCCTGAAACTGGACCGTTGCAACAAC
cAACAACCAGTACGTTTCTATCGACAAATTCCGTATCTTCTGCAAAGCGCTGAACCCGAAAGAAATCGAAAAACT
GTACACCTCTTACCTGTCTATCACCTTCCTGCGTGACTTCTGGGGTAACCCGCTGCGTTACGACACCGAATACTA
CCTGATCCCGGTTGCGTCTTCTTCTAAAGACGTTCAGCTGAAAAACATCACCGACTACATGTACCTGACCAACGC
GCCGTGCTACACCAACGGTAAACTGAACATCTACTACCGTCGTCTGTACAACGGTCTGAAATTCATCATCAAACG
TTACACCCCGAACAACGAAATCGACTGCTTCGTTAAATCTGGTGACTTCATCAAACTGTACGTTTCTTACAACAA
CAACGAACACATCGTTGGTTACCCGAAAGACGGTAACGCGTTCAACAACCTGGACCGTATCCTGCGTGTTGGTTA
CAACGCGCCGGGTATCCCGCTGTACAAAAAAATGGAAGCGGTTAAACTGCGTGACCTGAAAACCTACTCTGTTCA
GCTGAAACTGTACGACGACAAAAACGCGTCTCTGGGTCTGGTTGGTACCCACAACGGTCAGATCGGTAACGACCC
GAACCGTGACATCCTGATCGCGTCTAACTGGTACTTCAACCACCTGAAAGACAAAATCCTGGGTTGCGACTGGTA
CTTCGTTCCGACCGACGAAGGTTGGACCAACGACTAAAAGCTTGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGC
TGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTT
TTTGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGATCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAG
TTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGC
AGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTC
GCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGAC
CCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACG
TTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCT
TTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCG
AATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTT
TATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAA
AAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTT
TTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAAC
TGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAG
TTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTC

SEQ ID NO: 8.

圖15（接下頁）

AGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCA
GTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAA
CCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATAC
CAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTAC
TTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGG
CCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCAC
TGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAA
ATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATAC
TTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCA
AAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATC
CTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATC
AAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGT
AGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAG
TGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGC
GGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTAC
AGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCG
GAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACC
TCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCT
TTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATA
ACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCG
AGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG

SEQ ID NO: 8.

圖15

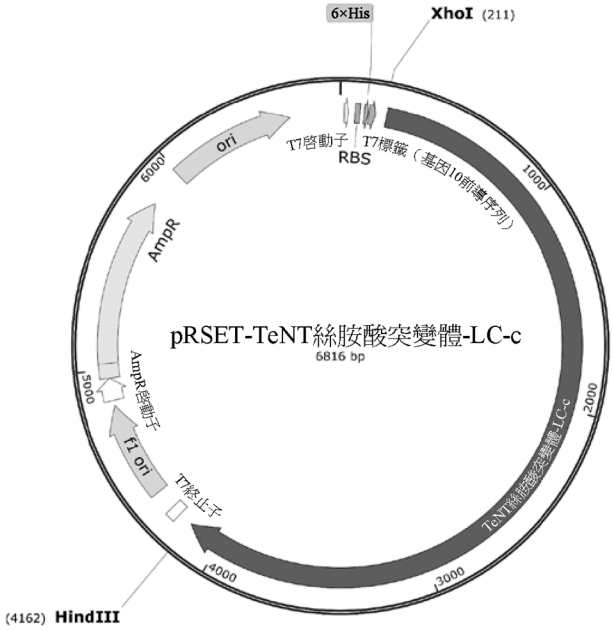


圖16

PITINNFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPEDFNPPSSLIEGASEYYDPN
YLRTDSDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIPYLGNSYSLLDKFDTNSNSVSFNLLEQDPSGATTKS
AMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVLRVDNKNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQD
PALLLMHELIHVLHGLYGMQVSSHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLNDYKA
IANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQQKYQFDKDSNGQYIVNEDKFQILYNSIMYGFTEIELGKKFNIKTRLSYF
SMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNMRVNTNAFRNVDGSGLVSKLIGLCKKIIPPTNIREN
LYNRTASLTDLGGELCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPN
DRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVIC

SEQ ID NO: 9.

圖17（接下頁）

KVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLEY
IPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDA
IKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKN
ILMQYIKANSKFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDISG
FNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESSEVIVHKAMDIEYNDMFNNFTVSFWLRVPKVSACHLEQYGTNEYSI
ISSMKKHSLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITFRDLPDKFNAYLANKWVFITITNDRLCSANLYINGV
LMGSAEITGLGAIREDNNITLKLDRCNNNNQYVSIDKFRIFCKALNPKEIEKLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDT
EYYLIPVASSSKDVQLKNITDYMYLTNAPCYTNGKLNIYYRRLYNGLKFIIKRYTPNNEIDCFVKSGDFIKLYVS
YNNNEHIVGYPKDGNAFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQLKLYDDKNASLGLVGTHNGQIG
NDPNRDILIASNWYFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWTND

SEQ ID NO: 9.

