202120521

(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 202120521 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：109127823　(22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 08 月 14 日

(51)Int. Cl.：
C07K1/113 *(2006.01)*　*C07K1/34* *(2006.01)*
C07K14/54 *(2006.01)*　*C12N15/09* *(2006.01)*
C12P21/02 *(2006.01)*　*A61K38/20* *(2006.01)*
A61P29/00 *(2006.01)*

(30)優先權：
2019/08/16 美國 62/888,144
2019/08/16 美國 62/888,237
2019/08/16 美國 62/887,963
2019/08/16 美國 62/887,933
2019/09/11 美國 62/898,934
2019/09/11 美國 62/898,709
2019/09/11 美國 62/898,729
2019/09/11 美國 62/898,899
2019/11/22 美國 62/939,495
2020/02/05 美國 62/970,627
2020/02/06 美國 62/971,126
2020/03/06 美國 62/986,579
2020/03/06 美國 62/986,557
2020/04/21 美國 63/013,309
2020/05/06 美國 63/020,996
2020/06/01 美國 63/033,077
2020/07/23 美國 63/055,886
2019/09/11 世界智慧財產權組織 PCT/US19/50708

(71)申請人：美商應用分子運輸公司 (美國) APPLIED MOLECULAR TRANSPORT INC.　(US)
美國

(72)發明人：麥克萊恩　德瑞克 MACLEAN, DEREK (US)；瑪西　蘭德　J MRSNY, RANDALL J. (US)；殷　群 YIN, KEVIN (US)；瑪哈穆德　泰爾 MAHMOOD, TAHIR (US)；肯瓦　彼圖 KANWAR, BITTOO (US)；柏瑞特　艾瑪 PORAT, AMIR (US)；歐森　查理斯 OLSON, CHARLES (US)；波斯爾思韋特　莎莉 POSTLETHWAITE, SALLY (GB)；金　效珍 KIM, HYOJIN (US)；馮　偉軍 FENG, WEIJUN (US)；曼格特　可詩迪 MANGAT, KHUSHDEEP (US)；達吉爾　史恩 DALZIEL, SEAN (US)；譚德爾　拉吉 TANDALE, RAJ (US)；格拉威　馬文 GAROVOY, MARVIN (US)；可倫　約翰 KOLENG, JOHN (US)；巴特　麗茲 BHATT, LIZ (US)；惠特尼　詹姆士　安德魯 WHITNEY, JAMES ANDREW (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：288 項　圖式數：150　　共 968 頁

(54)名稱

TW 202120521 A

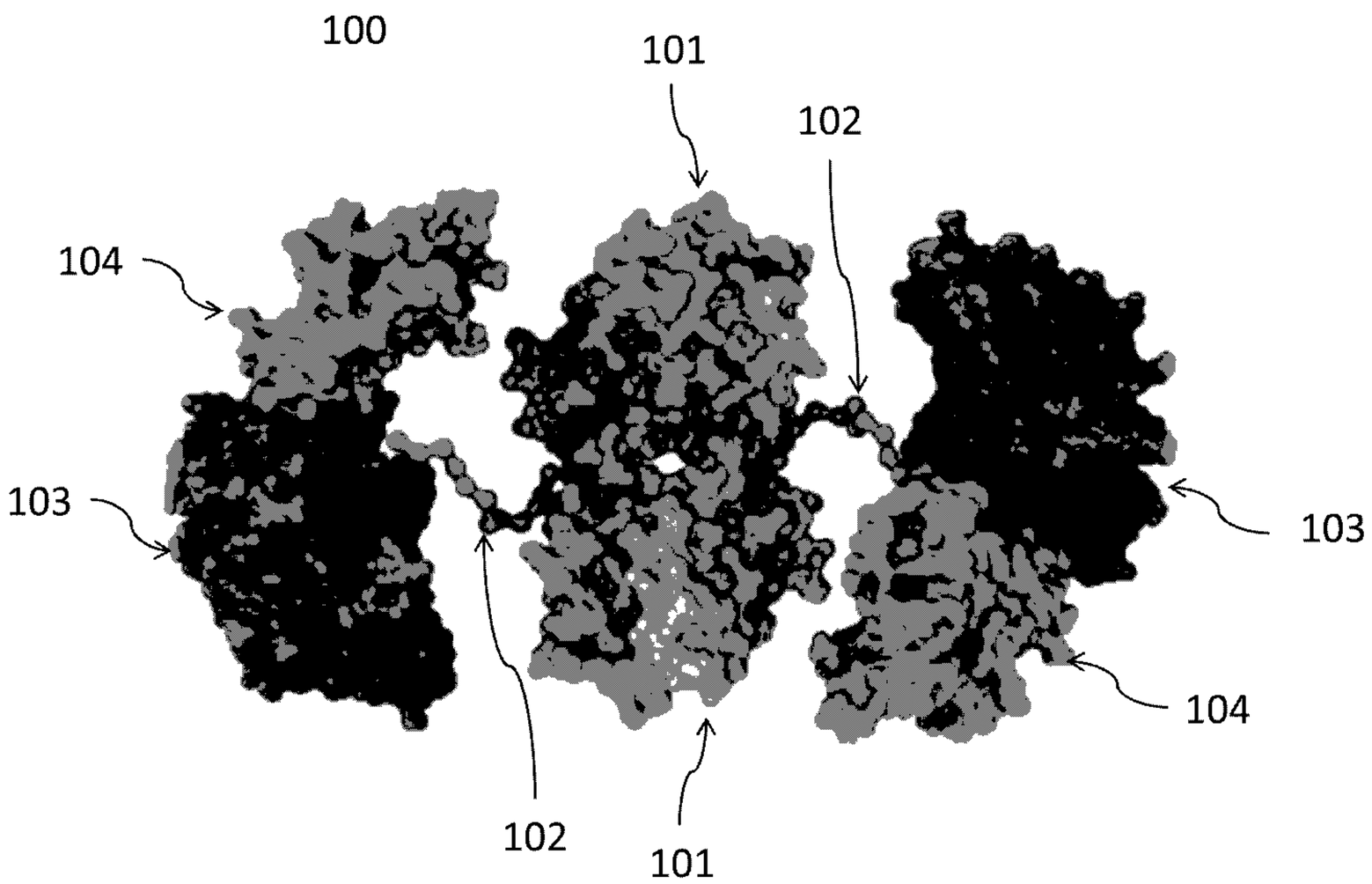
組合物、配方及介白素生產及純化

(57)摘要

本文描述可藉由投與時在個體中之獨特反應來表徵的 cholix-IL-10 融合蛋白及其使用方法。此獨特反應可包含該個體中之一或多個標記之含量的變化及/或 IL-10 在該個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，本文進一步描述該等 cholix-IL-10 融合蛋白之口服配方。本文描述純化 IL-10 遞送構築體之方法，包括再摺疊及富集之方法，其可使得維持高百分比的呈生物活性二聚體形式之該等 IL-10 遞送構築體。本文描述口服配方，其經設計以在小腸或結腸中位點特異性釋放治療蛋白。在一些情況下，該治療蛋白呈二聚體形式，諸如能夠穿過腸上皮細胞之 IL-10 遞送構築體。

Described herein are cholix-IL-10 fusion proteins, and methods of use thereof, which can be characterized by a distinct response in an individual when administered. This distinct response can comprise changes in levels of one or more markers in the individual and/or co-localization of IL-10 in the lamina propria of the individual. Further described herein, in some embodiments, are oral formulations of the cholix-IL-10 fusion proteins. Described herein are methods for the purification of an IL-10 delivery construct, including methods for refolding and enrichment, which can result in maintenance of a high percentage of the IL-10 delivery constructs in the biologically active dimer form. Described herein are oral formulations configured for site-specific release of a therapeutic protein in the small intestines or colon. In some cases, the therapeutic protein is in the form of a dimer, such as an IL-10 delivery construct capable of crossing the gut epithelium.

指定代表圖：



符號簡單說明：

100:均二聚體

101:IL-10

102:間隔子

103:結合域

104:易位域

【圖1】

202120521

【發明摘要】

【中文發明名稱】

組合物、配方及介白素生產及純化

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS, FORMULATIONS, AND INTERLEUKIN PRODUCTION AND PURIFICATION

【中文】

本文描述可藉由投與時在個體中之獨特反應來表徵的cholix-IL-10融合蛋白及其使用方法。此獨特反應可包含該個體中之一或多個標記之含量的變化及/或IL-10在該個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，本文進一步描述該等cholix-IL-10融合蛋白之口服配方。本文描述純化IL-10遞送構築體之方法，包括再摺疊及富集之方法，其可使得維持高百分比的呈生物活性二聚體形式之該等IL-10遞送構築體。本文描述口服配方，其經設計以在小腸或結腸中位點特異性釋放治療蛋白。在一些情況下，該治療蛋白呈二聚體形式，諸如能夠穿過腸上皮細胞之IL-10遞送構築體。

【英文】

Described herein are cholix-IL-10 fusion proteins, and methods of use thereof, which can be characterized by a distinct response in an individual when administered. This distinct response can comprise changes in levels of one or more markers in the individual and/or co-localization of IL-10 in the lamina propria of the individual. Further described herein, in some embodiments, are oral formulations of the cholix-IL-10 fusion proteins. Described herein are methods for the

purification of an IL-10 delivery construct, including methods for refolding and enrichment, which can result in maintenance of a high percentage of the IL-10 delivery constructs in the biologically active dimer form. Described herein are oral formulations configured for site-specific release of a therapeutic protein in the small intestines or colon. In some cases, the therapeutic protein is in the form of a dimer, such as an IL-10 delivery construct capable of crossing the gut epithelium.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

100: 均二聚體

101: IL-10

102: 間隔子

103: 結合域

104: 易位域

【發明說明書】

【中文發明名稱】

組合物、配方及介白素生產及純化

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS, FORMULATIONS, AND INTERLEUKIN PRODUCTION AND PURIFICATION

【技術領域】

【0001】本文描述可藉由投與時在個體中之獨特反應來表徵的cholix-IL-10融合蛋白及其使用方法。此獨特反應可包含該個體中之一或多個標記之含量的變化及/或IL-10在該個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，本文進一步描述該等cholix-IL-10融合蛋白之口服配方。本文描述純化IL-10遞送構築體之方法，包括再摺疊及富集之方法，其可使得維持高百分比的呈生物活性二聚體形式之該等IL-10遞送構築體。本文描述口服配方，其經設計以在小腸或結腸中位點特異性釋放治療蛋白。在一些情況下，該治療蛋白呈二聚體形式，諸如能夠穿過腸上皮細胞之IL-10遞送構築體。

【先前技術】

【0002】儘管經口投與可為投與蛋白質藥物之方便及期望的途徑，但由此投與途徑呈現之挑戰包括胃部之酸性環境，其可引起蛋白質結構(包括二聚體)變性及化學鍵水解、跨越胃腸道之不同區域可變的pH及存在蛋白水解酶，其分泌至胃腸道中且將蛋白質分解為較小片段。此外，即使蛋白質藥物能夠經受住此等挑戰且完整地到達下胃腸道，此類藥物可能由於其大尺寸而難以穿過腸道上皮。

【0003】 另外，一些治療蛋白以二聚體形式具活性(或更具活性)。因此，當以不引起恰當二聚化的方式生產或調配時，其治療效用可受損。常用純化及加工方案可阻止所需二聚體形成，產生(例如)過度高比例之單體或聚集體。

【發明內容】

【0004】 在某些實施例中，本文描述由SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列組成的遞送構築體。在一些實施例中，遞送構築體由SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列組成。在一些實施例中，遞送構築體由SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列組成。在一些實施例中，遞送構築體為均二聚體之一部分。在一些實施例中，遞送構築體安置於調配用於經口投與之組合物內，其中用於經口投與之組合物包含與遞送構築體相同的複數個遞送構築體，且其中至少80%之遞送構築體呈二聚體形式。

【0005】 在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向個體投與有效量的如本文所述之遞送構築體。在一些實施例中，發炎性疾病為潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。在一些實施例中，發炎性疾病為潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，發炎性疾病為克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性疾病為乳糜瀉。

【0006】 在某些實施例中，本文描述再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使包含IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶

解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；(ii)使可溶性IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊之IL-10遞送構築體；其中方法不包含在步驟(ii)之接觸之前使可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解劑或還原劑接觸。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一些實施例中，載體衍生自細菌分泌之多肽。在一些實施例中，細菌為霍亂弧菌(Vibrio cholerae)。在一些實施例中，霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【0007】 在一些實施例中，再摺疊溶液包含比率為0.8:1至1.2:1之還原麩胱甘肽與氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM還原麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液之pH為7.5至8.5。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、Tris及EDTA。在一些實施例中，再摺疊溶液包含蔗糖。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。在一些實施例中，精胺酸以900 mM至1.1 M之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，蔗糖以200 mM至300 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，Tris以75 mM至125 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，EDTA以1.75 mM至2.25 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。

【0008】 在一些實施例中，該方法進一步包含溶解包含包涵體之細胞。在一些實施例中，細胞為細菌。在一些實施例中，細菌為大腸桿菌。

在一些實施例中，溶解包含高壓均質化。在一些實施例中，該方法進一步包含分離包涵體。在一些實施例中，離液劑包含鹽酸胍或脲。在一些實施例中，溶解溶液進一步包含Tris。在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生至少16小時。在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生12小時至18小時。

【0009】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸在2℃至8℃發生。在一些實施例中，該方法進一步包含再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。在一些實施例中，第一無菌過濾在與再摺疊溶液接觸之後發生。在一些實施例中，該方法進一步包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含透濾。在一些實施例中，透濾包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。在一些實施例中，第一透濾體積及第二透濾體積包含冷緩衝液。在一些實施例中，第三透濾體積及第四透濾體積包含室溫緩衝液。在一些實施例中，冷緩衝液及室溫緩衝液包含Tris及NaCl。

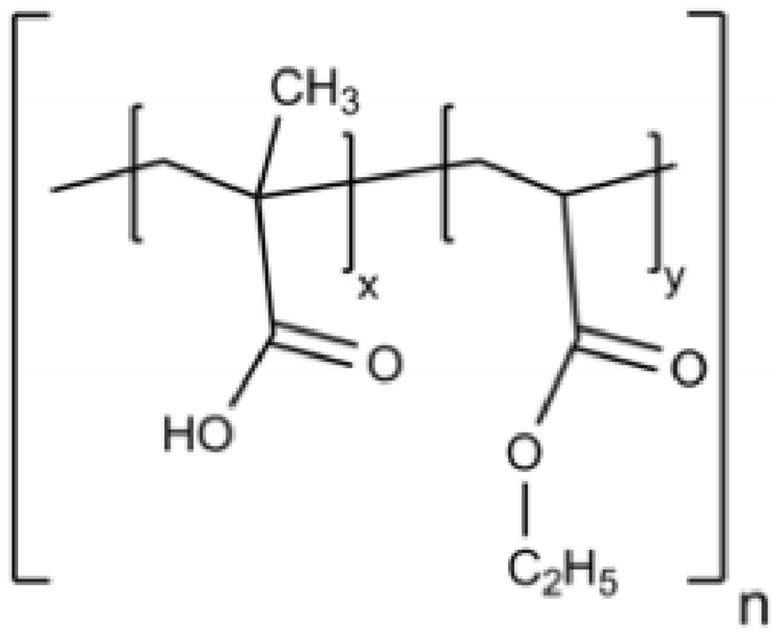
【0010】 在某些實施例中，本文描述自包含呈二聚體形式、單體形式及聚集體形式之IL-10遞送構築體的池富集IL-10遞送構築體二聚體之方法，該方法包含：(i)對池進行陰離子交換(AEX)層析，其藉由將IL-10遞送構築體二聚體結合至陰離子交換管柱且隨後自陰離子交換管柱溶離IL-10遞送構築體二聚體，由此產生第一複數個溶離份，其中之一者為富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第一溶離份；及(ii)對富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的溶離份進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析，由此產生第二複數個溶離份，其中之一者為進一步富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第二溶離份。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一

些實施例中，載體衍生自細菌分泌之多肽。在一些實施例中，細菌為霍亂弧菌。在一些實施例中，霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，該方法進一步包含測定第一複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。在一些實施例中，該方法進一步包含測定第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。在一些實施例中，第一溶離份中至少75%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，第二溶離份中至少80%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，該方法進一步包含進行第二溶離份之切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含超濾。在一些實施例中，該方法進一步包含透濾。在一些實施例中，該方法進一步包含進行第二溶離份之無菌過濾。在一些實施例中，方法不包含陽離子交換層析。在一些實施例中，池包含再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0011】在某些實施例中，本文描述包含以下之口服配方：(a) IL-10遞送構築體；(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑；及(c)包含兩種或更多種各自具有不同標稱溶解pH之共聚物的第一包衣；其中口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基

本上不釋放任何IL-10遞送構築體。在一些實施例中，pH為1.0之溶液為含有鹽酸之溶解介質。在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，在暴露於pH為7.0之溶液2小時之後釋放之至少5%、至少10%、至少20%或至少25%的IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，pH為7.0之溶液為檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一些實施例中，載體衍生自細菌分泌之多肽。在一些實施例中，細菌為霍亂弧菌。在一些實施例中，霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。

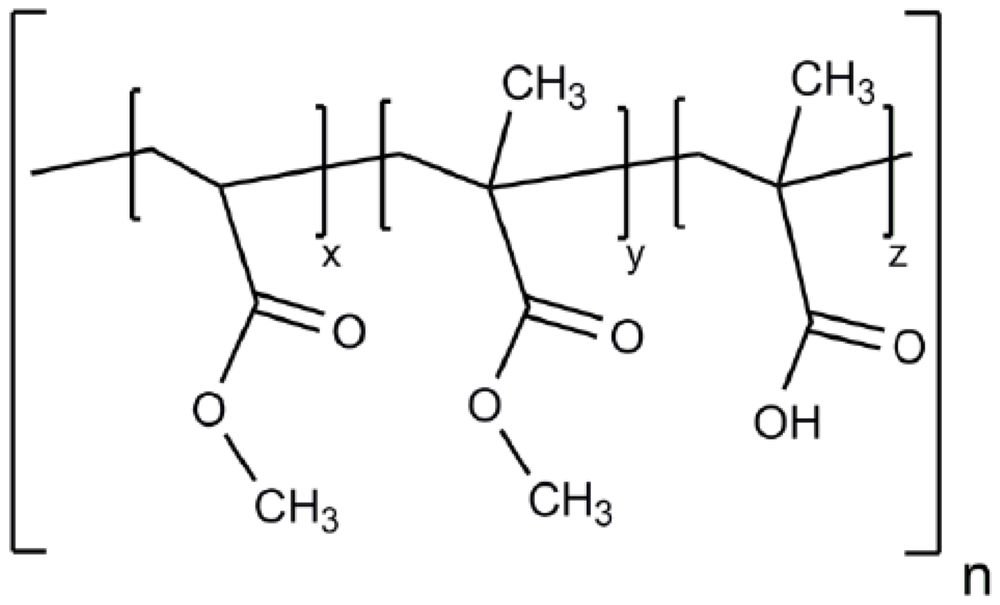
【0012】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，口服配方在膠囊或錠劑中。在一些實施例中，第一共聚物在pH>5.5處具有至少50%標稱溶解，且第二共聚物在pH>7.0處具有至少50%標稱溶解。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第一聚合物之重量平均分子量為200,000 g/mol至450,000 g/mol，或250,000 g/mol至400,000 g/mol，或280,000 g/mol至370,000 g/mol，或300,000 g/mol至340,000 g/mol。在一些實施例中，第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1。

【0013】 在一些實施例中，第一共聚物中之游離羧基與酯基之比為0.8:1及1.2:1。在一些實施例中，第二共聚物不同於第一共聚物。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為15:85至55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第二聚合物之重量平均分子量為160,000 g/mol至400,000 g/mol，或200,000 g/mol至360,000 g/mol，或240,000 g/mol至320,000 g/mol，或260,000 g/mol至300,000 g/mol。在一些實施例中，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



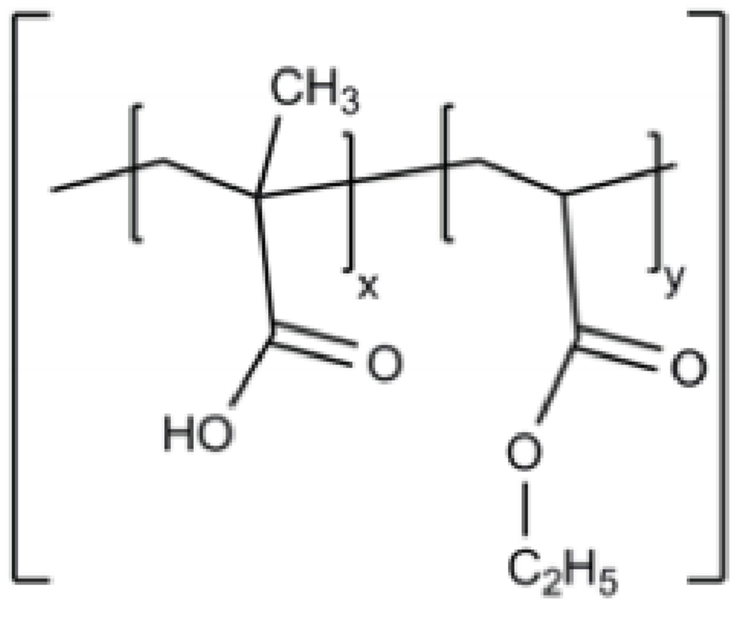
式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1。

【0014】 在一些實施例中，第二共聚物中之游離羧基與酯基之比為0.8:1至1.2:1。在一些實施例中，第一包衣進一步包含防黏劑、塑化劑、界面活性劑或其組合。在一些實施例中，第一包衣包含防黏劑，其中防黏劑包含單硬脂酸甘油酯。在一些實施例中，第一包衣包含塑化劑，其中塑化劑為檸檬酸三乙酯。在一些實施例中，第一包衣包含界面活性劑，其中界面活性劑為聚山梨醇酯80。在一些實施例中，5%至15% (w/w)之第一包衣為單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物。在一些實施例中，第一包衣之厚度基本上等同於1號膠囊上之60 mg包衣之厚度。在一些實施例中，第一包衣以0.1 mg/mm2至0.2 mg/mm2之量安置於內部部分周圍。在一些實施例中，第一包衣之質量為30 mg至60 mg。在一些實施例中，口服配方進一步包含在第一包衣外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，口服配方進一步包含在第一包衣內部且在IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。

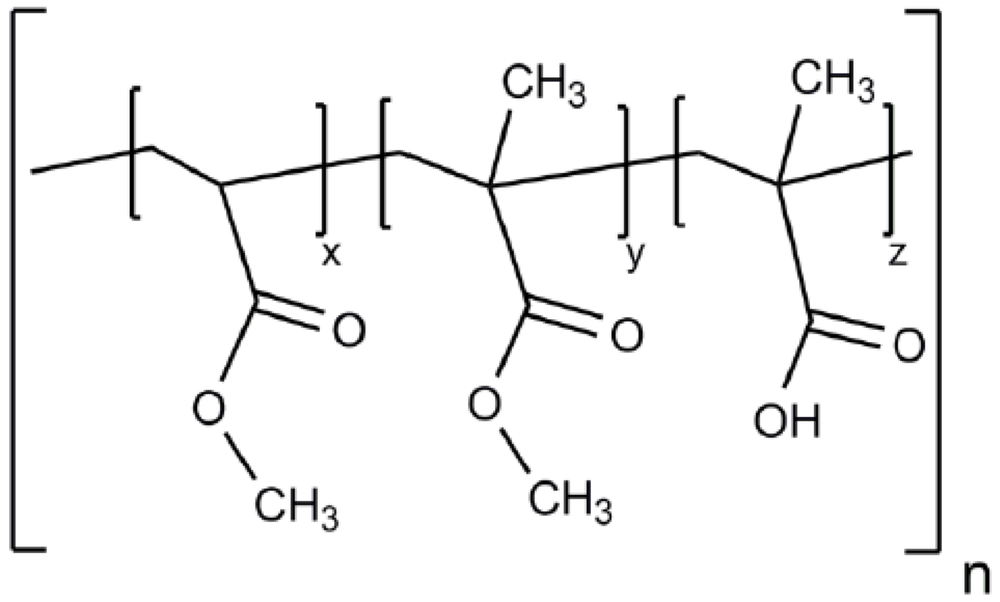
【0015】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體以1 mg至20 mg之量存在於口服配方中。在一些實施例中，IL-10遞送構築體以1 mg、5 mg或20 mg之量存在於口服配方中。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑、滲透劑、鹽及增積劑。在一些實施例中，鹽包含磷酸鉀，增積劑包含甘胺酸，滲透劑包含蔗糖，且界面活性劑包含泊洛沙姆188。在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.45:1至0.55:1、較佳約0.5:1之滲透劑與IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.12:1至0.18:1、較佳約0.15:1之界面活性劑與IL-10遞送構築體。

在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.05:1至0.09:1、較佳約0.07:1之鹽與IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.8:1至1.2:1、較佳約1:1之增積劑與IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方為固體。在一些實施例中，口服配方呈單位劑型。在一些實施例中，口服配方之存放期為至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且其中口服配方進一步包含：(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；且進一步包含第二共聚物，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；其中第一共聚物與第二共聚物之比為30:70；且其中第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；(d)位於第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及(e)位於第一包衣內部及治療負載物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【0016】 在某些實施例中，本文描述包含以下之固體組合物：IL-10遞送構築體；及一或多種賦形劑；其中IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；且其中大於80%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，固體組合物經凍乾或噴霧乾燥。在一些實施例中，固體組合物為錠劑或膠囊。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆。在一些實施例中，泊洛沙姆為泊洛沙姆188。在一些實施例中，界面活性劑不包括聚山梨醇酯。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑為蔗糖。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽為磷酸鉀。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑為甘胺酸。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10經由連接子偶聯至載體。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

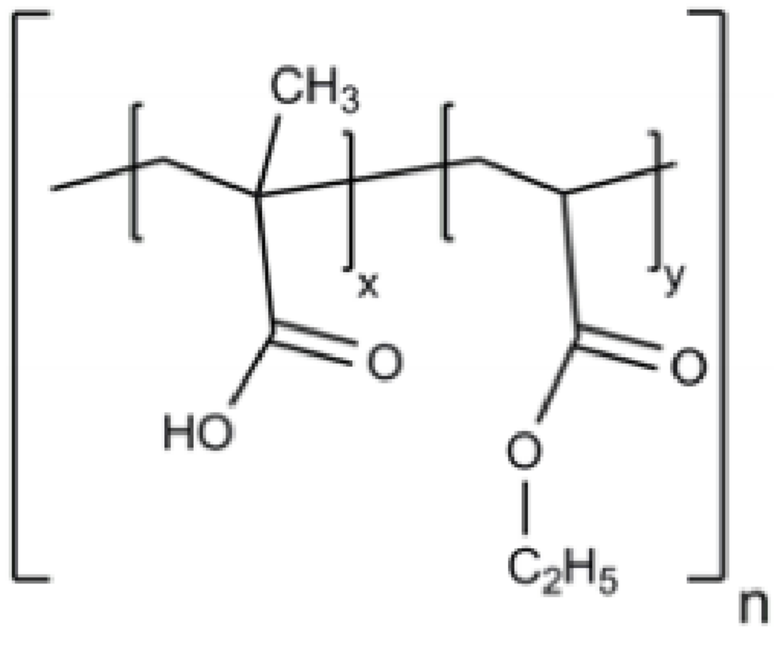
【0017】在一些實施例中，大於81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%或90%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，85%至92%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，固體組合物包含第一包衣。在一些實施例中，第一包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中第一包衣在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為約15:85至約55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。在一些實施例中，固體組合物進一步包含在第一包衣外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，固體組合物進一步包含在第一包衣內部且在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。

【0018】在某些實施例中，本文描述包含以下之固體口服配方：(a)包含與載體偶聯之IL-10的IL-10遞送構築體，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；及(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含非離子潤滑劑；及(c)在

IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑周圍之第一包衣。在一些實施例中，非離子潤滑劑為山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，口服配方不含硬脂酸鎂。在一些實施例中，口服配方呈錠劑形式。在一些實施例中，口服配方經設計以使得在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基本上不自口服配方釋放任何IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方進一步包含第一包衣，其包含兩種或更多種各自具有不同標稱溶解pH之共聚物。在一些實施例中，至少45%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑、崩解劑或其組合。在一些實施例中，增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。在一些實施例中，崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，口服配方係藉由壓縮IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑而產生。在一些實施例中，壓縮在約2000磅-力(lbf)至約3500 lbf之壓縮力下進行。在一些實施例中，第一包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中第一包衣在IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。

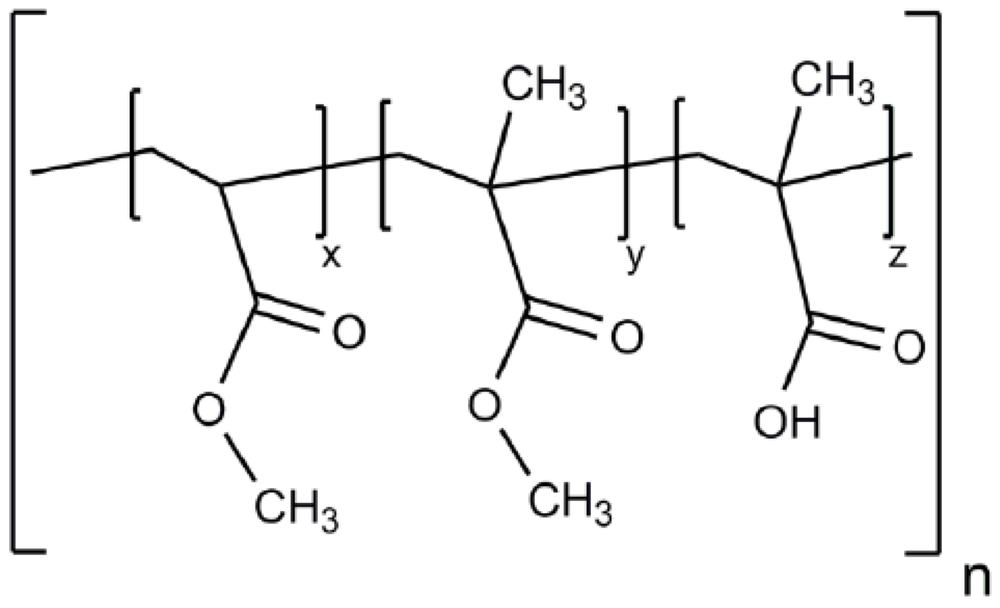
【0019】 在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物

之比為約15:85至約55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。在一些實施例中，固體口服配方進一步包含在第一包衣外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，固體口服配方進一步包含在第一包衣內部且在IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑進一步包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且其中口服配方進一步包含：(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；且進一步包含第二共聚物，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；其中第一共聚物與第二共聚物之比為30:70；且其中第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；(d)位於第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及(e)位於第一包衣內部及治療負載物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【0020】 在某些實施例中，本文描述包含以下之口服配方：(a) IL-10及(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中向個體投與口服配方之劑量產生選自由以下組成之群的免疫調節反應：(i)糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低，(ii) C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線之降低，(iii) Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低，及(iv) (i)-(iii)之組合。在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP相對於FCP基線之降低。在一些實施例中，FCP濃度係測定自糞便樣品或結腸活檢體。在一些實施例中，FCP濃度之降低為相對於FCP基線至少20%、30%、40%或50%之降低。

【0021】 在一些實施例中，FCP基線為在投藥之前個體中之初始FCP濃度。在一些實施例中，初始FCP濃度可指示個體之胃腸道適應症。在一些實施例中，初始FCP濃度為大於150 μg/g。如技術方案178或179之

口服配方，其中胃腸道適應症為潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病(Crohn's disease)。在一些實施例中，FCP濃度相對於初始FCP濃度降低至少50%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。在一些實施例中，FCP基線為安慰劑調節之FCP基線。在一些實施例中，FCP濃度相對於安慰劑調節之FCP基線降低至少20%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。在一些實施例中，FCP濃度降低至50 μg/g或更小。在一些實施例中，免疫調節反應包含CRP濃度相對於CRP基線之降低。在一些實施例中，CRP濃度為全身性CRP濃度。在一些實施例中，CRP濃度係測定自血液樣品。在一些實施例中，CRP濃度之降低為相對於CRP基線至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%之降低。在一些實施例中，CRP基線為在投藥之前個體中之初始CRP濃度。在一些實施例中，初始CRP濃度為大於5 mg/L。在一些實施例中，初始CRP濃度指示個體之胃腸道適應症。

【0022】在一些實施例中，胃腸道適應症為大腸激躁症(IBD)。在一些實施例中，CRP濃度相對於初始CRP濃度降低至少40%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。在一些實施例中，CRP基線為安慰劑調節之CRP基線。在一些實施例中，CRP濃度相對於安慰劑調節之CRP基線降低至少10%，且口服配方之劑量為約3 mg。在一些實施例中，CRP濃度相對於安慰劑調節之CRP基線降低至少40%，且口服配方之劑量為約1 mg。在一些實施例中，CRP濃度係降低至小於5 mg/L。在一些實施例中，免疫調節反應包含Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。在一些實施例中，Geboes評分基線為在投藥之前的初始Geboes評分。在一些實施例中，Geboes評分基線為安慰劑調節之Geboes評分基線。在一些實施例中，Geboes評分相對於安慰劑調節之Geboes評分基線降低至少2個單位，

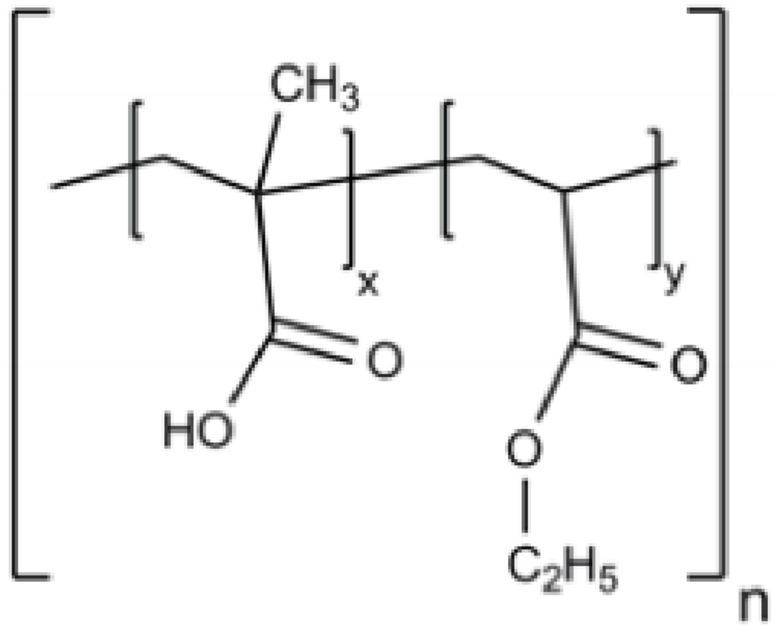
且口服配方之劑量為約1 mg至約30 mg。

【0023】在一些實施例中，小於5%之所投與IL-10進入個體之血流。在一些實施例中，在每日投與口服配方之劑量持續14日之後觀測到免疫調節反應。在一些實施例中，口服配方之劑量為10 mg或更小。在一些實施例中，口服配方之劑量為1 mg至10 mg、3 mg至10 mg或1 mg至3 mg。在一些實施例中，口服配方之劑量為1 mg、3 mg或10 mg。在一些實施例中，口服配方為膠囊。

【0024】在一些實施例中，口服配方為可生物降解的。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑為蔗糖。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽為磷酸鉀。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑為甘胺酸。在一些實施例中，口服配方包含第一包衣，其中第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一包衣含有包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯之第一共聚物及包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯之第二共聚物。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為約15:85至55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。

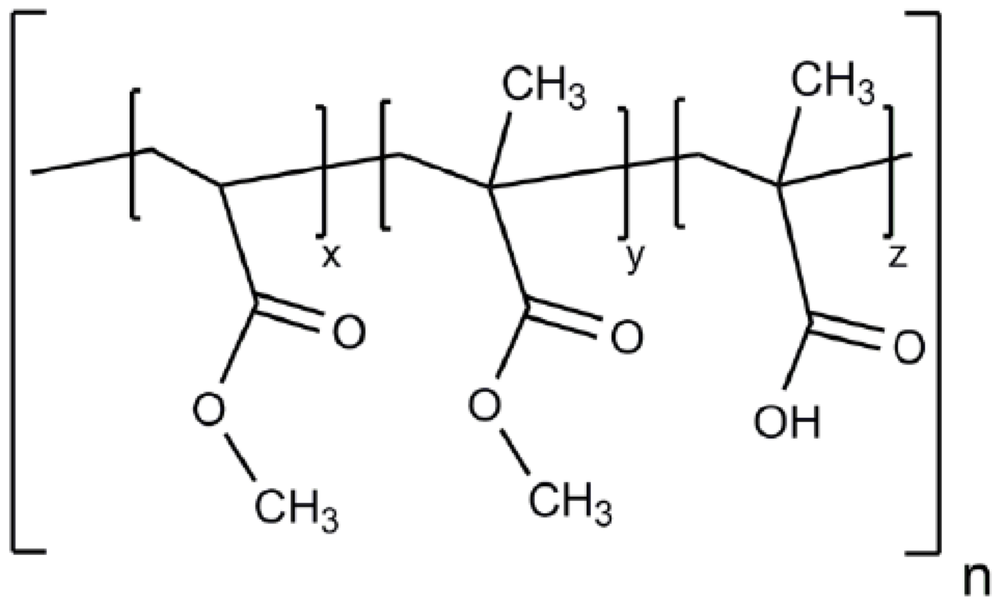
【0025】在一些實施例中，口服配方進一步包含位於第一包衣內部及IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，口

服配方進一步包含在第一包衣內部且在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。在一些實施例中，IL-10為與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且其中口服配方進一步包含：(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；且進一步包含第二共聚物，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；其中第一共聚物與第二共聚物之比為30:70；且其中第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；(d)位於第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及(e)位於第一包衣內部及治療負載物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【0026】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該方法包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中該投與產生選自由以下組成之群的免疫調節反應：(i)糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低，(ii) C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線之降低，(iii)Geboes評分相對於基線Geboes評分之降低，及(iv) (i)-(iii)之組合。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、乳糜瀉、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【0027】在某些實施例中，本文描述調節患有發炎性病症之個體中之生物標記之方法，該方法包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中生物標記係選自由以下組成之群：糞