圖17

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGT
GGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGGGATCCGAGCTCGAGCCGATCACC
ATCAACAACTTCCGTTACTCTGACCCGGTTAACAACGACACCATCATCATGATGGAACCGCCGTACTGCAAAGGT
CTGGACATCTACTACAAAGCGTTCAAAATCACCGACCGTATCTGGATCGTTCCGGAACGTTACGAATTCGGTACC
AAACCGGAAGACTTCAACCCGCCGTCTTCTCTGATCGAAGGTGCGTCTGAATACTACGACCCGAACTACCTGCGT
ACCGACTCTGACAAAGACCGTTTCCTGCAGACCATGGTTAAACTGTTCAACCGTATCAAAAACAACGTTGCGGGT
GAAGCGCTGCTGGACAAAATCATCAACGCGATCCCGTACCTGGGTAACTCTTACTCTCTGCTGGACAAATTCGAC
ACCAACTCTAACTCTGTTTCTTTCAACCTGCTGGAACAGGACCCGTCTGGTGCGACCACCAAATCTGCGATGCTG
ACCAACCTGATCATCTTCGGTCCGGGTCCGGTTCTGAACAAAAACGAAGTTCGTGGTATCGTTCTGCGTGTTGAC
AACAAAAACTACTTCCCGTGCCGTGACGGTTTCGGTTCTATCATGCAGATGGCGTTCTGCCCGGAATACGTTCCG
ACCTTCGACAACGTTATCGAAAACATCACCTCTCTGACCATCGGTAAATCTAAATACTTCCAGGACCCGGCGCTG
CTGCTGATGCACGAACTGATCCACGTTCTGCACGGTCTGTACGGTATGCAGGTTTCTTCTCACGAAATCATCCCG
TCTAAACAGGAAATCTACATGCAGCACACCTACCCGATCTCTGCGGAAGAACTGTTCACCTTCGGTGGTCAGGAC
GCGAACCTGATCTCTATCGACATCAAAAACGACCTGTACGAAAAAACCCTGAACGACTACAAAGCGATCGCGAAC
AAACTGTCTCAGGTTACCTCTTGCAACGACCCGAACATCGACATCGACTCTTACAAACAGATCTACCAGCAGAAA
TACCAGTTCGACAAAGACTCTAACGGTCAGTACATCGTTAACGAAGACAAATTCCAGATCCTGTACAACTCTATC
ATGTACGGTTTCACCGAAATCGAACTGGGTAAAAAATTCAACATCAAAACCCGTCTGTCTTACTTCTCTATGAAC
CACGACCCGGTTAAAATCCCGAACCTGCTGGACGACACCATCTACAACGACACCGAAGGTTTCAACATCGAATCT
AAAGACCTGAAATCTGAATACAAAGGTCAGAACATGCGTGTTAACACCAACGCGTTCCGTAACGTTGACGGTTCT
GGTCTGGTTTCTAAACTGATCGGTCTGTGCAAAAAAATCATCCCGCCGACCAACATCCGTGAAAACCTGTACAAC
CGTACCGCGTCTCTGACCGACCTGGGTGGTGAACTGTGCATCAAAATCAAAAACGAAGACCTGACCTTCATCGCG
GAAAAAAACTCTTTCTCTGAAGAACCGTTCCAGGACGAAATCGTTTCTTACAACACCAAAAACAAACCGCTGAAC
TTCAACTACTCTCTGGACAAAATCATCGTTGACTACAACCTGCAGTCTAAAATCACCCTGCCGAACGACCGTACC
ACCCCGGTTACCAAAGGTATCCCGTACGCGCCGGAATACAAATCTAACGCGGCGTCTACCATCGAAATCCACAAC
ATCGACGACAACACCATCTACCAGTACCTGTACGCGCAGAAATCTCCGACCACCCTGCAGCGTATCACCATGACC
AACTCTGTTGACGACGCGCTGATCAACTCTACCAAAATCTACTCTTACTTCCCGTCTGTTATCTGCAAAGTTAAC
CAGGGTGCGCAGGGTATCCTGTTCCTGCAGTGGGTTCGTGACATCATCGACGACTTCACCAACGAATCTTCTCAG
AAAACCACCATCGACAAAATCTCTGACGTTTCTACCATCGTTCCGTACATCGGTCCGGCGCTGAACATCGTTAAA
CAGGGTTACGAAGGTAACTTCATCGGTGCGCTGGAAACCACCGGTGTTGTTCTGCTGCTGGAATACATCCCGGAA
ATCACCCTGCCGGTTATCGCGGCGCTGTCTATCGCGGAATCTTCTACCCAGAAAGAAAAAATCATCAAAACCATC
GACAACTTCCTGGAAAAACGTTACGAAAAATGGATCGAAGTTTACAAACTGGTTAAAGCGAAATGGCTGGGTACC
GTTAACACCCAGTTCCAGAAACGTTCTTACCAGATGTACCGTTCTCTGGAATACCAGGTTGACGCGATCAAAAAA
ATCATCGACTACGAATACAAAATCTACTCTGGTCCGGACAAAGAACAGATCGCGGACGAAATCAACAACCTGAAA
AACAAACTGGAAGAAAAAGCGAACAAAGCGATGATCAACATCAACATCTTCATGCGTGAATCTTCTCGTTCTTTC
CTGGTTAACCAGATGATCAACGAAGCGAAAAAACAGCTGCTGGAATTCGACACCCAGTCTAAAAACATCCTGATG
CAGTACATCAAAGCGAACTCTAAATTCATCGGTATCACCGAACTGAAAAAACTGGAATCTAAAATCAACAAAGTT
TTCTCTACCCCGATCCCGTTCTCTTACTCTAAAAACCTGGACTGCTGGGTTGACAACGAAGAAGACATCGACGTT
ATCCTGAAAAAATCTACCATCCTGAACCTGGACATCAACAACGACATCATCTCTGACATCTCTGGTTTCAACTCT
TCTGTTATCACCTACCCGGACGCGCAGCTGGTTCCGGGTATCAACGGTAAAGCGATCCACCTGGTTAACAACGAA
TCTTCTGAAGTTATCGTTCACAAAGCGATGGACATCGAATACAACGACATGTTCAACAACTTCACCGTTTCTTTC
TGGCTGCGTGTTCCGAAAGTTTCTGCGTGCCACCTGGAACAGTACGGTACCAACGAATACTCTATCATCTCTTCT
ATGAAAAAACACTCTCTGTCTATCGGTTCTGGTTGGTCTGTTTCTCTGAAAGGTAACAACCTGATCTGGACCCTG
AAAGACTCTGCGGGTGAAGTTCGTCAGATCACCTTCCGTGACCTGCCGGACAAATTCAACGCGTACCTGGCGAAC
AAATGGGTTTTCATCACCATCACCAACGACCGTCTGTGCTCTGCGAACCTGTACATCAACGGTGTTCTGATGGGT

SEQ ID NO: 10.

圖18（接下頁）

TCTGCGGAAATCACCGGTCTGGGTGCGATCCGTGAAGACAACAACATCACCCTGAAACTGGACCGTTGCAACAAC
AACAACCAGTACGTTTCTATCGACAAATTCCGTATCTTCTGCAAAGCGCTGAACCCGAAAGAAATCGAAAAACTG
TACACCTCTTACCTGTCTATCACCTTCCTGCGTGACTTCTGGGGTAACCCGCTGCGTTACGACACCGAATACTAC
CTGATCCCGGTTGCGTCTTCTTCTAAAGACGTTCAGCTGAAAAACATCACCGACTACATGTACCTGACCAACGCG
CCGTGCTACACCAACGGTAAACTGAACATCTACTACCGTCGTCTGTACAACGGTCTGAAATTCATCATCAAACGT
TACACCCCGAACAACGAAATCGACTGCTTCGTTAAATCTGGTGACTTCATCAAACTGTACGTTTCTTACAACAAC
AACGAACACATCGTTGGTTACCCGAAAGACGGTAACGCGTTCAACAACCTGGACCGTATCCTGCGTGTTGGTTAC
AACGCGCCGGGTATCCCGCTGTACAAAAAAATGGAAGCGGTTAAACTGCGTGACCTGAAAACCTACTCTGTTCAG
CTGAAACTGTACGACGACAAAAACGCGTCTCTGGGTCTGGTTGGTACCCACAACGGTCAGATCGGTAACGACCCG
AACCGTGACATCCTGATCGCGTCTAACTGGTACTTCAACCACCTGAAAGACAAAATCCTGGGTTGCGACTGGTAC
TTCGTTCCGACCGACGAAGGTTGGACCAACGACTAAAAGCTTGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCT
GAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTT
TTGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGATCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGT
TGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCA
GCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCG
CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACC
CCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTT
TTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTT
ATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAA
AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTT
TGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACT
GGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT
TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCA
GAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAG
TGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAAC
CGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACT
TACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC
CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
GGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAA
TAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACT
TTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAA
AATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
TTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA
AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGT
GGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCG
GTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGG
AACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCT
CTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTT
TTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAA
CCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA
GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG

SEQ ID NO: 10.