便鈣衛蛋白(FCP)、C反應蛋白(CRP)及其組合。在一些實施例中，該投與引起FCP濃度相對於FCP基線之降低。在一些實施例中，該投與引起CRP濃度相對於CRP基線之降低。在一些實施例中，該投與進一步引起Geboes評分相對於基線Geboes評分之降低。在一些實施例中，包含治療患有發炎性病症之個體。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、乳糜瀉、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【0028】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向個體投與包含IL-10之配方。在一些實施例中，消炎劑為胺基水楊酸鹽。在一些實施例中，胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。在一些實施例中，消炎劑為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為潑尼松。在一些實施例中，皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。在一些實施例中，消炎劑為免疫抑制劑。在一些實施例中，免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。在一些實施例中，消炎劑為TNFα抑制劑。在一些實施例中，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗(adalimumab)、賽妥珠單抗(certolizumab)、依那西普(etanercept)、戈利木單抗(golimumab)及英利昔單抗(infliximab)。

【0029】在一些實施例中，至少一種消炎劑為Janus激酶(JAK)抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼

(filgotinib)、優帕替尼(upadacitinib)、皮非替尼(peficitinib)及托法替尼(tofacitinib)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。在一些實施例中，S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫(ozanimod)、阿瑟利莫(amiselimod)及伊拉斯莫(etrasimod)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為整合素阻斷劑。在一些實施例中，整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗(etrolizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、維多珠單抗(vedolizumab)、阿布里單抗(abrilumab)及卡洛斯特甲基(carotegrast methyl)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為IL-23抑制劑。在一些實施例中，IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗(ustekinumab)、密利基單抗(mirikizumab)、布拉奇單抗(brazikumab)、古賽庫單抗(guselkumab)及里森基單抗(risankizumab)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。在一些實施例中，至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特(apremilast)、西洛司特(cilomilast)、羅氟司特(roflumilast)、替托司特(tetomilast)及咯利普蘭(rolipram)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為拉喹莫德(laquinimod)。

【0030】在某些實施例中，本文描述再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使包含IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；(ii)使可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解還原劑接觸以產生還原之IL-10遞送構築體；及(iii)使還原之IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊之IL-10遞送構築體。在某些實施例中，本文描述再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使可溶性IL-10遞送構築體

與包含亞硫酸鈉之亞硫酸分解還原劑接觸以產生還原之IL-10遞送構築體；(ii)使還原之IL-10遞送構築體與連四硫酸鉀接觸；(iii)藉由深度過濾澄清還原之IL-10遞送構築體以產生澄清之IL-10遞送構築體；(iv)對澄清之IL-10遞送構築體進行超濾，接著進行透濾；及(v)使澄清之IL-10遞送構築體與包含以下之再摺疊溶液接觸：0.8 mM至1.2 mM還原麩胱甘肽、0.4 mM至0.6 mM氧化麩胱甘肽、800 mM至1.2 M精胺酸、200 mM至300 mM蔗糖、75 mM至125 mM Tris及1.5 mM至2.5 mM EDTA，其中再摺疊溶液在7.5至8.5之pH下緩衝以產生再摺疊之IL-10遞送構築體，且其中與再摺疊溶液接觸進行至少16小時。在一些實施例中，亞硫酸分解還原劑包含亞硫酸鈉。

【0031】 在某些實施例中，本文描述包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中向個體投與劑量為1 mg至約60 mg之口服配方使得個體中之IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度增加超過20%。在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方之劑量，其中該投與使得個體中之IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度增加超過20%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為超過30%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為30%至45%、30%至35%或40%至43%。在一些實施例中，向個體投與口服配方之劑量使得個體中IL-10之血漿濃度不超過1500 pg/mL、1000 pg/mL、500 pg/mL、100 pg/mL或10 pg/mL。在一些實施例中，向個體投與口服

配方引起IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，表現CD3之細胞為淋巴細胞。在一些實施例中，淋巴細胞為T淋巴細胞。在一些實施例中，向個體投與口服配方引起IL-10與巨噬細胞在個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，向個體投與口服配方不引起IL-10與細胞在個體之固有層中之共定位，其中細胞選自由以下組成之群：樹突狀細胞、B淋巴細胞、內皮細胞及其組合。

【0032】 在某些實施例中，本文描述包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中向個體投與口服配方引起個體之血漿中之IL-1Ra之濃度相對於基線含量至少5000 pg/mL之增加及以下中之至少一者：(1)小於50 pg/mL之峰值IL-10血漿濃度及(2)IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中該投與引起個體之血漿中之IL-1Ra之濃度相對於基線含量至少5000 pg/mL之增加及以下中之至少一者：(1)小於50 pg/mL之峰值IL-10血漿濃度及(2)IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎或牛皮癬。在一些實施例中，個體之血漿中之峰值IL-1Ra濃度係在投藥之後2至4小時或2至3小時獲得。在一些實施例中，向個體投與口服配方使得個體之血漿中之峰值IL-10濃度為小於10 pg/mL、2.5 pg/mL或1.5 pg/mL。在一些實施例中，IL-1Ra之濃度達到25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。在一些實施例中，向個體投與口服配方使得個體之結腸組織中IL-Ra

與介白素1β之表現比增加。在一些實施例中，IL-1Ra與IL-1β之比為至少2:1。在一些實施例中，向個體投與口服配方使得個體之結腸組織中之介白素1受體激動劑(IL-1Ra)表現增加。

【0033】 在某些實施例中，本文描述包含與SEQ ID NO: 10具有至少90%、至少92%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之序列的非天然核酸。在一些實施例中，非天然核酸具有與SEQ ID NO: 10具有100%一致性之序列。

【0034】 在某些實施例中，本文描述包含以下之固體口服配方：(i)包含與載體偶聯之IL-10的IL-10遞送構築體，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；(ii)一或多種賦形劑，其中一或多種賦形劑包含非離子潤滑劑；及(iii)在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑周圍之第一包衣。在一些實施例中，非離子潤滑劑為山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，口服配方不含離子界面活性劑。在一些實施例中，口服配方不含硬脂酸鎂。在一些實施例中，口服配方呈錠劑形式。

【0035】 在一些實施例中，口服配方經設計以使得在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基本上不自口服配方釋放任何IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，第一包衣包含各自具有不同標稱溶解pH之聚合物之摻合物。在一些實施例中，至少45%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【0036】 在一些實施例中，一或多種賦形劑包含增積劑、崩解劑或其組合。在一些實施例中，增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。在一些實

施例中，崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【0037】 在某些實施例中，本文描述呈錠劑形式之口服配方，其包含藉由腸溶包衣囊封之IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中在將口服配方浸沒至4型溶解裝置中pH為7.0之溶液中1小時之後，呈二聚體形式之IL-10的百分比為至少45%。在一些實施例中，pH為7.0之溶液為檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，腸溶包衣之厚度為4 mg/cm^2至20 mg/cm^2、4 mg/cm^2至6 mg/cm^2、5 mg/cm^2至10 mg/cm^2或5 mg/cm^2至20 mg/cm^2。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【0038】 在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑為蔗糖。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽為磷酸鉀。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑為甘胺酸。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含至少一種壓實賦形劑。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑包含增積劑。在一些實施例

中，增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑包含崩解劑。在一些實施例中，崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑包含潤滑劑。在一些實施例中，潤滑劑為非離子界面活性劑。在一些實施例中，非離子界面活性劑為山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，非離子界面活性劑為二山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑係包含於顆粒內相、顆粒外相或其組合中。

【0039】 在一些實施例中，口服配方係藉由壓縮IL-10及至少一種壓實賦形劑而產生。在一些實施例中，壓縮在約2000磅-力(lbf)至約3500 lbf之壓縮力下進行。

【0040】 在一些實施例中，IL-10為與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10為與SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。

【0041】 在一些實施例中，腸溶包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中腸溶包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，腸溶包衣中第一共聚物與第二共聚物之比為按重量計約50:50至約20:80。在一些實施例中，腸溶包衣中第一共聚物與第二共聚物之比為按重量計約25:75至約35:65。在一些實施例中，腸溶包衣為口服配方之

重量的5%至12%。在一些實施例中，腸溶包衣為口服配方之重量的不超過12%。在一些實施例中，口服配方進一步包含位於腸溶包衣內部及IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第二腸溶包衣。在一些實施例中，第二腸溶包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，第二腸溶為口服配方之重量的3%至5%。在一些實施例中，當口服配方呈固體形式時，呈二聚體形式之IL-10之百分比為至少45%。

【0042】 在一些實施例中，腸溶包衣包含乙酸丁二酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS)，其中腸溶包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，HPMCAS包含第一HPMCAS及第二HPMCAS。在一些實施例中，第一HPMCAS在大於或等於6.8之pH下可溶。在一些實施例中，第一HPMCAS包含HPMCAS-HF。在一些實施例中，第二HPMCAS在大於或等於6.0之pH下可溶。在一些實施例中，第二HPMCAS包含HPMCAS-MF。在一些實施例中，第一HPMCAS與第二HPMCAS之比為約40:60至約60:40。

【0043】 在某些實施例中，本文揭示包含投與本文所描述之配方中之任一者以治療有需要之個體之疾病或病況的方法。類似地，本文揭示用於治療有需要之個體之疾病或病況的本文所描述之IL-10遞送構築體或配方。類似地，本文揭示如本文所揭示之IL-10遞送構築體之用途，其用於製造供治療有需要之個體之疾病或病況用之藥劑。在一些實施例中，疾病或病況選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎及牛皮癬。

【0044】在某些實施例中，本文揭示包含以下之固體組合物：IL-10遞送構築體；及一或多種賦形劑；其中IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；且其中大於80%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 20-146中之任一者之位置1-386的胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 147之位置1-386的胺基酸序列。

【0045】在一些實施例中，固體組合物為錠劑或膠囊。在一些實施例中，一或多種賦形劑包含泊洛沙姆188、蔗糖、磷酸鉀、甘胺酸或其組合。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10經由連接子偶聯至載體。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，大於81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%或90%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，85%至92%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【0046】在一些實施例中，固體組合物包含腸溶包衣。在一些實施例中，腸溶包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中腸溶包衣在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，腸溶包衣中之第一共聚物

與第二共聚物之比為約50:50至約20:80。在一些實施例中，腸溶包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為25:75至約35:65。

【0047】 在某些實施例中，本文揭示再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使包含IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；(ii)使可溶性IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊IL-10遞送構築體；其中方法不包含在步驟(ii)之接觸之前使可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解劑或還原劑接觸。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含與載體偶聯之IL-10。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 20-146中之任一者之位置1-386的胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 147之位置1-386的胺基酸序列。

【0048】 在一些實施例中，再摺疊溶液包含比率(w/w)為0.8:1至1.2:1之還原麩胱甘肽:氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM還原麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液之pH為7.5至8.5。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、Tris及EDTA。在一些實施例中，再摺疊溶液包含蔗糖。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。在一些實施例中，精胺酸以900 mM至1.1 M之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，蔗糖以200 mM至300 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，Tris以75 mM至125 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，EDTA以

1.75 mM至2.25 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。

【0049】在一些實施例中，該方法進一步包含溶解包含包涵體之細胞。在一些實施例中，細胞為細菌。在一些實施例中，細菌為大腸桿菌。在一些實施例中，溶解包含高壓均質化。在一些實施例中，該方法進一步包含分離包涵體。在一些實施例中，離液劑包含鹽酸胍或脲。在一些實施例中，溶解溶液進一步包含Tris。

【0050】在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生至少16小時。在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生12小時至18小時。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸在2℃至8℃發生。在一些實施例中，該方法進一步包含再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。在一些實施例中，第一無菌過濾在與再摺疊溶液接觸之後發生。在一些實施例中，該方法進一步包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含透濾。在一些實施例中，透濾包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。在一些實施例中，第一透濾體積及第二透濾體積包含冷緩衝液。在一些實施例中，第三透濾體積及第四透濾體積包含室溫緩衝液。在一些實施例中，冷緩衝液及室溫緩衝液包含Tris及NaCl。

【0051】在一些實施例中，IL-10遞送構築體二聚體可儲存於例如25℃下之緩衝液中兩天。此類緩衝液可包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl。相比於僅包含pH 7.0之10 mM磷酸鈉的緩衝液，當儲存於包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl之緩衝液中時，IL-10遞送構

築體二聚體可更穩定。

【0052】在某些實施例中，本文描述自包含呈二聚體形式、單體形式及聚集體形式之IL-10遞送構築體的池富集IL-10遞送構築體二聚體之方法，該方法包含：(i)對池進行陰離子交換(AEX)層析，其藉由將IL-10遞送構築體二聚體結合至陰離子交換管柱且隨後自陰離子交換管柱溶離IL-10遞送構築體二聚體，由此產生第一複數個溶離份，其中之一者為富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第一溶離份；及(ii)對富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的溶離份進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析，由此產生第二複數個溶離份，其中之一者為進一步富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第二溶離份。在一些實施例中，IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 20-146中之任一者之位置1-386的胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 147之位置1-386的胺基酸序列。

【0053】在一些情況下，方法可包含進行陽離子交換層析，例如用Sulfate 650F管柱。陽離子交換層析步驟可在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之後、在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之前、或在陰離子交換層析步驟與陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之間進行。

【0054】在一些實施例中，該方法進一步包含測定第一複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為

尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。在一些實施例中，該方法進一步包含測定第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。

【0055】 在一些實施例中，第一溶離份中至少75%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，第二溶離份中至少80%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，該方法進一步包含進行第二溶離份之切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含超濾。在一些實施例中，該方法進一步包含透濾。在一些實施例中，該方法進一步包含對第二溶離份進行無菌過濾。在一些實施例中，方法不包含陽離子交換層析。在一些實施例中，池包含獲自本文所描述之任一方法之再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0056】 在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向個體投與包含IL-10之配方。類似地，本文揭示本文所描述之IL-10遞送構築體或配方，其用於治療個體之發炎性病症，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的。類似地，本文揭示如本文所揭示之IL-10遞送構築體之用途，其用於製造供治療個體之發炎性病症用之藥劑，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的。在一些實施例中，消炎劑為胺基水楊酸鹽。在一些實施例中，胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。在一些實施例中，消炎劑為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為潑尼松。在一些實施例中，皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)

投與之皮質類固醇。在一些實施例中，消炎劑為免疫抑制劑。在一些實施例中，免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。在一些實施例中，消炎劑為TNFα抑制劑。在一些實施例中，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗(adalimumab)、賽妥珠單抗(certolizumab)、依那西普(etanercept)、戈利木單抗(golimumab)及英利昔單抗(infliximab)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為Janus激酶(JAK)抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼(filgotinib)、優帕替尼(upadacitinib)、皮非替尼(peficitinib)及托法替尼(tofacitinib)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。在一些實施例中，S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫(ozanimod)、阿瑟利莫(amiselimod)及伊拉斯莫(etrasimod)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為整合素阻斷劑。在一些實施例中，整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗(etrolizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、維多珠單抗(vedolizumab)、阿布里單抗(abrilumab)及卡洛斯特甲基(carotegrast methyl)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為IL-23抑制劑。在一些實施例中，IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗(ustekinumab)、密利基單抗(mirikizumab)、布拉奇單抗(brazikumab)、古賽庫單抗(guselkumab)及里森基單抗(risankizumab)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。在一些實施例中，至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特(apremilast)、西洛司特(cilomilast)、羅氟司特(roflumilast)、替托司特(tetomilast)及咯利普蘭(rolipram)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為拉喹莫德(laquinimod)。在一些實施例中，每日

向個體投與配方，持續至少5、7、10、12或14日。

【0057】在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎或牛皮癬。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20及泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑選自由蔗糖及海藻糖組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽選自由以下組成之群：磷酸鉀、氯化鈉、氯化鉀、氯化鎂及硫酸鈉。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑係選自由甘胺酸及甘露糖醇組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含崩解劑。在一些實施例中，崩解劑係選自由以下組成之群：微晶纖維素(MCC)、矽化微晶纖維素(SMCC)、澱粉、乙醇酸澱粉鈉、維格姆(veegum)、膨潤土、海藻酸、海藻酸鈣、交聯羧甲纖維素鈉(croscarmellose sodium/crosslinked sodium carboxymethyl cellulose)及交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含結合劑。在一些實施例中，結合劑係選自由以下組成之群：蔗糖、乳糖、澱粉、纖維素、明膠、聚乙烯吡咯啶酮(PVP)及聚乙二醇(PEG)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含潤

滑劑。在一些實施例中，潤滑劑係選自由以下組成之群：硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、二山嵛酸甘油酯、硬脂醯反丁烯二酸鈉、硬脂酸、滑石、二氧化矽、硬脂酸鈣、碳酸鎂、氫化油、礦物油、聚乙二醇(PEG)及單硬脂酸甘油酯。

【0058】 在一些實施例中，IL-10為包含與載體偶聯之IL-10之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含將IL-10與載體偶聯之連接子。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體與SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，在與細胞接觸時，載體促進IL-10遞送構築體之內吞作用或胞吞轉運。在一些實施例中，細胞為腸道上皮細胞。在一些實施例中，腸道上皮細胞為極化腸道上皮細胞。

【0059】 在一些實施例中，配方為口服配方。在一些實施例中，口服配方為膠囊或錠劑。在一些實施例中，口服配方含有包含第一共聚物及第二共聚物之第一包衣，其中第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第一包衣中第一共聚物與第二共聚物之比(w/w)為0.8:1至1.2:1。在一些實施例中，投與包含經口投與。

【0060】 在某些實施例中，本文揭示對發炎性病症得以緩解之個體

預防發炎性病症復發之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑的配方。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎或牛皮癬。

【0061】在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20及泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑選自由蔗糖及海藻糖組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽選自由以下組成之群：磷酸鉀、氯化鈉、氯化鉀、氯化鎂及硫酸鈉。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑係選自由甘胺酸及甘露糖醇組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含崩解劑。在一些實施例中，崩解劑係選自由以下組成之群：微晶纖維素(MCC)、矽化微晶纖維素(SMCC)、澱粉、乙醇酸澱粉鈉、維格姆(veegum)、膨潤土、海藻酸、海藻酸鈣、交聯羧甲纖維素鈉(croscarmellose sodium/crosslinked sodium carboxymethyl cellulose)及交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含結合劑。在一些實施例中，結合劑係選自由以下組成之群：蔗糖、乳糖、澱粉、纖維素、明膠、聚乙烯吡咯啶酮(PVP)及聚乙

二醇(PEG)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含潤滑劑。在一些實施例中，潤滑劑係選自由以下組成之群：硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、二山嵛酸甘油酯、硬脂醯反丁烯二酸鈉、硬脂酸、滑石、二氧化矽、硬脂酸鈣、碳酸鎂、氫化油、礦物油、聚乙二醇(PEG)及單硬脂酸甘油酯。

【0062】在一些實施例中，IL-10為包含與載體偶聯之IL-10之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含將IL-10與載體偶聯之連接子。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體與SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，在與細胞接觸時，載體促進IL-10遞送構築體之內吞作用或胞吞轉運。在一些實施例中，細胞為腸道上皮細胞。在一些實施例中，腸道上皮細胞為極化腸道上皮細胞。

【0063】在一些實施例中，配方為口服配方。在一些實施例中，口服配方為膠囊或錠劑。在一些實施例中，口服配方含有包含第一共聚物及第二共聚物之第一包衣，其中第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第一包衣中第一共聚物與第二共聚物之比為0.8:1至1.2:1。在一些實施例中，投與包含經口投與。

【0064】在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向個體經口投與IL-10治療劑及向個體投與非IL-10免疫抑制劑。在其他實施例中，本發明提供治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向個體經口投與IL-10治療劑，其中個體同時接受非IL-10免疫抑制劑。在其他實施例中，本發明提供治療個體之發炎性疾病之方法，其中個體對非IL-10免疫抑制劑之反應不充分，該方法包含向個體經口投與IL-10治療劑。

【0065】在一些情況下，該方法進一步包含將非IL-10免疫抑制劑與IL-10治療劑一起投與。在一些情況下，在確定不充分反應之前，個體用非IL-10免疫抑制劑治療至少6週。在一些情況下，在確定不充分反應之前，個體用非IL-10免疫抑制劑治療至少12週。在一些情況下，不充分反應為部分反應。

【0066】在一些情況下，發炎性疾病係選自由以下組成之群：發炎性腸病、牛皮癬、斑塊型牛皮癬、化膿性汗腺炎、牛皮癬性關節炎、類風濕性關節炎、幼年特發性關節炎、僵直性脊椎炎、細菌性敗血症、克羅恩氏病、瘻管性克羅恩氏病、中度至重度潰瘍性結腸炎、輕度至中度潰瘍性結腸炎、潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎、缺血性結腸炎、改道性結腸炎、白塞氏症候群(Behcet's syndrome)、不確定型結腸炎、胰臟炎、肝炎、儲袋炎、直腸炎、葡萄膜炎、移植物抗宿主疾病及上皮細胞損傷。在一些情況下，發炎性疾病為發炎性腸病。在一些情況下，發炎性疾病係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病。

【0067】在一些情況下，發炎性疾病為類風濕性關節炎，且具有不

充分反應之個體的一或多個關節患有活動性疾病。在一些情況下，一或多個關節患有活動性疾病係藉由螢光光學成像或磁共振成像鑑別。在一些情況下，具有不充分反應之個體另外具有兩個或更多個觸痛的關節。在一些情況下，具有不充分反應之個體另外具有兩個或更多個腫脹的關節。

【0068】 在一些情況下，發炎性疾病為潰瘍性結腸炎，且具有不充分反應之個體患有中度至重度潰瘍性結腸炎。在一些情況下，具有不充分反應之個體的改良梅歐臨床評分(Mayo Clinic Score，MMS)為約4分至約9分。在一些情況下，具有不充分反應之個體的集中讀取MCS內視鏡分項評分為2級或更高。在一些情況下，具有不充分反應之個體的MMS直腸出血分項評分為1分或更高。在一些情況下，具有不充分反應之個體患有自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。如以上技術方案中任一項之方法，其中IL-10治療劑為IL-10遞送構築體。

【0069】 在一些情況下，IL-10遞送構築體包含由SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列組成之載體。在一些情況下，IL-10遞送構築體包含由與SEQ ID NO: 4至少90%一致之胺基酸序列組成之載體。在一些情況下，IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列。

【0070】 在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為TNFα抑制劑。在一些情況下，TNFα抑制劑為單株抗體。在一些情況下，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：英利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(Humira)及戈利木單抗(Simponi)。在一些情況下，TNFα抑制劑包含SEQ ID NO: 151及SEQ ID NO: 152。在一些情況下，TNFα抑制劑包含SEQ ID NO: 153及SEQ ID NO: 154。在一些情況下，TNFα抑制劑不為依那西普。

參考文獻併入

【0071】 本說明書中所提及之所有公開案、專利及專利申請案均以引用的方式併入本文中，其引用的程度如各單獨的公開案、專利或專利申請案經特定及單獨地指示以引用的方式併入一般。

【圖式簡單說明】

【0072】 本專利或申請案檔案含有至少一張彩製圖。在申請且支付必要費用後，專利局將提供具有彩色圖式之本專利或專利申請公開案之複本。本發明之各種特徵在所附申請專利範圍中細緻闡述。將參考闡述利用本發明原理之例示性實施例及其隨附圖式的以下詳細描述來獲得對本發明之特徵及優點的較佳理解：

【0073】 **圖1**說明如藉由小角度X射線散射(SAXS)所測定的cholix-IL-10遞送構築體均二聚體(包含SEQ ID NO: 5之兩個相同次單位的二聚體)之結構。

【0074】 **圖2A-圖2B**說明表現、再摺疊及純化IL-10或IL-10遞送構築體之例示性方法。**圖2A**說明具有亞硫酸分解步驟的用於表現、再摺疊及純化IL-10或IL-10遞送構築體之例示性方法。**圖2B**說明不具有亞硫酸分解步驟的用於表現、再摺疊及純化IL-10或IL-10遞送構築體之例示性方法。

【0075】 **圖3**說明模擬隨時間推移在相同反應器內之胃、小腸及結腸之生理條件的經調適SHIME®系統。

【0076】 **圖4**說明在禁食條件下之模擬胃腸道的pH曲線。箭頭指示在胃培育期(ST0；ST45)及小腸培育期(SI0；SI0,5；SI1；SI1,5；SI2；SI3)期間獲取之樣品的時間及對應pH。

【0077】 **圖5A-圖5E**說明咖啡鹼(mg)自具有各種包衣組成及包衣厚

度之1號膠囊的平均釋放，如由**表12**中之膠囊配方所示。平均釋放係由3個個別膠囊測定。時間點與模擬胃之條件由ST0及ST45表示。時間點與模擬小腸之條件由SI0、SI0,5、SI1、SI1,5、SI2及SI3表示。時間點與模擬結腸之條件由C0、C0,5、C1、C1,5、C2、C3、C4及C18表示。**圖5A**說明咖啡鹼自配方A之膠囊的釋放。樣品相比於其先前樣品之差異係用星號(*)指示，其表示統計顯著變化($p<0.05$)。膠囊之目測評分指示於條上方(1：膠囊完整；2：膠囊受損但幾乎所有產品仍在膠囊中；3：膠囊受損且釋放所有產品；4：膠囊毀壞)。**圖5B**說明咖啡鹼自配方B之膠囊的釋放。**圖5C**說明咖啡鹼自配方C之膠囊的釋放。**圖5D**說明咖啡鹼自配方D之膠囊的釋放。**圖5E**說明咖啡鹼自配方E之膠囊的釋放。

【0078】 **圖6A-圖6C**說明咖啡鹼自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 7.0處。**圖6A**說明咖啡鹼自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖6B**說明咖啡鹼自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖6C**說明咖啡鹼自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0079】 **圖7A-圖7C**說明咖啡鹼自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.5處。**圖7A**說明咖啡鹼自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖7B**說明咖啡鹼自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖7C**說明咖啡鹼自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0080】 **圖8A-圖8C**說明咖啡鹼自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.0處。**圖8A**說明咖啡鹼自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖8B**說明咖啡鹼自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖8C**說明咖啡鹼自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0081】 **圖9A-圖9C**說明目標構築體(SEQ ID NO: 5)自各種膠囊包

衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 7.0處。**圖9A**說明目標構築體自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖9B**說明目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖9C**說明目標構築體自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0082】 **圖10A-圖10C**說明目標構築體(SEQ ID NO: 5)自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.5處。**圖10A**說明目標構築體自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖10B**說明目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖10C**說明目標構築體自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0083】 **圖11A-圖11C**說明目標構築體(SEQ ID NO: 5)自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.0處。**圖11A**說明目標構築體自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖11B**說明目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖11C**說明目標構築體自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0084】 **圖12A-圖12C**說明自各種膠囊包衣釋放的呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)之%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 7.0處。**圖12A**說明自膠囊包衣A-B釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。**圖12B**說明自膠囊包衣C-F釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。**圖12C**說明自膠囊包衣G-H釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0085】 **圖13A-圖13C**說明自各種膠囊包衣釋放的呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)之%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.5處。**圖13A**說明自膠囊包衣A-B釋放的呈二聚體形式之目標構築體

之%。**圖13B**說明呈二聚體形式之目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖13C**說明自膠囊包衣G-H釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0086】 **圖14A-圖14C**說明自各種膠囊包衣釋放的呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)之%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.0處。**圖14A**說明自膠囊包衣A-B釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。**圖14B**說明呈二聚體形式之目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖14C**說明自膠囊包衣G-H釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0087】 **圖15A-圖15C**說明在向食蟹獼猴投與含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼與**表25**中所示之膠囊包衣A、B或C中之一者的膠囊之後的8小時期間，食蟹獼猴中之IL-10、咖啡鹼及介白素-1受體拮抗劑(IL-1RA)的血清含量。**圖15A**說明IL-10之血清含量。**圖15B**說明咖啡鹼之血清含量。**圖15C**說明IL-1RA之血清含量。X軸及Y軸為對數標度。用表示平均值之標準誤差的條來繪製各組之平均值。

【0088】 **圖16A-圖16C**說明在向食蟹獼猴投與含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼與**表25**中所示之膠囊包衣A、G及H中之一者的膠囊之後的8小時期間，食蟹獼猴中之IL-10、咖啡鹼及IL-1RA的血清含量。**圖16A**說明IL-10之血清含量。**圖16B**說明咖啡鹼之血清含量。**圖16C**說明IL-1RA之血清含量。X軸及Y軸為對數標度。用表示平均值之標準誤差的條來繪製各組之平均值。

【0089】 **圖17A-圖17C**說明在向食蟹獼猴投與含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼與**表25**中所示之膠囊包衣A、C、D、E及F中之一者的

膠囊之後的8小時期間，食蟹獼猴中之IL-10、咖啡鹼及IL-1RA的血清含量。**圖17A**說明IL-10之血清含量。**圖17B**說明咖啡鹼之血清含量。**圖17C**說明IL-1RA之血清含量。X軸及Y軸為對數標度。用表示平均值之標準誤差的條來繪製各組之平均值。

【0090】 **圖18**說明在40℃下培育3天之後，不同壓實賦形劑及凍乾目標構築體(SEQ ID NO: 5)粉末之組合的尺寸排阻層析圖(SEC)。檢查之壓實賦形劑包括：澱粉、交聯羧甲纖維素鈉、硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、微晶纖維素(MCC)、乳糖、交聯聚維酮及矽化微晶纖維素(SMCC)。

【0091】 **圖19**說明尺寸排阻層析圖(SEC)，其展示目標構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度以及F1及F2配方之目標構築體(SEQ ID NO: 5)的二聚體純度。

【0092】 **圖20A-圖20D**說明在溶解不同錠劑配方之後的目標構築體(SEQ ID NO: 5)之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20A**說明在溶解使用2000磅-力(lbf)之壓縮力產生之**F1**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20B**說明在溶解使用2500 lbf壓縮力產生之**F1**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20C**說明在溶解使用2500 lbf壓縮力產生之**F2**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20D**說明在溶解使用3000 lbf壓縮力產生之**F2**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。在此等實驗中，二聚體回收率指示相對於參考標準鑑別之二聚體的絕對量。在此等實驗中，二聚體純度指示相對於偵測之IL-10遞送構築體之所有形式(其包括聚集體及單體)的二聚體%。分析係在pH 7.0處進行。

【0093】 **圖21**說明在25℃培育之前及之後，不同凍乾配方中呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)的%。水平線指示在25℃下3天之後，參考樣品(1× PBS-無賦形劑)之主峰二聚體純度。

【0094】 **圖22**說明在-20℃下之5個凍/融循環(F/T)之前及之後，不同凍乾配方中呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)的%。

【0095】 **圖23A-圖23B**說明在-20℃及-80℃下之5個凍/融循環對目標構築體(SEQ ID NO: 5)聚集體及二聚體之效應。**圖23A**說明5個凍/融循環對目標構築體聚集體(HMW)百分比之效應。**圖23B**說明5個凍/融循環對目標構築體二聚體百分比之效應。

【0096】 **圖24A-圖24B**說明在來自**表11**之凍乾緩衝液之不同配方中的一週時程內，目標聚集體或二聚體在4℃或25℃下之百分比變化。對於四種不同配方中之每一者檢查凍乾緩衝液中之兩種不同濃度的目標構築體(SEQ ID NO: 5) (20 mg/ml及40 mg/ml)。**圖24A**說明在4℃下目標構築體聚集體之百分比變化。**圖24B**說明在4℃下目標二聚體之百分比變化。**圖24C**說明在25℃下目標構築體聚集體之百分比變化。箭頭指示pH為7.5的含有蔗糖之凍乾緩衝液。**圖24D**說明在25℃下目標構築體二聚體之百分比變化。箭頭指示pH為7.5的含有蔗糖之凍乾緩衝液。

【0097】 **圖25A-圖25B**說明當改變再摺疊溶液之精胺酸濃度及目標構築體(SEQ ID NO: 5)濃度時的再摺疊效率。**圖25A**展示再摺疊效率(再摺疊結束時的二聚體%)之等高線圖。**圖25B**展示再摺疊效率之條形圖。

【0098】 **圖26A-圖26B**說明當改變再摺疊溶液之甘油濃度及pH時，目標構築體(SEQ ID NO：5)之再摺疊效率。**圖26A**展示再摺疊效率之等高線圖。**圖26B**展示再摺疊效率之條形圖。

【0099】 **圖27A-圖27B**說明當改變再摺疊溶液之蔗糖濃度及PEG 3350濃度時，目標構築體(SEQ ID NO：5)之再摺疊效率。**圖27A**展示再摺疊效率之等高線圖。**圖27B**展示再摺疊效率之條形圖。

【0100】 **圖28**說明尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)層析圖，其展示四種再摺疊溶液中之每一者的目標構築體(SEQ ID NO: 5)聚集體、二聚體及單體。「A」表示含有0.7 M精胺酸之對照再摺疊溶液。「B」表示具有1 M精胺酸之再摺疊溶液。「C」表示具有1 M精胺酸加0.25 M蔗糖加0.2% PEG3350之再摺疊溶液。「D」表示1 M精胺酸加0.25 M蔗糖。

【0101】 **圖29**說明**圖28**中所說明之四種再摺疊溶液中之每一者的再摺疊效率。

【0102】 **圖30**說明在遵循SDS-PAGE之純化過程中之不同中間步驟處之目標構築體的考馬斯藍染色。通道1及11含有標記12分子量標記。通道8、9、10、18、19及20為空白。通道2至10 SDS-PAGE中之樣品係在還原條件下運行。通道12至20中之樣品係在非還原性條件下運行SDS-PAGE。通道2及12含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)。通道3及13含有過濾之TFF-2滲餘物(Cycle #1)。通道4及14含有過濾之TFF-2滲餘物(Cycle #2)。通道5及15含有Capto™Q彙集溶離液。通道6及16含有CHT彙集溶離液。通道7及17含有TFF-3最終滲餘物。

【0103】 **圖31A-圖31B**說明本文所述之口服配方**3200**及**3205**的實施例。**圖31A**說明口服配方**3200**，其含有包含治療蛋白之內部區(**3201**)、第一包衣(**3203**)、第二包衣(**3202**)及第三包衣(**3204**)。**圖31B**說明包含第一包衣(**3203**)之口服配方。

【0104】 **圖32A-圖32B**說明放射性標記自膠囊釋放的時間，該等膠

囊具有如**表35**中所述之配方1、2或3的包衣。**圖32A**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的初始放射性標記釋放時間。**圖32B**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的完全放射性標記釋放時間。

【0105】 **圖33A-圖33B**說明放射性標記自膠囊釋放的解剖位置，該等膠囊具有如**表35**中所述之配方1、2或3的包衣。**圖33A**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的初始放射性標記釋放之解剖位置。**圖33B**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的完全放射性標記釋放之解剖位置。PSB=近端小腸；DSB=遠端小腸；AC=升結腸；TC=橫結腸；DC=降結腸。

【0106】 **圖34**說明鑑別表示目標構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體、聚集體及單體之峰的尺寸排阻層析圖(SEC)。

【0107】 **圖35**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠體重之百分比變化的效應。在損害之前及之後每日記錄小鼠之體重。資料表示為平均值±SEM；每組之n：初始(5)、媒劑(10)、IL-10遞送構築體(15)、5-ASA (15)。藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試分析資料以比較每日各組與媒劑之差異。*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001，****p<0.0001。

【0108】 **圖36**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠存活率之效應。在損害之前及之後每日記錄小鼠之死亡率。資料表示為存活率%。

【0109】 **圖37**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之疾病嚴重度的效應。藉由損害之後7天發炎之結腸標記來評估嚴重度。

【0110】 **圖38A**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之結腸重量的效應。結腸重量係在損害之後7天量測。

【0111】 **圖38B**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之隱血陽性的效應。

【0112】 圖**38C**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之大便堅實度的效應。

【0113】 **圖38D**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之疾病活動性指數的效應。

【0114】 **圖38E**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之巨噬細胞群落刺激因子1 (MCSF)之血清含量的效應。

【0115】 **圖38F**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之IL12 p70蛋白之血清含量的效應。

【0116】 **圖38G**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之IL-3之血清含量的效應。

【0117】 **圖39A-圖39E**說明經口投與IL-10遞送構築體對與發炎過程相關之蛋白質之細胞表現的效應，該等發炎過程與潰瘍性結腸炎相關。藉由免疫組織化學來分析在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，來自小鼠之近端、中段及遠端結腸的橫切片。**圖39A**說明經口投與IL-10遞送構築體對NFκB之細胞表現的效應。**圖39B**說明經口投與IL-10遞送構築體對TNFα之細胞表現的效應。**圖39C**說明經口投與IL-10遞送構築體對CD4之細胞表現的效應。**圖39D**說明經口投與IL-10遞送構築體對IL-4之細胞表現的效應。

圖39E說明經口投與IL-10遞送構築體對Foxp3之細胞表現的效應。

【0118】 **圖40A-圖40B**說明在經口遞送IL-10遞送構築體給藥溶液之後，全身細胞介素之Luminex陣列。**圖40A**說明在經口遞送IL-10遞送構築體給藥溶液之後，IL-6之Luminex陣列。**圖40B**說明在經口遞送IL-10遞送構築體給藥溶液之後，IL-23之Luminex陣列。

【0119】 **圖 41A- 圖 41J** 說明在指定治療之後，使用 MSD Proinflammatory Panel 1之10種細胞介素於血漿樣品中之濃度。**圖41A**說明IFNγ之血漿濃度。**圖41B**說明IL-10之血漿濃度。**圖41C**說明IL-12p70之血漿濃度。**圖41D**說明IL-1β之血漿濃度。**圖41E**說明IL-2之血漿濃度。**圖41F**說明IL-4之血漿濃度。**圖41G**說明IL-5之血漿濃度。**圖41H**說明IL-6之血漿濃度。**圖41I**說明KC/GRO之血漿濃度。**圖41J**說明TNF-α之血漿濃度。

【0120】 **圖42**說明在喔唑酮誘導之發炎性結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠體重之百分比變化的效應。

【0121】 **圖43**說明在喔唑酮誘導之發炎性結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠之存活率%的效應。在喔唑酮損害之前及之後每日記錄小鼠之死亡率。資料表示為存活率%。