圖18

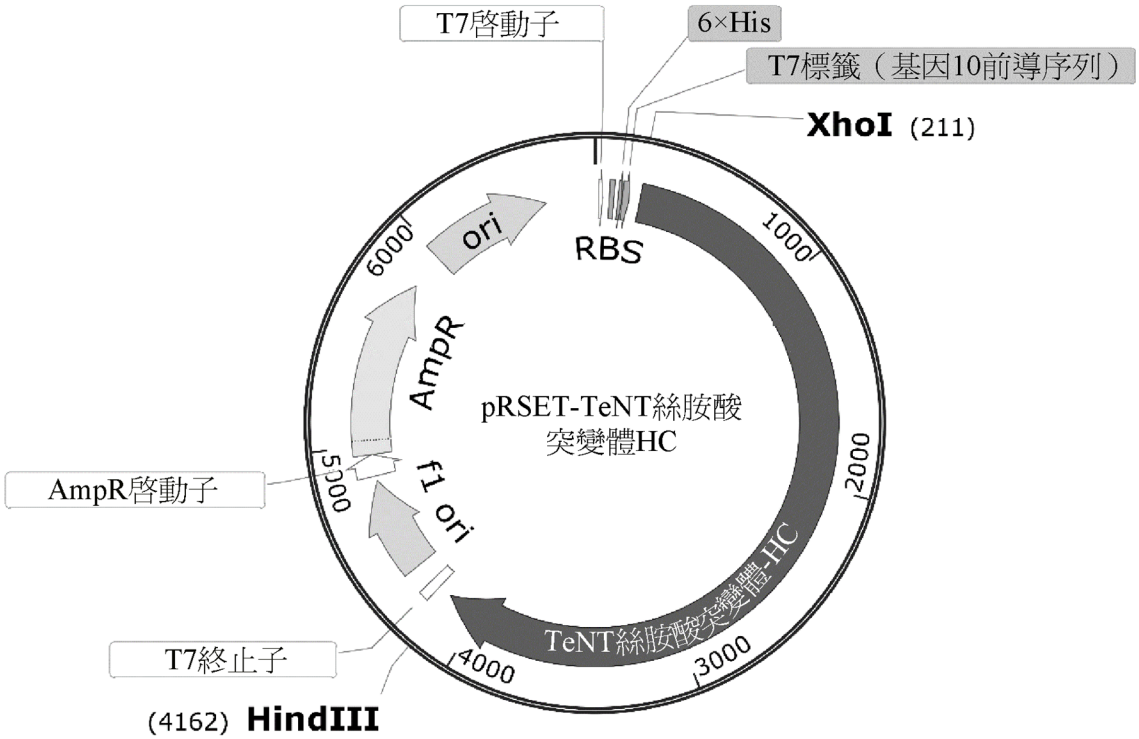


圖19

PITINNFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPEDFNPPSSLIEGASEYYDPN
YLRTDCDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIPYLGNCYSLLDKFDTNSNSVSFNLLEQDPCGATTKS
AMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVLRVDNKNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQD
PALLLMHELIHVLHGLYGMQVSCHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLNDYKA
IANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQQKYQFDKDCNGQYIVNEDKFQILYNSIMYGFTEIELGKKFNIKTRLSYF
SMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNMRVNTNAFRNVDGCGLVSKLIGLCKKIIPPTNIREN
LYNRTASLTDLGGELCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPN
DRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVIS
KVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLEY
IPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDA
IKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKN
ILMQYIKANSKFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDISG
FNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESSEVIVHKAMDIEYNDMFNNFTVSFWLRVPKVSACHLEQYGTNEYSI
ISSMKKHSLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITFRDLPDKFNAYLANKWVFITITNDRLCSANLYINGV
LMGSAEITGLGAIREDNNITLKLDRCNNNNQYVSIDKFRIFCKALNPKEIEKLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDT
EYYLIPVASSSKDVQLKNITDYMYLTNAPCYTNGKLNIYYRRLYNGLKFIIKRYTPNNEIDCFVKSGDFIKLYVS
YNNNEHIVGYPKDGNAFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQLKLYDDKNASLGLVGTHNGQIG
NDPNRDILIASNWYFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWTND

SEQ ID NO: 11.

圖20

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGT
GGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGGGATCCGAGCTCGAGCCGATCACC
ATCAACAACTTCCGTTACTCTGACCCGGTTAACAACGACACCATCATCATGATGGAACCGCCGTACTGCAAAGGT
CTGGACATCTACTACAAAGCGTTCAAAATCACCGACCGTATCTGGATCGTTCCGGAACGTTACGAATTCGGTACC
AAACCGGAAGACTTCAACCCGCCGTCTTCTCTGATCGAAGGTGCGTCTGAATACTACGACCCGAACTACCTGCGT
ACCGACTGCGACAAAGACCGTTTCCTGCAGACCATGGTTAAACTGTTCAACCGTATCAAAAACAACGTTGCGGGT
GAAGCGCTGCTGGACAAAATCATCAACGCGATCCCGTACCTGGGTAACTGCTACTCTCTGCTGGACAAATTCGAC
ACCAACTCTAACTCTGTTTCTTTCAACCTGCTGGAACAGGACCCGTGCGGTGCGACCACCAAATCTGCGATGCTG

SEQ ID NO: 12.

圖21（接下頁）

ACCAACCTGATCATCTTCGGTCCGGGTCCGGTTCTGAACAAAAACGAAGTTCGTGGTATCGTTCTGCGTGTTGAC
AACAAAAACTACTTCCCGTGCCGTGACGGTTTCGGTTCTATCATGCAGATGGCGTTCTGCCCGGAATACGTTCCG
ACCTTCGACAACGTTATCGAAAACATCACCTCTCTGACCATCGGTAAATCTAAATACTTCCAGGACCCGGCGCTG
CTGCTGATGCACGAACTGATCCACGTTCTGCACGGTCTGTACGGTATGCAGGTTTCTTGCCACGAAATCATCCCG
TCTAAACAGGAAATCTACATGCAGCACACCTACCCGATCTCTGCGGAAGAACTGTTCACCTTCGGTGGTCAGGAC
GCGAACCTGATCTCTATCGACATCAAAAACGACCTGTACGAAAAAACCCTGAACGACTACAAAGCGATCGCGAAC
AAACTGTCTCAGGTTACCTCTTGCAACGACCCGAACATCGACATCGACTCTTACAAACAGATCTACCAGCAGAAA
TACCAGTTCGACAAAGACTGCAACGGTCAGTACATCGTTAACGAAGACAAATTCCAGATCCTGTACAACTCTATC
ATGTACGGTTTCACCGAAATCGAACTGGGTAAAAAATTCAACATCAAAACCCGTCTGTCTTACTTCTCTATGAAC
CACGACCCGGTTAAAATCCCGAACCTGCTGGACGACACCATCTACAACGACACCGAAGGTTTCAACATCGAATCT
AAAGACCTGAAATCTGAATACAAAGGTCAGAACATGCGTGTTAACACCAACGCGTTCCGTAACGTTGACGGTTGC
GGTCTGGTTTCTAAACTGATCGGTCTGTGCAAAAAAATCATCCCGCCGACCAACATCCGTGAAAACCTGTACAAC
CGTACCGCGTCTCTGACCGACCTGGGTGGTGAACTGTGCATCAAAATCAAAAACGAAGACCTGACCTTCATCGCG
GAAAAAAACTCTTTCTCTGAAGAACCGTTCCAGGACGAAATCGTTTCTTACAACACCAAAAACAAACCGCTGAAC
TTCAACTACTCTCTGGACAAAATCATCGTTGACTACAACCTGCAGTCTAAAATCACCCTGCCGAACGACCGTACC
ACCCCGGTTACCAAAGGTATCCCGTACGCGCCGGAATACAAATCTAACGCGGCGTCTACCATCGAAATCCACAAC
ATCGACGACAACACCATCTACCAGTACCTGTACGCGCAGAAATCTCCGACCACCCTGCAGCGTATCACCATGACC
AACTCTGTTGACGACGCGCTGATCAACTCTACCAAAATCTACTCTTACTTCCCGTCTGTTATCTCTAAAGTTAAC
CAGGGTGCGCAGGGTATCCTGTTCCTGCAGTGGGTTCGTGACATCATCGACGACTTCACCAACGAATCTTCTCAG
AAAACCACCATCGACAAAATCTCTGACGTTTCTACCATCGTTCCGTACATCGGTCCGGCGCTGAACATCGTTAAA
CAGGGTTACGAAGGTAACTTCATCGGTGCGCTGGAAACCACCGGTGTTGTTCTGCTGCTGGAATACATCCCGGAA
ATCACCCTGCCGGTTATCGCGGCGCTGTCTATCGCGGAATCTTCTACCCAGAAAGAAAAAATCATCAAAACCATC
GACAACTTCCTGGAAAAACGTTACGAAAAATGGATCGAAGTTTACAAACTGGTTAAAGCGAAATGGCTGGGTACC
GTTAACACCCAGTTCCAGAAACGTTCTTACCAGATGTACCGTTCTCTGGAATACCAGGTTGACGCGATCAAAAAA
ATCATCGACTACGAATACAAAATCTACTCTGGTCCGGACAAAGAACAGATCGCGGACGAAATCAACAACCTGAAA
AACAAACTGGAAGAAAAAGCGAACAAAGCGATGATCAACATCAACATCTTCATGCGTGAATCTTCTCGTTCTTTC
CTGGTTAACCAGATGATCAACGAAGCGAAAAAACAGCTGCTGGAATTCGACACCCAGTCTAAAAACATCCTGATG
CAGTACATCAAAGCGAACTCTAAATTCATCGGTATCACCGAACTGAAAAAACTGGAATCTAAAATCAACAAAGTT
TTCTCTACCCCGATCCCGTTCTCTTACTCTAAAAACCTGGACTGCTGGGTTGACAACGAAGAAGACATCGACGTT
ATCCTGAAAAAATCTACCATCCTGAACCTGGACATCAACAACGACATCATCTCTGACATCTCTGGTTTCAACTCT
TCTGTTATCACCTACCCGGACGCGCAGCTGGTTCCGGGTATCAACGGTAAAGCGATCCACCTGGTTAACAACGAA
TCTTCTGAAGTTATCGTTCACAAAGCGATGGACATCGAATACAACGACATGTTCAACAACTTCACCGTTTCTTTC
TGGCTGCGTGTTCCGAAAGTTTCTGCGTGCCACCTGGAACAGTACGGTACCAACGAATACTCTATCATCTCTTCT
ATGAAAAAACACTCTCTGTCTATCGGTTCTGGTTGGTCTGTTTCTCTGAAAGGTAACAACCTGATCTGGACCCTG
AAAGACTCTGCGGGTGAAGTTCGTCAGATCACCTTCCGTGACCTGCCGGACAAATTCAACGCGTACCTGGCGAAC
AAATGGGTTTTCATCACCATCACCAACGACCGTCTGTGCTCTGCGAACCTGTACATCAACGGTGTTCTGATGGGT
TCTGCGGAAATCACCGGTCTGGGTGCGATCCGTGAAGACAACAACATCACCCTGAAACTGGACCGTTGCAACAAC
AACAACCAGTACGTTTCTATCGACAAATTCCGTATCTTCTGCAAAGCGCTGAACCCGAAAGAAATCGAAAAACTG
TACACCTCTTACCTGTCTATCACCTTCCTGCGTGACTTCTGGGGTAACCCGCTGCGTTACGACACCGAATACTAC
CTGATCCCGGTTGCGTCTTCTTCTAAAGACGTTCAGCTGAAAAACATCACCGACTACATGTACCTGACCAACGCG
CCGTGCTACACCAACGGTAAACTGAACATCTACTACCGTCGTCTGTACAACGGTCTGAAATTCATCATCAAACGT
TACACCCCGAACAACGAAATCGACTGCTTCGTTAAATCTGGTGACTTCATCAAACTGTACGTTTCTTACAACAAC
AACGAACACATCGTTGGTTACCCGAAAGACGGTAACGCGTTCAACAACCTGGACCGTATCCTGCGTGTTGGTTAC
AACGCGCCGGGTATCCCGCTGTACAAAAAAATGGAAGCGGTTAAACTGCGTGACCTGAAAACCTACTCTGTTCAG
CTGAAACTGTACGACGACAAAAACGCGTCTCTGGGTCTGGTTGGTACCCACAACGGTCAGATCGGTAACGACCCG
AACCGTGACATCCTGATCGCGTCTAACTGGTACTTCAACCACCTGAAAGACAAAATCCTGGGTTGCGACTGGTAC
TTCGTTCCGACCGACGAAGGTTGGACCAACGACTAAAAGCTTGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCT
GAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTT
TTGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGATCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGT
TGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCA
GCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCG
CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACC
CCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTT
TTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTT
ATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAA
AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTT
TGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACT

SEQ ID NO: 12.

圖21（接下頁）

GGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT
TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCA
GAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAG
TGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAAC
CGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACT
TACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC
CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
GGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAA
TAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACT
TTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAA
AATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
TTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA
AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGT
GGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCG
GTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGG
AACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCT
CTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTT
TTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAA
CCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA
GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG

SEQ ID NO: 12.

圖21

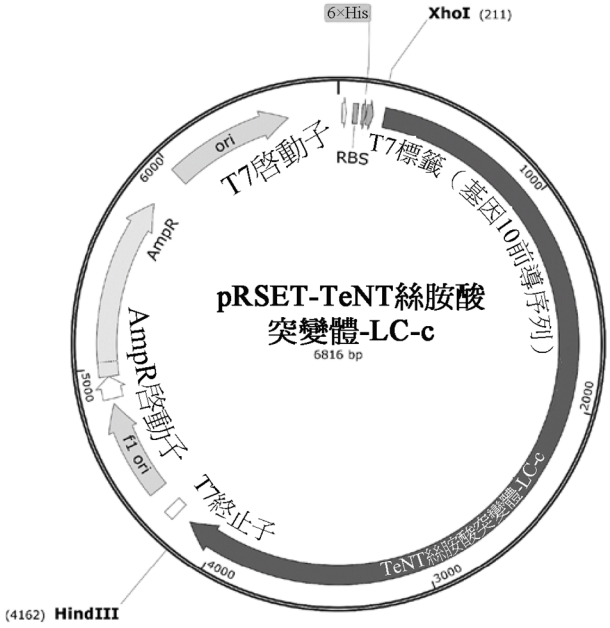


圖22

PITINNFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPEDFNPPSSLIEGASEYYDPN
YLRTDSDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIPYLGNSYSLLDKFDTNSNSVSFNLLEQDPSGATTKS
AMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVLRVDNKNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSKYFQD
PALLLMHELIHVLHGLYGMQVSSHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLNDYKA
IANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQQKYQFDKDSNGQYIVNEDKFQILYNSIMYGFTEIELGKKFNIKTRLSYF
SMNHDPVKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNMRVNTNAFRNVDGSGLVSKLIGLCKKIIPPTNIREN

SEQ ID NO: 13.