【0122】 **圖44**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠之疾病嚴重性的效應。藉由喔唑酮損害之後的大便堅實度及隱血陽性來對疾病活動性指數(DAI)進行評分。資料表示為平均值±SEM。

【0123】 **圖45**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠之結腸重量/長度比的效應。在喔唑酮損害之後7

天量測結腸重量及長度。資料表示為平均值±SEM。

【0124】 **圖46**說明在噁唑酮誘導之結腸發炎之後，小鼠之近端、中段及遠端結腸的組織病理學。資料表示為平均值±SEM。

【0125】 **圖47A-圖47LL**說明小鼠之循環細胞介素、趨化因子及生長因子的全身濃度。使用Luminex珠粒陣列來分析循環細胞介素之血漿濃度。資料表示為平均值±SEM。**圖47A**說明GCSF/CSF3之全身濃度。**圖47B**說明GMCSF之全身濃度。**圖47C**說明MCSF之全身濃度。**圖47D**說明VEGF之全身濃度。**圖47E**說明LIF之全身濃度。**圖47F**說明Exotaxin之全身濃度。**圖47G**說明GROA之全身濃度。**圖47H**說明IP10之全身濃度。**圖47I**說明LIX之全身濃度。**圖47J**說明MCP1之全身濃度。**圖47K**說明MCP3之全身濃度。**圖47L**說明MIP1α之全身濃度。**圖47M**說明MIP1β之全身濃度。**圖47N**說明MIP2之全身濃度。**圖47O**說明RANTES之全身濃度。**圖47P**說明IL-1α之全身濃度。**圖47Q**說明IL-1β之全身濃度。**圖47R**說明IL-2之全身濃度。**圖47S**說明IL-3之全身濃度。**圖47T**說明IL-4之全身濃度。**圖47U**說明IL-5之全身濃度。**圖47V**說明IL-6之全身濃度。**圖47W**說明IL-9之全身濃度。**圖47X**說明IL-12p70之全身濃度。**圖47Y**說明IL-13之全身濃度。**圖47Z**說明IL-15/IL-15R之全身濃度。**圖47AA**說明IL-17A之全身濃度。**圖47BB**說明IL-18之全身濃度。**圖47CC**說明IL-23之全身濃度。**圖47DD**說明IL-27之全身濃度。**圖47EE**說明IL-28之全身濃度。**圖47FF**說明IL-31之全身濃度。**圖47GG**說明IFN-α之全身濃度。**圖47HH**說明IFN-γ之全身濃度。**圖47II**說明TNF-α之全身濃度。**圖47JJ**說明IL-10之全身濃度。**圖47KK**說明IL-22之全身濃度。**圖47LL**說明TGF-β之全身濃度。

【0126】 **圖48A-圖48J**說明使用V-PLEX促炎性圖之10種細胞介素

於血漿樣品中之濃度。**圖48A**說明IFNγ之血漿濃度。**圖48B**說明IL-10之血漿濃度。**圖48C**說明IL-12p70之血漿濃度。**圖48D**說明IL-1β之血漿濃度。**圖48E**說明IL-2之血漿濃度。**圖48F**說明IL-4之血漿濃度。**圖48G**說明IL-5之血漿濃度。**圖48H**說明IL-6之血漿濃度。**圖48I**說明KC/GRO之血漿濃度。**圖48J**說明TNF-α之血漿濃度。資料表示為平均值±SEM。

【0127】 **圖49A-圖49C**說明在喏唑酮誘導之發炎性結腸炎智慧，小鼠之全身性及結腸IL-1Ra表現。**圖49A**說明IL-1Ra之全身性血漿濃度。**圖49B**說明IL-1Ra於初始、媒劑及9 mg/kg IL-10遞送構築體治療小鼠之結腸組織中的基因表現。**圖49C**說明IL-1β於初始、媒劑及9 mg/kg SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體治療小鼠之結腸組織中的基因表現。mRNA轉錄物含量係標準化為GAPDH。資料表示為平均值±SEM。

【0128】 **圖50A**說明結腸炎之葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導及在由向下箭頭指示之天數用溶解於100 mL PBS中之SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體(如所指示)每日經口管飼治療的時刻表。

【0129】 **圖50B**說明在研究之生存期部分期間DSS誘導之體重減輕。

【0130】 **圖50C**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對體重之效應。體重呈現為在DSS誘導之發炎之後相對於基線之百分比變化。資料表示為平均值±SEM。

【0131】 **圖51**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對疾病活動性指數(DAI)之效應。將體重減輕、大便堅實度及大便隱血(評分0-3)之個別評分加總以得到回應於DSS誘導之發炎的DAI(0-9範圍內)。資料表示為平均值±SEM。

【0132】 **圖52**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對結腸長度之效應。資料表示為平均值±SEM。

【0133】 **圖53**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對加總組織學參數(發炎、腺損失、糜爛及增生)之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，*p<0.05。

【0134】 **圖54**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對水腫寬度之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，**p<0.01，*p<0.05。

【0135】 **圖55**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對結腸黏膜厚度之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，***p<0.001，**p<0.01，*p<0.05。

【0136】 **圖56**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對結腸增生之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，**p<0.01。

【0137】 **圖57A-圖57B**說明DSS研究中之可變人類IL-10偵測及IL-1Ra誘導。全身濃度係藉由DSS損害之後的夾心免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。**圖57A**說明IL-10遞送構築體之全身濃度，如藉由抗cholix或抗IL-10偵測抗體來偵測。**圖57B**說明DSS損害之後的IL-1Ra之全身濃度。

【0138】 **圖58**說明在給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)後非人類靈長類動物(NHP)中之總IL-10的血漿濃度。總IL-10之全身濃度係藉由經口投與IL-10遞送構築體膠囊之後的免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。

【0139】 **圖59**說明在給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)後NHP中之IL-1Ra的血漿濃度。IL-1Ra之全身濃度係藉由經口投與IL-10遞送構築體膠囊之後的免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。

【0140】 **圖60**說明在給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)後NHP中之咖啡鹼的血漿濃度。咖啡鹼之全身濃度係藉由經口投與IL-10遞送構築體膠囊之後的免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。

【0141】 **圖61A-圖61E**說明在經口給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，NHP中之所選促炎性細胞介素的血漿濃度。**圖61A**說明IFNγ之血漿濃度。**圖61B**說明IL-1β之血漿濃度。**圖61C**說明IL-2之血漿濃度。**圖61D**說明IL-8之血漿濃度。**圖61E**說明IL-6之血漿濃度。

【0142】 **圖62**說明在15分鐘時程研究內，IL-10遞送構築體與腸上皮細胞中之LAMP1陽性溶酶體展示極少或無共定位。

【0143】 **圖63**說明含有CD11c之細胞(樹突狀細胞)及IL-10之免疫螢光影像。

【0144】 **圖64**說明含有CD19之細胞(B淋巴細胞)及IL-10之免疫螢光影像。

【0145】 **圖65**說明含有CD34之細胞(內皮細胞)及cholix之免疫螢光影像。

【0146】 **圖66**說明含有CD3之細胞(T淋巴細胞)及IL-10之免疫螢光影像。

【0147】 **圖67**說明GI黏膜下層中IL-10遞送構築體向T細胞及巨噬細胞之細胞靶向。

【0148】 **圖68**說明含有IL-10遞送構築體之包衣膠囊在4型溶解裝置

中之溶解。圖例：方形：僅HPMC包底衣；圓形：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續80分鐘；加號：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續120分鐘；菱形：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續120分鐘加HPMC包衣持續20分鐘；及三角形：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續120分鐘加HPMC包衣持續60分鐘。

【0149】 圖69說明含有IL-10遞送構築體之包衣錠劑在4型溶解裝置中之溶解。

【0150】 圖70說明IL-10遞送構築體之二聚體形式(各條之下部部分)以及IL-10遞送構築體之單體(LMW)及聚集體(HMW)形式(各條之上部部分)在**圖68**及**圖69**中所示之完整時程內的回收。資料說明t=0至量測之最後時間點的曲線下面積。自左至右，各條表示：(1)未包衣錠劑；(2)具有8 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為20:80；(3)具有13 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為20:80；(4)具有20 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為20:80；(5)具有8 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為50:50；(6)具有13 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為50:50；(7)具有8 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為50:50；(8)腸溶-無；(9)腸溶-80m；(10)腸溶-120m；(11)腸溶120m+HPMC60m；(12)腸溶120m+HPMC20m。

【0151】 **圖71A-圖71C**說明在以1、3及10 mg (n=3/組)泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之某些標記的全身濃度。資料表示為平均值±SEM；未進行統計分析。**圖**

71A說明IL-10之全身濃度。**圖71B**說明IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之全身濃度。**圖71C**說明IL-1Ra之全身濃度。

【0152】 **圖72**說明在以1、3及10 mg (n=3/組)泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之IL-6的全身濃度。資料表示為平均值±SEM；未進行統計分析。

【0153】 **圖73**說明在以1、3及10 mg泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之IL-1Ra濃度。資料表示為平均值±SEM；各IL-10遞送構築體劑量之n：給藥前(2)，15分鐘(3)，30分鐘(3)，45分鐘(3)，8小時(1)及24小時(1)；未進行統計分析。

【0154】 **圖74**說明如藉由pSTAT3與總STAT3之比所量測的結腸組織中之STAT3磷酸化。磷酸化及總表現係在以1、3及10 mg泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後的45分鐘內藉由免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM，個IL-10遞送構築體劑量之n：給藥前(2)，15分鐘(3)，30分鐘(3)及45分鐘(3)，未進行統計分析。

【0155】 **圖75**說明在以1、3及10 mg泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之IL-6的組織濃度。資料表示為平均值±SEM；各IL-10遞送構築體劑量之n：給藥前(2)，15分鐘(3)，30分鐘(3)，45分鐘(3)，8小時(1)及24小時(1)；未進行統計分析。

【0156】 **圖76**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸抗炎性基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明針對以下各者觀測之倍數變化：

CD163、SCNN1G、STC1、HGF、SGK1、MIR24-2、SCNN1B、PTGDR、MTNR1A、ACE2、NOX1、BEST2、VNN2、LTB4R2、B3GALT5、AQP8、SLC9A3及CYP1A1。

【0157】 **圖77**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸促炎性基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：MHC-II、HPGDS、FCER1A、PLA2G2D、CCL13、FUT3、CCL28、UGT1A1、CCL20、NLRP1及TPH。

【0158】 **圖78**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸促炎性基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為每個目標2-3個探針之平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：MMP19、LIPG、MMP1、CHI3L1、MMP3、LAMC2、S100A8、CXCL1、FIGF、PCSK1、CASP5、CXCL2及CHGB。

【0159】 **圖79**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時處評估的結腸組織修復基因調節；各組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：SCNN1G、STC1、TIMP1、SCNN1B、BEST2、B3GALT5、AQP8及SLC9A3。

【0160】 **圖80**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸抗微生物基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行

統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：PI15、PI3、BDKRB1、CCI28及SERPINE2。

【0161】 **圖81A-圖81C**說明小鼠結腸切片之蘇木精及曙紅染色。**圖81A**為初始結腸部分，**圖81B**為來自用喔唑酮治療之小鼠之結腸的部分，且**圖81C**為來自用喔唑酮及8.5 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之小鼠之結腸的部分。

【0162】 **圖82A-圖82G**說明在用經口IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療後的發炎性標記表現。**圖82A**展示IL-4之表現。**圖82B**展示IL-6之表現。**圖82C**展示IL-1β之表現。**圖82D**展示IL-17A之表現。**圖82E**展示IL-10之表現。**圖82F**展示MIP1α之表現。**圖82G**展示GCSF/CSF3之表現。*$p < 0.05$；單因子變異數分析與圖基氏事後測試。

【0163】 **圖83A**說明在用等莫耳量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5；1 mg/kg)或重組人類IL-10 (0.9 mg/kg)治療之後的pSTAT3與總STAT3之比。

【0164】 **圖83B**說明在用等莫耳量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5；10 mg/kg)或重組人類IL-10 (3 mg/kg)治療之後的全身IL-1Ra含量。

【0165】 **圖84**說明在用IL-10遞送構築體(劑量在x軸上以mg/kg展示)治療之後的IL-1Ra之全身表現。

【0166】 **圖85A**說明IL-1Ra在用媒劑或9 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之小鼠中之結腸表現，如藉由qPCR所量測且標準化為初始小鼠中之表現量。

【0167】 **圖85B**說明IL-1β在用媒劑或9 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之小鼠中之結腸表現，如藉由qPCR所量測且標準化

為初始小鼠中之表現量。

【0168】 **圖85C**說明**圖85A**及**B**中之IL-1Ra與IL-1β之比。

【0169】 **圖86**說明用IL-10遞送構築體治療對結腸組織中之磷酸化STAT3 (pSTAT3)與總STAT3之比的效應。

【0170】 **圖87**說明在藉由乙狀結腸鏡以指示劑量投與IL-10遞送構築體之長尾獼猴(約5至約8 kg)中之促炎性標記的表現。

【0171】 **圖88**說明在藉由乙狀結腸鏡以指示劑量投與IL-10遞送構築體之長尾獼猴(約5至約8 kg)中之抗炎性標記的表現。

【0172】 **圖89**說明在藉由乙狀結腸鏡以指示劑量投與IL-10遞送構築體之長尾獼猴(約5至約8 kg)中與組織修復及傷口癒合相關之生物標記的表現。

【0173】 **圖90A-圖90B**說明在投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後於非人類靈長類動物中量測的PK及PD。**圖90A**說明在以指示劑量向長尾獼猴經口(PO，N=6)、皮下(SC，N=3)或靜脈內(IV，N=3)遞送IL-10遞送構築體之後，IL-10之全身濃度。**圖90B**說明在以指示劑量向長尾獼猴經口(PO，N=6)、皮下(SC，N=3)或靜脈內(IV，N=3)遞送IL-10遞送構築體之後，IL-1Ra之全身濃度。

【0174】 **圖91**說明在以指示劑量向長尾獼猴經口(PO，N=6)、皮下(SC，N=3)或靜脈內(IV，N=3)遞送IL-10遞送構築體之後，IL-1Ra與IL-10之比(平均AUC之比)。

【0175】 **圖92**說明包含IL-10遞送構築體，具有及不具有界面活性劑之溶液在渦旋之前及之後的濁度。

【0176】 **圖93**說明渦旋之前的SEC-HPLC層析圖。

【0177】 **圖94**說明渦旋之後的SEC-HPLC層析圖。

【0178】 **圖95**說明當與各種不同組分一起壓實時，PBS中之IL-10遞送構築體的穩定性。樣品在微量離心小瓶(Eppendorf vial)中以0.3 mg/mL IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於PBS中復原，在37℃下安裝在烤肉架振盪器上持續5小時。定期抽取樣品以藉由SEC進行分析。

【0179】 **圖96**說明IL-10遞送構築體/賦形劑在溶液中之相容性。

【0180】 **圖97**說明各種潤滑劑賦形劑與IL-10遞送構築體之相容性。

【0181】 **圖98**說明在4型溶解裝置中自Eudragit包衣錠劑(50/50 L30D55/FS30D)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放。

【0182】 **圖99**說明在4型溶解裝置中自Eudragit包衣錠劑(20/80 L30D55/FS30D)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放。

【0183】 **圖100**說明HPMC-AS包衣錠劑之溶解(4型裝置)。溶解自0.1 N HCL溶液開始，持續40分鐘，隨後將介質轉換為pH 7.0磷酸鹽緩衝液。

【0184】 **圖101**說明自HPMC-AS包衣膠囊之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放(4型裝置)。

【0185】 **圖102**說明HPMC-AS包衣F3錠劑在4型溶解裝置上之溶解。

【0186】 **圖103**說明HPMC-AS包衣F3錠劑在2型溶解裝置上之溶解。

【0187】 **圖104A-圖104C**說明在經口或靜脈內遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，各種蛋白質(例如生物標記)之血漿濃度。**圖**

104A說明IL-10之血漿濃度。**圖104B**說明IL-1Ra之血漿濃度。**圖104C**說明IFN-γ之濃度。

【0188】 **圖105A-圖105D**說明在向非人類靈長類動物(NHP)泛結腸遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，各種生物標記之全身或結腸組織濃度。**圖105A**說明IL-10之全身濃度。**圖105B**說明IL-1Ra之全身濃度。**圖105C**說明IL-10於結腸組織中之濃度。**圖105D**說明IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於結腸組織中之濃度。

【0189】 **圖106A-圖106D**說明在腔內注射PBS、rhIL-10 (159皮莫耳)或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)(159皮莫耳)的10及40分鐘內，在正常及發炎腸組織(近端、中段及遠端結腸)及血清中之rhIL-10含量，如藉由ELISA所量測。**圖106A**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後10分鐘，在正常腸組織中之rhIL-10含量。**圖106B**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後10分鐘，在發炎腸組織中之rhIL-10含量。**圖106C**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後40分鐘，在正常腸組織中之rhIL-10含量。**圖106D**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後40分鐘，在發炎腸組織中之rhIL-10含量。

【0190】 **圖107**說明在向Balb/C小鼠之空腸中腔內注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，rhIL-10及pSTAT3之組織定位。

【0191】 **圖108**說明在向Balb/C小鼠之空腸中腔內注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，對pSTAT誘導之時程分析。

【0192】 **圖109**說明在不同鼠類模型中將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)運輸穿過腸上皮細胞之免疫螢光影像。

【0193】 **圖110**說明沿小鼠腸之固有層的pSTAT3活性。

【0194】 **圖111**說明在6個劑量(1 mg、3 mg、10 mg、30mg、60 mg、120 mg)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)或安慰劑之單次劑量之後的IL-1Ra表現。

【0195】 **圖112**說明在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之1b期試驗中的多遞增劑量(MAD)遞增。

【0196】 **圖113**說明在用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療基線FCP >150 μg/g之潰瘍性結腸炎(UC)患者僅14天之後的FCP減少。

【0197】 **圖114**說明在用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療基線CRP >5 mg/L之UC患者僅14天之後的全身循環中之CRP減少。

【0198】 **圖115**說明在用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之14天內的Geboes評分降低。

【0199】 **圖116**描繪來自UC患者之給藥前(圖A)及治療後(圖B)組織學影像，在1b期試驗中給與該患者10 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，其中使用22分量表，Geboes評分自15分改善為3分，其中較高評分指示較嚴重疾病活動性。

【0200】 **圖117A-圖117C**展示顯微影像，該等顯微影像展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後的各個時間點處，IL-10穿過威斯塔大鼠體內之極化腸道上皮細胞的胞吞轉運。綠色螢光指示IL-10之存在(經由用抗IL-10抗體染色)。藍色螢光指示標記DNA之DAPI染色，且紅色螢光指示可在胞吞轉送期間與cholix源性載體共定位(例如在上皮細胞之核上區域中)之CK-8 (細胞角蛋白-8)的存在。白色箭頭#1突出顯示上皮細胞之頂端膜，白色箭頭#2突出顯示上皮

細胞之基底膜，且白色箭頭#3指示固有層中存在IL-10。**圖117A**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後一分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。**圖117B**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後五分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。**圖117C**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後十分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。

【0201】 **圖118**說明匯合、極化人類SMI-100單層之腸模型系統的結果。抗hIL-10西方墨點偵測等莫耳施加IL-10遞送構築體(通道2，頂端，t=0小時)或商業hIL-10 (通道3，頂端，t=0小時)轉運至各別跨孔之基底室(通道4，IL-10遞送構築體，基底，t=2小時及通道5，hIL-10，基底，t=2小時)的程度。將來自單一西方墨點之通道剪接在一起以促進比較且由黑線指示。

【0202】 **圖119**說明在6小時之後，工程化至由IL-10遞送構築體或hIL-10誘導之U2OS骨肉瘤細胞中的IL-10A及IL-10B受體之二聚化。

【0203】 **圖120**說明在20分鐘刺激之後，小鼠巨噬細胞樣細胞株J774.2中相對於總STAT3含量之STAT3磷酸化誘導。資料代表具有類似結果之多個研究。

【0204】 **圖121**說明對獲自健康供體之閘控活CD45+ CD14+單核球(PBMC)之流式細胞測量術分析，其展示IL-10對LPS誘導之TNFa分泌的抑制效應；平均值±SEM (n=3)形式之平均螢光強度(MFI)資料係藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試來分析。.p<0.5，..p<0.01，''.p<0.001，'...p<0.0001 (相比於0 pM濃度值時)。

【0205】 **圖122**說明對獲自健康供體之閘控活CD45+ CD14+單核球

(PBMC)之流式細胞測量術分析，其展示IL-10對LPS誘導之IL-6分泌的抑制效應；平均值±SEM (n=3)形式之平均螢光強度(MFI)資料係藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試來分析。.p<0.5，..p<0.01，''.p<0.001，'...p<0.0001 (相比於0 pM濃度值時)。

【0206】 **圖123**說明對獲自健康供體之閘控活CD45+ CD14+單核球(PBMC)之流式細胞測量術分析，其展示IL-10對LPS誘導之HLA-DR表面表現的抑制效應；平均值±SEM (n=3)形式之平均螢光強度(MFI)資料係藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試來分析。.p<0.5，..p<0.01，''.p<0.001，'...p<0.0001 (相比於0 pM濃度值時)。

【0207】 **圖124**說明在經口管飼PBS之BALB/c小鼠體內之喔唑酮誘導之結腸炎。獲取單通道影像且合併為具有細胞核(藍色)、IL-10 (綠色)及pSTAT3 (紅色)之合成圖。

【0208】 **圖125**說明在經口管飼hIL-10之BALB/c小鼠體內之喔唑酮誘導之結腸炎。獲取單通道影像且合併為具有細胞核(藍色)、IL-10 (綠色)及pSTAT3 (紅色)之合成圖。

【0209】 **圖126**說明在經口管飼IL-10遞送構築體之BALB/c小鼠體內之喔唑酮誘導之結腸炎。獲取單通道影像且合併為具有細胞核(藍色)、IL-10 (綠色)及pSTAT3 (紅色)之合成圖。

【0210】 **圖127**說明小腸組織分段中表現pSTAT3之細胞的%。

【0211】 **圖128**說明在發炎T細胞轉移模型中對指定腸組織及血清進行腔內注射後，以PBS、IL-10及IL-10遞送構築體運行之hIL-10 ELISA的結果。

【0212】 **圖129**說明IL-10遞送構築體之cholix源性載體(紅色)及

hIL-10 (綠色)元件的共定位，表明其同時轉運及保留在固有層之細胞內。在腔內注射50 μL以約40 μM於PBS中製備之IL-10遞送構築體之後獲得大鼠空腸之免疫螢光顯微法影像。對於**圖129-圖133**：箭頭=頂端(內腔)上皮膜；虛線=上皮細胞-基底膜分界；l-p=固有層；G=杯狀細胞。細胞核用DAPI染色(藍色)。

【0213】 **圖130**說明IL-10遞送構築體之hIL-10 (綠色)元件的染色，且Rab7 (紅色)表明對前者之頂端偏好及對後者之基底偏好。

【0214】 **圖131**說明IL-10遞送構築體之hIL-10 (綠色)元件的染色，且Rab11 (紅色)表明對前者之頂端偏好及對後者之基底偏好。

【0215】 **圖132**說明在將IL-10遞送構築體腔內注射至大鼠空腸中之後的時程中的LMAN1重組及與腸上皮細胞內但不與固有層之細胞內的IL-10遞送構築體共定位。

【0216】 **圖133**說明在將IL-10遞送構築體腔內注射至大鼠空腸中之後的時程中，LAMP1在腸上皮細胞內無再分佈或共定位，但在固有層之細胞內具有廣泛共定位。

【0217】 **圖134**說明T細胞(CDC3+)及pSTAT3+細胞於小鼠腸組織中之定位。pSTAT3+ CDC3+細胞由白色箭頭指示。

【0218】 **圖135**說明巨噬細胞(F4/80+)及pSTAT3+細胞於小鼠腸組織中之定位。pSTAT3+ F4/80+細胞由黃色箭頭指示。

【0219】 **圖136**說明較高放大率的**圖135**之區域。pSTAT3+ F4/80+細胞由黃色箭頭指示。

【0220】 **圖137**說明pSTAT3+ F4/80+腸細胞之額外影像。

【0221】 **圖138**說明pSTAT3+ F4/80+結腸細胞之影像。

【0222】 **圖139**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠血清中之hIL-10濃度。

【0223】 **圖140**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠遠端小腸組織中之hIL-10濃度。

【0224】 **圖141**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠結腸組織中之hIL-10濃度。

【0225】 **圖142**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠血清中之IL-1Ra濃度。

【0226】 **圖143**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，結腸組織之剪斷活檢體中之IL-10遞送構築體濃度。

【0227】 **圖144**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，結腸組織之剪斷活檢體中之IL-10濃度。

【0228】 **圖145**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，IL-10遞送構築體之血清濃度。

【0229】 **圖146**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，IL-10之血清濃度。

【0230】 **圖147**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，IL-1Ra之血清濃度。

【0231】 **圖148**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，pSTAT3相對於總STAT3之比。

【實施方式】

交叉引用

【0232】 本申請案主張以下各者之權益：2019年8月16日申請之美

國臨時申請案第62/888,144號、2019年8月16日申請之美國臨時申請案第62/888,237號、2020年3月6日申請之美國臨時申請案第62/986,579號、2019年8月16日申請之美國臨時申請案第62/887,963號、2019年8月16日申請之美國臨時申請案第62/887,933號、2019年9月11日申請之美國臨時申請案第62/898,934號、2020年2月6申請之美國臨時申請案第62/971,126號、2019年9月11申請之美國臨時申請案第62/898,709號、2019年9月11日申請之美國臨時申請案第62/898,729號、2019年11月22日申請之美國臨時申請案第62/939,495號、2020年2月5日申請之美國臨時申請案第62/970,627號、2020年5月6日申請之美國臨時申請案第63/020,996號、2020年6月1日申請之美國臨時申請案第63/033,077號、2019年9月11日申請之美國臨時申請案第62/898,899號、2020年4月21日申請之美國臨時申請案第63/013,309號、2020年3月6日申請之美國臨時申請案第62/986,557號及2020年7月23日申請之美國臨時申請案第63/055,886號，該等申請案以引用之方式併入本文中。

序列表

【0233】 本申請案含有序列表，其已以ASCII格式、以電子方式提交且以全文引用的方式併入本文中。2020年8月12日創建之該ASCII複本名稱為40566-721_601_SL.txt且大小為729,437位元組。

【0234】 IL-10為消炎性細胞介素，其可限制由感染或發炎引起的組織損傷，使IL-10成為對於治療藥物開發有吸引力的蛋白質。包含IL-10及載體之融合蛋白(在本文中稱為IL-10遞送構築體)可調配為適合於經口投與之形式，諸如錠劑或膠囊。另外，此等錠劑或膠囊可以基本上維持IL-10遞送構築體二聚體之結構完整性的方式調配。另外，此等口服配方

周圍之腸溶包衣可促成IL-10遞送構築體之獨特溶解曲線。向個體投與此類口服配方可藉由個體之獨特藥效學(PD)及藥物動力學(PK)反應來表徵。

【0235】 IL-10被視為先天性及後天性免疫系統之主調節因子，因為認為其不僅抑制炎性體，且亦抑制發現與疾病相關之許多發炎事件，包括巨噬細胞活化及分泌IL-1、IL-6、TNFα、MMP-1/2，同時減少發炎之全身性病徵及T調節細胞之發育。需要可與TNFα抑制劑一起使用之組合療法。提供除TNFα抑制劑以外之IL-10遞送構築體可為有效的且獲得較好患者結果。

【0236】 除了熟習此項技術者對此等術語之理解之外，論述下文術語以說明如在本說明書中所使用之術語之含義。除非上下文另外明確指示，否則如本文及隨附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該」包括複數個指示物。應進一步注意，申請專利範圍可撰寫成排除任何視情況選用之要素。因此，此陳述意欲與對所主張要素之敍述結合充當使用諸如「僅僅(solely)」、「僅(only)」及其類似術語之排他性術語或使用「否定性」限制之前提基礎。

【0237】 本文中呈現之某些範圍或數值，其中數值之前具有術語「約」。術語「約」在本文中用於意謂加或減1%、2%、3%、4%或5%之術語所指代之數字。如本文所用，術語「個體(subject)」及「個體(individual)」可互換使用且可為任何動物，包括哺乳動物(例如人類或非人類動物)。

【0238】 如本文所用，術語「治療(treat/treating/treatment)」及其他文法等同者，包括緩解、緩和或減輕疾病或病況之一或多個症狀；減

輕、預防或減少疾病或病況之一或多個症狀的表像、嚴重程度或頻率；減輕或預防疾病或病況之一或多個症狀之潛在原因；抑制疾病或病況，諸如遏制疾病或病況之發展、緩解疾病或病況、促使疾病或病況消退、緩解由疾病或病況所引起之病況或預防性及/或治療性抑制疾病或病況之症狀。

【0239】 如本文所述，術語「序列一致性百分比(%)」及與其相關的術語在胺基酸序列或核酸序列之情況下為在序列比對及必要時引入缺口序列(gap)以達成最大序列一致性百分比，且不將任何保守取代考慮為序列一致性之一部分之後，分別與選定序列制之胺基酸殘基或核酸殘基相同的候選序列中之胺基酸殘基或核酸殘基之百分比。目的為測定胺基酸序列一致性百分比或核酸一致性百分比之比對可以在此項技術之技能範圍內的不同方式達成，例如使用公開可用的電腦軟體，諸如Clustal Omega、BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2或Megalign (DNASTAR)軟體，其中BLAST為優先選擇的比對算法。熟習此項技術者可確定對於量測比對而言適當的參數，包括在所比較之序列的全長上達成最大比對所需之任何演算法，但為簡單起見，可較佳使用預設參數。

介白素-10 (IL-10)及IL-10遞送構築體

【0240】 本發明涵蓋用於向個體遞送IL-10之組合物及方法。如先前所述，IL-10為為消炎性細胞介素，其可限制由感染或發炎引起的組織損傷，使IL-10成為對於治療藥物開發有吸引力的蛋白質。人類IL-10主要以均二聚體形式存在於溶液中，其中IL-10之兩個次單位為非共價結合的，且各次單位含有兩個鏈內二硫鍵。二聚體結構之破壞，諸如藉由此等二硫鍵之還原或亞硫酸分解可使得次單位解離以產生IL-10之單體或其聚集體，該等單體或聚集體可不具有二聚體之生物活性。與二聚體形式之

IL-10相關的生物活性可包含誘導促炎性細胞介素，諸如腫瘤壞死因子α (TNFα)、介白素-1β (IL-1β)、介白素-12 (IL-12)及介白素-6 (IL-6)。與二聚體形式之IL-10相關的生物活性可包含下調Th1細胞介素、MHC II類抗原及共刺激分子於巨噬細胞上之表現；增強B細胞存活、增殖及抗體生產；阻斷NF-κB活性；及調節JAK-STAT路徑。

【0241】 本文涵蓋包含IL-10之配方，其中較高程度之IL-10維持於二聚體形式。本文進一步涵蓋用於改良含IL-10之構築體之再摺疊效率的再摺疊溶液及方法，以及進一步產生高含量之可存在於乾(例如凍乾)藥物物質以及最終口服配方中之二聚體的後續純化方法。**實例3**含有例示性再摺疊方案。**實例4**含有例示性純化方案。**實例5**含有例示性凍乾方案及凍乾前及凍乾後組合物之所得二聚體含量。

【0242】 在一些實施例中，IL-10分子偶聯至可將腸上皮細胞，或極化上皮細胞遞送穿過IL-10之載體。此係稱為IL-10遞送構築體。較佳地，偶聯至載體之IL-10呈二聚體形式。在一些情況下，二聚體為均二聚體。在一些情況下，二聚體為雜二聚體。在一些情況下，雜二聚體可包含第一IL-10單體及序列與第一IL-10單體不同的變異IL-10單體，以形成二聚IL-10。當IL-10呈二聚體形式時，單一單體或兩種單體可偶聯至載體。在一個實施例中，各IL-10獨立地偶聯至載體。IL-10遞送構築體二聚體可由**圖1**說明。IL-10遞送構築體均二聚體**100**可包含兩個IL-10遞送構築體(例如SEQ ID NO: 5)，各遞送構築體包含經間隔子**102**連接至載體之IL-10 **101**。載體可包含結合域**103**及易位域**104**。

【0243】 組合物中之二聚體%可描述二聚體中之IL-10遞送構築體之總數目的百分比。舉例而言，當組合物具有IL-10/載體融合蛋白之三個複

本時，其中之兩者形成二聚體，67%之遞送構築體可被視為呈二聚體形式。

【0244】 IL-10可為人類IL-10。人類IL-10可包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。IL-10之變異體包括相比於參考序列具有一或多個胺基酸取代、添加及/或缺失之彼等。IL-10之變異體可在藉由結腸內噴霧向食蟹獼猴投與之後保留上調結腸組織或血清中之IL-1Ra的能力。在一些情況下，IL-10或SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之變異體涵蓋於本文所述之組合物及方法中。IL-10或SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之變異體可為與其或其片段具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%%序列一致性之胺基酸序列。IL-10之變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1在N36、N36、D73、I87、N110、N115、K117、R128、F129及N172中之一或多者處之胺基酸取代。IL-10之變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1之一或多個胺基酸取代，諸如N36Y、N36I、D73V、I87M、N110I、N115K、K117N、R128W、F129L及N172H。在一些情況下，IL-10變異體可包含N36Y、N110I、K117N及N172H取代。在一些情況下，IL-10變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1之N36Y、D73V、I87M、N110I、N115K及R128W。在一些情況下，IL-10變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1之N36I、N110I、K117N及F129L。

【0245】 載體可為蛋白質或另一類型之分子，其能夠將異源負載物轉運穿過上皮細胞(例如個體，諸如人類之極化腸上皮細胞)或轉運至上皮細胞中。此類轉運可包括胞移作用。胞吞轉運過程可涉及載體與一或多種受體及/或蛋白質在頂表面及/或底表面上以及上皮細胞(例如極化腸上皮細

胞)內部之相互作用。載體可能夠將上皮細胞轉運穿過異源負載物，諸如IL-10，而不損害上皮細胞、載體及/或負載物之生物及/或治療功能。

【0246】 在一些實施例中，本文中之載體利用內源運輸路徑將與其偶聯之異源負載物轉運穿過極化上皮細胞。此類載體可在本文中稱為胞吞轉運載體。在一些情況下，本文中之載體可利用內源運輸路徑將與其偶聯之異源負載物轉運至極化上皮細胞中。此類載體在本文中可稱為胞吞載體。在胞吞載體內，可存在將與其偶聯之負載物遞送至極化上皮細胞內之特定區域中的載體，該等特定區域諸如頂室、核上室或基底室。

【0247】 本文中之載體中之任一者可藉由與此類上皮之一或多種內源蛋白質的相互作用及/或共定位來轉運與其偶聯之分子。一或多種內源蛋白質可為能夠將載體移動至上皮細胞中或穿過上皮細胞之受體或酶。與上皮細胞之一或多種內源蛋白質的相互作用及/或共定位可為載體提供一或多種功能，包括胞吞至上皮細胞中、回避溶酶體破壞途徑、自頂室遷移至基底室及/或自上皮細胞之基底膜胞泄至黏膜下層室(諸如固有層)中。

【0248】 載體可衍生自藉由細菌分泌之多肽。此類載體可衍生自藉由霍亂弧菌(*Vibrio Cholerae*)或綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)分泌之多肽。在一些實施例中，該載體為cholix多肽。在一些實施例中，載體為藉由霍亂弧菌分泌之cholix多肽，而在其他實施例中，cholix多肽為其變異體或衍生自一些其他物種。cholix多肽(例如分泌自霍亂弧菌之cholix多肽或其變異體)可例如包含**表2**之SEQ ID NO: 20-146中之任一者之序列。**表4**藉由鑑別此類載體之各種胺基酸殘基序列及SEQ ID NO20-147可截短之C端位置來說明例示性載體。在一些實施例中，cholix多肽不包含SEQ ID NO: 126或不由其組成。cholix多肽可包括天然及非天然存在之

cholix多肽序列，以及與本文所述之天然(例如SEQ ID NO: 20-78或130-146)或非天然(例如SEQ ID NO: 3或11)存在之cholix多肽具有至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%序列一致性之彼等序列。cholix多肽亦可包括天然及非天然存在之cholix多肽序列之胞吞及/或胞吞轉運片段(例如cholix多肽之N端及/或C端截短)，其中此類胞吞及/或胞吞轉運片段可與此類天然或非天然存在之cholix多肽序列中之任一者具有至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%序列一致性。

【0249】 **表3**提供可用作本文中之載體的cholix衍生之多肽之共同序列(SEQ ID NO: 147，**式I**)。

【0250】 舉例而言，非天然存在之cholix多肽可包括SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 11中所闡述之胺基酸序列或由其組成(**表1**)。cholix多肽載體可為全長cholix多肽之截短及/或突變變異體。胞吞轉運載體之實例可包括具有SEQ ID NO 3、11、20-78或130-146中之任一者之C端截短之彼等，其中C端截短可出現於位置195處之C端殘基之後的任何胺基酸位置處之多肽的C端(例如SEQ ID NO: 3或11之位置195-634中之任一者處之截短)。可使用與共同序列SEQ ID NO: 147或參考序列SEQ ID NO: 3或11中之任一者的序列比對來確定截短之胺基酸位置。下**表4**說明例示性載體中包括之胺基酸範圍且鑑別SEQ ID NO 3、11、20-78或130-146可截短之不同C端位置。在一些情況下，胞吞轉運載體包括具有SEQ ID NO 3、11、20-78或130-146中之任一者的C端截短之彼等。

【0251】 載體可為非天然存在之較長cholix多肽的截短型。舉例而言，載體可具有包含SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 11之胺基酸殘基1-

206、1-245、1-251、1-266及1-386或由其組成之胺基酸序列。非天然存在之變異體中之突變可包括相對於天然存在之cholix多肽的一或多個取代、缺失及/或添加。在一些實施例中，本文中之載體可包含V1L取代。換言之，在一些實施例中，cholix相關載體在位置「1」處具有白胺酸胺基酸。(位置1通常係指不具有N端甲硫胺酸之變異體之第一胺基酸或包括N端甲硫胺酸之變異體中之第二位置。換言之，在測定載體之長度時，可忽略N端甲硫胺酸(若存在))。在一些實施例中，包含V1L取代之載體經歷N-端胺基酸之裂解減少或消去。在一些實施例中，包含V1L取代之載體經歷N-端胺基酸之乙醯化減少或消去。相對於天然存在之cholix變體，本文所提供之載體可具有降低(例如降低至少50%)或削磨之ADP核糖基化活性(例如延長因子2之核糖基化)。在一些實施例中，載體可包含N-端甲硫胺酸。在其他實施例中，不存在N-端甲硫胺酸。

【0252】本文中之載體可具有降低(例如降低至少50%)或削磨之ADP核糖基化活性(例如延長因子2之核糖基化)。載體可為衍生自cholix之多肽或其變異體，相比於參考序列，例如SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 11在位置206至633中之任一者處進一步截短。能夠經由胞吞轉運來轉運異源負載物，諸如IL-10遞送構築體的cholix蛋白之截短(例如SEQ ID NO: 147或其變異體之截短)可稱為功能片段。載體亦包括與本文中之載體序列中之任一者具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%序列一致性的以上中之任一者之變異體。在一個實例中，載體包含SEQ ID NO: 3。在另一實例中，載體包含SEQ ID NO: 4。本文中之載體中之任一者可單獨或與N端甲硫胺酸組合具有V1L取代。在一個實例中，載體包含SEQ ID NO: 11。在一個實例中，載體包含SEQ ID NO: 12。載體亦包括與本文中

之序列中之任一者具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%序列一致性的以上中之任一者之變異體。

【0253】 載體可共價或非共價、直接地或間接地偶聯至IL-10。當IL-10共價偶聯至載體時，其可直接或經由間隔子偶聯至載體。IL-10可偶聯至載體之C端或N端。當間隔子用於將IL-10偶聯至載體時，間隔子可包括一或多個胺基酸。本文中涵蓋之間隔子之實例包括寡肽序列，諸如S、$(GS)_x$、$(GGS)_x$、$(GGGS)_x$(SEQ ID NO: 7)、$(GGGGS)_x$ (SEQ ID NO: 8)或$(GGGGGS)_x$ (SEQ ID NO: 9)，其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15。在一些情況下，間隔子不包括與IL-10序列，例如SEQ ID NO: 6 (GGGGSGGGGSGGGG)相鄰之S殘基。

【0254】 載體及/或IL-10可在其N端及/或C端進一步包含一或多個修飾。此類修飾可包括N端甲硫胺酸殘基或表現於異源系統中之其他已知殘基。

【0255】 IL-10遞送構築體可與固有層中表現CD3之細胞共定位。表現CD3之細胞可為淋巴細胞。淋巴細胞可為T細胞。在一些實施例中，IL-10遞送構築體不與固有層中表現CD11c (例如樹突狀細胞)、CD19 (例如B淋巴細胞)或CD34 (例如內皮細胞)之細胞共定位。IL-10遞送構築體可與固有層中之巨噬細胞共定位。IL-10遞送構築體與細胞之共定位可包含IL-10遞送構築體與細胞表面上之受體的相互作用或結合。載體或IL-10遞送構築體之IL-10可與受體相互作用或結合。

【0256】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。IL-10遞送構築體可與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、

95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。IL-10遞送構築體可與SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。IL-10視情況連同如本文所提供之一或多種載體及一或多種間隔子之表現及純化可使得二聚IL-10遞送構築體之濃度大幅提高。在一個實例中，SEQ ID NO: 5之表現及純化可產生包含大於80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%呈二聚體形式之IL-10的組合物。在另一實例中，SEQ ID NO: 13之表現及純化可產生包含大於80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%呈二聚體形式之IL-10的組合物。此類IL-10可為M-hIL10或M-cholix^{386}-IL-10，其中hIL-10或cholix^{386}-IL-10包含N端甲硫胺酸(M)。或者，85%至90%、85%至92%或85%至95%之IL-10呈二聚體形式。

【0257】 在一些實施例中，2%至5%之IL-10呈聚集體形式。在一些實施例中，不超過2%、3%、4%或5%之IL-10呈聚集體形式。在一些實施例中，5%至7%或6%至7%之IL-10呈單體形式。在一些實施例中，不超過5%、6%、7%或8%之IL-10呈單體形式。

【0258】 尺寸排阻層析(SE-HPLC)可用於表徵IL-10遞送構築體之尺寸分佈。可藉由SEC-HPLC測定液體組合物或凍乾組合物(若在液體中復原)中以二聚體、單體及聚集體形式發現之IL-10遞送構築體的百分比(**圖34**)。

【0259】本文進一步描述非天然存在之核酸，其包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：SEQ ID NO: 10中所闡述之核酸序列，或與SEQ ID NO: 10具有至少90%、至少92%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之核酸序列。核酸可經密碼子最佳化。核酸可由載體編碼。載體可為質體或病毒載體。病毒載體可為慢病毒、腺病毒、腺相關病毒(AAV)、反轉錄病毒或單純疱疹病毒。載體可為複製勝任型或非複製勝任型。載體可為整合載體或非整合載體。細胞可經本文所述之載體中之任一者轉形。細胞可為細菌細胞。細菌細胞可為大腸桿菌細胞。細胞可為酵母細胞。酵母細胞可為釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)細胞。

表1-序列

SEQ ID NO:	**描述**	**序列**
SEQ ID NO: 1	IL-10	MHSSALLCCLVLLTGVRASPGQGTQSENSCTHFPGNLP NMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSL GENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKL QEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
SEQ ID NO: 2	IL-10，分泌活性形式	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQ MKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEE VMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLRRCHRFL PCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIE AYMTMKIRN
SEQ ID NO: 3	非天然存在之cholix變異體	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLP ENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYH GTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPE SAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEA VAKEQSISTKPPYKERKDELK
SEQ ID NO: 4	非天然存在之cholix變異	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY

	體(cholix^{386})	VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QA
SEQ ID NO: 5	IL-10 遞送構築體	MVEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDE GVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRH YVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWL VPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLE QWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDN WFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNA MSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQ NIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRR INENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG AQAGGGGSGGGGSGGGGSPGQGTQSENSCTHFPGNLP NMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSL GENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKL QEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
SEQ ID NO: 6	間隔子	GGGGSGGGGSGGGG
SEQ ID NO: 10	編碼 IL-10 遞送構築體之 DNA序列	ATGGTAGAAGAAGCGCTGAATATTTTTGACGAGTGTC GTAGCCCGTGTAGCCTGACTCCGGAACCGGGCAAGC CGATTCAGTCCAAACTGTCTATCCCGAGCGACGTTGT GCTGGATGAGGGCGTGTTGTATTACAGCATGACGATC AATGATGAGCAAAACGACATCAAAGACGAAGATAAG GGTGAGTCTATTATCACCATTGGCGAGTTTGCGACGG TGCGTGCAACGCGCCATTACGTGAATCAAGACGCGC CGTTTGGTGTCATTCACCTGGATATCACGACCGAAAA TGGCACGAAAACCTATTCGTATAATCGCAAAGAGGGC GAGTTCGCGATCAACTGGCTGGTTCCGATCGGTGAG GATAGCCCGGCGAGCATCAAGATCAGCGTTGATGAA CTGGATCAGCAGCGCAACATTATTGAAGTCCCGAAGT TGTATAGCATCGACCTGGATAATCAGACCCTGGAGCA GTGGAAAACCCAGGGTAACGTTAGCTTCTCCGTGAC CCGTCCGGAGCACAACATTGCCATTAGCTGGCCGAG CGTTAGCTACAAAGCCGCACAGAAAGAGGGTTCCCG CCACAAGCGTTGGGCTCATTGGCATACCGGTTTGGCG CTGTGTTGGCTGGTGCCGATGGATGCGATCTATAACT ACATCACGCAGCAAAATTGCACGCTGGGTGACAATT GGTTCGGTGGCAGCTACGAGACTGTGGCGGGTACCC CTAAGGTTATTACCGTCAAACAGGGTATTGAGCAAAA GCCTGTCGAGCAGCGTATCCACTTTAGCAAGGGTAAC GCCATGTCTGCTCTGGCGGCTCATAGAGTTTGCGGCG TTCCGCTGGAGACTCTGGCCCGTTCCCGCAAGCCGC GTGACCTGACCGATGACCTGAGCTGCGCGTATCAAG CGCAAAACATTGTTAGCTTATTCGTTGCGACGCGCAT

		TTTGTTTTCGCACCTGGATAGCGTGTTCACGCTGAAC CTGGATGAACAGGAACCAGAAGTGGCAGAGCGTCTG TCAGATCTGCGTCGTATCAACGAAAACAACCCGGGC ATGGTTACCCAGGTCCTTACGGTTGCACGCCAGATTT ACAATGATTACGTGACCCATCACCCGGGTCTGACCCC AGAACAAACCAGCGCAGGCGCACAAGCGGGTGGCG GTGGTTCCGGTGGCGGTGGTAGCGGTGGCGGTGGTA GCCCTGGTCAAGGCACCCAATCCGAGAATAGCTGCA CGCATTTTCCAGGCAATCTGCCGAATATGCTGCGTGA CCTCCGCGACGCGTTCTCTCGTGTTAAGACCTTTTTT CAGATGAAAGACCAGCTGGACAATCTGCTGCTGAAA GAATCCCTGCTGGAAGATTTCAAAGGCTATCTGGGTT GCCAGGCCCTGAGCGAGATGATCCAATTCTACTTGGA AGAGGTCATGCCGCAGGCCGAAAATCAAGACCCGGA CATCAAGGCACACGTGAACAGCTTGGGCGAAAACCT GAAAACCCTGCGTTTGCGCCTGCGTCGTTGTCACCGT TTCCTGCCGTGCGAGAATAAGAGCAAAGCCGTCGAA CAAGTCAAAAATGCATTCAACAAGCTGCAAGAGAAA GGTATCTACAAGGCTATGAGCGAGTTTGACATTTTCA TTAACTACATTGAAGCGTACATGACCATGAAGATCCG TAAC
SEQ ID NO: 11	非天然存在之cholix變異體(V1L)	LEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLP ENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYH GTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPE SAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEA VAKEQSISTKPPYKERKDELK
SEQ ID NO: 12	非天然存在之cholix變異體 (cholix^{386}) (V1L)	LEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QA
SEQ ID NO: 13	IL-10遞送構築體 (cholix	MLEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDE GVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRH

	V1L)	YVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWL VPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLE QWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDN WFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNA MSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQ NIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRR INENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG AQAGGGGSGGGGSGGGGSPGQGTQSENSCTHFPGNLP NMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSL GENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKL QEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
SEQ ID NO: 151	Humira Fab輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 152	Humira Fab重鏈	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWV RQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
SEQ ID NO: 153	Remicade Fab輕鏈	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRT NGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVES EDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 154	Remicade Fab重鏈	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWV RQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDD SKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQ GTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT

表2-額外cholix多肽

SEQ ID NO: 130	VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF

TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 131 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAKQSIAISWPSVSY
KAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDN
WFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHR
VCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTH
HPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSG
RSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGT
GEYGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVI
GHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEEL
AIDEEAVAKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 132 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIMDEGKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTEN
GTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKL
YSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQ
KEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGG
SYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVP
LETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD
EQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTP
EQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPEN
RAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIV
NRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPT
RAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAV
AKEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 133 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYERLTPAEEAVVKEAI
AKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 134 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE

VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYERLTPAEEAVVKEAI
AKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 135 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKQIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 136 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 137 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVSTHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 138 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG

TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 139 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIHRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 140 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 141 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER

EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 142 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 143 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRMLFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
REARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 144 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARLKKGTGNAELPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITHVIGHSLPLRNEAF
TGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEVLAIDEEAVAEEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 145 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVFFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA

RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VTERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIHRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 146 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 20 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVALNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 21 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAP
EVAERLSALRQINENNPGVVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAE
RETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 22 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN

DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAER
ETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 23 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAIMVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETL
ARSRKPRYLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
PEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQT
SAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV
ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI
APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNE
AFTGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISPKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 24 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKDGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSAIRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 25 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKDGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKHCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA

PVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 26 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWRTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 27 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSNGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 28 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLLENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 29 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETV

AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 30 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 31 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 32 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 33 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 34 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 35 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAER
ETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 36 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAIHWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT

PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 37 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATIRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 38 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITFGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTEN
GTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKL
YSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGS
RHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYET
VAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETL
ARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQT
SAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV
ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI
APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNE
AFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 39 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH
KRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLAR
SRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEV
AERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG
AQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQ
QGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPV
PRGSDTESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKA
RGVMLRVYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFT
GTDAEEGSDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 40 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR

HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 41 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 42 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQNIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 43 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDIAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSI

STKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 44 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 45 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 46 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 47 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA

GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 48 VEDELNIFDECRSPCLLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 49 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 50 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 51 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY

SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSQKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSIS
AKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 52 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 53 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 54 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE

DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 55 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 56 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 57 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVML
RVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISA
KPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 58 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP

EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGENGLPTTEEKK
SRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAFT
GPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 59 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAEVNHRYARIKEGTGENGLPTTEEKK
SRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAFT
GPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 60 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGENGLPTTEKKK
SRGVMLKVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAF
TGPESAGGENETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQS
ISAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 61 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 62 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG

TKTYSYNRKEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 63 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGENGLPTTEEKK
SRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAFT
GPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 64 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 65 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR

VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 66 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEQSIAISWPSVSYNAAHKNGSR
HKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVT
NWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGN
NTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGV
MLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESA
GGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPP
YKERKDELK

SEQ ID NO: 67 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERDARGV
MLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESA
GGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPP
YKEQKDELK

SEQ ID NO: 68 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 69 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKMYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR

DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVD
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPY
KERKDELK

SEQ ID NO: 70 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAI
TVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLQDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 71 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTE
SERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLR
VYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEG
SDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

SEQ ID NO: 72 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPLLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTE
SERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLR
VYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEG
SDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

SEQ ID NO: 73 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN

DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTE
SERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLR
VYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEG
SDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

SEQ ID NO: 74 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLFIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAIEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 75 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWYGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDTDKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 76 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN

TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 77 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAPEVAERLS
DLRRINEDNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELETTHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 78 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKAVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 79 TPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIIT
IGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAIN
WLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQG
NVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCW
LVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPV
EQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYN
AQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPG
MVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADK
SCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQ
ALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYV
STDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLPQASLERF
YRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGWDM
AIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 80 SIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRH
YVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPAS
IKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEH
NIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYIT
QQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNA
MEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATR

ILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQ
IYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQAN
INIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVG
YHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGY
ARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENA
EEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIP
GNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 81 MTINDEQNDIMDEGKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDIT
TENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEV
PKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYK
AAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNW
FGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTL
NLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG
LTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQ
TIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYG
LPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSL
PLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEE
AVAKEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 82 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
TINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHW
HTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITV
KQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLT
DDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLR
RINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILS
LFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWT
YQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETIIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 83 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHW
HTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIT
VKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDL
TDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSAL
RQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADIL
SLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWT
YQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 84 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHW
HTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITV

KQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLT
DDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALR
QINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILS
LFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWT
YQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 85 MTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDIT
TENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEV
PKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHK
NGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAG
TPKAITVKQGIEQKAVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARS
RKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEV
AERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG
AQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERE
TRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT
GPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 86 MTINDEQNDIKDEDKGESIITIGDFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDIT
TENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVP
KLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKN
GSRHKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGT
PKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSR
KPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAE
RLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQ
AADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPR
GNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDAR
GVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGP
ERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSIST
KPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 87 CSLTPEPGKPIQSQLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
VYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 88 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL

CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 89 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 90 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 91 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
VYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRA
SLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 92 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN

QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVALNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEA
THQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWG
GLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRAS
LERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 93 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIMVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRYLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 94 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKDGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSAIRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 95 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKDGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYLTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 96 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA

INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 97 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYTRIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 98 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFYPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 99 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRA
SLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 100 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES

IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 101 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 102 CSLTPELGKPIQSKLSISSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 103 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 104 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 105 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 106 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEREARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 107 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDGEDET

VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 108 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDDQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQNIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 109 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWL
TTLPKVVLCFFEDPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQK
TVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTLLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 110 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAI
NWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWETQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 111 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAI
NWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWETQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREDYVFVGYHGTNHAAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLRVYIPRASLERFY

RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 112 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQR
IHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 113 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQR
IHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAPEVAERLSDLRRINEDNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELETTHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 114 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQR
IHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
YAVAIPS

SEQ ID NO: 115 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAITVKQGIEQKTVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIV
SLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQ
VLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVA
SNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTR
EDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH

AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLRVYIPRASLERFYRT
NTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHA
VAIPS

SEQ ID NO: 116 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPGAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 117 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 118 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IIIIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAI
NWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRVVITPQGVTNWTYQELDATHQAL
TREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 119 CSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFA
INWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVV
LCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIV
SLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQV
LTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVAS
NSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQ

EGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDA
SVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLPQASLERFYRIN
ADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGWDMAIHG
VAIPS

SEQ ID NO: 120 CSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFA
INWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVV
LCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIV
SLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQV
LTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSASAQAADILSLFCPDADKSCVASN
SDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQE
GYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDAS
VAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLPQASLERFYRINA
DLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGWDMAIHGV
AIPS

SEQ ID NO: 121 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKQIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRV

SEQ ID NO: 122 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAEKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLLCPDADGSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGG

SEQ ID NO: 123 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAEKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGG

SEQ ID NO: 124 YSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGS RHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYET VAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSNGNAMSALAAHRVCGVPLETL ARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQT SAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNE AFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK EQSISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 125 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLY SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR HKRWANWLTTLPKVVLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAI TVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR DLQDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLS ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHV

SEQ ID NO: 126 VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI DLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA GTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLAR SRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEV AERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG AQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIES

SEQ ID NO: 127 LFSHLDSVFTLNLHEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQI YNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANI NIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVG YHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGY ARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENA EEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIP GNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 128 AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVN RIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRN EAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVA KEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 129 AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVN RIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRN EAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVA KEQSISTKPPYKERKDEL

表3-式I

SEQ ID NO: 147	X1-E-X3-X4-L-X6-I-F-D-E-C-R-S-P-C-X16-L-T-P-E-X21-G-K-X24-I-Q-S-K-L-X30-I-P-X33-D-V-V-L-D-E-G-V-L-Y-Y-S-M-T-I-N-

D-E-Q-N-D-I-X56-D-E-X59-K-G-E-S-I-I-T-X67-G-E-F-A-T-X73-R-A-T-R-H-Y-V-X81-Q-D-A-P-F-G-V-I-X90-L-D-I-T-T-E-N-G-T-K-X101-Y-S-X104-N-R-K-X108-X109-E-F-X112-I-X114-W-L-V-X118-X119-G-E-D-S-P-A-S-I-K-I-S-X131-D-E-X134-D-Q-X137-R-N-I-I-E-V-P-K-L-Y-S-I-D-L-D-N-Q-T-L-E-Q-W-X160-X161-Q-G-N-V-X166-F-X168-V-T-R-P-E-X174-X175-I-A-I-S-W-P-S-V-S-Y-X186-A-A-X189-K-X191-G-X193-R-H-K-R-W-A-X200-W-X202-T-X204-X205-X206-X207-X208-X209-L-X211-X212-X213-X214-X215-X216-X217-X218-X219-X220-X221-X222-X223-X224-C-T-X227-G-X229-X230-W-X232-G-G-X235-Y-X237-T-V-A-G-X242-P-X244-X245-I-X247-V-K-Q-G-X252-E-Q-K-X256-V-E-Q-R-I-H-F-S-X265-X266-N-A-X269-X270-X271-L-A-A-H-R-V-C-G-V-P-L-E-T-L-A-R-X288-R-K-P-R-X293-L-X295-D-D-L-X299-C-X301-Y-X303-A-Q-X306-I-V-S-L-F-X312-A-T-R-X316-L-F-X319-H-X321-D-S-X324-F-T-L-N-L-X330-X331-Q-X333-P-X335-V-X337-E-R-L-X341-X342-X343-R-X345-I-N-E-X349-N-P-G-X353-V-X355-Q-V-L-T-X360-A-R-Q-I-Y-N-D-Y-V-T-X371-H-P-X374-L-X376-P-E-Q-T-S-A-X383-A-Q-A-A-D-I-L-S-L-X393-X394-P-D-X397-D-X399-X400-C-V-A-X404-X405-X406-D-Q-A-N-I-N-X413-E-S-R-S-G-R-S-Y-L-X423-E-N-R-A-V-I-T-X431-Q-G-V-T-N-W-T-Y-Q-E-L-X443-X444-X445-H-Q-X448-L-T-X451-E-X453-Y-V-F-V-G-Y-H-G-T-N-H-X465-A-A-Q-X469-I-V-N-R-I-X475-P-V-P-R-G-X481-X482-T-E-X485-E-X487-X488-W-G-G-X492-Y-V-X495-T-X497-A-X499-X500-X501-X502-X503-Y-X505-R-X507-X508-X509-G-T-X512-X513-X514-X515-X516-X517-T-X519-X520-X521-X522-X523-X524-R-G-V-M-L-X530-V-Y-X533-X534-X535-A-S-L-E-R-F-Y-R-X544-N-X546-X547-L-E-X550-X551-X552-X553-X554-X555-X556-X557-V-I-G-H-X562-L-P-L-R-N-E-A-F-T-G-X573-X574-X575-X576-X577-G-X579-X580-E-T-X583-I-G-W-D-X588-A-I-X591-X592-V-A-I-P-S-T-I-P-G-N-X603-Y-X605-X606-L-X608-X609-X610-E-E-A-X614-A-X616-E-Q-S-I-S-X622-K-P-P-Y-K-E-X629-X630-D-E-L-K；其中X1選自由V及L組成之群；X3選自由E及D組成之群；X4選自由A及E組成之群；X6選自由N及K組成之群；X16選自由S及L組成之群；X21選自由P及L組成之群；X24選自由P及Q組成之群；X30選自由S及F組成之群；X33選自由S及G組成之群；X56選自由K及M組成之群；X59選自由D及G組成之群；X67選自由I及F組成之群；X73選自由V及I組成之群；X81選自由N及S組成之群；X90選自由H及N組成之群；X101選自由T及M組成之群；X104選自由Y及F組成之群；X108選自由E及D組成之群；X109選自由G及S組成之群；X112選自由A及T組成之群；X114選自由N及H組成之群；X118選自由P及I組成之群；X119選自由I及P組成之群；X131選自由V及I組成之群；X134選自由L及I組成之群；X137選自由Q及K組成之群；X160選自由K及E組成之群；X161選自由T及N組成之群；X166選自由S及F組成之群；X168選自由S及A組成之群；X174選自由H及Q組成之群；X175選自由N、S、SIAKQS (SEQ ID NO: 148)及SIAKQSIAKQS (SEQ ID NO: 149)組成之群；X186選自由K及N組成之群；X189選自由Q、E及H組成之群；X191選自由以下E、N及D之群；X193選自由S及A組成之群；X200選自由H及N

組成之群；X202選自由H、L、F及R組成之群；X204選自由G及T組成之群；X205選自由L及S組成之群；X206選自由A及P組成之群；X207選自由L、E及K組成之群；X208選自由C及V組成之群；X209選自由W、v及T組成之群；X211選自由V及無胺基酸組成之群；X212選自由P及無胺基酸組成之群；X213選自由M、I、L及無胺基酸組成之群；X214選自由D及無胺基酸組成之群；X215選自由A及無胺基酸組成之群；X216選自由I及無胺基酸組成之群；X217選自由Y及C組成之群；X218選自由N及F組成之群；X219選自由Y及F組成之群；X220選自由I及E組成之群；X221選自由T及D組成之群；X222選自由Q及P組成之群；X223選自由Q、E及A組成之群；X224選自由N、L及Q組成之群；X227選自由L及Y組成之群；X229選自由D及E組成之群；X230選自由N及D組成之群；X232選自由F、H及Y組成之群；X235選自由S及A組成之群；X237選自由E及K組成之群；X242選自由T及I組成之群；X244選自由K、E及G組成之群；X245選自由V及A組成之群；X247選自由T及M組成之群；X252選自由I及M組成之群；X256選自由P、T及A組成之群；X265選自由K、Q及N組成之群；X266選自由G及K組成之群；X269選自由M及I組成之群；X270選自由S及E組成之群；X271選自由A及T組成之群；X288選自由S及G組成之群；X293選自由D及Y組成之群；X295選自由T、P及Q組成之群；X299選自由S及Q組成之群；X301選自由A及V組成之群；X303選自由Q及N組成之群；X306選自由N及Q組成之群；X312選自由V及L組成之群；X316選自由I及M組成之群；X319選自由S及T組成之群；X321選自由L及I組成之群；X324選自由V及I組成之群；X330選自由D、E及H組成之群；X331選自由E及G組成之群；X333選自由E及A組成之群；X335選自由E及A組成之群；X337選自由A及T組成之群；X341選自由S、D及T組成之群；X342選自由D及A組成之群；X343選自由L及I組成之群；X345選自由R及Q組成之群；X349選自由N及D組成之群；X353選自由M及V組成之群；X355選自由T及I組成之群；X360選自由V及I組成之群；X371選自由H及E組成之群；X374選自由G及L組成之群；X376選自由T及I組成之群；X383選自由G及S組成之群；X393選自由F及L組成之群；X394選自由C及Y組成之群；X397選自由A及T組成之群；X399選自由K、E及G組成之群；X400選自由S、P及H組成之群；X404選自由S及L組成之群；X405選自由N及D組成之群；X406選自由N及S組成之群；X413選自由I及V組成之群；X423選自由P及L組成之群；X431選自由P及Q組成之群；X443選自由E及D組成之群；X444選自由A及T組成之群；X445選自由T及K組成之群；X448選自由A及T組成之群；X451選自由R及Q組成之群；X453選自由G及D組成之群；X465選自由V及A組成之群；X469選自由T、S及N組成之群；X475選自由A、S及T組成之群；X481選自由N及S組成之群；X482選自由N及D組成之群；X485選自由N、S及K組成之群；X487選自由E、R及K組成之群；X488選自由K、A及E組成之群；X492選自由L及V組成之群；X495選自由

A及S下組成之群；X497選自由H及D組成之群；X499選自由E及S組成之群；X500選自由V及L組成之群；X501選自由A及N組成之群；X502選自由H及Y組成之群；X503選自由G及R組成之群；X505選自由A及T組成之群；X507選自由I及L組成之群；X508選自由K及Q組成之群；X509選自由E及K組成之群；X512選自由G及A組成之群；X513選自由E、D及N組成之群；X514選自由Y、G、A及N組成之群；X515選自由G及E組成之群；X516選自由L及G組成之群；X517選自由P及L組成之群；X519選自由R、P及T組成之群；X520選自由A及E組成之群；X521選自由E及K組成之群；X522選自由R、Q及K組成之群；X523選自由D、K及E組成之群；X524選自由A、T及S組成之群；X530選自由R及K組成之群；X533選自由I及L組成之群；X534選自由P及H組成之群；X535選自由R及Q組成之群；X544選自由T及I組成之群；X546選自由T、A及I組成之群；X547選自由對及D組成之群；X550選自由N及K組成之群；X551選自由A及E組成之群；X552選自由E、R及D組成之群；X553選自由E、N及R組成之群；X554選自由H及L組成之群；X555選自由I及V組成之群；X556選自由T及E組成之群；X557選自由Q、R H及D組成之群；X562選自由S及P組成之群；X573選自由P及T組成之群；X574選自由E及D組成之群；X575選自由S、A及R組成之群；X576選自由A、E及V組成之群；X577選自由G、E及D組成之群；X579選自由E及S組成之群；X580選自由D及N組成之群；X583選自由V及A組成之群；X588選自由M及I組成之群；X591選自由H及Y組成之群；X592選自由A及G組成之群；X603選自由A及S組成之群；X605選自由E及A組成之群；X606選自由E、A、Q、G、V及R組成之群；X608選自由A、P及T組成之群；X609選自由I、T及P組成之群；X610選自由D及A組成之群；X614選自由V及VVKEAI (SEQ ID NO: 150)組成之群；X616選自由K及E組成之群；X622選自由T、A及P組成之群；且X629選自由R、Q及H組成之群；且X630選自由K及無胺基酸組成之群。

表4-鑑別SEQ ID NO: 20-147中之任一者之胺基酸殘基的例示性胞吞轉運載體

AA殘基	AA殘基	AA殘基
1-195	1-269	1-343
1-196	1-270	1-344
1-197	1-271	1-345
1-198	1-272	1-346
1-199	1-273	1-347
1-200	1-274	1-348
1-201	1-275	1-349
1-202	1-276	1-350
1-203	1-277	1-351
1-204	1-278	1-352
1-205	1-279	1-353
1-206	1-280	1-354

1-207	1-281	1-355
1-208	1-282	1-356
1-209	1-283	1-357
1-210	1-284	1-358
1-211	1-285	1-359
1-212	1-286	1-360
1-213	1-287	1-361
1-214	1-288	1-362
1-215	1-289	1-363
1-216	1-290	1-364
1-217	1-291	1-365
1-218	1-292	1-366
1-219	1-293	1-367
1-220	1-294	1-368
1-221	1-295	1-369
1-222	1-296	1-370
1-223	1-297	1-371
1-224	1-298	1-372
1-225	1-299	1-373
1-226	1-300	1-374
1-227	1-301	1-375
1-228	1-302	1-376
1-229	1-303	1-377
1-230	1-304	1-378
1-231	1-305	1-379
1-232	1-306	1-380
1-233	1-307	1-381
1-234	1-308	1-382
1-235	1-309	1-383
1-236	1-310	1-384
1-237	1-311	1-385
1-238	1-312	1-386
1-239	1-313	1-387
1-240	1-314	1-388
1-241	1-315	1-389
1-242	1-316	1-390
1-243	1-317	1-391
1-244	1-318	1-392
1-245	1-319	1-393
1-246	1-320	1-394
1-247	1-321	1-395
1-248	1-322	1-396
1-249	1-323	1-397
1-250	1-324	1-398
1-251	1-325	1-399
1-252	1-326	1-400
1-253	1-327	1-401
1-254	1-328	1-402
1-255	1-329	1-403
1-256	1-330	1-404
1-257	1-331	1-405

1-258
1-259
1-260
1-261
1-262
1-263
1-264
1-265
1-266
1-267
1-268
1-332
1-333
1-334
1-335
1-336
1-337
1-338
1-339
1-340
1-341
1-342
1-406
1-407
1-408
1-409
1-410
1-411
1-412
1-413
1-414
1-415

製造方法

【0260】 在一個實施例中，可根據**圖2A**中概述之方法進行(例如IL-10遞送構築體之)表現、分離、純化及再摺疊。在另一實施例中，可根據**圖2B**中概述之方法進行(例如IL-10遞送構築體之)表現、分離、純化及再摺疊。

【0261】 在**圖2A**之步驟**201**或**圖2B**之步驟**301**中，細胞經工程化及培養以藉由用編碼IL-10遞送構築體之質體轉形細胞而以重組方式表現IL-10遞送構築體，諸如SEQ ID NO: 5。在一些實施例中，質體包括對應於SEQ ID NO. 10中之序列(或與其具有至少90%、至少92%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之序列)的核酸，其為用於細菌中之表現的密碼子改良序列。質體可進一步包含針對抗生素耐藥性之標記。質體可賦予耐藥性之抗生素可為康黴素、安比西林、四環素或氯黴素。在一些情況下，細胞為細菌細胞。細菌可為大腸桿菌(*Escherichia coli*)。轉形細胞可經進一步擴增。轉形細胞之擴增可為無性擴增。擴增之細胞可轉移至生產用生物反應器中進行醱酵。醱酵可在1500 L生物反應器中進行。在一些實施例中，醱酵在質體賦予耐藥性之抗生素存在下進行。生產醱酵可包含細胞生長期後跟表現期。表現期可包含使用異丙基β-D-1-硫代半乳糖苷(IPTG)作為誘導劑。IL-10遞送構築體可以不溶性包涵體形式在細胞內表

現。在生產結束時，可藉由離心收穫細胞。此離心可產生包含細胞之第一離心塊。第一離心塊可再懸浮於第一緩衝液中。第一緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第一緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第一緩衝液可進一步包含15 mM至25 mM EDTA，較佳20 mM EDTA。第一離心塊與第一緩衝液中細胞之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。第一離心塊可在第一緩衝液中混合50至70分鐘，較佳60分鐘，直至獲得均質混合物。

【0262】 在**圖2A**之步驟**202**或**圖2B**之步驟**302**中，經培養細胞例如藉由溶解破壞，以釋放包涵體。溶解可包含高壓均質化。高壓均質化可在微流化床中進行。高壓均質化可在16,000至20,000 psi，或約18,000 psi下進行。可進行兩輪溶解以確保基本上所有細胞已溶解。溶解之細胞可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行30至50分鐘，或約40分鐘，且可產生第二離心塊。

【0263】 可移除上清液，且可將第二離心塊再懸浮於第二緩衝液中。第二緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第二緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第二緩衝液可進一步包含15 mM至25 mM EDTA，較佳20 mM EDTA。第二緩衝液可進一步包含2%至3%、較佳2.5% Trion X-100。第二緩衝液可進一步包含450 mM至550 mM、較佳500 mM NaCl。第二離心塊與第二緩衝液之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。再懸浮於第二緩衝液中之第二離心塊可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行15至25分鐘，或約20分鐘，且可產生第三離心塊。

【0264】 可移除上清液，且可將第三離心塊再懸浮於第三緩衝液

中。第三緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第三緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第三緩衝液可進一步包含15 mM至25 mM EDTA，較佳20 mM EDTA。第三離心塊與第三緩衝液之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。再懸浮於第三緩衝液中之第三離心塊可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行15至25分鐘，或約20分鐘，且可產生第四離心塊。

【0265】 可移除上清液，且可將第四離心塊再懸浮於第四緩衝液中。第四緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第四緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第四離心塊與第四緩衝液之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。再懸浮第四緩衝液中之第四離心塊可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行35至55分鐘，或約45分鐘，且可產生第五離心塊。第五離心塊可含有包含IL-10遞送複合物之包涵體。包含IL-10遞送構築體之第五離心塊可在進一步使用之前冷凍。構築體可在-15℃至-25℃、較佳-20℃下冷凍。

【0266】 在**圖2A**之步驟**203**或**圖2B**之步驟**303**中，使用溶解溶液來溶解具有IL-10遞送構築體之包涵體。溶解溶液可包含離液劑。溶解溶液可包含濃度為5 M至8 M、6 M至7 M、約6.6 M或約6 M之離液劑。離液劑可包含鹽酸胍、脲或其組合。離液劑可包含胍之鹽酸鹽。溶解溶液可進一步包含Tris。溶解溶液可包含濃度為40 mM至60 mM，或約50 mM之Tris。溶解溶液可在pH 7至9或約8下。溶解溶液可添加至在細胞溶解之後獲得的包含10遞送構築體之離心塊。包含IL-10遞送構築體之離心塊與溶解溶液之比可為1:8至1:12或約1:10 (w/w)。可使溶解作用混合至少或大約60分鐘。

【0267】 在一些實施例中，如**圖2A**之步驟**204**中所示，IL-10遞送構築體係藉由亞硫酸分解劑或還原劑修飾。此類修飾可與步驟**203**中所描繪之包涵體溶解同時或在其之後進行。在一些情況下，在包涵體與溶解溶液接觸之前將亞硫酸分解劑或還原劑添加至溶解溶液。在此類情況下，溶解及亞硫酸分解/還原步驟可同時進行。在其他實施例中，包涵體首先溶解於溶解溶液中，且隨後添加亞硫酸分解劑或還原劑。換言之，可在IL-10遞送構築體已基本上溶解之後添加亞硫酸分解劑或還原劑。在一些實施例中，亞硫酸分解劑包含亞硫酸鈉。舉例而言，在一些實施例中，可包含將亞硫酸鈉添加至溶解溶液。在一些實施例中，將30 mM至50 mM、35 mM至45 mM、38 mM至42 mM或約40 mM亞硫酸鈉添加至溶解溶液。在一些實施例中，方法包含將包含亞硫酸鈉之溶解溶液培育25至35分鐘，或更佳約30分鐘。培育包含亞硫酸鈉之溶解溶液可在室溫下進行。連四硫酸鉀可接著添加至溶解溶液。可在添加亞硫酸鈉之後將連四硫酸鉀添加至溶解溶液。在一些實施例中，將23 mM至43 mM、28 mM至38 mM、31 mM至35 mM或約33 mM連四硫酸鉀添加至溶解溶液。可將連四硫酸鉀與溶解溶液混合55至65分鐘或約60分鐘。此混合及培育可在室溫下進行。相對於DTT用於破壞二硫鍵時，可在亞硫酸分解劑用於破壞二硫鍵時獲得二聚體形式之IL-10遞送構築體的更高產率。舉例而言，相比於DTT用於還原/破壞時在再摺疊之後獲得的產率，使用亞硫酸分解劑在再摺疊之後產生的二聚體形式之IL-10遞送構築體之產率可高至少2倍。舉例而言，當使用DTT IL-10處理遞送構築體以進行還原時，IL-10遞送構築體之所得產率之小於5%可呈二聚體形式，而使用亞硫酸分解劑處理IL-10遞送構築體可使得IL-10遞送構築體之所得產率之大於10%呈二聚體形式。

【0268】 在一些實施例中，**圖2A**中之步驟**204**為視情況存在的(或明確不存在的)。換言之，在一些實施例中，溶解之IL-10、IL-10遞送構築體或含有IL-10或IL-10遞送構築體之溶解之包涵體係在不用還原劑或亞硫酸分解劑處理或與其接觸的情況下處理(例如澄清、濃縮及/或遞送至再摺疊溶液)(**圖2B**)。換言之，在一些實施例中，包涵體(IB)係用離液劑溶解且隨後稀釋至再摺疊溶液(例如氧化還原混合液)中而不使包涵體經受還原劑或亞硫酸分解劑。