圖23（接下頁）

LYNRTASLTDLGGELCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPN
DRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVIC
KVNQGAQGILFLQWVRDIIDDFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLEY
IPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDA
IKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLEEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKN
ILMQYIKANSKFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDISG
FNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESSEVIVHKAMDIEYNDMFNNFTVSFWLRVPKVSACHLEQYGTNEYSI
ISSMKKHSLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITFRDLPDKFNAYLANKWVFITITNDRLCSANLYINGV
LMGSAEITGLGAIREDNNITLKLDRCNNNNQYVSIDKFRIFCKALNPKEIEKLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDT
EYYLIPVASSSKDVQLKNITDYMYLTNAPCYTNGKLNIYYRRLYNGLKFIIKRYTPNNEIDCFVKSGDFIKLYVS
YNNNEHIVGYPKDGNAFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQLKLYDDKNASLGLVGTHNGQIG
NDPNRDILIASNWYFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWTND

SEQ ID NO: 13.

圖23

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGT
GGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGGGATCCGAGCTCGAGCCGATCACC
ATCAACAACTTCCGTTACTCTGACCCGGTTAACAACGACACCATCATCATGATGGAACCGCCGTACTGCAAAGGT
CTGGACATCTACTACAAAGCGTTCAAAATCACCGACCGTATCTGGATCGTTCCGGAACGTTACGAATTCGGTACC
AAACCGGAAGACTTCAACCCGCCGTCTTCTCTGATCGAAGGTGCGTCTGAATACTACGACCCGAACTACCTGCGT
ACCGACTCTGACAAAGACCGTTTCCTGCAGACCATGGTTAAACTGTTCAACCGTATCAAAAACAACGTTGCGGGT
GAAGCGCTGCTGGACAAAATCATCAACGCGATCCCGTACCTGGGTAACTCTTACTCTCTGCTGGACAAATTCGAC
ACCAACTCTAACTCTGTTTCTTTCAACCTGCTGGAACAGGACCCGTCTGGTGCGACCACCAAATCTGCGATGCTG
ACCAACCTGATCATCTTCGGTCCGGGTCCGGTTCTGAACAAAAACGAAGTTCGTGGTATCGTTCTGCGTGTTGAC
AACAAAAACTACTTCCCGTGCCGTGACGGTTTCGGTTCTATCATGCAGATGGCGTTCTGCCCGGAATACGTTCCG
ACCTTCGACAACGTTATCGAAAACATCACCTCTCTGACCATCGGTAAATCTAAATACTTCCAGGACCCGGCGCTG
CTGCTGATGCACGAACTGATCCACGTTCTGCACGGTCTGTACGGTATGCAGGTTTCTTCTCACGAAATCATCCCG
TCTAAACAGGAAATCTACATGCAGCACACCTACCCGATCTCTGCGGAAGAACTGTTCACCTTCGGTGGTCAGGAC
GCGAACCTGATCTCTATCGACATCAAAAACGACCTGTACGAAAAAACCCTGAACGACTACAAAGCGATCGCGAAC
AAACTGTCTCAGGTTACCTCTTGCAACGACCCGAACATCGACATCGACTCTTACAAACAGATCTACCAGCAGAAA
TACCAGTTCGACAAAGACTCTAACGGTCAGTACATCGTTAACGAAGACAAATTCCAGATCCTGTACAACTCTATC
ATGTACGGTTTCACCGAAATCGAACTGGGTAAAAAATTCAACATCAAAACCCGTCTGTCTTACTTCTCTATGAAC
CACGACCCGGTTAAAATCCCGAACCTGCTGGACGACACCATCTACAACGACACCGAAGGTTTCAACATCGAATCT
AAAGACCTGAAATCTGAATACAAAGGTCAGAACATGCGTGTTAACACCAACGCGTTCCGTAACGTTGACGGTTCT
GGTCTGGTTTCTAAACTGATCGGTCTGTGCAAAAAAATCATCCCGCCGACCAACATCCGTGAAAACCTGTACAAC
CGTACCGCGTCTCTGACCGACCTGGGTGGTGAACTGTGCATCAAAATCAAAAACGAAGACCTGACCTTCATCGCG
GAAAAAAACTCTTTCTCTGAAGAACCGTTCCAGGACGAAATCGTTTCTTACAACACCAAAAACAAACCGCTGAAC
TTCAACTACTCTCTGGACAAAATCATCGTTGACTACAACCTGCAGTCTAAAATCACCCTGCCGAACGACCGTACC
ACCCCGGTTACCAAAGGTATCCCGTACGCGCCGGAATACAAATCTAACGCGGCGTCTACCATCGAAATCCACAAC
ATCGACGACAACACCATCTACCAGTACCTGTACGCGCAGAAATCTCCGACCACCCTGCAGCGTATCACCATGACC
AACTCTGTTGACGACGCGCTGATCAACTCTACCAAAATCTACTCTTACTTCCCGTCTGTTATCTGCAAAGTTAAC
CAGGGTGCGCAGGGTATCCTGTTCCTGCAGTGGGTTCGTGACATCATCGACGACTTCACCAACGAATCTTCTCAG
AAAACCACCATCGACAAAATCTCTGACGTTTCTACCATCGTTCCGTACATCGGTCCGGCGCTGAACATCGTTAAA
CAGGGTTACGAAGGTAACTTCATCGGTGCGCTGGAAACCACCGGTGTTGTTCTGCTGCTGGAATACATCCCGGAA
ATCACCCTGCCGGTTATCGCGGCGCTGTCTATCGCGGAATCTTCTACCCAGAAAGAAAAAATCATCAAAACCATC
GACAACTTCCTGGAAAAACGTTACGAAAAATGGATCGAAGTTTACAAACTGGTTAAAGCGAAATGGCTGGGTACC
GTTAACACCCAGTTCCAGAAACGTTCTTACCAGATGTACCGTTCTCTGGAATACCAGGTTGACGCGATCAAAAAA
ATCATCGACTACGAATACAAAATCTACTCTGGTCCGGACAAAGAACAGATCGCGGACGAAATCAACAACCTGAAA
AACAAACTGGAAGAAAAAGCGAACAAAGCGATGATCAACATCAACATCTTCATGCGTGAATCTTCTCGTTCTTTC
CTGGTTAACCAGATGATCAACGAAGCGAAAAAACAGCTGCTGGAATTCGACACCCAGTCTAAAAACATCCTGATG
CAGTACATCAAAGCGAACTCTAAATTCATCGGTATCACCGAACTGAAAAAACTGGAATCTAAAATCAACAAAGTT
TTCTCTACCCCGATCCCGTTCTCTTACTCTAAAAACCTGGACTGCTGGGTTGACAACGAAGAAGACATCGACGTT
ATCCTGAAAAAATCTACCATCCTGAACCTGGACATCAACAACGACATCATCTCTGACATCTCTGGTTTCAACTCT
TCTGTTATCACCTACCCGGACGCGCAGCTGGTTCCGGGTATCAACGGTAAAGCGATCCACCTGGTTAACAACGAA
TCTTCTGAAGTTATCGTTCACAAAGCGATGGACATCGAATACAACGACATGTTCAACAACTTCACCGTTTCTTTC
TGGCTGCGTGTTCCGAAAGTTTCTGCGTGCCACCTGGAACAGTACGGTACCAACGAATACTCTATCATCTCTTCT
ATGAAAAAACACTCTCTGTCTATCGGTTCTGGTTGGTCTGTTTCTCTGAAAGGTAACAACCTGATCTGGACCCTG