【0269】 方法可包含澄清經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體以產生澄清之IL-10遞送構築體(**圖2A**中之步驟**205**或**圖2B**中之步驟**304**)。澄清可包含在溶解及亞硫酸分解之後移除殘餘不溶性材料且可在後續下游純化步驟之前進行。澄清可包含深度過濾。澄清可包含初步澄清。初步澄清可包含經由標稱定額為0.5 μm至10 μm之過濾器過濾經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體。澄清可包含二次澄清。二次澄清可在初步澄清之後進行。二次澄清可包含經由過濾器，諸如標稱定額為0.2 μm至2 μm之過濾器過濾經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體。方法可進一步包含對經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體進行無菌過濾。無菌過濾可包含經由孔徑為0.1 μm至0.3 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。進行無菌過濾可在澄清之後進行。

【0270】 方法可包含在澄清與再摺疊步驟之間進行切向流過濾步驟。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含**圖2A**中之步驟**206**的第一切向流過濾(TFF-1)。方法可包含在經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體的澄清與再摺疊步驟之間進行切向流過濾步驟。在一些實施例中，當不使用亞硫酸分解劑時，方法不包含澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾

步驟(**圖2B**)。換言之，在一些實施例中，當步驟**205**亦不存在時，步驟**206**明確不存在(**圖2A**)。

【0271】 在一些情況下，相比於使用亞硫酸分解劑或還原劑之溶解，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化產生更高的IL-10遞送構築體二聚體百分比。在一些情況下，相比於藉由亞硫酸分解或還原劑之溶解，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化產生更高的IL-10遞送構築體產率。在一些情況下，相比於使用亞硫酸分解劑或還原劑之溶解，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化產生更少的IL-10遞送構築體HMW聚集體。

【0272】 此外，在一些實施例中，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化不需要澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟，其可使純化過程縮短約1或2天。相對於包括澄清與再摺疊步驟之間的亞硫酸分解及切向流過濾步驟的純化過程，不進行澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可防止損失10%至40%、10%至15%、15%至30%或30%至35%之經純化IL-10遞送構築體。

【0273】 澄清與再摺疊步驟之間的第一切向流過濾步驟可在澄清之後進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可在經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體之無菌過濾之後進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾。超濾可包含將IL-10遞送構築體濃縮至15 mg/mL至25 mg/mL、18 mg/mL至22 mg/mL或約20 mg/mL。超濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含透濾。透濾可在超濾之後進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾及透濾(UF/DF)。透濾可包含第一

透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積。第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積可包含緩衝液。緩衝液可包含離液劑。緩衝液可包含3.5 M至4.5 M、較佳4 M離液劑。離液劑可為鹽酸胍。緩衝液可包含Tris。緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。緩衝液之pH可為7至8.5。透濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。

【0274】 方法可包含使經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸以產生再摺疊之IL-10遞送構築體(**圖2A**中之步驟**207**或**圖2B**中之步驟**305**)。經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體可在滲餘物中，該滲餘物在經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體之澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得。再摺疊溶液可包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽。還原麩胱甘肽與氧化麩胱甘肽之比(w/w)可為0.8:1至1.2:1，較佳1:1。還原麩胱甘肽與氧化麩胱甘肽之莫耳比可為0.8:2至1.1:2，較佳1:2。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM、較佳1.0 mM還原麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM、較佳0.5 mM氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。再摺疊溶液可包含900 mM至1.1 M、較佳1 M精胺酸。在一些實施例中，精胺酸為精胺酸-HCl。再摺疊溶液可包含200 mM至300 mM、較佳250 mM蔗糖。再摺疊溶液可包含75 mM至125 mM、較佳100 mM Tris。Tris之pH可為約8.5。再摺疊溶液可包含1.75 mM至2.25 mM、較佳2 mM EDTA。在一些實施例中，再摺疊溶液包含聚乙二醇(PEG)。在一些實施例中，0.1%至0.3%，較佳0.2% (w/w)之再摺疊溶液為聚乙二醇(PEG)。PEG可為PEG 3350。再摺疊溶液可包含約7.5

至約8.5之pH。再摺疊溶液可包含約8.0之pH。再摺疊溶液可包含約8.5之pH。在澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可與再摺疊溶液在50至70分鐘、較佳60分鐘之時程內混合，以達到0.8 mg/mL至1.2 mg/mL、較佳1 mg/mL之IL-10遞送構築體的目標濃度。與再摺疊溶液之後續接觸可進行12小時至18小時。與再摺疊溶液之接觸可進行至少16小時。再摺疊溶液在接觸期間的溫度可為2℃至8℃，或約4℃。再摺疊溶液可在接觸之前預冷卻至2℃至8℃或約4℃的溫度。接觸可產生再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0275】方法可包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。第一無菌過濾可包含經由孔徑為0.1 μm至0.3 μm、較佳0.2 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。再摺疊之IL-10遞送構築體之第一無菌過濾可在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之前進行。

【0276】在一些實施例中，IL-10遞送構築體二聚體可儲存於例如25℃下之緩衝液中兩天。此類緩衝液可包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl。相比於僅包含pH 7.0之10 mM磷酸鈉的緩衝液，當儲存於包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl之緩衝液中時，IL-10遞送構築體二聚體可更穩定。

【0277】方法可包含在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間進行切向流過濾步驟。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含**圖2A**中之步驟**208**之第二切向流過濾(TFF-2)或**圖2B**之步驟**306**之第一切向流過濾(TFF-1)。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間

的切向流過濾步驟可在第一無菌過濾之後進行。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾。超濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含透濾。透濾可在超濾之後進行。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾及透濾(UF/DF)。透濾可包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。第一透濾體積及第二透濾體積可包含冷緩衝液(例如2-8℃，或約4℃)。第三透濾體積及第四透濾體積可包含室溫緩衝液。冷緩衝液及室溫緩衝液可包含Tris及NaCl。Tris之濃度可為20 mM至30 mM，較佳25 mM。NaCl之濃度可為75 mM至125 mM，較佳100 mM。冷緩衝液及室溫緩衝液之pH可為7至8，較佳7.5。在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可保持在室溫下隔夜。在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可保持在2℃至8℃或約4℃下隔夜。在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可包含再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0278】 方法可包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的第二無菌過濾。第二無菌過濾可包含經由孔徑為0.1 μm至0.3 μm之過濾器過濾在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物。過濾器可為膠囊過濾器。再摺疊之IL-10遞送構築體之第二無菌過濾可在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後進行。

【0279】 在一些實施例中，方法中之步驟，自再摺疊直至(且包括)

再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟係在2℃至8℃或3℃至5℃之溫度下進行。在一些實施例中，方法中之步驟，自再摺疊直至(且包括)再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟係在約4℃之溫度下進行。方法可包含對在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物進行陰離子交換(AEX)層析(**圖2A**中之步驟**209**或**圖2B**中之步驟**307**)。進行AEX層析可包含將IL-10遞送構築體二聚體與陰離子交換管柱結合且隨後自陰離子交換管柱溶離IL-10遞送構築體二聚體。對IL-10遞送構築體之池進行AEX層析可由此產生IL-10遞送構築體之第一複數個溶離份。AEX層析可為Capto™ Q ImpRes。

【0280】第一複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比係使用例如尺寸排阻層析(SEC)，諸如尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)來測定。呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比可相比於第一臨限值。第一臨限值可為70%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%。較佳地，第一臨限值可為75%。含有大於臨限值之百分比之IL-10遞送構築體二聚體的任何溶離份可彙集至第一富集池中。

【0281】方法可包含對第一富集池進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析步驟(**圖2A**中之步驟**210**或**圖2B**中之步驟**308**)。對第一富集池進行CHT層析可由此產生呈二聚體形式之IL-10遞送構築體之第二複數個溶離份。在一些實施例中，第二複數個溶離份中之IL-10遞送構築體的濃度為約15 mg/mL至約25 mg/mL或約20 mg/mL。在一些實施例中，方法不包含陽離子交換層析。在一些實施例中，方法不包含凝膠過濾層析。

【0282】第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10

遞送構築體的百分比係使用例如尺寸排阻層析(SEC)，諸如尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)來測定。呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比可相比於第二臨限值。第二臨限值可為至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。較佳地，第二臨限值可為80%。含有大於臨限值之百分比之IL-10遞送構築體二聚體的任何溶離份可彙集至第二富集池中。第二富集池中之IL-10遞送構築體的百分比可大於第一富集池中之IL-10遞送構築體的百分比。第二富集池可包含大於80%、大於85%或大於90%呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。

【0283】 方法可包含第二富集池之第一無菌過濾。第二富集池之第一無菌過濾可包含經由過濾器，諸如孔徑為0.1 μm至0.3 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。

【0284】 方法可包含在陶瓷羥磷灰石層析步驟之後進行切向流過濾步驟。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含**圖2A**中之步驟**211**之第三切向流過濾(TFF-3)或**圖2B**之步驟**309**之第二切向流過濾(TFF-2)。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含超濾。超濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含透濾。透濾可在超濾之後進行。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含超濾及透濾(UF/DF)。透濾可包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積。第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積可包含緩衝液。緩衝液可為凍乾緩衝液。緩衝液可包含鹽、增積劑及滲透劑。緩衝液可包含8 mM至12 mM、較佳10 mM鹽。緩衝液可包含1%至3%、較佳2%增積劑。緩衝液可包含

0.5%至1.5%、較佳1%滲透劑。鹽可為磷酸鉀。增積劑可為甘胺酸。滲透劑可為蔗糖。方法可包含第二無菌過濾。第二無菌過濾可在透濾之後進行。方法可包含將界面活性劑添加至緩衝液。界面活性劑可在第二無菌過濾之後添加。在將界面活性劑添加至緩衝液之後，緩衝液可包含0.2%至0.4%、較佳0.3%界面活性劑。界面活性劑可為泊洛沙姆。泊洛沙姆可為泊洛沙姆188。在一些實施例中，緩衝液與再摺疊之IL-10遞送構築體之混合物可為本文中前述之液體組合物。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可在第二富集池之第一無菌過濾之後進行。方法可包含進行第二富集池之第二無菌過濾。第二無菌過濾可包含經由過濾器，諸如孔徑為0.1 μm至0.3 μm，較佳0.2 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。第二無菌過濾可在陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟之後進行。第三切向流過濾之後獲得的滲餘物可在-70℃至-90℃、較佳-80℃下冷凍。在陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可為本文所述之液體組合物。在第三切向流過濾之後獲得的滲餘物可包含大於80%、大於85%或大於90%呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。

【0285】 在一些情況下，方法可包含進行陽離子交換層析，例如用Sulfate 650F管柱。陽離子交換層析步驟可在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之後、在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之前、或在陰離子交換層析步驟與陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之間進行。如實例39及表61中所示，進行陽離子交換層析步驟，接著進行陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟使得回收20%純度為96%的IL-10遞送構築體二聚體。

口服配方

【0286】包含高含量之二聚體形式之IL-10 (單獨或作為IL-10遞送構築體之一部分)的本文中之溶液可經進一步處理以用於經口投與。

【0287】首先，此類溶液可藉由不涉及濃縮溶液中之IL-10遞送構築體的方法乾燥，此類方法之實例包括凍乾(冷凍乾燥(FD))或噴霧乾燥(SD)，以產生IL-10/IL-10遞送構築體組合物之乾燥或固體形式。冷凍乾燥可使用Virtis Advantage歧管凍乾器，用Intellitronics軟體進行。含有冷凍治療蛋白配方之玻璃瓶可用氯丁橡膠凍乾塞子部分地塞住，且接著置放於與凍乾歧管連接之罐中及真空(例如1-100毫托或更小)中持續約12-48小時。凍乾組合物可用於生產膠囊或錠劑配方。在一些實施例中，凍乾組合物中大於80%、大於85%或大於90%之IL-10呈二聚體形式。

【0288】包含IL-10之配方可在本文所述之配方中遞送至小腸或結腸。該配方可經口或經直腸遞送。在一些實施例中，此類配方可促進構築體穿過腸上皮細胞障壁(例如經由胞吞轉運)，否則其可阻止達成IL-10之完全治療潛力。此外，IL-10經由經口途徑直接靶向遞送至胃腸組織可繞過在全身性投與之情況下經歷之副作用，且可轉變為更高黏膜濃度以及發炎及疾病之臨床上有意義的減輕。

【0289】***用於胃腸道中之靶向釋放的包覆口服配方***

【0290】本文涵蓋包含治療負載物及一或多種賦形劑之口服配方，其提供允許將任何負載物選擇性遞送至個體之胃腸(GI)道內之某一區域的改良釋放曲線。較佳地，口服配方經設計以在末端迴腸、近端結腸或遠端結腸中位點特異性地釋放治療負載物。**實例13**描述經設計以在胃腸道中位點特異性釋放之包覆口服配方。

【0291】本文涵蓋之負載物可為任何性質，包括治療、診斷及成

像。負載物可為遞送構築體之一部分。遞送構築體可包括與異源負載物偶聯之載體。負載物可直接或間接、共價或非共價偶聯於載體。當共價連接時，負載物可直接或經由間隔子連接至載體。儘管在一個實施例中，負載物為治療蛋白，諸如IL-10或IL-10遞送構築體(諸如本文所述之IL-10遞送構築體)，但本文中之揭示內容不限於任何治療蛋白、載體或負載物。

【0292】 向下胃腸道遞送負載物，諸如治療蛋白之口服配方可包含具有包衣之膠囊或錠劑，該包衣經設計以在小腸或結腸中發現之pH下溶解，小腸或結腸具有在約5.5至約8.0範圍內的pH。在一些實施例中，包衣經設計不溶解於胃之高度酸性pH中，該pH可在約1.5至約3.5之pH範圍內變化。

【0293】 本文中之口服配方可經設計以穿過胃而不在明顯程度上釋放負載物。可在包含負載物之膠囊或錠劑上之至少一個包衣完全或部分溶解之後出現負載物之釋放。可在膠囊或錠劑損壞，包括使得膠囊或錠劑可看起來完整之微觀損壞之後出現負載物之釋放。在一些實施例中，口服配方經設計以在胃中釋放小於約5%、小於約4%、小於約3%、小於約2%、小於約1%或0%之負載物。在一些實施例中，口服配方經設計以在小腸或結腸內之特定區域，諸如末端迴腸、近端結腸及遠端結腸中釋放負載物。末端迴腸或小腸遠端與結腸相交，且此位置處之發炎可通常與諸如克羅恩氏病之GI病症有關。在末端迴腸中位點特異性釋放具有消炎特性之治療負載物可因此為治療此類病症之期望方式。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.5至約7.0之溶液2至8小時後釋放約20%至100%之治療負載物。溶液可為處於適當pH下之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。溶液可為消化液。消

化液可為胃酸、腸液(intestinal juice/*succus entericus*)或其組合。消化液可包含消化酶。消化液可見於胃、小腸、結腸或其組合中。

【0294】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH值為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2至8小時後釋放80%至100%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放75%至100%、75%至85%或85%至95%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放至少80%、85%、90%或95%之治療負載物。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0295】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2至8小時後釋放80%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放75%至100%、75%至85%或85%至95%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放至少80%、85%、90%或95%之IL-10。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0296】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液約2至8小時後釋放50%至100%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放50%至95%、60%至70%或75%至90%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放至少60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%之治療負載物。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0297】 在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液約2至8小時後釋放50%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放50%至95%、60%至70%或75%至90%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放至少60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%之IL-10。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0298】 在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液約2至8小時後釋放20%至100%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放20%至80%或20%至30%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放至少20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%之治療負載物。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0299】 在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液約2至8小時後釋放20%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放20%至80%或20%至30%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放至少20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%之IL-10。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0300】 口服配方可為固體。口服配方可包含凍乾組合物或噴霧乾燥組合物。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可包含治療蛋白及一或多種賦形

劑。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可為粉末。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可包含微米顆粒。微米顆粒之直徑可為約1 μm至約500 μm、約5 μm至約250 μm、約5 μm至約100 μm、約5 μm至約50 μm或約5 μm至約15 μm。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可包含顆粒。固體口服配方可為膠囊。膠囊可囊封凍乾組合物。固體口服配方可為錠劑。口服配方可呈單位劑型。

【0301】 口服配方可包含約1 mg至約5 mg、約1 mg至約10 mg、約1 mg至約20 mg、約20 mg至約50 mg、約20 mg至約100 mg或約50 mg至約100 mg治療蛋白。口服配方可包含約1 mg、5 mg或20 mg治療蛋白。在一些實施例中，約32%至約42% (w/w)之凍乾組合物為治療蛋白。

【0302】 一或多種賦形劑可包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：界面活性劑、滲透劑、增積劑、鹽或其組合。一或多種賦形劑可包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：磷酸鉀、甘胺酸、蔗糖及泊洛沙姆188。一或多種賦形劑可進一步包含壓實賦形劑。

【0303】 在一些實施例中，一或多種賦形劑可為滲透劑。滲透劑可用於包含蛋白質之醫藥配方以改良蛋白質之穩定性及減少蛋白質聚集。滲透劑可為胺基酸(例如脯胺酸或甘胺酸)、甲胺(例如甜菜鹼或三甲胺-N-氧化物)或多元醇或糖(例如山梨糖醇或蔗糖)。滲透劑可為蔗糖、海藻糖、甘胺酸、甘露糖醇、組胺酸、右旋糖/聚葡萄糖、精胺酸、麥芽糖、山梨糖醇、牛膽素、甘胺酸甜菜鹼、肌胺酸、棉子糖、甘油、脯胺酸、果聚糖、L-麩胺酸、乳糖或其組合。滲透劑可為蔗糖。口服配方可包含重量比為約0.3:1至約0.7:1、約0.4:1至約0.6:1、約0.45:1至約0.55:1、約0.49:1至約0.51:1或更佳約0.5:1之滲透劑與治療蛋白。在一些實施例中，約15%

至約21% (w/w)之凍乾組合物為滲透劑。

【0304】 在一些實施例中，一或多種賦形劑可包括界面活性劑。界面活性劑可用於包含蛋白質之固體口服配方，諸如膠囊或錠劑，以增強固體口服配方之崩解及增加蛋白質之溶解度。界面活性劑可為聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20、泊洛沙姆188或其組合。口服配方可包含重量比為約0.1:1至約0.19:1、約0.12:1至約0.18:1、約0.14:1至約0.16:1或更佳約0.15:1之界面活性劑與治療蛋白。在一些實施例中，約4.5%至約6.5% (w/w)之凍乾組合物為界面活性劑。界面活性劑可為非離子共聚物。非離子共聚物可包含側接有兩條聚氧乙烯鏈之中心聚氧丙烯。非離子共聚物可為泊洛沙姆。相對於使用其他界面活性劑，諸如聚山梨醇酯，使用泊洛沙姆作為本文中所描述之組合物中之賦形劑可促進或維持IL-10或IL-10遞送構築體之二聚化。

【0305】 泊洛沙姆可包含分子量為1600 g/mol至2000 g/mol之聚氧丙烯。泊洛沙姆可包含70%至90%聚氧乙烯。泊洛沙姆可為泊洛沙姆188。在一些實施例中，界面活性劑不為聚山梨醇酯，諸如聚山梨醇酯80 (例如Tween 80)或聚山梨醇酯20 (例如Tween 20)。相對於包含聚山梨醇酯作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物，包含泊洛沙姆作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物可具有更大量的呈二聚體形式之IL-10。相對於包含聚山梨醇酯作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物，包含泊洛沙姆作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物可具有減少量的呈聚集體或單體形式形式之IL-10。

【0306】 一或多種賦形劑可包括鹽。鹽可為磷酸鉀、氯化鈉、氯化鉀、氯化鎂、硫酸鈉或其組合。鹽可為磷酸鉀。口服配方可具有重量比為

約0.03:1至約0.1:1、約0.05:1至約0.09:1、約0.06:1至約0.08:1或更佳約0.07:1之鹽與治療蛋白。在一些實施例中，約2%至約3% (w/w)之凍乾組合物為鹽。

【0307】 一或多種賦形劑可包括氫氧化鈉。口服配方可具有重量比為約0.03:1至約0.1:1、約0.05:1至約0.09:1、約0.06:1至約0.08:1或更佳約0.07:1之氫氧化鈉與治療蛋白。在一些實施例中，約2%至約3% (w/w)之凍乾組合物為氫氧化鈉。

【0308】 在一些實施例中，一或多種賦形劑可包括增積劑。增積劑可用於增加口服配方之尺寸以易於製造。增積劑可為澱粉、乳糖、糊精、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、棉子糖、海藻糖、甘胺酸、甘露糖醇或其組合。增積劑可為甘胺酸。口服配方可包含重量比為約0.7:1至約1.3:1、約0.8:1至約1.2:1、約0.9:1至約1.1:1或更佳約1:1之增積劑與治療蛋白。在一些實施例中，約32%至約42% (w/w)之凍乾組合物為增積劑。在一些實施例中，緩衝劑為滲透劑。

【0309】 凍乾組合物可儲存於約2℃至約8℃下。凍乾組合物可儲存於約-15℃至約-25℃下。凍乾組合物可在約2℃至約8℃與環境相對濕度下穩定至少12個月。在一些實施例中，當治療蛋白呈二聚體形式時，若在約2℃至約8℃下儲存一年之後，治療蛋白二聚體之量的減少為不超過1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%或25%，則凍乾組合物為穩定的。在一些實施例中，當治療蛋白呈二聚體形式時，若在約-15℃至約-25℃下儲存一年之後，治療蛋白二聚體之量的減少為不超過1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%或25%，則凍乾組合物為穩定的。在一些實施例中，將凍乾組合物壓實為錠劑或填充於膠囊中以產生本文所述之口服配方。

【0310】在某些實施例中，本文進一步描述包含治療蛋白及一或多種賦形劑之液體組合物，其可經凍乾以產生本文所述之凍乾組合物。治療蛋白可為如本文所述之IL-10遞送構築體。液體組合物可包含凍乾緩衝液及IL-10遞送構築體。液體組合物可包含15 mg/mL至25 mg/mL、較佳約20 mg/mL之IL-10遞送構築體。液體組合物可包含1.51 mg/mL至1.91 mg/mL、較佳約1.71 mg/mL之磷酸鉀。液體組合物可包含15 mg/mL至25 mg/mL、較佳約20 mg/mL之甘胺酸。液體組合物可包含8 mg/mL至12 mg/mL、較佳約10 mg/mL之蔗糖。液體組合物可包含2.5 mg/mL至3.5 mg/mL、較佳約3 mg/mL之泊洛沙姆188。液體組合物之pH可為約5.0至約pH 8.0，約6.0至約7.5，或約6.5至約7.5。該之pH可為約7.4至約7.6。

【0311】液體組合物可在約-80℃至約-60℃與環境相對濕度下穩定至少12個月。在一些實施例中，在4℃下7天之後，液體組合物中呈二聚體形式之治療蛋白之百分比的減少為不超過2%。液體組合物可經冷凍以產生冷凍之治療蛋白組合物。液體組合物可在約-85℃至約-15℃之溫度下冷凍。在一些實施例中，冷凍之治療蛋白組合物在凍乾之前解凍。

【0312】在一些實施例中，凍乾組合物囊封於膠囊中。膠囊可為000、00、0、1、2、3、4或5號膠囊。膠囊可為兩段式膠囊。膠囊可為羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊，亦稱為羥丙甲纖維素膠囊。

【0313】或者，可在壓縮力下壓縮凍乾組合物以產生錠劑。壓縮力可在1500磅-力(lbf)至4000 lbf或2000 lbf至3500 lbf範圍內。壓縮力可為1500 lbf、2000 lbf、2500 lbf、3000 lbf、3500 lbf或4000 lbf。錠劑之重量可為150 mg至1000 mg、150 mg至500 mg、200 mg至400 mg、150 mg至250 mg、175 mg至225 mg或190 mg至210 mg。錠劑之直徑可為0.2"至

0.4"、0.25"至0.35"或0.3"至0.25"。錠劑可包含1 mg至5 mg、1 mg至10 mg、1 mg至20 mg、20 mg至50 mg、20 mg至100 mg或50 mg至100 mg之IL-10遞送構築體。錠劑可包含約1 mg、約5 mg、約10 mg、約20 mg或約30 mg之IL-10遞送構築體。錠劑可包含4.5 mg至5.5 mg、9.5 mg至10.5 mg、19 mg至21 mg或29 mg至31 mg之IL-10或IL-10遞送構築體。錠劑可包含3 mg至9 mg、4 mg至8 mg或5 mg至7 mg濃度之IL-10或IL-10遞送構築體。錠劑可為圓形、長方形、卵形、圓形或任何其他適合之形狀。

【0314】 當口服配方為錠劑時，一或多種賦形劑可包括壓實賦形劑。一或多種賦形劑可包含1、2、3、4或大於4種壓實賦形劑。壓實賦形劑可為崩解劑、結合劑、潤滑劑或其組合。口服配方可包含重量比為約0.8:3至約1.2:3、約0.9:3至約1.1:3、約0.95:3至約1.05:3或更佳約1:3之前述凍乾組合物與壓實賦形劑。IL-10遞送構築體可包含約5%至約15% (w/w)之錠劑。在一些實施例中，壓實賦形劑並非液體組合物之一部分。在一些實施例中，凍乾組合物不包括壓實賦形劑。

【0315】 壓實賦形劑可包含崩解劑。崩解劑可促進口服配方之分散或分解。崩解劑可包含微晶纖維素(MCC)、矽化微晶纖維素(SMCC)、澱粉、乙醇酸澱粉鈉、維格姆、膨潤土、海藻酸、海藻酸鈣、交聯羧甲纖維素鈉 (croscarmellose sodium/crosslinked sodium carboxymethyl cellulose)、交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)或其組合。

【0316】 壓實賦形劑可包含結合劑。結合劑可將口服配方之組分保持在一起。結合劑可包含二醣、多醣、蛋白質或聚合物。二醣可為蔗糖或乳糖。乳糖可為單水合乳糖。多醣可為澱粉、纖維素或其衍生物。蛋白質

可為明膠。聚合物可為聚乙烯吡咯啶酮(PVP)或聚乙二醇(PEG)。

【0317】 壓實賦形劑可為潤滑劑。潤滑劑可減小口服配方中之粒子間摩擦及內聚力。潤滑劑可包含硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、二山嵛酸甘油酯、硬脂醯反丁烯二酸鈉、硬脂酸、滑石、二氧化矽、硬脂酸鈣、碳酸鎂、氫化油、礦物油、聚乙二醇(PEG)、單硬脂酸甘油酯或其組合。潤滑劑可為非離子界面活性劑。非離子界面活性劑可為山嵛酸甘油酯。山嵛酸甘油酯為二山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，潤滑劑不為離子界面活性劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂醯反丁烯二酸鈉及月桂酸硫酸鈉。在一些實施例中，相對於離子界面活性劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂醯反丁烯二酸鈉或月桂酸硫酸鈉用於生產錠劑之情況，在錠劑生產中使用非離子界面活性劑，諸如山嵛酸甘油酯或二山嵛酸甘油酯使得錠劑之溶解曲線改良。換言之，使用非離子界面活性劑，諸如山嵛酸甘油酯或二山嵛酸甘油酯可產生如下配方：其中相對於使用離子界面活性劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂醯反丁烯二酸鈉或月桂酸硫酸鈉之對應配方，更高濃度之IL-10遞送構築體持續更長時段保持於二聚體形式。

【0318】 在一些實施例中，一或多種壓實賦形劑在壓實為錠劑或填充膠囊之前與前述凍乾組合物組合。在一些實施例中，壓實組合物可包含約6%至約10% (w/w)之凍乾組合物及約90%至約94% (w/w)之一或多種壓實賦形劑。在一些實施例中，壓實組合物可包含約5%至約15% (w/w)之凍乾組合物及約85%至約95% (w/w)之一或多種壓實賦形劑。一或多種接觸賦形劑可包含至少兩種崩解劑。

【0319】 在一些實施例中，在製造口服配方之過程期間形成顆粒。舉例而言，在一些情況下，使用粒化方法生產錠劑存在兩個相：顆粒內

(IG)相及顆粒外(EG)相。在顆粒內相中，凍乾組合物及第一子組之一或多種壓實賦形劑可與黏合劑摻合及粒化以產生摻合組合物，其可接著壓縮(例如藉由輥壓)及研磨為顆粒。在顆粒外相中，乾顆粒可接著與第二子組之一或多種壓實賦形劑摻合且壓縮為口服配方，諸如錠劑。

【0320】 顆粒內相中產生之顆粒可包含重量比為約7:1至約11:1、約8:1至約10:1或約8.5:1至約9.5:1之第一子組之一或多種壓實賦形劑與包含IL-10遞送構築體之凍乾粉末。在一些實施例中，第一子組之一或多種壓實賦形劑可包含至少兩種崩解劑。在一些實施例中，第一子組之一或多種壓實賦形劑可包含重量比為約21:1至約24:1、約22:1至約23.5:1或約22.3:1至約23:1之第一崩解劑與第二崩解劑。第一崩解劑可為矽化微晶纖維素(SMCC)或磷酸二鈣/微晶纖維素(DCP/MCC)。第二崩解劑可包含交聯聚維酮或交聯羧甲纖維素鈉。在一些實施例中，第一子組之一或多種壓實賦形劑包含潤滑劑。第一子組之一或多種賦形劑中之至少兩種崩解劑與潤滑劑之重量比可為約61:1至約81:1、約66:1至約76:1或約71:1至約73:1。潤滑劑可包含二山嵛酸甘油酯。潤滑劑可包含山嵛酸甘油酯。

【0321】 顆粒外相可包含重量比為約2:1至約6:1、約3:1至約5:1或約3.5:1至約4.5:1之顆粒內相中產生之顆粒與第二子組之一或多種壓實賦形劑。在一些實施例中，第二子組之一或多種壓實賦形劑可包含至少兩種崩解劑。在一些實施例中，第二子組之一或多種壓實賦形劑可包含重量比為約13.5:1至約24:1、約16:1至約21.5:1或約17.5:1至約19:1之第一崩解劑與第二崩解劑。第一崩解劑可為SMCC或DCP/MCC。第二崩解劑可包含交聯聚維酮或交聯羧甲纖維素鈉。在一些實施例中，第二子組之一或多種壓實賦形劑包含潤滑劑。第二子組之一或多種賦形劑中之至少兩種崩解劑

與潤滑劑之重量比可為約69:1至約89:1、約74:1至約84:1或約77:1至約81:1。潤滑劑可包含山嵛酸甘油酯。山嵛酸甘油酯可包含二山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，壓實賦形劑可包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：SMCC、交聯聚維酮及山嵛酸甘油酯。

【0322】在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約9:1至約14:1、約10:1至約13:1或約11:1至約12:1之一或多種壓實賦形劑與凍乾組合物。在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約8.8:1至約12.8:1、約9.8:1至約11.8:1或約10.4:1至約11.2:1之一或多種壓實賦形劑之第一崩解劑與凍乾組合物。在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約1.5:1至約2.5:1、約1.75:1至約2.25:1或約1.9:1至約2.1:1之凍乾組合物與一或多種壓實賦形劑之第二崩解劑。

【0323】在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約5:1至約8.1:1、約5.5:1至約8.1:1或約6.2:1至約6.6:1之凍乾組合物與一或多種壓實賦形劑之潤滑劑。

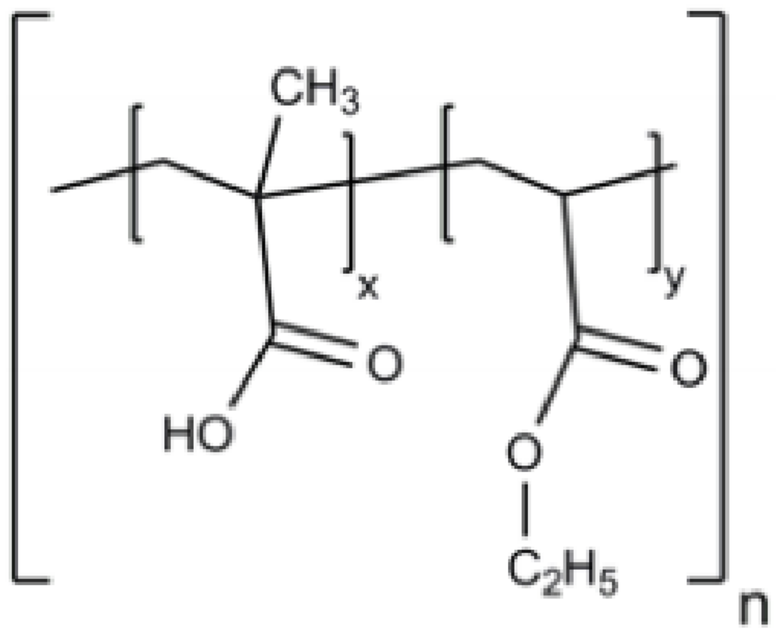
【0324】口服配方可包含第一包衣，其包含第一共聚物、第二共聚物或第一共聚物及第二共聚物之混合物。口服配方可包含乙酸丁二酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS或HPMC-AS)之第一包衣。第一包衣可具有基本上等同於1號膠囊上之20 mg至200 mg、20 mg至40 mg、50 mg至70 mg、115 mg至135 mg或175 mg至185 mg第一包衣的厚度。第一包衣可具有基本上等同於1號膠囊上之55 mg至65 mg第一包衣的厚度。第一包衣可具有基本上等同於0號膠囊上之20 mg至200 mg、20 mg至40 mg、50 mg至80 mg、115 mg至135 mg或175 mg至185 mg第一包衣的厚度。第一包衣可具有基本上等同於0號膠囊上之70 mg至80 mg第一包衣的厚度。第

一包衣之質量可為20 mg至200 mg、20 mg至40 mg、50 mg至80 mg、115 mg至135 mg或175 mg至185 mg。

【0325】 1號膠囊之表面積可為大致410 mm^2。0號膠囊之表面積可為大致500 mm^2。0.15 mg/mm^2之包衣厚度可等同於1號膠囊上之60 mg包衣重量或0號膠囊上之75 mg包衣重量。在一些實施例中，膠囊之包衣厚度為0.1 mg/mm^2至0.2 mg/mm^2，較佳為0.15 mg/mm^2。在一些實施例中，膠囊上之包衣厚度可為4 mg/cm^2至20 mg/cm^2、4 mg/cm^2至6 mg/cm^2、5 mg/cm^2至10 mg/cm^2或5 mg/cm^2至20 mg/cm^2。包衣厚度可為第一包衣之厚度。

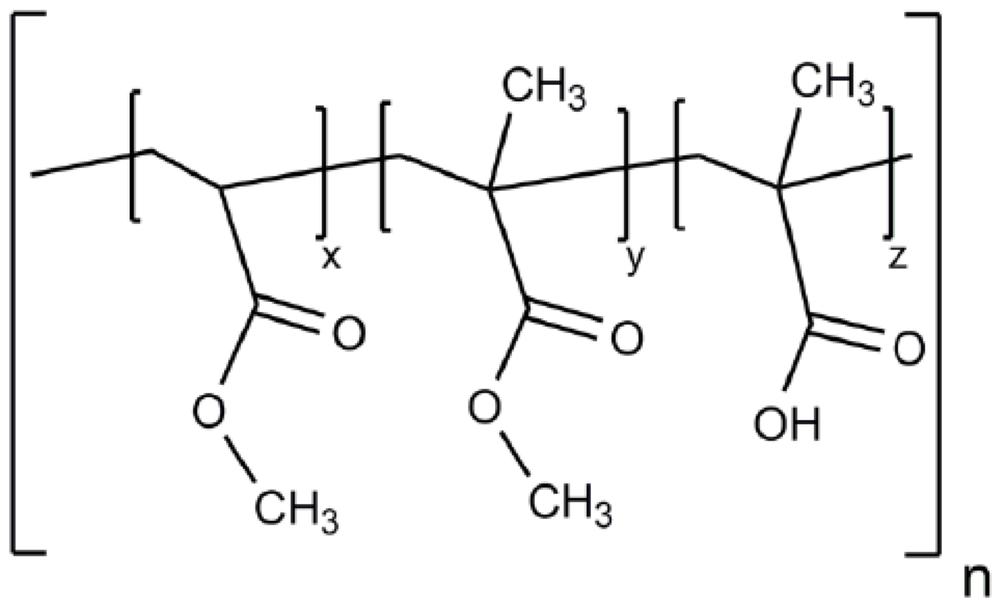
【0326】 在一些實施例中，錠劑之包衣厚度為0.1 mg/mm^2至0.2 mg/mm^2、0.1 mg/mm^2至0.5 mg/mm^2或0.1 mg/mm^2至1.0 mg mm^2，較佳0.15 mg/mm^2。在一些實施例中，錠劑上之包衣厚度可為4 mg/cm^2至20 mg/cm^2、4 mg/cm^2至6 mg/cm^2、5 mg/cm^2至10 mg/cm^2或5 mg/cm^2至20 mg/cm^2。包衣厚度可為第一包衣之厚度。

【0327】 第一共聚物可具有pH>5.5之個別標稱溶解。標稱溶解pH指示共聚物變得可溶之pH。第一共聚物可包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。第一聚合物之重量平均分子量可為200,000 g/mol至450,000 g/mol，或250,000 g/mol至400,000 g/mol，或280,000 g/mol至370,000 g/mol，或300,000 g/mol至340,000 g/mol。第一聚合物可包含比率為0.8:1及1.2:1的第一共聚物中之游離羧基:酯基。第一共聚物可包含式I之聚合物，其中x、y及n各為大於或等於1。第一共聚物可包含Eudragit® L 30 D-55。



式I

【0328】第二共聚物可在pH>7.0處具有標稱溶解。第二共聚物可包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。第二聚合物之重量平均分子量可為160,000 g/mol至400,000 g/mol，或200,000 g/mol至360,000 g/mol，或240,000 g/mol至320,000 g/mol，或260,000 g/mol至300,000 g/mol。第二聚合物可包含比率為0.8 :1及1.2:1之第二共聚物中之游離羧基:酯基。第二聚合物可包含式II之聚合物，其中x、y、z及n各為大於或等於1。第二共聚物可包含Eudragit® FS 30 D。



式II

【0329】第二共聚物可不同於第一共聚物。第一共聚物及第二共聚物之混合物之標稱溶解pH可不同於第一共聚物或第二共聚物之個別標稱溶解pH。舉例而言，第一共聚物及第二共聚物之混合物的標稱溶解pH可為第一共聚物與第二共聚物之標稱溶解之間的標稱溶解。第一包衣可包含

相對於第一共聚物之量等量的第二共聚物。第一包衣可包含相對於第一共聚物之量更大量的第二共聚物。第一共聚物與第二共聚物之重量比可為大約或介於50:50、45:55、40:60、35:65、30:70、25:75、20:80、15:85、10:90、5:95或0:100。Eudragit® L30D55: Eudragit® FS30D之重量比可為約50:50、45:55、40:60、35:65、30:70、25:75、20:80、15:85、10:90、5:95或0:100。

【0330】第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比可為0:100至100:0。第一包衣中之第一共聚物與共聚物共聚物之重量比可為45:55至55:45、25:75至35:65、15:85至25:75或15:85至0:100。

【0331】在一些實施例中，45:55至55:45之第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比與1號膠囊上40 mg至70 mg之等效包衣厚度使得治療負載物在末端迴腸中釋放。在一些實施例中，50:50之第一共聚物與第二共聚物之重量比與約0.15 mg/mm^2之包衣厚度使得治療負載物在末端迴腸中釋放。

【0332】在一些實施例中，15:85至25:75之第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比與1號膠囊上約118 mg至138 mg之等效包衣厚度使得治療負載物在遠端結腸中釋放。

【0333】在一些實施例中，15:85至25:75之第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比與1號膠囊上40 mg至70 mg之等效包衣厚度使得治療負載物在近端結腸中釋放。在一些實施例中，20:80之第一共聚物與第二共聚物之重量比與約0.15 mg/mm^2之包衣厚度使得治療負載物在近端結腸中釋放。

【0334】第一包衣可進一步包含防黏劑、塑化劑、界面活性劑或其

組合。防黏劑可為單硬脂酸甘油酯。塑化劑可為檸檬酸三乙酯。界面活性劑可為聚山梨醇酯80。

【0335】 在一些實施例中，5%至15% (w/w)之第一包衣為防黏劑、塑化劑及界面活性劑之混合物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為第一共聚物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為第二共聚物。在一些實施例中，第一共聚物及第二共聚物與防黏劑、塑化劑及界面活性劑之混合物之重量比為8:1至10:1、8.5:1至9.5:1或8.8:1至9.2:1。

【0336】 在一些實施例中，5%至15% (w/w)之第一包衣為單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯之第一共聚物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯之第二共聚物。

【0337】 如先前所述，口服配方可包含乙酸丁二酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS或HPMC-AS)之第一包衣。HPMCAS之第一包衣可包含第一HPMCAS及第二HPMCAS之混合物。第一HPMCAS可在大於或等於6.8之pH下變得可溶。第二HPMCAS可在大於或等於6.0之pH下變得可溶。第一HPMCAS可包含HPMCAS-HF。第二HPMCAS可包含HPMCAS-MF。第一HPMCAS與第二HPMCAS之比可為約40:60至約60:40或約45:55至約55:45。

【0338】 在一些實施例中，口服配方可為如由**圖31A**表示之口服配方。口服配方**3200**可包含膠囊或錠劑，其中膠囊或錠劑含有包含治療蛋白及一或多種賦形劑之內部區**3201**。口服配方**3200**可包含第一包衣

3203。第一包衣**3203**可包含第一共聚物及第二共聚物之混合物。第一包衣**3203**可進一步包含防黏劑、塑化劑及界面活性劑。口服配方**3200**可進一步包含第二包衣**3202**。第二包衣**3202**可包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。第二包衣可密封膠囊之接縫。在一些實施例中，膠囊為羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊。口服配方**3200**可包含第三包衣**3204**。第三包衣**3204**可包含HPMC。在一些實施例中，第一包衣**3203**、第二包衣**3202**、第三包衣或其組合係藉由噴塗而塗覆至膠囊或錠劑。在一些實施例中，HPMC濃度為6.5%至8.5% (w/w)之HPMC溶液係噴霧包覆至膠囊或錠劑上，以塗覆第二包衣**3202**、第三包衣或第二包衣**3202**及第三包衣兩者。在一些實施例中，第二包衣**3202**在0號膠囊上包含9 mg至13 mg、10 mg至12 mg或10.5 mg至11.5 mg之HPMC。等同包衣重量之第二包衣**3202**可塗覆至其他膠囊型號。在一些實施例中，第三包衣**3204**在0號膠囊上包含9 mg至13 mg、10 mg至12 mg或10.5 mg至11.5 mg之HPMC。等同包衣重量之第三包衣**3204**可塗覆至其他膠囊型號。

【0339】 在一些實施例中，口服配方可為如由**圖31B**表示之口服配方。口服配方**3205**可包含膠囊或錠劑，其中膠囊或錠劑含有包含治療蛋白及一或多種賦形劑之內部區3201。口服配方**3200**可包含第一包衣**3203**。第一包衣**3203**可包含第一共聚物及第二共聚物之混合物。第一包衣**3203**可進一步包含防黏劑、塑化劑及界面活性劑。在一些實施例中，口服配方**3205**不包含第二包衣或第三包衣。

【0340】 口服配方之存放期可為至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。可如本文所述地藉由持續指定時段儲存錠劑、自錠劑移除包衣、溶解錠劑之內核及評估二聚體百分比來評估存放

期。

【0341】口服配方可經設計以在37℃下暴露於pH為約6.5至約7.0之溶液2至8小時後釋放約20%至100%之IL-10。溶液可為處於適當pH下之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。溶液可為消化液。消化液可為胃酸、腸液(intestinal juice/*succus entericus*)或其組合。消化液可包含消化酶。消化液可見於胃、小腸、結腸或其組合中。IL-10可呈IL-10遞送構築體形式。

【0342】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2至8小時後釋放80%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放75%至100%、75%至85%或85%至95%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放至少80%、85%、90%或95%之IL-10。

【0343】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液約2至8小時後釋放50%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放50%至95%、60%至70%或75%至90%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放至少60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%之IL-10。

【0344】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液約2至8小時後釋放20%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放20%至80%或20%至30%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放至少20%、

25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%之IL-10。

【0345】 在一些實施例中，口服配方可經設計以使得在暴露於pH為約6.5至7.0之溶液2小時後釋放之IL-10的20%至30%呈二聚體形式。在一些實施例中，口服配方可經設計以使得在暴露於pH為約6.5至7.0之溶液2小時後釋放之IL-10的至少15%、20%、25%或30%呈二聚體形式。在一些實施例中，口服配方可經設計以使得在暴露於pH為約6.5至7.0之溶液2小時後釋放之IL-10的不超過50%、60%、70%、80%或90%呈二聚體形式。在一些實施例中，在將口服配方浸沒至pH為7.0之溶液中之後，呈二聚體形式之IL-10的百分比為至少35%、40%、45%或50%。

【0346】 包含IL-10遞送構築體之口服配方可經調配以在與模擬腸液(SIF)/胰酶一起培育五分鐘之後具有至少15%保持二聚體形式之IL-10遞送構築體。胰酶分析包含在37℃下於PBS (100 μL)中將包含治療蛋白之口服配方與胰酶(10 μg)一起培育。

【0347】 口服配方可包含0.3 mg至10 mg、0.3 mg至5 mg、0.3 mg至3 mg、1 mg至3 mg、1 mg至5 mg、1 mg至10 mg、1 mg至20 mg、20 mg至50 mg、20 mg至100 mg或50 mg至100 mg之IL-10遞送構築體。口服配方可包含0.3 mg、1 mg、2 mg、3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg、10 mg或20 mg之IL-10遞送構築體。

【0348】 包含IL-10遞送構築體之口服配方可具有至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月之存放期。包含IL-10遞送構築體之口服配方可在指定溫度(例如2-8℃或室溫)下持續指定時段(例如至少1個月、3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月)保持穩定。舉例而言，包含IL-10遞送構築體之口服配方可具有足夠穩

定性以使得當持續指定時段(例如至少1個月、3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月)儲存於指定溫度(例如2-8℃或室溫)下時，二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比減小不超過1%、2%、3%、4%或5%。在一些實施例中，口服配方足夠穩定以使得在經過該時段之後，口服配方中IL-10遞送構築體之二聚體的含量保持於大於80%、大於85%或大於90%。

【0349】 在某些實施例中，本文描述包含本文所述之口服配方之單位劑型中之至少一者的套組。單位劑型可存在於封裝、分配器裝置或瓶中。封裝可包含金屬或塑膠箔。封裝之實例可包括但不限於泡殼封裝。瓶可為高密度聚乙烯(HDPE)瓶。瓶可進一步包含感應封口。單位劑型可分開(例如在泡殼封裝之不同單元中)或共同(例如在諸如瓶之單一容器中組合)封裝於套組內。套組可進一步包含使用單位劑型治療引起發炎之病症的說明書。套組可包含與容器相關之注意事項，其呈調控藥品之製造、使用或銷售之政府機構指定形式。政府機構可為美國食品藥物管理局(U.S. Food and Drug Administration)。注意事項可為批准之產品插頁。

治療

【0350】 在某些實施例中，本文描述治療有需要之個體之疾病或病況的方法。個體可為哺乳動物。哺乳動物可為靈長類動物。靈長類動物可為人類。個體可為診斷患有疾病或病況、疑似患有疾病或病況或處於患有疾病或病況之風險下的個體。疾病或病況可為導致個體組織發炎之疾病或病況，亦稱為發炎性病症。引起發炎之疾病或病況可為特徵在於IL-10表現不足之疾病或病況。治療疾病或病況(例如發炎性病症)可包含向罹患、疑似罹患或復發疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之

IL-10或IL-10遞送構築體。

【0351】 如本文所用，術語「治療有效量」可意謂投與之組合物，例如本文所述之配方或口服配方中所含之例如IL-10或IL-10遞送構築體之量為足以達成預期目的，諸如治療疾病或病況，例如引起發炎之疾病或病況的量。在一些實施例中，向個體投與配方包含向個體投與治療有效量之配方。

【0352】 有需要之個體可為至少一種消炎劑難治性或耐受性的個體。消炎劑可為胺基水楊酸鹽。胺基水楊酸鹽可為5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪、柳氮磺胺吡啶或其組合。消炎劑可為皮質類固醇。皮質類固醇可為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。皮質類固醇可為潑尼松。消炎劑可為免疫抑制劑。免疫抑制劑可為硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤或其組合。消炎劑可為TNFα抑制劑。TNFα抑制劑可為阿達木單抗、賽妥珠單抗、依那西普、戈利木單抗、英利昔單抗或其組合。至少一種消炎劑可為Janus激酶(JAK)抑制劑。JAK抑制劑可為非戈替尼、優帕替尼、皮非替尼、托法替尼或其組合。至少一種消炎劑可為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。S1P受體拮抗劑可為奧紮尼莫、阿瑟利莫、伊拉斯莫或其組合。至少一種消炎劑可為整合素阻斷劑。整合素阻斷劑可為艾托珠單抗、那他珠單抗、維多珠單抗、阿布里單抗、卡洛斯特甲基或其組合。至少一種消炎劑可為IL-23抑制劑。IL-23抑制劑可為優西努單抗、密利基單抗、布拉奇單抗、古賽庫單抗、里森基單抗或其組合。至少一種消炎劑可為磷酸二酯酶4(PDE4)抑制劑。至少一種PDE4抑制劑可為阿普司特、西洛司特、羅氟司特、替托司特、咯利普蘭或其組合。至少一種消炎劑可為拉喹莫德。

【0353】在一些情況下，有需要之個體可為尚未用消炎劑治療之個體。在一些情況下，有需要之個體可為尚未用5-ASA治療之個體。在一些情況下，有需要之個體可為對5-ASA由部分或顯著反應之個體。在一些情況下，有需要之個體可為用IL-10遞送構築體及5-ASA治療之個體。

【0354】在一些實施例中，包含本文所述之IL-10遞送構築體的口服配方係經口投與至有需要之個體。在一些實施例中，包含本文所述之IL-10遞送構築體的配方係經直腸投與至有需要之個體。可持續至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天向個體投與包含IL-10遞送構築體之配方。可一天一次、一天兩次或一天三次地投與配方。有需要之個體可為人類。有需要之個體可為診斷患有引起發炎之疾病或病況、疑似患有該疾病或病況或處於患有該疾病或病況之風險下的個體。引起發炎之疾病或病況可為特徵在於IL-10表現不足之疾病或病況。引起發炎之疾病或病況可為潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。潰瘍性結腸炎可為輕度至中度潰瘍性結腸炎或中度至重度潰瘍性結腸炎。克羅恩氏病可為瘻管性克羅恩氏病。在一些實施例中，口服配方用於治療引起發炎之病症。口服配方可用於治療引起發炎之病症。方法可包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方之劑量。向個體投與口服配方之劑量可產生免疫調節反應。

【0355】免疫調節反應可包含糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低。糞便鈣衛蛋白為腸道發炎之生物標記。FCP濃度可測定自糞便樣品或結腸活檢體。可藉由免疫分析來測定FCP濃度。免疫分析可

為酶聯免疫分析(ELISA)。在一些實施例中，FCP濃度以毫克鈣衛蛋白/公斤糞便或微克鈣衛蛋白/公克糞便表示。FCP濃度之降低可為相對於FCP基線至少20%、30%、40%或50%之降低。FCP濃度之降低可為相對於FCP基線約50%至約80%之降低。在一些實施例中，FCP濃度降低至50 μg/g或更小。在一些實施例中，FCP濃度降低指示胃腸道發炎減輕。

【0356】 FCP基線可為投藥之前的個體或群體中之初始FCP濃度。初始FCP濃度可指示患有疾病。指示疾病之初始FCP濃度可為大於150 μg/g之FCP濃度。在一些實施例中，大於150 μg/g之FCP濃度指示患有潰瘍性結腸炎(UC)。在一些實施例中，FCP濃度相對於初始FCP濃度降低至少50%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【0357】 FCP基線可為安慰劑調節之FCP基線。安慰劑調節之FCP基線可為相對於投藥之前的初始FCP濃度，在向個體或群體投與安慰劑之後的FCP濃度之百分比變化。在一些實施例中，相對於安慰劑調節之FCP基線，用IL-10遞送構築體治療之個體或群體中之FCP濃度降低至少20%，且IL-10遞送構築體之口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【0358】 在一個說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與安慰劑之後增加至250 μg/g (表示25%增加)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至100 μg/g (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之FCP濃度可稱為：(i)當FCP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始FCP濃度時，FCP濃度降低50%，或(ii)當FCP基線為安慰劑調節之FCP基線時，FCP濃度降低75% (50%+25%)。

【0359】 在另一說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與安慰劑之後降低至150 μg/g (表示25%降低)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至100 μg/g (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之FCP濃度可稱為：(i)當FCP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始FCP濃度時，FCP濃度降低50%，或(ii)當FCP基線為安慰劑調節之FCP基線時，FCP濃度降低25% (50%-25%)。

【0360】 免疫調節反應可包含C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線的降低。C反應蛋白(CRP)為全身性發炎之生物標記。CRP濃度可測定自血液樣品。CRP濃度可為血清CRP濃度。CRP濃度可藉由免疫分析或濁度分析來測定。免疫分析可為酶聯免疫分析(ELISA)。CRP濃度之降低可為相對於CRP基線至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%之降低。CRP濃度之降低可為相對於CRP基線約5%至約60%、約10%至約50%、約30%至約90%或約40%至約80%之降低。在一些實施例中，CRP濃度係降低至小於5 mg/L。在一些實施例中，CRP濃度降低指示全身性或胃腸道發炎減輕。

【0361】 CRP基線可為投藥之前的個體或群體中之初始CRP濃度。初始CRP濃度可指示患有疾病。指示疾病之初始CRP濃度可為大於5 mg/L之CRP濃度。在一些實施例中，大於5 mg/L之CRP濃度指示大腸激躁症(IBD)。在一些實施例中，CRP濃度相對於初始CRP濃度降低至少40%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【0362】 CRP基線可為安慰劑調節之CRP基線。安慰劑調節之CRP

基線可為相對於投藥之前的初始CRP濃度，在向投與安慰劑之個體或群體投與安慰劑之後的CRP濃度之百分比變化。在一些實施例中，相對於安慰劑調節之CRP基線，用IL-10遞送構築體治療之個體或群體中之CRP濃度降低至少10%，且IL-10遞送構築體之口服配方之劑量為約3 mg。在一些實施例中，相對於安慰劑調節之CRP基線，用IL-10遞送構築體治療之個體或群體中之CRP濃度降低至少40%，且IL-10遞送構築體之口服配方之劑量為約1 mg。

【0363】 在一個說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與安慰劑之後增加至10 mg/L (表示25%增加)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至4 mg/L (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之CRP濃度可稱為：(i)當CRP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始CRP濃度時，CRP濃度降低50%，或(ii)當CRP基線為安慰劑調節之CRP基線時，CRP濃度降低75% (50%+25%)。

【0364】 在另一說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與安慰劑之後降低至6 mg/L (表示25%降低)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至4 mg/L (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之CRP濃度可稱為：(i)當CRP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始CRP濃度時，CRP濃度降低50%，或(ii)當CRP基線為安慰劑調節之CRP基線時，CRP濃度降低25% (50%-25%)。

【0365】 免疫調節反應可包含Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。Geboes評分系統為組織學反應之標準量度(Geboes等人 Gut. 2000年9月;47(3):404-9)。如本文所用，Geboes評分可為0-22分組織學評分系統，其中更高評分表示更嚴重疾病。Geboes評分基線可為投藥之前的個體或群體之初始Geboes評分。Geboes評分基線可為安慰劑調節之Geboes評分基線。安慰劑調節之Geboes評分基線可為在向個體或群體投與安慰劑之後的Geboes評分與在投與安慰劑之前的初始Geboes評分的差異。在一些實施例中，Geboes評分相對於安慰劑調節之Geboes評分基線降低至少2個單位，且口服配方之劑量為約1 mg至約30 mg。

【0366】 在一個說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與安慰劑後增加至12 (表示增加2個單位或20%)，且IL-10遞送構築體個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與IL-10遞送構築體後降低至5 (表示降低5個單位或50%)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體的Geboes評分可稱為：(i)當Geboes評分基線為投與IL-10遞送構築體之個體的初始Geboes評分時，降低5個單位或50%，或(ii)當Geboes評分基線為安慰劑調節之Geboes評分基線時，降低7個單位或70% (50%+20%)。

【0367】 在另一說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與安慰劑後降低至8 (表示降低2個單位或20%)，且IL-10遞送構築體個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與IL-10遞送構築體後降低至5 (表示降低5個單位或50%)。在此實例中，患病個體之Geboes評分可稱為：(i)當Geboes評分基線為投與IL-10遞送構築體之個體的初始Geboes評分時，降低5個單位或50%，或(ii)當Geboes評分基線

為安慰劑調節之Geboes評分基線時，降低3個單位或30% (50%-20%)。

【0368】 在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP濃度相對於FCP基線之降低及CRP濃度相對於CRP基線之降低。在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP濃度相對於FCP基線之降低及Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。在一些實施例中，免疫調節反應包含CRP濃度相對於CRP基線之降低及Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP濃度相對於FCP基線之降低、CRP濃度相對於CRP基線之降低及Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。

【0369】 除了與隱窩結構破壞、糜爛及潰瘍相關的嗜中性浸潤至上皮細胞中以外，患有胃腸道發炎性病症之個體的結腸組織亦可展示固有層經單核細胞、嗜伊紅血球及組織細胞或其組合之浸潤。除了與隱窩結構破壞、糜爛及潰瘍相關的嗜中性浸潤至上皮細胞中以外，向個體投與IL-10遞送構築體亦可使得固有層經單核細胞、嗜伊紅血球及組織細胞或其組合之浸潤減少。

【0370】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體之小於5%、小於4%、小於3%、小於2%或小於1%之IL-10進入血流。

【0371】 在一些實施例中，包含本文所述之IL-10遞送構築體的口服配方係經口投與至有需要之個體。可持續至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天向個體投與包含IL-10遞送構築體之配方。配方可一天投與一次。

【0372】 向個體投與約1 mg至約60 mg的治療有效量之口服配方之劑量可使得個體之IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度增加超過20%。在一些實施例中，IL-1Ra之基線血漿濃度為投藥之前的個體之

IL-1Ra之血漿濃度。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為超過30%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為30%至45%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約10 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為30%至35%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為40%至43%。口服配方之劑量可指口服配方中IL-10或IL-10遞送構築體的量。

【0373】向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過1500 pg/mL、1000 pg/mL、900 pg/mL、800 pg/mL、700 pg/mL、600 pg/mL、500 pg/mL、400 pg/mL、300 pg/mL、200 pg/mL、100 pg/mL、50 pg/mL或10 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過1500 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過1000 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過500 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過100 pg/mL。

【0374】向個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之血漿中IL-1Ra之濃度相對於IL-1Ra之基線含量增加至少5000 pg/mL。IL-1Ra之基線含量可為投藥之前的個體之血漿中之典型IL-1Ra濃度。IL-1Ra濃度可達到至少5000 pg/mL、6000 pg/mL、7000 pg/mL、8000 pg/mL、9000 pg/mL、10,000 pg/mL、11,000 pg/mL、12,000 pg/mL、15,000

pg/mL、20,000 pg/mL或25,000 pg/mL之最大值。IL-1Ra之濃度可達到1000 pg/mL至10,000 pg/mL、8000 pg/mL至12,000 pg/mL或25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。可在至少1、2、3或4小時之後達到IL-1Ra之最大濃度。可在投藥之後2至4小時、2至3小時或3至4小時達到IL-1Ra之最大濃度。在一個實例中，IL-1Ra濃度可在投藥後2.5小時至3.5小時達到25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。在另一實例中，IL-1Ra之濃度可在投藥後3.5小時至4.5小時達到8,000 pg/mL至12,000 pg/mL之最大值。

【0375】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可產生以下中之至少一者：(1)個體之血漿中小於50 pg/mL之峰值IL-10濃度，及(2)IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。峰值IL-10濃度可小於50 pg/mL、40 pg/mL、30 pg/mL、20 pg/mL、10 pg/mL、2.5 pg/mL、2.0 pg/mL、1.5 pg/mL或1.0 pg/mL。可在投藥之後1小時至5小時、1小時至3小時、2小時至3小時或3小時至5小時達到峰值IL-10濃度。表現CD3之細胞可為淋巴細胞。淋巴細胞可為T細胞。

【0376】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之結腸組織中IL-Ra與介白素1β (IL-1β)之表現比(IL-1Ra:IL-1β)增加。IL-1Ra:IL-1β之比可為至少1:1、1.5:1、2:1、2.5:1或3:1。IL-1Ra:IL-1β之比可為2:1至3:1。

【0377】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之血漿中之至少一種促炎性細胞介素的濃度不顯著增加。至少一種促炎性細胞介素可為干擾素γ (IFN-γ)、IL-

1β、介白素2 (IL-2)、介白素8 (IL-8)或其組合。向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之血漿中之IL-1Ra的濃度增加。IL-1Ra濃度可在投藥後2.5小時至3.5小時達到25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。

【0378】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得：(a)個體之結腸組織中之介白素1受體促效劑(IL-1Ra)的表現增加；(b)結腸組織中之至少一種促炎性基因之表現降低；(c)個體之結腸組織中之至少一種抗炎性基因的表現增加；(d)個體之結腸組織中之至少一種組織修復基因的表現增加；(e)個體之結腸組織中之至少一種抗微生物基因的表現增加；或(f)其組合。在一些實施例中，向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方使得個體之結腸組織中之Il-1Ra與介白素1β之表現比(IL-1R:IL-1β)增加。IL-1R:IL-1β之比可為大於1:1、1.5:1、2:1、2.5:1或3:1。

【0379】 至少一種促炎性基因可為MHC-II、HPGDS、FCER1A、PLA2G2D、CCL13、FUT3、CCL28、UGT1A1、CCL20、NLRP1、TPH或其組合。至少一種抗炎性基因可為CD163、SCNN1G、STC1、HGF、SGK1、miR-24-2、SCNN1B、PTGDR、MTNR1A、ACE2、NOX2、BEST2、VNN2、LTB4R2、B2GALT5或其組合。至少一種組織修復基因可為SCNN1G、STC1、TIMP1、SCNN1B、BEST2、B3GALT5或其組合。至少一種抗微生物基因可為PI15、PI3、BDKRB1、CCI28、SERPINE2或其組合。

【0380】 在某些實施例中，本文進一步描述對發炎性病症得以緩解之個體預防發炎性病症復發之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或

多種醫藥學上可接受之賦形劑的配方。個體之發炎性病症可緩解了至少一個月、6個月、8個月、1年、2年、3年、4年或5年。

【0381】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向個體投與包含IL-10之配方。消炎劑可為胺基水楊酸鹽。在一些實施例中，胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。消炎劑可為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為潑尼松。在一些實施例中，皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。消炎劑可為免疫抑制劑。在一些實施例中，免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。消炎劑可為TNFα抑制劑。在一些實施例中，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗、賽妥珠單抗、依那西普、戈利木單抗及英利昔單抗。至少一種消炎劑可為Janus激酶(JAK)抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼、優帕替尼、皮非替尼及托法替尼。至少一種消炎劑可為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。在一些實施例中，S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫、阿瑟利莫及伊拉斯莫。至少一種消炎劑可為整合素阻斷劑。在一些實施例中，整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗、那他珠單抗、維多珠單抗、阿布里單抗及卡洛斯特甲基。至少一種消炎劑可為IL-23抑制劑。在一些實施例中，IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗、密利基單抗、布拉奇單抗、古賽庫單抗及里森基單抗。至少一種消炎劑可為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。在一些實施例中，至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特、西洛司特、羅氟司特、替

托司特及咯利普蘭。至少一種消炎劑可為拉喹莫德。在一些實施例中，每日向個體投與配方，持續至少5、7、10、12或14日。

組合療法

【0382】本文提供治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，其包含投與IL-10治療劑與非IL-10免疫抑制劑之組合。在一些情況下，IL-10治療劑為口服治療劑。在一些情況下，在用口服IL-10治療劑治療之前開始用非IL-10免疫抑制劑治療。在一些情況下，用非IL-10免疫抑制劑治療與用口服IL-10治療劑治療同時開始。在一些情況下，個體先前已用非IL-10免疫抑制劑治療且具有不充分反應。在一些情況下，基於病史、家族病史、遺傳學或生物標記表現預測個體對非IL-10免疫抑制劑之反應不充分。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑不為介白素。

【0383】在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為抗整合素療法，例如維多珠單抗。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為Janus激酶抑制劑(JAK抑制劑)。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為IL-23拮抗劑及/或IL-12/IL-23拮抗劑。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)調節劑或神經鞘胺醇-1-磷酸受體調節劑。在其他情況下，非IL-10免疫抑制劑為IL-22或IL-22促效劑。

【0384】在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為TNFα抑制劑。在一些情況下，在用IL-10治療劑治療之前開始用TNFα抑制劑治療。在一些情況下，用TNFα抑制劑治療與用IL-10治療劑治療同時開始。在一些情況下，個體先前已用TNFα抑制劑治療且具有不充分反應。在一些情況下，基於病史、家族病史、遺傳學或生物標記表現預測個體對TNFα抑制劑之反應不充分。

【0385】 進一步提供治療個體之發炎性疾病之方法，其中個體對用TNFα抑制劑治療之反應不充分，該方法包含投與IL-10治療劑。在一些情況下，伴隨IL-10治療劑而繼續用TNFα抑制劑治療。

【0386】 在一些情況下，發炎性疾病可為腸或消化道疾病。在一些情況下，發炎性疾病可表現或存在於消化道遠端或與消化道之距離遙遠的組織中。在一些情況下，發炎性疾病可選自由以下組成之群：發炎性腸病、牛皮癬、斑塊型牛皮癬、化膿性汗腺炎、牛皮癬性關節炎、類風濕性關節炎、幼年特發性關節炎、僵直性脊椎炎、細菌性敗血症、克羅恩氏病、瘻管性克羅恩氏病、中度至重度潰瘍性結腸炎、輕度至中度潰瘍性結腸炎、潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎、缺血性結腸炎、改道性結腸炎、白塞氏症候群、不確定型結腸炎、胰臟炎、肝炎、儲袋炎、直腸炎、葡萄膜炎、移植物抗宿主疾病及上皮細胞損傷。在一些情況下，發炎性疾病為類風濕性關節炎。在一些情況下，發炎性疾病為發炎性腸病。在一些情況下，發炎性腸病為潰瘍性結腸炎。在一些情況下，發炎性疾病為克羅恩氏病。

【0387】 在一些情況下，IL-10治療劑可局部投與至疾病部位。舉例而言，可經口投與IL-10治療劑以治療消化道疾病，諸如潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病。在一些情況下，可經口投與IL-10治療劑以達成可治療消化道遠端之疾病的全身性劑量。舉例而言，可經口投與IL-10治療劑以治療類風濕性關節炎或牛皮癬。

【0388】 對治療劑之不充分反應可包含部分反應或無反應。在一些情況下，不充分反應為並非疾病完全治癒或完全緩解之反應。相比於治療前，對治療劑具有不充分反應之個體可在治療期間或治療之後具有較少症

狀或可具有嚴重度較輕的症狀。在其他情況下，對疾病具有不充分反應之個體可具有與治療之前相同數目的症狀或相同的症狀。在一些情況下，相比於治療前，對治療劑具有不充分反應之個體可在治療後具有更多症狀或更嚴重的症狀。

【0389】 在一些情況下，對治療劑具有不充分反應之患有類風濕性關節炎之個體可在用治療劑(例如單獨的抗TNFα抑制劑)治療後繼續具有關節炎之一或多種症狀。舉例而言，個體之一或多個關節可患有活動性疾病。活動性疾病可藉由螢光光學成像或磁共振成像來鑑別。對類風濕性關節炎治療具有不充分反應之個體可具有一或多個觸痛的關節，及/或一或多個腫脹的關節。可存在之其他症狀包括關節僵硬或無力、關節上的皮膚發紅、關節上有腫塊、熱紅、口乾、身體畸形或如坐針氈感。

【0390】 在一些情況下，對治療劑具有不充分反應之患有潰瘍性結腸炎之個體可在用治療劑(例如單獨的抗TNFα抑制劑)治療後繼續具有潰瘍性結腸炎之一或多種症狀。對潰瘍性結腸炎治療具有不充分反應之個體的改良梅歐臨床評分(MMS)可為約4分至約9分。個體之集中讀取MCS內視鏡分項評分為2級或更高。在一些情況下，個體之MMS直腸出血分項評分可為1分或更高。在一些情況下，個體可患有自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。潰瘍性結腸炎之其他症狀包括腹痛/不適、大便帶血或膿、發熱、體重減輕、頻繁復發的腹瀉、疲勞、食慾減退及裏急後重。

【0391】 在一些情況下，個體在用TNFα抑制劑治療後可具有不充分反應。在一些情況下，個體可在用TNFα抑制劑治療至少6週或至少12週之後對TNFα抑制劑具有不充分反應。

【0392】 TNFα抑制劑可為單株抗體。抗TNFα治療劑之實例包括英

利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(Humira)及戈利木單抗(Simponi)。在一些情況下，TNFα抑制劑為依那西普。在一些情況下，TNFα抑制劑不為依那西普。

【0393】 可藉由皮下注射，或藉由任何其他適合之方法投與TNFα抑制劑。舉例而言，可藉由皮下注射投與阿達木單抗。在一些情況下，可以每隔一週40 mg之劑量投與阿達木單抗。在一些情況下，一或多個初始劑量可高於維持劑量。舉例而言，阿達木單抗治療方案可包含160 mg之第一劑量，接著為約兩週後80 mg之第二劑量，接著為兩週後每隔一週40 mg之維持劑量。在一些情況下，阿達木單抗之初始劑量可為80 mg，接著為兩週後每隔一週40 mg之維持劑量。

【0394】 可藉由靜脈內輸注來投與TNFα抑制劑。舉例而言，可藉由靜脈內輸注來投與英利昔單抗。在一些情況下，可在至少兩小時之時段內藉由靜脈內輸注來投與TNFα抑制劑。在一些情況下，可以5 mg/kg之劑量投與英利昔單抗。在其他情況下，可以3 mg/kg之劑量，或以10 mg/kg之劑量投與英利昔單抗。在一些情況下，治療方案可包含更頻繁的初始劑量，接著為維持劑量。在一些情況下，治療方案可包含在0、2及6週，接著每8週投與TNFα抑制劑。

【0395】 TNFα抑制劑可由醫療專業人士投與或可提供給患者進行自投與。在一些情況下，TNFα抑制劑可在單次劑量預填充注射器中，或在單次劑量自動注射器中提供。舉例而言，阿達木單抗可在單次劑量HUMIRA Pen中提供。

【0396】 在一些情況下，可經口投與IL-10治療劑。在一些情況下，可與TNFα抑制劑大約同時投與IL-10治療劑。舉例而言，可在即將投

與TNFα抑制劑之前或緊接在其之後投與IL-10治療劑。在一些情況下，可與TNFα抑制劑在同一天，或在投與TNFα抑制劑之前的一天或之後的一天投與IL-10治療劑。舉例而言，可在0、2及6週，且隨後每8週投與IL-10治療劑及TNFα抑制劑。在另一實例中，可每兩週投與IL-10治療劑及TNFα抑制劑。

【0397】 在一些情況下，IL-10治療劑可為IL-10遞送構築體。

實例

【0398】 **實例1：IL-10遞送構築體設計**

【0399】 IL-10為抑制多種先天性及後天性免疫細胞之活化及效應功能的免疫調節細胞介素。設計了IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。此構築體為重組、均二聚融合蛋白，其中各單體由經甘胺酸及絲胺酸殘基(SEQ ID NO: 6)之胺基酸多肽間隔子(polyGlySer)連接之N端甲硫胺酸、cholix^{386}域(SEQ ID NO: 4)及重組人類IL-10 (rhIL-10)域(SEQ ID NO: 2)組成。cholix^{386}域為cholix之變異體的截短形式，衍生自霍亂弧菌、含有386個胺基酸之無毒突變體。構築體之分子量為125,796 Da，且等電點(pI)為5.49。

【0400】 cholix^{386}域促進經由囊泡胞吞轉運將SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體主動轉運通過上皮細胞到達局部胃腸道黏膜下層組織。經由經口途徑將rhIL-10直接靶向遞送至固有層可繞過全身性投與經歷之一或多個缺點且轉變為更高黏膜濃度以及發炎及疾病之臨床上有意義的減輕。

【0401】 如本文實例中所使用，當提及凍乾粉時使用藥物物質(DS)，且當提及膠囊或錠劑形式時使用藥品(DP)。

【0402】 **實例2：目標構築體之表現**

【0403】 藉由選殖至pET26(b)主鏈之Nde I及EcoR I位點中而構築含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)之編碼序列(SEQ ID NO: 10)的質粒。由SEQ ID NO: 10編碼之序列為表現於細菌細胞中之密碼子改良序列。質體含有T7啟動子且賦予康黴素耐藥性。使用如下之熱休克轉形方法經目標構築體質體轉染BL21大腸桿菌細胞：將BL21細胞及目標構築體質體等分至管中且在冰上培育30分鐘。接著將管在水浴中於42℃±2℃下熱休克30至45秒。緊接在熱休克之後，將管置於冰中2至5分鐘。將培養基添加至各管中且將管在37℃下培育60分鐘。將轉形細胞接種至LB/Kan瓊脂盤上且在37℃下培育隔夜。接著自瓊脂盤收集單一集落，接種於4 mL LB培養基中，且在搖瓶中生長隔夜。將甘油儲備液(80%)添加至培養物中，接著將培養物填充至冷凍小瓶中且儲存於-80±10℃下。接著進一步製造pre-RCB (Research Cell Bank；培養物+甘油儲備液)以產生主細胞庫(MCB)。

【0404】 為了產生MCB，在搖瓶中擴增來自RCB之細胞直至積聚足夠細胞塊，將其藉由離心回收，再懸浮於冷凍保存培養基中，等分至300個冷凍小瓶中，且冷卻直至冷凍。將MCB在受控之存取GMP設施中儲存於-80±5℃下。根據cGMP程序及ICH指南Q5B及Q5D來製造及維護MCB。

【0405】 在搖瓶中擴增之後，將細胞轉移至生產用生物反應器中。在1500 L生物反應器中在康黴素存在下(出於選擇壓力)執行醱酵。生產醱酵由細胞生長期繼之以使用異丙基β-D-1-硫代半乳糖苷(IPTG)作為誘導劑之表現期組成，其中蛋白質在細胞內表現為不溶性包涵體。生產反應器係在製造程序中指定之設定pH、溫度及溶解氧含量下受控制：pH受磷酸及

氫氧化銨添加控制；溶解氧受空氣及氧氣流量控制。所有氣體穿過孔徑為0.22 μm或更小的膜過濾器。生產反應器含有具有界定組分之細菌生長培養基。在接種之前，此等成分根據書面標準操作程序進行滅菌。生產期為分批進料過程，其中添加基於葡萄糖之進料培養基以維持細胞生長及培養物活力。

【0406】 在生產結束時，藉由離心收集細胞，且細胞漿經進一步處理或冷凍以供日後處理。高壓均質化用於釋放含有產物之包涵體。接著將包涵體再懸浮、洗滌且藉由離心與其他細胞組分分離。將包涵體緊接著繼續處理或冷凍以供日後使用。將細胞漿及/或包涵體漿料在進一步使用之前儲存於-20±5℃下。

【0407】 **實例3：再摺疊最佳化**

【0408】 使用高濃度之鹽酸胍，一種強力離液劑進行包涵體(IB)溶解。在溶解之後，使用傳統再摺疊方法，用DTT還原且接著稀釋為氧化還原混合液之初步努力產生低產率之恰當摺疊二聚體(<5%二聚體)。使用亞硫酸分解之第二方法產生更高回收率且經實施。肽首先用亞硫酸鈉還原，且接著用連四硫酸鉀將游離硫氫基封端。在透濾以移除殘餘亞硫酸分解試劑之後，將蛋白質稀釋為氧化還原混合液，其允許蛋白質再摺疊及氧化。使用此方法，產率高約2倍(約10%二聚體)，但仍低於期望。進一步探究在滲透劑，諸如蔗糖以及其他水修飾劑，諸如甘油存在下的再摺疊效應。