SEQ ID NO: 14.

圖24（接下頁）

AAAGACTCTGCGGGTGAAGTTCGTCAGATCACCTTCCGTGACCTGCCGGACAAATTCAACGCGTACCTGGCGAAC
AAATGGGTTTTCATCACCATCACCAACGACCGTCTGTGCTCTGCGAACCTGTACATCAACGGTGTTCTGATGGGT
TCTGCGGAAATCACCGGTCTGGGTGCGATCCGTGAAGACAACAACATCACCCTGAAACTGGACCGTTGCAACAAC
AACAACCAGTACGTTTCTATCGACAAATTCCGTATCTTCTGCAAAGCGCTGAACCCGAAAGAAATCGAAAAACTG
TACACCTCTTACCTGTCTATCACCTTCCTGCGTGACTTCTGGGGTAACCCGCTGCGTTACGACACCGAATACTAC
CTGATCCCGGTTGCGTCTTCTTCTAAAGACGTTCAGCTGAAAAACATCACCGACTACATGTACCTGACCAACGCG
CCGTGCTACACCAACGGTAAACTGAACATCTACTACCGTCGTCTGTACAACGGTCTGAAATTCATCATCAAACGT
TACACCCCGAACAACGAAATCGACTGCTTCGTTAAATCTGGTGACTTCATCAAACTGTACGTTTCTTACAACAAC
AACGAACACATCGTTGGTTACCCGAAAGACGGTAACGCGTTCAACAACCTGGACCGTATCCTGCGTGTTGGTTAC
AACGCGCCGGGTATCCCGCTGTACAAAAAAATGGAAGCGGTTAAACTGCGTGACCTGAAAACCTACTCTGTTCAG
CTGAAACTGTACGACGACAAAAACGCGTCTCTGGGTCTGGTTGGTACCCACAACGGTCAGATCGGTAACGACCCG
AACCGTGACATCCTGATCGCGTCTAACTGGTACTTCAACCACCTGAAAGACAAAATCCTGGGTTGCGACTGGTAC
TTCGTTCCGACCGACGAAGGTTGGACCAACGACTAAAAGCTTGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCT
GAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTT
TTGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGATCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGT
TGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCA
GCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCG
CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACC
CCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGT
TGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTT
TTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
ATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTT
ATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAA
AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTT
TGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACT
GGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT
TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCA
GAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAG
TGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAAC
CGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACT
TACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC
CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
GGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAA
TAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACT
TTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAA
AATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
TTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA
AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGT
GGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCG
GTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGG
AACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCT
CTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTT
TTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAA
CCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA
GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG

SEQ ID NO: 14.

圖24

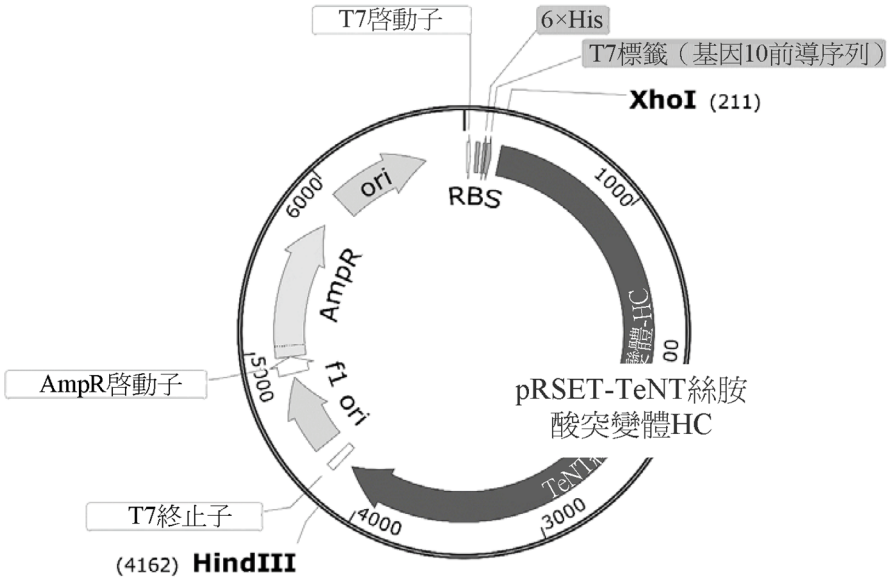

T7啓動子
6×His
T7標籤（基因10前導序列）
XhoI (211)
RBS
1000
ori
6000
AmpR
AmpR啓動子
f1 ori
pRSET-TeNT絲胺酸酸突變體HC
T7終止子
4000
3000
(4162) HindIII