【0409】 在改變再摺疊溶液之精胺酸濃度及目標構築體(蛋白質)濃度之後評估再摺疊效率(**表5；圖25A-25B**)。此實例中之表及圖中所示之再摺疊效率等效於所得再摺疊目標構築體之二聚體%，且係藉由尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)評估。在**圖28**中示出展示來自使用四種不同再摺疊溶液之二聚體%的例示性層析圖。在**圖29**中示出**圖28**之層析圖中所說明

之四種再摺疊溶液的再摺疊效率。

表5-在改變精胺酸(M)及目標構築體濃度(mg/mL)之九種再摺疊溶液中之組分的濃度

	精胺酸	蛋白質濃度
1	0.50	0.75
2	0.50	1.00
3	0.50	1.50
4	0.75	1.00
5	0.75	1.00
6	0.75	1.50
7	1.00	0.75
8	1.00	1
9	1.00	1.5

【0410】 在改變再摺疊溶液之pH及甘油濃度之後評估再摺疊效率(**表6；圖26A-圖26B**)。

表6-在改變甘油(mM)濃度及pH之九種再摺疊溶液中之組分的濃度

	精胺酸	蛋白質濃度	甘油	pH
1	0.75	1.00	0	7.5
2	0.75	1.00	10	7.5
3	0.75	1.00	30	7.5
4	0.75	1.00	0	8
5	0.75	1.00	10	8
6	0.75	1.00	30	8
7	0.75	1.00	0	8.5
8	0.75	1.00	10	8.5
9	0.75	1.00	30	8.5

【0411】 在改變再摺疊溶液之蔗糖濃度及PEG濃度之後評估再摺疊效率(**表7；圖27A-圖27B**)。

表7-在改變PEG％及蔗糖濃度(M)之九種再摺疊溶液中之組分的濃度

	精胺酸	蛋白質濃度	PEG 3350	蔗糖，M
1	0.75	1.00	0	0
2	0.75	1.00	0.1	0
3	0.75	1.00	0.5	0
4	0.75	1.00	0	0.25
5	0.75	1.00	0.1	0.25
6	0.75	1.00	0.5	0.25
7	0.75	1.00	0	0.5
8	0.75	1.00	0.1	0.5
9	0.75	1.00	0.5	0.5

【0412】 在改變再摺疊溶液之蔗糖、甘油及PEG濃度之後評估再摺疊效率(**表8**)。

表8-十種再摺疊溶液中之組分的濃度及所得再摺疊效率(二聚體%)

	精胺酸，M	蛋白質濃度，mg/ml	蔗糖，M	甘油，%	PEG 3350，%	二聚體(%)
1	1.00	1.00	0	0	0.2	17.38%
2	1.00	1.00	0.1	0	0	18.29%
3	1.00	1.00	0.25	0	0	18.16%
4	1.00	1.00	0	5	0.1	17.71%
5	1.00	1.00	0.1	5	0.2	19.00%
6	1.00	1.00	0.25	5	0.1	18.21%
7	1.00	1.00	0	10	0	16.30%
8	1.00	1.00	0.1	10	0.1	18.10%
9	1.00	1.00	0.25	10	0.2	16.61%
10	1.00	1.00	0.25	5	0	17.90%

【0413】 實例4：再摺疊構築體之純化

【0414】 在製程開發期間評估若干層析模式。陽離子交換(CEX)在相對較低pH下不成功，因為蛋白質將在低於目標構築體之pI的pH (pH 5.5)下沈澱。疏水相互作用層析(HIC)亦不成功，因為蛋白質似乎在結合所需之高鹽中不穩定。

【0415】 陰離子交換(AEX)效果良好，因為蛋白質在較高pH下穩定且以合理容量結合。評估來自不同供應商之若干AEX載體，其中Capto™ Q ImpRes給出最佳總效能，尤其就自兩種主要產物相關雜質、殘餘單體及聚集物種分離活性二聚體物種而言。作為拋光步驟，陶瓷羥磷灰石(CHT)係實施為混合模式正交步驟，以進一步減少產物及製程相關雜質。

【0416】 對再摺疊目標構築體進行AEX層析，接著進行CHT層析。兩個層析步驟之梯度溶離係用於初始臨床活動，其中將產生最佳化分步溶離之機會評估為臨床開發進展。在溶離期間，收集溶離份且藉由SE-HPLC分析各溶離份之目標構築體的二聚體含量。接著彙集含有高於指定臨限值(例如75%)之溶離份以便滿足所需二聚體含量百分比。在CHT步驟

之後，半成品經濃縮且使用UF/DF透濾為配方緩衝液。在**圖30**中示出主要製程中間物之SDS-PAGE分析，其表明二聚體純度在下游加工期間增加。

【0417】 **實例5：液體中間物之凍乾**

【0418】 為了產生含有IL-10遞送構築體之口服膠囊，將遵循實例4中所述之純化方案產生之純化液體中間物轉化為乾粉。凍乾係確定為產生粉末之適當方式，同時使聚集體形成最小化。

【0419】 藉由在透析為下文概述之若干組分的組合之後初步篩選目標構築體之凍融及剪切誘導之液體穩定性來執行建立凍乾緩衝液之配方開發：

1)界面活性劑：聚山梨醇酯80、20及泊洛沙姆188

2) pH範圍5至8

3)滲透劑：5%蔗糖

4)鹽：氯化鈉(NaCl)、氯化鉀(KCl)、氯化鎂($MgCl_2$)、硫酸銨(NH_4SO_4)及硫酸鈉(Na_2SO_4)。

【0420】 基於來自初步液體配方篩選之資料，確定泊洛沙姆188在剪應力下減少目標構築體之聚集，且150-200 mM之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)及NaCl亦表明增加之穩定性。

【0421】 基於來自初步液體配方篩選之結果的進一步測試，使用**表9**中之條件進行初步凍乾可行性研究。將已知在蛋白質凍乾中適用作非晶形增積劑之甘胺酸及甘露糖醇添加至此篩選，添加pH 7.0之組胺酸以提供7.0-7.5範圍內之pH之效應的更精細評估，且添加海藻糖作為將蔗糖作為滲透劑的一個選項。**圖21**及**圖22**展示在25℃下培育3天之前及之後(**圖21**)及在5個凍/融循環之前及之後(**圖22**)呈二聚體形式之目標構築體的百分

比。

表9-初步凍乾可行性研究中所用之條件的概述

緩衝液	增積劑	穩定劑
10 mM組胺酸，pH 7.0	-	150 mM NaCl
	2%甘胺酸	-
	2%甘胺酸	0.5% 蔗糖
	2%甘胺酸	0.5%海藻糖
	3%甘胺酸	-
	4%甘胺酸	50 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘胺酸	150 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘胺酸	50 mM NaCl，0.5%蔗糖
10 mM磷酸鈉，pH 7.5	-	150 mM NaCl
	2%甘胺酸	-
	2%甘胺酸	0.5%蔗糖
	2%甘胺酸	0.5%海藻糖
	3%甘胺酸	-
	4%甘露糖醇	50 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘露糖醇	150 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘露糖醇	50 mM NaCl，0.5%蔗糖

【0422】 此初步凍乾可行性研究表明就減少聚集而言，目標構築體在pH 7.5下，在蔗糖及甘胺酸之情況下更穩定。基於來自此初步研究之結果，使用**表10**中所列之配方進行第二凍乾篩選。

表10-第二配方緩衝液篩選之概述

					凍乾前(%)			凍乾後(%)		
緩衝液	緩衝劑	穩定劑	界面活性劑	pH	HMW	二聚體	單體	HMW	二聚體	單體
AMT-10 (起始物質)					2.6	89.2	8.2			
10 mM磷酸鈉	2%甘胺酸	0.5%蔗糖	0.3%泊洛沙姆	7.5	2.9	89.8	7.4	4.3	89.3	6.4
		1%蔗糖			2.96	90.1	6.9	4.1	89	6.9
		1%海藻糖			2.9	90.3	6.8	3.6	89.8	6.6
	4%甘露糖醇	蔗糖，1.3%精胺酸			3.1	90.1	6.8	3.9	89.5	6.6
		2.6%精胺酸			4.9	86.7	8.4	4.1	89.5	6.4
10 mM鉀	2%甘胺酸	1%蔗糖			3.15	90.3	6.6	3.7	89.8	6.4
		1%海藻糖			3.2	90.1	6.7	3.9	89.5	6.6
10 mM組胺酸		1%蔗糖		7	2.8	90.9	6.3	3.5	89.9	6.6
		1%海藻糖			2.95	90.5	6.6	3.3	90.2	6.5

【0423】 根據此篩選，展現最佳穩定性之兩種配方為：

1) 10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖或1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5

2) 10mM組胺酸、2%甘胺酸、1%蔗糖或1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆，pH 7.0。

【0424】 使用此兩種配方，為了確保UF/DF步驟實現預期功能將且在凍乾過程開始時的冷凍將為可接受的，在如下**表11**中所概述之更高蛋白質濃度下進行最終液體配方凍/融篩選及短期穩定性研究。

表11-用於凍/融篩選之配方

配方
10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5
10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5
10 mM組胺酸、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.0
10 mM組胺酸、2%甘胺酸、1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.0

【0425】 對於任何測試條件，濃度為20 mg/mL之目標構築體在凍/融期間或在4℃下於1週內不展示聚集之任何顯著增加。由10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188組成的pH為7.5之配方緩衝液經測定在2-8℃及25℃下於一週內具有最佳總體穩定性(參見**圖24C**及**圖24D**中之資料，盒及箭頭突出顯示最佳配方)。推薦將此配方在凍乾之前以緩衝液形式繼續用於UF/DF調配步驟中。來自凍/融實驗之資料展示於**圖23A**及**圖23B**中。來自短期穩定性研究之資料展示於**圖24A-圖24D**中。

【0426】 藉由解凍且將液體中間物分配至裝入凍乾器的托盤中來進行成批凍乾。凍乾循環期間之控制參數，諸如溫度及真空壓力係基於時間來執行。在完成該循環之後獲取過程內樣品。在置於第二LDPE襯墊內部之低密度聚乙烯(LDPE)第一襯墊中彙集及混合凍乾粉。第二襯墊經熱封，接著置於聚酯薄膜袋中，該袋亦經熱封。當凍乾時，目標構築體產生

白色至灰白色粉末。合併之凍乾粉為目標構築體藥物物質(DS)。

【0427】 **實例6：活體外評估包衣配方**

【0428】 不同配方類型可用於促進將活性醫藥成分(API)靶向遞送於其所需作用位點上，及保護API免受可影響其穩定性的胃腸道中存在之某些生理條件侵害。攝入後，API與可影響其穩定性的胃中之低胃pH及蛋白水解胃蛋白酶接觸。在穿過胃之後，API進入特徵為較高pH值的小腸。膽汁鹽及蛋白水解胰酶之分泌可對API之穩定性具有巨大影響。此外，蛋白水解酶之胃pH及濃度在進食及禁食狀態之間顯著變化。因此，此實例之目標為調查在穿過完整胃腸道期間，五種不同配方之崩解及其後續靶向咖啡鹼釋放。

【0429】 此實驗中所用之反應器設置由人類腸微生物生態系統模擬器(SHIME®)調適，其表示成人之胃腸(GI)道，如由以引用的方式併入本文中之Molly等人 (Appl Microbiol Biotechnol 39:254-258(1993))所描述。在此系統中，前兩個反應器模擬食物吸收及消化中之不同步驟，其中蠕動泵將界定量之進料以及胰汁及膽汁分別添加至胃及小腸區室，且在指定時間間隔之後清空各別反應器。後三個區室，具有恆定體積及pH控制之連續攪拌反應器模擬升結腸、橫結腸及降結腸。不同容器之滯留時間及pH經選擇以類似於胃腸道之不同部分中的活體內條件。

【0430】 在此實驗中，使用調適之SHIME®系統，其表示隨時間推移在相同反應器內之胃及小腸的生理條件(**圖3**)。為了模擬進食或禁食條件，將胃懸浮液添加至反應器中。此後，添加標準化酶及膽汁以模擬小腸條件。培育條件(pH概況、培育時間)經最佳化以類似於禁食或進食條件下之不同胃腸道區域中的活體內條件。

【0431】 *模擬胃及小腸之方案*

【0432】 在研究期間，在禁食條件下穿過胃及小腸期間測試膠囊溶解。

【0433】 在胃期內，培育在37℃下，在經由攪拌混合時，在pH 2.0處在45分鐘內發生(圖3)。相對於進食條件，添加低4倍含量的胃蛋白酶及磷脂醯膽鹼。作為背景介質，僅供應鹽及黏蛋白。在胃培育之t=0及45分鐘處進行取樣及目測評分。

【0434】 在小腸期內，在經由攪拌混合時，pH起初在5分鐘時段內自2.0自動增加至5.5，其後將介質之pH在第一個小時內自5.5增加至6.5，在第二個小時內自6.5增加至7.0，且在小腸培育之第三個小時內保持恆定於7.0之值(**圖5**)。將溫度控制在37℃下。關於胰酶，使用含有特定比之所有相關酶的原始動物胰臟提取物(胰酶)以及界定比之不同酶。在禁食條件下，添加相比於在進食條件下進行之實驗低5倍含量之胰酶。關於膽汁鹽，一般補充3.3 mM牛膽汁提取物，因為就牛磺膽酸鹽及甘膽酸鹽而言，牛膽汁比豬類動物更接近地匹配人類。

【0435】 *模擬結腸之方案*

【0436】 在此研究期間，收集一個供體之糞便樣品且儲存於-80℃下直至進一步用作結腸微生物源，以在穿過上胃腸道之後的所有結腸培育期間使用。使用相同結腸微生物因此允許比較在不同實驗期間獲得的結果。在取樣盒中捐獻糞便樣品之後，添加Anaerogen袋且立即將盒密封。Anaerogen袋中之粉末立即自取樣盒中移除所有氧氣。隨後，將厭氧PBS添加至糞便樣品且藉由在均質器(stomacher)中進行均質化來製備糞漿。糞漿經短暫離心以移除大顆粒。隨後，將等體積之低溫保護劑溶液添加至

糞便上清液中。在均質化之後，將防冷凍之糞漿在液氮中急凍且儲存於-80℃下。

【0437】 在開始實際結腸實驗之前，在生物反應器中預培育低溫保藏之糞便樣品以便獲得用於接種結腸培育物之完全代謝活性結腸背景微生物群。簡言之，在含有宿主及飲食源性基質之富集結腸培養基中接種2.5% (vol/vol)糞漿。經由用氮氣沖洗使容器厭氧且在37℃下培育24小時。因此，在24小時培育之後獲得完全建立及代謝活性的結腸微生物群。

【0438】 在胃/小腸實驗結束時獲取SIend (小腸末端或迴腸)之後，開始結腸培育。此藉由將含有宿主及飲食源性基質之200 mL新鮮結腸培養基添加至200 mL胃/小腸懸浮液來進行。藉由將300 mL預培育之糞便物質添加至生物反應器來獲得代謝活性內腔結腸微生物群之模擬。藉由用氮氣沖洗使容器厭氧且隨後在37℃下培育18小時。在結腸培育之0；0,5；1；1,5；2；3；4小時；及18小時之後進行膠囊之目測評分及反應器取樣。

【0439】 *膠囊崩解*

【0440】 在模擬胃腸道中轉運期間，根據以下評分進行膠囊之目視檢查：1：膠囊完整；2：膠囊受損但幾乎所有產品仍在膠囊中；3：膠囊受損且釋放所有產品；4：膠囊毀壞。

【0441】 實施HPLC-UV/Vis方法，該方法允許定量獲自反應器之樣品中的咖啡鹼濃度。簡言之，使用等濃度沖提分離方法(25%甲醇:75%水)在C18管柱上運行樣品。將管柱溫度控制在25℃下。每個樣品之總運行時間為7分鐘。注射體積為10 μL且UV/Vis偵測器係在272 nm下操作。使用外部標準物進行咖啡鹼定量。在管柱上注射之前，將樣品以9000 rpm離

心15分鐘。隨後，將上清液經由0.2 μm過濾器過濾至HPLC小瓶中。

【0442】 在實驗期間在禁食條件下測定各取樣點與其前一取樣點之間的咖啡鹼濃度之統計顯著差異，以展示隨時間之變化。就統計資料而言，由「$p<0.05$」或「*」論述及指示之所有資料的差異為顯著的，具有95%信賴區間，如使用斯圖登氏t檢驗(Student's t-test)所展現

【0443】 探究五種不同配方類型在穿過胃腸道期間之崩解(**表12**)。緊鄰五種配方之實驗，進行對照實驗以測定背景中之咖啡鹼濃度。向各反應器中添加一個膠囊且將膠囊安裝於膠囊沈降器中。所有實驗均以生物一式三份進行。

表12 - 測試之配方

膠囊標識	**Eudragit® L30D55: Eudragit® FS30D比**	**膠囊內含物**	**膠囊厚度**	**展示咖啡鹼釋放曲線之圖**
A	50 :50	20 mg SEQ ID NO: 5 10mg咖啡鹼	60 mg	圖5A
B	50 :50	20 mg SEQ ID NO: 5 10mg咖啡鹼	128 mg	圖5B
C	20 :80	10 mg rHSA 10mg咖啡鹼	60 mg	圖5C
D	20 :80	10 mg rHSA 10mg咖啡鹼	120 mg	圖5D
E	0 :100	10 mg rHSA 10mg咖啡鹼	60 mg	圖5E

【0444】 測定在對照實驗期間之不同取樣點處存在之咖啡鹼的濃度揭露此化合物不存在於胃腸道穿過實驗之胃、小腸及結腸期內。因此，在五種配方之實驗期間使用的背景介質不可對偵測自膠囊釋放之咖啡鹼產生干擾。

【0445】 具有1號膠囊上之60 mg包衣厚度及50:50之Eudragit®比L30D55:FS30D的膠囊1在穿過模擬禁食胃期間保持完全完整，由此保護

API免受胃培育期內存在之低pH條件侵害。膠囊在小腸培育之第一個小時內保持目測完整，在此期間，介質之pH自5.5之值增加至6.5。膠囊在小腸培育之第二個小時內變得受損，在此期間，pH自6.5之值增加至7.0之值。**圖5A**說明咖啡鹼自膠囊1之釋放。

【0446】 不管對膠囊之目測損害，大部分粉末保留於膠囊中，如由2小時小腸培育之後量測的低咖啡鹼量所證實。膠囊在小腸培育之第三個小時(7.0之穩定pH)內變得更受損，導致膠囊內部之主要部分的粉末經釋放，如由此取樣點處之咖啡鹼定量所顯見。在結腸培育期間，咖啡鹼之量保持相當恆定。觀測到少量增加且此主要歸因於在第2個重複實驗期間咖啡鹼自膠囊之不完全釋放。膠囊在結腸培育期結束時未完全毀壞，且膠囊之目視檢查揭露小部分的粉末仍存在於膠囊內。此解釋為何膠囊內存在的10 mg總劑量之咖啡鹼截至結腸培育結束幾乎完全釋放。因此，可推斷膠囊1促進API在小腸培育期末期的靶向遞送，其與胃腸道(GIT)之末端迴腸一致。

【0447】 具有1號膠囊上之128 mg包衣厚度及50:50之Eudragit® L30D55:FS30D比的膠囊2在穿過禁食胃期間保持完全完整(**圖5B**)。

【0448】 此外，相比於膠囊1 (相同Eudragit®比)，膠囊2增加之包衣厚度防止膠囊在穿過小腸培育期內變得受損，介質之pH在小腸培育期內自5.5之值增加至7.0。

【0449】 膠囊進入結腸環境使得膠囊在1.5小時培育之後產生目測損害，其使得在4小時結腸培育之後釋放少量咖啡鹼。延長之結腸培育對膠囊誘導進一步損害，導致大量的咖啡鹼在18小時結腸培育之後釋放至結腸腔中。在整個結腸培育期內，將介質之pH控制為高於5.8之值。因此，可

推斷相比於膠囊1，膠囊2之包衣厚度增加使得咖啡鹼延遲釋放。膠囊在穿過胃腸道之後未完全毀壞，指示膠囊之聚合物中之一者在穿過胃腸道期間存在之pH值下不溶解。因此，可推斷膠囊2促進API在結腸培育期末期之靶向遞送，其與胃腸道之遠端結腸一致。

【0450】具有1號膠囊上之60 mg包衣厚度及20:80之Eudragit® L30D55:FS30D的膠囊3在穿過禁食胃期間保持完全完整(**圖5C**)。儘管膠囊在穿過小腸期間未變得目測受損，但在3小時小腸培育之後偵測到少量咖啡鹼，指示膠囊發生不可偵測的微觀損害。膠囊在0.5小時結腸培育之後變得目測受損，其使得在4小時結腸培育之後，增加量的咖啡鹼自膠囊釋放。在4小時與18小時結腸培育之間，結腸介質中偵測之咖啡鹼的量進一步增加。膠囊在穿過整個胃腸道結束時未變得完全毀壞。因此，在用膠囊1及3進行之實驗期間獲得的資料之比較指示以L30D55為代價增加FS30D之百分比使得API在結腸培育期開始時靶向遞送，其對應於胃腸道之近端結腸。

【0451】具有1號膠囊上之120 mg包衣厚度及20:80之Eudragit® L30D55:FS30D比的膠囊4在穿過完整胃腸道期間保持目測完整(**圖5D**)。僅在第2及第3重複實驗期間偵測到少量咖啡鹼。因此，以L30D55為代價增加包衣厚度及FS30D之比防止API在上胃腸道及近端結腸中釋放。可假設內含物僅將在增加之pH下培育較長時間只好朝向遠端結腸釋放。

【0452】具有1號膠囊上之60 mg包衣厚度及0:100之Eudragit® L30D55:FS30D比的膠囊5在3小時小腸培育之後，在小腸懸浮液之pH等於7時變得目測受損(**圖5E**)。然而，幾乎所有粉末保持截留於膠囊內部，如由在小腸培育期結束時不存在可量測量之咖啡鹼所證明。在進入結腸

後，膠囊未變得進一步目測受損。僅在第3重複實驗運行期間，在18小時結腸培育之後偵測到足夠量的咖啡鹼。因此，可推斷在膠囊聚合物混合物中忽略L30D55致使在穿過上GIT及近端結腸期間不存在API之靶向遞送。可假設內含物僅將在增加之pH下培育較長時間只好朝向遠端結腸釋放。

【0453】 *結論*

【0454】 在本研究期間，評估五種不同配方在穿過胃、小腸及結腸期間的崩解。經由在專門時間點處之目測評分及經由測定在穿過胃腸道(GIT)期間自膠囊釋放之咖啡鹼的量來研究膠囊溶解。

【0455】 所有五種配方呈現不同溶解特徵，該等特徵係由其包衣厚度及Eudragit® L30D55:FS30D比所決定。當Eudragit® L30D55:FS30D比分別為50:50或20:80時，包衣厚度為60 mg之本研究之膠囊促進API在小腸培育結束時或結腸培育開始時的靶向遞送。將Eudragit® L30D55:FS30D比為50:50之膠囊的包衣厚度自60 mg增加至128 mg使得API在近端結腸培育末期靶向遞送。儘管膠囊1、2、3能夠提供API之靶向遞送，但此等膠囊在穿過GIT結束時未變得完全溶解，使得在結腸培育末期存在膠囊材料。膠囊4 (包衣厚度120，Eudragit® L30D55:FS30D比為20:80)及膠囊5 (包衣厚度60 mg且Eudragit® L30D55:FS30D比為0:100)在穿過上GIT及近端結腸期間不崩解，使得在當前實驗期間不存在API之靶向遞送。可假設內含物僅將在增加之pH下培育較長時間只好朝向遠端結腸釋放。

【0456】 **實例7：評估腸溶包衣**

【0457】 基於對包覆腸溶包衣之膠囊之研究批次進行的實驗來選擇腸溶包衣之組成。此等研究批次之組成概述於**表13**中。1號HPMC膠囊用

於所有批次。rHSA (重組人血清白蛋白)或物質粉末之填充重量為大約30 mg，因為各者之蛋白質含量為粉末重量的大約三分之一。包衣組合物包含標稱溶解pH為>5.5之Eudragit® L30D55及標稱溶解pH為>7之Eudragit® FS30D (Evonik GmbH產品資訊)的混合物。在大約6.5之pH值處的膠囊釋放對於提供足夠腸保護，同時允許在腸中釋放目標構築體係所需的。

表13-用於配方開發之膠囊的組成。將所有批次填充至1號HPMC膠囊。

Eudragit包衣組合物 (L30D55:FS30D之比)	**腸溶包衣目標重量 (mg)**	**膠囊內含物**
50:50 30:70 20:80 0:100	60 120 180	咖啡鹼(10 mg)，rHSA (10 mg) 咖啡鹼(10 mg)，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (10 mg)

【0458】 在兩個調查研究中用多批次包覆膠囊進行包覆評估。

【0459】 對於第一個研究，製備十二批含有咖啡鹼及重組人血清白蛋白(rHSA)之膠囊，其包含四種不同包衣組合物及三種不同包衣厚度之排列。包衣組合物包含按重量計比率為50:50至0:100之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D。

【0460】 此研究中包括咖啡鹼作為用於膠囊釋放之易於偵測的標記。rHSA被視為此研究中之目標構築體的適合之替代蛋白質，因為其使用與目標構築體藥物物質所用相同的凍乾緩衝液以凍乾組合物形式製備，蛋白質含量與目標構築體藥物物質大致相同，且凍乾組合物之物理形式為類似的。

【0461】 對於第二個研究，製備三批含有咖啡鹼及目標構築體之膠囊，其包含三種不同包衣厚度之包衣配方，該包衣配方含有等量之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D。

【0462】 將來自各研究批次之膠囊置於0.1 N HCl之攪拌溶液中至少60分鐘，接著轉移至指定、更高pH值下之緩衝溶液。此等條件意欲模擬暴露於胃之酸性環境，接著為通往腸時之大致中性pH。在各實驗中，對上清液定期取樣且測試已自膠囊釋放至溶液中之膠囊內含物的濃度。

【0463】 此等實驗之結果概述於下文。在任何情況下，任何包覆腸溶包衣之膠囊均不在1小時培育期內於0.1 N HCl中釋放內含物。因此，表

中呈現之資料僅表示在緩衝液培育期內的釋放。如所預期，所有評估之包衣均表明針對酸性環境之腸保護。

【0464】 *第一研究：包衣組成之選擇*

【0465】 腸溶包衣之組合物選自初步研究，該研究使用含有咖啡鹼作為釋放標記且使用rHSA作為目標構築體之蛋白質替代物的膠囊。Eudragit® L30D55與Eudragit® FS30D之比在50:50至0:100之間變化，以探究隨溶液pH而變的包衣組合物對膠囊釋放之影響。

【0466】 **表14-17**展示12組含有咖啡鹼及rHSA之包覆膠囊於pH 7.0緩衝液中之行為。將咖啡鹼及rHSA值標準化為100%以使膠囊達到最大釋放，資料未作其他調整。咖啡鹼及rHSA之釋放動力學基於膠囊包衣之重量及組成而變化，但對於各個別膠囊批次，兩種化合物之釋放為類似的。因此，咖啡鹼(小分子)及rHSA (蛋白質)提供關於在此等條件下之膠囊釋放的類似資訊。

表 14- 咖 啡 鹼 及 rHSA 自 包 覆 有 50:50 比 率 之 Eudragit® L30D55 及 Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	6	84	87	87	88	90	41	97	97	100	97	98
125	2	6	77	95	98	100	0	5	94	97	98	100
180	1	2	3	56	97	100	0	0	4	53	100	100

表 15- 咖 啡 鹼 及 rHSA 自 包 覆 有 30:70 比 率 之 Eudragit® L30D55 及 Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量 mg	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
61	15	95	96	98	99	100	24	98	98	98	98	100
118	1	4	82	91	95	100	0	3	92	95	98	100
182	0	1	3	55	93	100	0	0	0	74	94	100

表16-咖啡鹼及rHSA自包覆有20:80比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
56	5	87	97	97	100	98	7	96	98	97	99	100
120	1	2	7	78	95	100	0	0	2	89	98	100
177	1	1	1	5	56	100	0	0	0	2	87	100

表17-咖啡鹼及rHSA自包覆有0:100比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
59	1	19	93	97	99	100	0	50	97	98	98	100
120	1	1	3	23	83	100	0	0	0	0	94	100
181	1	2	2	ND	2	18	0	0	0	0	0	45

【0467】對於此等膠囊批次，更大的腸溶包衣總重量與更慢的咖啡鹼及rHSA於pH 7.0緩衝液中開始釋放，及更長的達成完全釋放之時間相關。在pH 7.0緩衝液中之釋放與包衣組合物之間可見較不顯著的相關性。幾乎所有膠囊在測試過程於pH 7.0緩衝液中完全釋放其內含物，除了包覆有100:0比率之FS30D與L30D55的膠囊顯示釋放起始經延遲且較大包衣重量之釋放不完全。

【0468】**表18-19**概述相同膠囊在pH 6.5及pH 6.0緩衝液中之行為。僅呈現rHSA值，因為各膠囊之咖啡鹼釋放及rHSA之動力學再次類似。將rHSA值標準化為100%以使膠囊達到最大釋放，資料未作其他調整。**表18-19**中所示之包衣重量為目標包衣重量，但實際包衣重量與目標包衣重量相比改變不超過5 mg。

表18-rHSA自包覆有不同比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放，pH 6.5緩衝液

	rHSA在規定時間自規定包衣組合物之膠囊的釋放																	
包衣組合物	50:50 FS30D/L30D55						70:50 FS30D/L30D55						80:50 FS30D/L30D55					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	11	93	96	98	99	100	8	78	95	97	98	100	0	17	64	77	82	92
120	0	2	13	94	98	100	0	7	36	64	92	100	0	0	0	0	12	42
180	0	0	2	3	94	100	0	0	0	4	43	85	0	0	0	0	1	10

表19-rHSA自包覆有不同比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放，pH 6.0緩衝液

	rHSA在規定時間自規定包衣組合物之膠囊的釋放																	
包衣組合物	50:50 FS30D/L30D55						70:30 FS30D/L30D55						80:20 FS30D/L30D55					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	12	79	97	98	100	100	4	30	43	58	62	67	0	0	29	39	52	100
120	0	6	21	23	83	98	0	0	0	0	39	72	0	0	0	0	0	0
180	0	0	0	0	6	30	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0

【0469】 在任一緩衝液條件下，觀測到釋放動力學相對於包衣重量之明顯趨勢，其中增加的腸溶包衣總重量與更慢的rHSA釋放起始，及更長的達成完全釋放之時間相關。在pH 6.5及pH 6.0下，包衣組合物之趨勢亦為顯而易見的。含有較高比例之Eudragit® FS30D之包衣在較低緩衝液pH下顯示延遲的釋放起始，且在此等情況下，針對較大包衣重量觀測到不完全釋放或無釋放。在此等條件下，在pH 6.5或6.0下，針對包覆有100:0比率之FS30D與L30D55的任何膠囊均未觀測到釋放。

【0470】 因此，rHSA之釋放取決於腸溶包衣之重量及組成。60 mg之包衣重量與Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之50:50組成提供在此等條件下測試之膠囊的最快速釋放。

【0471】 *第二研究：包衣重量之選擇*

【0472】在第二研究中用含有目標構築體之膠囊繼續評估包衣重量。

【0473】**表20-22**展示含有咖啡鹼及目標構築體，具有50:50 Eudragit®聚合物L30D55及FS30D之不同包衣重量之三批膠囊的行為。檢查咖啡鹼及目標構築體於pH 7.0、pH 6.5及pH 6.0之緩衝液中的釋放。此等膠囊在0.1 N HCl中經受先前培育1小時，且未在任何情況下偵測到咖啡鹼或目標構築體釋放。將咖啡鹼及目標構築體值標準化為100%以使膠囊達到最大釋放，資料未作其他調整。ND指示由於樣品損失而不可確定資料點。

表20-咖啡鹼及目標構築體自包覆有50:50比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之AMT-101釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	13	100	97	97	98	100	8	81	81	81	78	75
128	0	3	60	95	98	100	0	0	60	81	81	ND
178	0	1	3	5	76	100	0	0	6	6	45	39

表21-咖啡鹼及目標構築體自包覆有50:50比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 6.5緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之AMT-101釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	5	22	97	98	98	100	0	60	72	72	73	70
128	0	1	6	36	81	100	0	0	0	32	41	39
178	0	0	0	2	11	37	0	0	0	0	0	5

表22-咖啡鹼及目標構築體自包覆有50:50比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 6.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之AMT-101釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	3	16	56	88	98	100	7	13	18	18	17	17
128	0	0	3	8	51	88	0	0	0	0	6	6
178	0	0	0	2	11	34	0	0	0	0	0	0

【0474】 各膠囊之咖啡鹼及目標構築體開始釋放的時間為類似的。如更早對於rHSA膠囊可見，觀測到釋放動力學相對於包衣重量之明顯趨勢，其中增加的腸溶包衣總重量與咖啡鹼及目標構築體更晚開始釋放，及更長的達成完成釋放之時間相關。一般而言，目標構築體釋放達到比基於膠囊填充重量所計算更低的濃度。開始釋放之時間更早的膠囊一般達成更高的目標構築體濃度。將在將來的研究中探究低於目標構築體之預期釋放的原因。在開發之此早期階段，選擇快速釋放之包衣組合物以使目標構築體在膠囊釋放期間的潛在損失最小化。

【0475】 *腸溶包衣之選擇*

【0476】 基於研究膠囊研究，選擇包含Eudragit®聚合物L30D55及FS30D之50:50混合物的包衣組合物用於臨床膠囊表現。選擇1號膠囊上60 mg之目標包衣重量以提供針對胃酸之腸保護，但在達到中性pH環境時釋放膠囊內含物。1號膠囊上60 mg之包衣重量提供與選擇用於臨床表現之0號膠囊的75 mg包衣等效之包衣厚度。

【0477】 **實例8：活體外溶解資料**

【0478】 測試八種膠囊包衣配方(**表23**中之配方A-H)在改變之pH下的活體外溶解速率。第一個小時為酸階段，其中膠囊暴露於含有0.1 M鹽酸，pH為1.0之溶解介質。其餘的小時花費於緩衝液階段，其中膠囊暴露於含有檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液，pH為7.0、6.5或6.0之溶解介質。各膠囊在更換培養基時用塑膠刮勺移除。將膠囊置於150 mL玻璃燒杯內部，該燒杯具有以100 rpm攪拌之攪拌棒及設定於37℃下之加熱器。藉由量測UV吸光度來確定咖啡鹼之釋放%。藉由尺寸排阻層析(SEC)來確定IL-10遞送構築體之釋放% (**表24**)，且二聚體形式係偵測為單峰。記錄值係確定

自各別分析物之標準曲線。在SE-HPLC期間，多角度光散射(MALS)偵測與UV吸光度及折射率(RI)偵測之組合用於確定溶離峰之分子量。藉由280 nm處之吸光度執行偵測。

【0479】 Eudgragit包覆之膠囊經受1小時酸階段溶解，且接著經受緩衝液階段溶解。僅在緩衝液階段中測試不具有Eudragit包衣(僅具有HPMC包衣)之膠囊。在分析之整個持續時間內在100 rpm下攪拌溶解介質。在酸階段結束時、緩衝液階段之1小時、2小時、3小時、4小時、6小時及24小時處將樣品之500 µL等分試樣收集至0.22 µm乙酸纖維素Spin-X離心管過濾器(Costar目錄號8161)中。在15,000 ×g下進行離心2分鐘。接著將樣品之150 µL等分試樣轉移至HPLC小瓶中，且首先藉由SEC且接著藉由RP層析進行分析。

表23-檢查膠囊內含物之活體外溶解的膠囊配方

配方標識符	每一膠囊之目標構築體量(mg)	每一膠囊之咖啡鹼量(mg)	HPMC膠囊包衣(mg)	Eudragit® 組合物 (L30D55/FS30D)	Eudragit® 包衣重量增加	描述
A	10	10	10	50/50	60	參考組合物
B	10	10	10	50/50	30	薄Eudragit® 50/50
C	10	10	10	30/70	30	薄Eudragit® 30/70
D	10	10	10	30/70	60	標準30/70
E	10	10	10	30/70	90	標準30/70
F	10	10	10	30/70	120	厚30/70
G	10	10	60	50/50	30	增加HPMC
H	10	10	180	50/50	30	厚HPMC

表24-SE-HPLC方法

系統	具有PDA偵測器之Vanquish UHPLC系統
管柱	Waters ACQUITY UPLC Protein BEH SEC 200Å 1.7 µm，4.6×150 mm 零件編號：186005225
管柱溫度	25℃
自動進樣器溫度	4℃
移動相	100 mM磷酸鈉，150 mM氯化鈉，pH 7.0±0.1
分離模式	等度
流動速率	0.3 mL/min
總運行時間	10 min
偵測波長	215 nm，280 nm
注射體積	100 µL (或改變)

【0480】 量測膠囊配方A-B (**圖6A**)、膠囊配方C-F (**圖6B**)及膠囊配方G-H (**圖6C**)中之每一者在pH 7.0處釋放之咖啡鹼的%。量測膠囊配方A-B (**圖7A**)、膠囊配方C-F (**圖7B**)及膠囊配方G-H (**圖7C**)中之每一者在pH 6.5處釋放之咖啡鹼的%。量測膠囊配方A-B (**圖8A**)、膠囊配方C-F (**圖8B**)及膠囊配方G-H (**圖8C**)中之每一者在pH 6.0處釋放之咖啡鹼的%。

【0481】 量測膠囊配方A-B (**圖9A**)、膠囊配方C-F (**圖9B**)及膠囊配方G-H (**圖9C**)中之每一者在pH 7.0處釋放之目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖10A**)、膠囊配方C-F (**圖10B**)及膠囊配方G-H (**圖10C**)中之每一者在pH 6.5處釋放之目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖11A**)、膠囊配方C-F (**圖11B**)及膠囊配方G-H (**圖11C**)中之每一者在pH 6.0處釋放之目標構築體的%。

【0482】 亦測定呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖12A**)、膠囊配方C-F (**圖12B**)及膠囊配方G-H (**圖12C**)中之每一者在pH 7.0處釋放之呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖13A**)、膠囊配方C-F (**圖13B**)及膠囊配方G-H (**圖13C**)中之每一者在pH 6.5處釋放之呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。量測膠囊