圖25

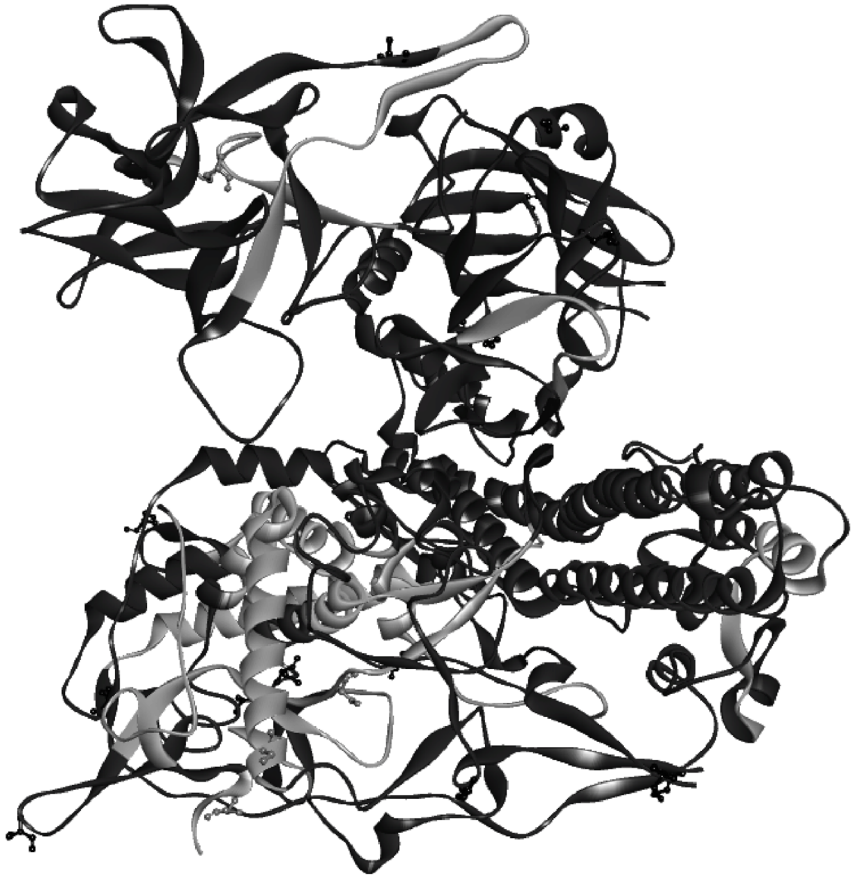
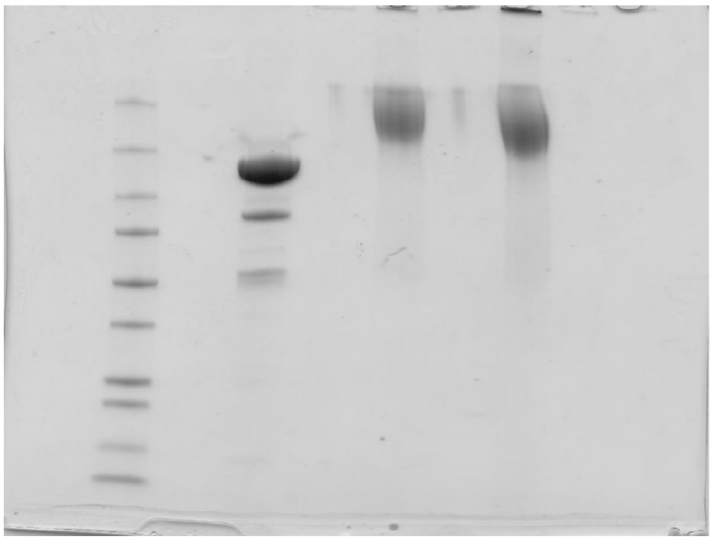


圖26

A.



B.

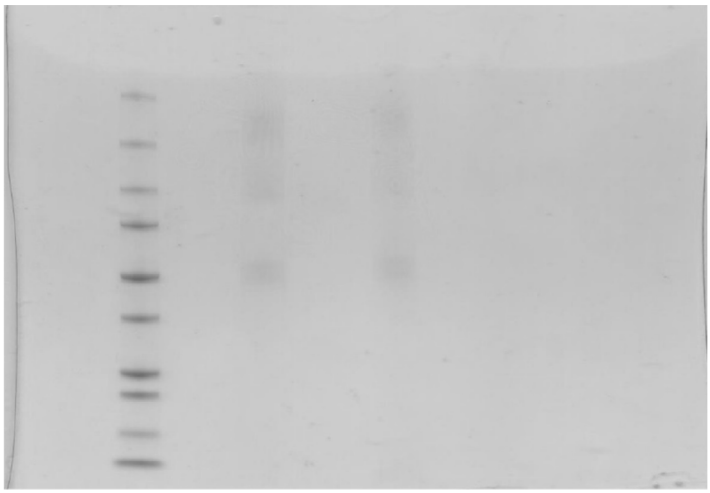


圖27