配方A-B (**圖14A**)、膠囊配方C-F (**圖14B**)及膠囊配方G-H (**圖14C**)中之每一者在pH 6.0處釋放之呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。

【0483】 **實例9：食蟹獼猴中之膠囊包衣研究**

【0484】 在雄性食蟹獼猴中測試八種膠囊包衣配方(**表25**中之配方A-H)。膠囊係以單次劑量投與，每隻動物2個膠囊，且用藥丸槍經口投與。在膠囊投與後8小時收集血漿樣品，且分析IL-10 (**圖15A**、**圖16A**及**圖17A**)、咖啡鹼(**圖15B**、**圖16B**及**圖17B**)及介白素-1受體拮抗劑(IL-1RA) (**圖15C**、**圖16C**及**圖17C**)。

表25-向食蟹獼猴投與之膠囊的配方

配方標識符	每一膠囊之目標構築體量(mg)	每一膠囊之咖啡鹼量(mg)	HPMC膠囊包衣(mg)	Eudragit®組合物(L30D55/FS30D)	Eudragit®包衣重量增加	描述	每隻動物之膠囊數目	N
A	10	10	10	50/50	62	參考組合物	2	3
B	10	10	10	50/50	31	薄 Eudragit® 50/50	2	3
C	10	10	10	30/70	31	薄 Eudragit® 30/70	2	3
D	10	10	10	30/70	62	標準30/70	2	3
E	10	10	10	30/70	92	標準30/70	2	3
F	10	10	10	30/70	123	厚30/70	2	3
G	10	10	60	50/50	31	增加HPMC	2	3
H	10	10	180	50/50	31	厚HPMC	2	3

【0485】 穩定咖啡鹼信號指示膠囊打開行為。膠囊打開時間及動力學(來自咖啡鹼)與活體外溶解資料的相關性良好。較薄包衣顯示最快速打開(50/50 Eudragit® L30D55/FS30D及30/70 Eudragit® L30D55/FS30D之30 mg包衣)。一些配方之全身性Il-10及IL-1RA含量升高。PK及生物標記信號之時程與咖啡鹼釋放時程資料的相關性良好。較薄包衣顯示全身性IL-10及IL-1RA之最顯著升高(50/50 Eudragit® L30D55/FS30D及30/70 Eudragit® L30D55/FS30D之30 mg包衣)。

【0486】 **實例10：開發具有改良特徵之粉末**

【0487】 低密度之凍乾組合物可具有不佳流動特徵。目標為開發具有增加之密度及改良之流動特性的凍乾組合物配方。將凍乾組合物與賦形劑摻合以改良膠囊填充或使得能夠進行錠劑調配。

【0488】 重組人血清白蛋白(rHSA)係用作填充用替代蛋白質。用與凍乾目標構築體相同的方法、組成及密度製得凍乾rHSA (lyo-rHSA)，其中每一膠囊之目標API為20 mg (等效於56 mg凍乾組合物)。

【0489】 Profill膠囊填充系統用於產生七種不同摻合物(**表26**)，包括凍乾藥物物質(僅含有凍乾rHSA)以及另外具有其他賦形劑，諸如甘胺酸及蔗糖之凍乾藥物物質。

表26 - Profill摻合物

混合物	目標填充重量(mg)	目標填充膠囊重量(mg)	可接受膠囊% ± 5%	可接受膠囊% ± 7.5%
100% lyo-rHSA	56.4	118.0	53	82
95% lyo-rHSA，5%甘胺酸	59.4	121.0	65	78
90% lyo-rHSA，10%甘胺酸	62.6	124.4	45	63
80% lyo-rHSA，20%甘胺酸	70.4	132.0	29	42
95% lyo-rHSA，5% 2:1蔗糖:甘胺酸	59.4	121.0	61	75
90% lyo-rHSA，10% 2:1蔗糖:甘胺酸	62.8	124.4	57	66
80% lyo-rHSA，10% 2:1蔗糖:甘胺酸	70.4	132.0	55	69

【0490】 總之，ProFill為使用粉末，諸如凍乾之IL-10遞送構築體填充膠囊的可行系統。亦可作出不需要添加賦形劑以藉由ProFill達成粉末填充的結論。另外，來自不滿足重量目標之膠囊的粉末可經回收及再循環。

【0491】 **實例11：目標構築體及壓實賦形劑之相容性篩選**

【0492】 在乾燥(粉末)狀態下評估各種錠劑賦形劑與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之相容性。

【0493】 將呈乾燥狀態之IL-10遞送構築體(使用先前判定為具有最

佳總體穩定性之配方緩衝液(10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5)開發之IL-10遞送構築體藥物物質，或DS，如實例5中所述)與各個別賦形劑摻合，且接著在分析之前在40℃下靜置培育72小時。各樣品之組成及分析概述描述於**表27**中。將IL-10遞送構築體DS及賦形劑(各為相等重量，1:3比率之API:賦形劑)置於加蓋之4 mL硼矽玻璃小瓶中且使用TURBULA®系統摻合2分鐘，接著將樣品在40℃下於加蓋之4 mL硼矽玻璃小瓶中靜置培育72小時。粉末摻合物接著用PBS復原為IL-10遞送構築體之0.5 mg/mL溶液。接著將樣品穿過0.2 μm過濾器，隨後進行SEC分析(**圖18**)。在粉末狀態下未觀測到與目標構築體不相容。

表27-乾混之IL-10遞送構築體/賦形劑粉末的組成及SEC分析

組成					SEC分析		
樣品編號	賦形劑	級別	重量(mg)	API重量(mg)	HMW	二聚體	單體
1	僅DS	NA	0	12	10.1	81.5	7.1
2	矽化微晶纖維素	Prosolv SMCC 90	36	12	11.7	82.4	5.9
3	交聯聚維酮	Kollidon CL	36	12	11.7	80.3	8
4	單水合乳糖	Ligamed	36	12	12.2	81.2	6.7
5	MCC	VIVAPUR	36	12	12.7	81.0	6.2
6	山嵛酸甘油酯	COMPRITOL	36	12	12.3	80.1	7.6
7	硬脂酸鎂	Ligamed	36	12	11.5	79.2	9.3
8	交聯羧甲纖維素鈉	VIVASOL GF	36	12	12.9	79.2	7.8
9	澱粉	Aldrich	36	12	12.5	80.8	6.7

【0494】 對於錠劑製造，使材料經受壓實及壓縮過程。對於具有潛在敏感之三級及四級結構的蛋白質藥物，出於蛋白質完整性保留，需要研究此等機械應力。

【0495】 針對錠劑形成之初始步驟評估IL-10遞送構築體之相容性。進行摻合及壓實過程。在各情況下進行輥壓及結塊，後續碾磨為顆粒。在**表28**中示出各配方之組成。為了探究賦形劑功能性及相容性，在三種配方中包括不同賦形劑。

表28-用於壓實/粒化之初始配方的組成；IG=顆粒內組合物；EG=顆粒外組合物。%值為w/w且為標稱值(未針對蛋白質含量校正)

	F1配方			F2配方			結塊/粒化配方		
組分	標識	IG (%)	EG (%)	標識	IG (%)	EG (%)	標識	IG (%)	EG (%)
活性成分	SEQ ID NO: 5	8.00	-	SEQ ID NO: 5	8.00	-	SEQ ID NO: 5	17.31	-
增積劑	SMCC	68.00	18.35	DCP/MCC	68.00	18.35	蔗糖	72.32	-
崩解劑	交聯聚維酮	3.00	1.00	交聯羧甲纖維素鈉	3.00	1.00	交聯聚維酮	3.24	1.94
潤滑劑	硬脂酸鎂	1.00	0.25	硬脂酸鎂	1.00	0.25	山嵛酸甘油酯	3.24	1.94

【0496】 在**表29**中示出來自2種預摻合配方(F1及F2)之結果。在2種力下進行輥壓，且將所得條帶分別粒化。材料在PBS中以0.65 mg/mL SEQ ID NO: 5復原且經0.2 μm過濾器(Advantec)過濾，隨後進行SEC分析。亦將樣品在40℃下培育兩週，隨後進行復原及分析。

表29-配方F1及F2在粒化過程期間的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度；在小規模裝置上以2種力輥壓。經由1.2 μm篩進行粒化。

中間物	室溫(RT)二聚體純度 F1	F2	40℃二聚體純度 F1	F2
藥物物質(DS)	75.9		78.6	
預摻合物	75.1	73.7	77.3	76.3
條帶(低力)	72.5	74.4	76.1	74.5
條帶(高力)	71.6	71.1	73.7	72.6
顆粒(低力)	74.3	74.6	74.5	72.6
顆粒(高力)	74.5	73.8	71.9	72.4

【0497】 F1及F2中間物之二聚體純度資料指示由此等加工步驟所致之差異極小，且40℃培育之後的值與初始樣品類似。儘管如此，相比於藥物物質，各過程中間物展示略微降低之二聚體純度。

【0498】 對於在結塊/粒化過程中產生之中間物進行相同分析(**表30**)。除了不同的壓實方法之外，結塊/粒化批料的黏合劑及潤滑劑組成不同。樣品二聚體純度在過程內樣品之間展示極小至無差異，且二聚體純度

相比於藥物物質僅略微下降。此表明結塊/粒化樣品之組成及方法維持IL-10遞送構築體完整性。

表30-結塊/粒化配方在粒化過程內的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度

中間物	藥物物質(DS)	篩分之DS	預混摻合物	最終摻合物	塊	顆粒
純度	81.2	79.5	79.4	80.4	79.3	78.9

【0499】 在PBS中復原之後，對所選過程中間物樣品進行穩定性評估(**圖95**)。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)溶液在實驗過程中在室溫下穩定，但當儲存於37℃下時展示顯著降解。大部分樣品展示與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) DS類似的溶液穩定性，但相比於來自結塊/粒化過程之樣品，F1及F2摻合物均展示較快降解。

【0500】 此等結果表明F1及F2配方之組分與SEQ ID NO: 5之相容性較差，或壓實過程可影響IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。

【0501】 為了鑑別F1/F2組合物中是否存在有害組分，針對與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在溶液中之相容性來評估個別賦形劑。將DS及單一賦形劑以0.3 mg/mL IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)懸浮於PBS中。將樣品在37℃下振盪培育5小時，定期抽取樣品用於SEC分析。結果展示於**圖96**中。

【0502】 大部分樣品展示與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) DS類似的降解，但在F1/F2組合物中用作潤滑劑之硬脂酸鎂的存在使得IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)降解速率顯著增加。值得注意的是，二山嵛酸甘油酯未對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度展示不良影響。

【0503】 硬脂酸鎂具有離子界面活性劑樣特性，而山嵛酸甘油酯為非離子界面活性劑。為了進一步表徵潤滑劑相容性，評估一系列額外潤滑

劑候選物。結果展示於**圖97**中。

【0504】 硬脂醯反丁烯二酸鈉(與硬脂酸鎂相關之脂肪酸鹽)使得IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之降解略微加速。具有強陰離子硫酸基團之月桂酸硫酸鈉在混合後立即降解IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。

【0505】 實例12：用於錠劑產生之壓縮力的篩選

【0506】 不同壓縮力用於產生F1錠劑(**表31**)及F2錠劑(**表32**)。亦在壓實為錠劑之後檢查目標構築體之二聚體純度。目標構築體蛋白質針對壓實及粒化為穩定的，儘管在最終錠劑形式中觀測到一些聚集(**圖19**)。亦在各種錠劑於pH 7.0下溶解之後評估二聚體回收(**圖20A-圖20D**)。

表31-F1錠劑特性

產品	壓縮力，lb.f	厚度，毫米	脆度篩選(n=1)，%(± 0.5%)	硬度，kp	崩解(片段)，37℃
IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，F-1錠劑來自最終摻合物批次#44A	2,000	4.04	0.0	18.4	2分鐘45秒：溶脹+侵蝕
	2,500	3.88	0.0	25.0	10分鐘：起初略微溶脹，接著緩慢侵蝕
	3,000	3.83	0.0	26.5	14分鐘30秒：緩慢侵蝕
	3,500	3.80	0.0	27.1	16分鐘：緩慢侵蝕

表32-F2錠劑特性

產品	壓縮力，lb.f	厚度，毫米	脆度篩選(n=1)，%(± 0.5%)	硬度，kp	崩解(片段)，37℃
IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，F-2錠劑來自最終摻合物批次#46A	2,000	3.74	0.0	14.4	1分鐘10秒：快速崩解為細粒
	2,500	3.61	0.0	16.2	10分鐘：略微溶脹 3分鐘：侵蝕
	3,000	3.49	0.0	20.4	5分鐘30秒：緩慢侵蝕
	3,500	3.49	0.0	20.4	7分鐘：緩慢侵蝕

【0507】 產生額外錠劑(F3)，其與F1錠劑類似，但替代硬脂酸鎂具有二山嵛酸甘油酯(**表33**)。由於硬脂酸鎂在將目標構築體溶解於溶液中的

不相容性而進行此取代。

表33-F3錠劑組合物F3

相	成分	級別	比例，%	每錠之質量，mg	以g為單位之量，針對15 g批料
IG	IL-10遞送構築體	n/a	8.000%	16	1.2000
	SMCC	Prosolv SMCC 90	68.000%	136	10.2000
	交聯聚維酮	Kollidon CL	3.000%	6	0.4500
	二山嵛酸甘油酯	Compritol 888 ATO	1.000%	2	0.1500
EG	SMCC	Prosolv SMCC 90	18.750%	37.5	2.8125
	交聯聚維酮	Kollidon CL	1.000%	2	0.1500
	二山嵛酸甘油酯	Compritol 888 ATO	0.250%	0.5	0.0375
	總核心重量		**100.000%**	**200**	**15.0000**

【0508】 **實例13：評估口服膠囊包衣配方在健康個體中之活體內效能**

【0509】 研究之主要目標為：使用閃爍攝影方法評估膠囊包衣配方之單一口服劑量的活體內效能，及使用閃爍攝影方法比較在進食及禁食狀態下之所選膠囊包衣配方之單一口服劑量的活體內效能。研究之次要目標為：提供關於膠囊包衣配方在經口投與之後的安全性之資訊。研究之探索性目標為：收集SmartPill®轉運穿過腸時各研究個體之禁食pH、溫度及壓力概況。

【0510】 *研究設計*

【0511】 此為健康個體中之單中心、開放標記、非隨機、連續、單劑量、四期、閃爍攝影成像研究。登記12個個體之單一組。各個體接受如**表34**中所概述之方案。施加至0號膠囊之膠囊包衣配方描述於**表35**中，且預測在迴腸、近端結腸(隨後+1)或遠端結腸(隨後+2)中出現IL-10遞送構築體之釋放。口服膠囊包衣配方以意圖用於經口投與之包覆腸溶包衣的0

號膠囊形式供應。此研究檢查膠囊包衣配方且不檢查SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體。此研究中之膠囊不含任何活性成分。在劑量之間存在3天最小清除期。在第3期之後，存在來自先前時期之安全性及閃爍攝影術資料的中期分析及審查期，以確定應選擇何種膠囊包衣配方在第4期中於進食狀態下投與。

表34-向健康患者投與之方案

時期	方案	測試產品(TP)劑量
1	A	膠囊包衣配方1，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下
2	B	膠囊包衣配方2，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下
3	C	膠囊包衣配方3，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下
4	D	膠囊包衣配方1、2或3，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下

^{111}In：銦-111，NMT：不超過；MBq：兆貝克

表35-用於閃爍攝影術研究之包衣配方

編號	腸溶包衣組成(L30D55/FS30D)	腸溶包衣厚度(mg)	HPMC厚度(mg)	預測之釋放
1	50/50	75	10	迴腸
2	30/70	75	10	隨後+1
3	20/80	40	10	隨後+2

【0512】 在第1期中進行給藥之前至多28天關於參與研究之合格性篩選個體。對於各治療期，合格的個體在給藥(第1天)之前一天的晚上入住臨床單位。個體在隔夜禁食最少10小時(方案A、B及C)之後或在高脂早餐(方案D)之後於第1天上午接受配方。在第1天在基於閃爍攝影成像要求適當的個體間時間間隔(例如大約10分鐘)下進行投與。基於數理邏輯來確定開始時間。個體保持駐留在臨床單位直至給藥後24小時。在各禁食方案期間，4個個體緊接在投與口服膠囊之後接受SmartPill®膠囊。各個體僅在一個方案中接受SmartPill；個體001至004在方案A中接受SmartPill®，

個體005至008在方案B中接受SmartPill®且個體009至012在方案C中接受SmartPill®。若仍自原位之SmartPill®擷取資料，則個體在下一給藥時刻不進行給藥。各產品投與之間存在最少3天的清除期。在所有時期中，與各放射性標記之測試產品(TP)一起投與99mTc-DTPA飲品，以提供胃腸道之輪廓以便能夠進行閃爍攝影分析。在最終劑量後5至7天將進行電話回訪以確保個體持續健康。

【0513】 *γ閃爍攝影術*

【0514】 對於所有方案，以規律時間間隔收集持續大約50秒之前雙同位素影像，直至給藥後24小時。來自經99mTc-DTPA放射性標記之飲品的影像僅用於提供胃腸道輪廓且不進行分析。進行定性閃爍攝影資料分析以確定以下參數：自膠囊之初始放射性標記釋放的時間及解剖位置，及自膠囊之完全放射性標記釋放的時間及解剖位置。放射性標記釋放之解剖位置由以下各者界定：胃、近端小腸、遠端小腸、升結腸(包括肝曲)、橫結腸(包括脾曲)及降結腸(包括乙狀結腸及直腸)。在完全放射性標記釋放之前，膠囊轉運穿過胃腸道之定性閃爍攝影評估係藉由分析以下參數來進行：胃排空時間及結腸到達時間。在完全放射性標記釋放之後，不評估另外的轉運參數。

【0515】 *pH遙測膠囊*

【0516】 在各禁食方案期間，四個個體緊接在投與TP之後接受SmartPill®膠囊。各個體僅在一個方案中接受SmartPill®。SmartPill®膠囊為市售以供醫師用於診斷目的之單次用可吸收膠囊。在可吸收膠囊上之感測器在膠囊於胃腸道之長度中行進時量測pH、溫度及壓力。經由434 MHz之振幅移位鍵控調製射頻信號將量測值自胃腸道內之膠囊傳輸至個體

佩戴之資料接收器且隨後在膠囊穿過後下載至膝上型電腦用於分析及審查。MotiliGI™軟體自動進行資料分析且以含有胃排空時間及運動指數的可列印報告提供給醫師。SmartPill®膠囊通常在幾天內穿過。

【0517】 經包覆安慰劑膠囊及SmartPill®之形狀、尺寸及重量不相同，因此，2個膠囊可能不在恰好相同的時間轉運穿過胃腸道。然而，SmartPill®提供允許表徵來自不同腸區域之pH、壓力及溫度資訊的資料。

【0518】 *結果*

【0519】 在投與膠囊包衣配方1之後，以給藥後2.675小時之平均值觀測到初始放射性標記釋放(**表36、表37；圖32A**)。在大致1.1小時後達成完全放射性標記釋放，平均時間為給藥後3.758小時(**表36、表37；圖32B**)。注意到崩解之解剖位置為高度可變的，對於初始釋放在胃至升結腸(AC)範圍內(**圖33A**)，且對於完全釋放在胃至降結腸(DC)範圍內(**圖33B**)。

【0520】 在投與膠囊包衣配方2之後，以給藥後4.903小時之平均值觀測到初始放射性標記釋放(**表36、表38；圖32A**)。與膠囊包衣配方1類似，在大約1.3小時後出現完全放射性標記釋放，平均時間為給藥後6.176小時(**表36、表38；圖32B**)。初始(**圖33A**)及完全(**圖33B**)崩解之解剖位置顯示較少變化，其中所有放射性標記釋放出現在遠端小腸(DSB)與AC之間。

【0521】 在投與膠囊包衣配方3之後，初始放射性標記釋放在比膠囊包衣配方2略微更早的時間(給藥後4.082小時處)出現(**表36、表39；圖32A**)。與膠囊包衣配方1及2類似，注意到在大約1.2小時後出現完全放射

性標記釋放，平均時間為給藥後5.308小時(**表36、表39；圖32B**)。崩解之解剖位置比膠囊包衣配方1之解剖位置更不可變，但比針對膠囊包衣配方2注意到的解剖位置更可變。初始釋放在近端小腸(PSB)至AC範圍內(**圖33A**)，而完全釋放在DSB至橫結腸(TC)範圍內(**圖33B**)。

表36-在投與口服膠囊包衣配方之後，健康志願者中之初始及完全放射性標記釋放之時間及位置的定性閃爍攝影參數。

	初始放射性標記釋放*(給藥後的小時數)	初始位置類別a (n)	完全放射性標記釋放*(給藥後的小時數)	完全位置類別[a] (n)	崩解持續時間(小時)
方案A 膠囊包衣配方1 (N=12)	2.675 (1.140)	胃(n=1) 胃/PSB (n=1) PSB (n=2) DSB (n=5) DSB/AC (n=1) AC (n=2)	3.758 (1.736)	胃(n=1) PSB (n=2) DSB (n=5) DSB/AC (n=1) AC (n=1) TC (n=1) DC (n=1)	1.083 (0.857)
方案B 膠囊包衣配方2 (N=12)	4.903 (1.298)	DSB (n=9) AC (n=3)	6.176 (2.289)	DSB (n=5) DSB/AC (n=2) AC (n=5)	1.273 (1.444)
方案C 膠囊包衣配方3 (N=12)	4.082 (1.769)	PSB (n=1) DSB (n=8) DSB/AC (n=1) AC (n=2)	5.308 (2.738)	DSB (n=8) AC (n=3) TC (n=1)	1.226 (1.454)

*平均值(±SD)

[a]由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

表37-在投與口服膠囊包衣配方1之後，健康志願者中之定性閃爍攝影參數(方案A)

個體編號	初始放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在初始釋放時的解剖位置[a]	完全放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在完全釋放時的解剖位置[a]	崩解持續時間(小時)
001	2.63	PSB	4.13	DSB	1.50
002	1.63	DSB	2.88	DSB	1.25
003	2.14	DSB	2.39	DSB	0.25
004	2.38	PSB	2.88	PSB	0.50
005	2.13	胃	2.38	胃	0.25
006	5.13	AC	7.88	DC	2.75
007	3.88	AC	4.13	AC	0.25
008	4.13	DSB/AC	5.88	TC	1.75
009	1.38	胃/PSB	1.63	PSB	0.25
010	2.88	DSB	4.13	DSB	1.25
011	1.89	DSB	4.15	DSB/AC	2.26
012	1.90	DSB	2.64	DSB	0.74
平均值	2.675		3.758		1.083
SD	1.140		1.736		0.857
中值	2.260		3.505		0.995
Min	1.38		1.63		0.25
Max	5.13		7.88		2.75
n=	12		12		12

[a] 由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

表38-在投與口服膠囊包衣配方2之後，健康志願者中之定性閃爍攝影參數(方案B)

個體編號	初始放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在初始釋放時的解剖位置[a]	完全放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在完全釋放時的解剖位置[a]	崩解持續時間(小時)
001	5.88	AC	6.13	AC	0.25
002	6.88	AC	11.50	AC	4.62
003	3.13	DSB	4.38	AC	1.25
004	4.14	DSB	4.40	DSB	0.26
005	6.14	DSB	6.89	DSB	0.75
006	5.88	DSB	9.53	DSB/AC	3.65

007	4.38	DSB	5.13	DSB	0.75
008	4.38	DSB	5.13	DSB	0.75
009	4.13	DSB	4.38	DSB/AC	0.25
010	3.88	DSB	4.13	DSB	0.25
011	3.39	DSB	5.38	AC	1.99
012	6.63	AC	7.13	AC	0.50
平均值	4.903		6.176		1.273
SD	1.298		2.289		1.444
中值	4.380		5.255		0.750
Min	3.13		4.13		0.25
Max	6.88		11.50		4.62
n=	12		12		12

[a] 由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

表39-在投與口服膠囊包衣配方3之後，健康志願者中之定性閃爍攝影參數(方案C)

個體編號	初始放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在初始釋放時的解剖位置[a]	完全放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在完全釋放時的解剖位置[a]	崩解持續時間(小時)
001	5.63	DSB	5.63	DSB	0.00
002	3.64	DSB	3.88	DSB	0.24
003	8.50	AC	11.50	TC	3.00
004	5.38	DSB	8.50	DSB	3.12
005	3.88	DSB	4.63	DSB	0.75
006	3.38	AC	3.63	AC	0.25
007	4.15	DSB/AC	8.51	AC	4.36
008	1.88	DSB	3.38	DSB	1.50
009	3.65	DSB	4.14	AC	0.49
010	3.88	DSB	4.13	DSB	0.25
011	2.63	PSB	2.88	DSB	0.25
012	2.38	DSB	2.88	DSB	0.50
平均值	4.082		5.308		1.226
SD	1.769		2.738		1.454
中值	3.765		4.135		0.495
Min	1.88		2.88		0.00
Max	8.50		11.50		4.36
n=	12		12		12

[a] 由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；

包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

【0522】 實例14：評估IL-10遞送構築體在喔唑酮誘導之Th2潰瘍性結腸炎小鼠模型中之功效

【0523】 發炎性腸病(IBD)、克羅恩氏病(CD)及潰瘍性結腸炎(UC)為特徵在於胃腸(GI)道發炎之慢性復發性病症。IBD患者遭受進行性及致衰弱症狀，該等症狀由遺傳貢獻、環境因素及由黏膜免疫系統引發的對內腔抗原之不當宿主發炎性反應的複合相互作用產生。

【0524】 細胞介素控制涉及建立及/或維持促炎性或抗炎性偏向之免疫反應的許多態樣，該偏向控制健康及疾病之許多態樣。沿著胃腸(GI)道，免疫調節細胞對多種環境刺激作出回應，且對回應於致病性抗原而引發促炎性信號級聯負責。上皮細胞及侷限於胃腸道之下層固有層的細胞對控制此組織之發炎狀態的多種細胞介素作出回應。在GI相關之IBD，包括UC及CD的情況下，促炎性路徑之活化似乎太容易出現，且解決此等事件以維持GI穩態係不足的。因此，IBD病況之發作、進展及消退係藉由促炎性及抗炎性細胞介素之平衡來調節。藉由經由環境損害之作用操縱GI相關之促炎性細胞介素，有可能建立再生IBD患者中觀測到的許多病理生理學態樣的臨床前動物模型。

【0525】 喔唑酮誘導之鼠類結腸炎表示評估IBD之潛在治療的可靠系統，其中環境損害用於激發急性發炎性病況。其特徵在於限於與潰瘍相關之黏膜表面層的混合嗜中性白血球及淋巴細胞浸潤。在此模型中，周邊預致敏之後為經直腸滴注半抗原化劑，喔唑酮。此致敏/活化方案引起Th2介導之免疫反應，該免疫反應之特點為組織介白素(IL)-4及IL-5分泌增

加，反映UC之區別性分子標誌。重要的是，喔唑酮暴露亦增加在發炎中起作用之其他組織細胞介素，包括趨化因子單核球趨化蛋白(MCP)-1、巨噬細胞發炎蛋白(MIP)-1β、生長因子顆粒球-群落刺激因子(G-CSF)及促炎性細胞介素腫瘤壞死因子(TNF)-α及IL-1α。促炎性細胞介素及趨化因子之全身濃度一般亦在IBD患者中升高；特定言之，TNF-α分泌可與疾病嚴重性相關。因此，血漿細胞介素之取樣可反映腸道發炎及藥物功效以及幫助闡明藥物之作用機制。

【0526】 此研究之目標為：(1)藉由評估研究終止時之多個生存期疾病參數(體重減輕、大便堅實度、隱血)、存活率、屍體剖檢後結腸形態(重量及長度)及結腸組織病理學來評估藉由經口管飼遞送之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)溶液預防小鼠之喔唑酮誘導之結腸炎的能力；(2)經由結腸TNF-α、NFκB、IL-4、CD4及Foxp3之免疫組織化學染色來評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於經分離腸組織中之消炎功效及機制；及(3)藉由使用Luminex及Meso Scale Discovery(MSD)平台量測細胞介素及趨化因子之血漿濃度來評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之消炎作用。

【0527】 *方法*

【0528】 雌性SJL/J小鼠係獲自The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine 04609 USA。在研究開始時，小鼠為7-8週齡，稱重為18-22 g。將小鼠維持在受控環境中，溫度為70-72°F，濕度為30-70%，且光循環為12小時光照及12小時黑暗。向小鼠任意提供TEKLAD 2018-Global 18%飼料及Arrowhead飲用水。使小鼠適應七天之時段。

【0529】 由Invitek Inc. (Hayward, CA)進行小鼠中之結腸炎誘導及

治療。小鼠在第-5天於一塊背側皮膚上用含3%喔唑酮(Sigma Aldrich, USA；目錄號：E0753)之100%乙醇預致敏且在第0天用含1%喔唑酮之40%乙醇進行直腸內刺激。對照小鼠(初始)用100%乙醇(第-5天)及40%乙醇(第0天)治療。在第-5天至第6天藉由經口管飼(10 mL/kg)IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (8.45 mg/kg)、胺基水楊酸鹽(5-ASA，100 mg/kg，溶解於水中；Sigma Aldrich, USA；目錄號：A3537)或IL-10遞送構築體之媒劑對照一天一次地治療小鼠。實驗設計及組編號概述於**表40**中。記錄每日體重及疾病參數(大便堅實度、隱血陽性)以產生疾病活動性指數(DAI)。在第7天於研究終止時收集血漿及結腸組織。在固定之前量測結腸重量及長度。

表40 - 實驗設計

組	描述	N	投與途徑	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (ml/kg)	給藥頻率
1	對照，無喔唑酮(初始)	5	p.o.	n/a	10	q.d.，第-5至+6天
2	喔唑酮治療+經口管飼媒劑(媒劑)	10	p.o.	n/a	10	q.d.，第-5至+6天
3	IL-10遞送構築體	15	p.o.	8.45	10	q.d.，第-5至+6天
4	5-ASA	15	p.o.	100	10	q.d.，第-5至+6天

【0530】 由IDEXX Reference Laboratories, Inc進行近似近端、中段及遠端結腸之福馬林固定及石蠟包埋之橫切面的蘇木精及曙紅染色及其組織病理學評分。根據發炎、白血球浸潤、血管密度、結腸壁厚度、隱窩膿腫之存在及杯狀細胞及潰瘍之存在來評估結腸炎之存在及嚴重度評分。

【0531】 經治療小鼠之近端、中段及遠端結腸區域(各2個切片)之福馬林固定及石蠟包埋之橫切面由HistoTox (Boulder, CO)進行處理，以對小鼠NF-kB p65、TNF-α、IL-4、CD4、Foxp3進行IHC染色。使用

Visiopharm軟體，使用以下程序對數位切片影像進行影像分析。使用成像濾波器處理組織以將陽性染色與對比染色分離，接著使用定限方法對處理之影像進行分類，其中基於與陽性染色組織相關之像素值來確立臨限值。藉由分析經標記影像來確定陽性染色量的定量；藉由陽性組織之面積除以總組織面積以得到陽性量度來計算陽性%。

【0532】使用V-plex Proinflammatory Panel 1 Mouse Kit來定量血漿細胞介素。使用來自小鼠IL-1Ra/IL-1F3 DuoSet ELISA (R&D Systems #DY480)、抗生蛋白鏈菌素SULFO-TAG Labeled (MSD #R32AD-1)、Multi-Array 96 Plate Pack、SECTOR Plate MSD #L15XA-3及Read Buffer T (4×) (MSD #R92TC-2)之抗體對藉由夾心免疫分析來定量血漿IL-1Ra。在QuickPlex SQ 120盤讀取器(Meso Scale Discovery, Rockville, MD)上讀取樣品。

【0533】在Stanford University之Human Immune Monitoring Center進行Luminex分析。小鼠38 plex套組係購自eBiosciences/Affymetrix且根據製造商之建議伴以如本文所述之修改來使用。將珠粒添加至96孔盤且在Biotek ELx405洗滌器中洗滌。將樣品添加至含有混合抗體連接珠粒之盤且在室溫下培育1小時，接著在4℃下振盪隔夜培育。在定軌振盪器上以500-600 rpm進行低溫及室溫培育步驟。在隔夜培育之後，將盤在Biotek ELx405洗滌器中洗滌且接著在室溫下持續75分鐘振盪添加生物素標記之偵測抗體。如上地洗滌盤且添加抗生蛋白鏈菌素-PE。在室溫下培育30分鐘之後，如上地進行洗滌且將讀取緩衝液添加至孔中。一式兩份地量測各樣品。使用Luminex 200儀器以50個珠粒/樣品/細胞介素之下限讀取盤。將Radix Biosolutions之定製分析對照珠粒添

加至所有孔。

【0534】使用Prism 5.0 (Invitek資料)或Prism 7.0 (GraphPad Software, Inc.)進行統計分析。使用單因素變異數分析或雙因素變異數分析，接著使用包法隆尼(Bonferroni)、圖基(Tukey)或鄧尼特(Dunnett)事後測試來分析資料。P值<0.05係視為顯著。

【0535】*結果*

【0536】喔唑酮誘導之結腸發炎與體重顯著減輕及存活率降低相關(媒劑對照相對於初始對照組；**圖35**及**圖36**)。發現此體重減輕係藉由用5-ASA治療減弱(第4-7天之$p < 0.05$)；然而，未在接受IL-10遞送構築體之小鼠中偵測到統計差異(**圖35**)。相對於媒劑，IL-10遞送構築體治療提高存活率(3%增加)，而5-ASA治療使得存活率更顯著提高(10%)，(**圖36**)。未在任一組之間偵測到大便堅實度或隱血陽性(存在便血)之差異(資料未示出)。喔唑酮治療誘導經媒劑治療之小鼠中之結腸發炎，如由組織病理學嚴重度評分指示，該結腸發炎藉由用IL-10遞送構築體治療減輕($p < 0.05$；媒劑相對於IL-10遞送構築體)，但未藉由用5-ASA治療減輕(**圖37**)。喔唑酮治療亦顯著增加媒劑組中之結腸重量，其藉由IL-10遞送構築體及5-ASA之存在改善(分別為$p < 0.01$及$p < 0.001$)，(**圖38A**)。相比於經媒劑治療之動物，針對隱血陽性(**圖38B**)、大便堅實度(**圖38C**)及疾病活動性指數(**圖38D**)觀測到用遞送構築體治療之改善。觀測到巨噬細胞群落刺激因子1 (MCSF，**圖38E**)、IL12 p70蛋白(**圖38F**)及IL-3 (**圖38G**)之治療介導之血清含量增加抑制。

【0537】NFκB為在發炎中起主要作用之轉錄因子；經由NFκB之信號傳導調節促炎性細胞介素IL-1β、IL-6及TNF-α。為了理解IL-10遞送構

築體之局部效應，藉由IHC在結腸切片中分析TNF-α、NF-kB、IL-4、CD4及Foxp3之蛋白質表現(**圖39A-圖39E**)。由喔唑酮誘導之發炎(由媒劑治療組表示)產生朝向結腸中表現CD4之細胞之數目增加的趨勢。此資料指示存在較大數目之活化CD4+ T細胞，其可包括Th2效應細胞，該等細胞為此模型中之發炎的主要驅動因子。亦發現媒劑組中之Foxp3表現增加(356%，相對於初始動物)。然而，如同5-ASA，用IL-10遞送構築體治療不對探究之蛋白質中之任一者的表現引發任何顯著效應。

【0538】 為了進一步評估IL-10遞送構築體功效及理解其作用機制，使用Luminex陣列來測定38個趨化因子、生長因子、抗炎性細胞介素及促炎性細胞介素之循環濃度。相比於未暴露於喔唑酮之動物(初始組)，喔唑酮誘導之結腸炎(媒劑組)不引起此等分子之血漿含量的統計顯著變化。然而，觀測到相比於初始組，患有喔唑酮誘導之結腸炎的動物中之促炎性細胞介素IL-6及IL-23之血漿含量增加的趨勢(**圖40A-圖40B**)；此等細胞介素之血漿含量在IBD中升高。

【0539】 在5-ASA及IL-10遞送構築體治療之情況下觀測到喔唑酮誘導促炎性細胞介素IL-6及IL-23之趨勢的抑制(**圖40A-圖40B**)。相比於媒劑對照組，防治性IL-10遞送構築體治療使得血漿IL-23及IL-6濃度分別降低73%及33%。

【0540】 使用MSD電化學發光免疫分析之高靈敏度來確定在發炎中起關鍵效應或調節作用之10種細胞介素及趨化因子的血漿濃度(**圖41A-圖41J**)。喔唑酮誘導結腸炎產生除了IL-5之外的所有細胞介素之含量增加的趨勢，但無任一者達到統計顯著性(可能由於媒劑對照組中觀測到的高變化性)。相對於媒劑對照組，IL-10遞送構築體顯著降低IL-1β及IL-2之表

現($p < 0.05$)且展現抑制IL-4 (62%)、IL-6 (61%)、IL-12p70 (65%)及嗜中性白血球趨化KC/GRO (51%)誘導的趨勢。

【0541】 *論述*

【0542】 此活體內功效研究評估藉由經口管飼投與之8.45 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)預防(防治性治療模式)由半抗原噁唑酮引起之化學誘導結腸炎發展的能力。IL-10遞送構築體治療在此模型中展現功效，如由對結腸重量及組織病理學嚴重度評分之有益效應所證明，結腸重量及組織病理學嚴重度評分為藉由在小鼠中誘導結腸炎之此模型先前確立之相關病理性疾病指數。不受任何特定理論束縛，此等觀測結果可能歸因於IL-10遞送構築體對固有層之直接效應。

【0543】 在分子含量下，噁唑酮增加結腸內表現CD4及FoxP3之T細胞的數目。然而，此噁唑酮誘導之結腸發炎模型未引發一般與UC中之免疫反應相關的趨化因子及細胞介素之顯著級聯。不存在穩定反應可歸因於治療組內存在高變化性。

【0544】 *結論*

【0545】 總之，結果共同表明以8.45 mg/kg (mpk)口服給藥溶液形式遞送之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的防治性治療能夠抑制小鼠中之噁唑酮誘導之結腸炎，如由UC之臨床症狀評估。儘管經口遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對結腸內之免疫表現圖譜不具有明顯效應，但亞慢性給藥確實引發與腸道發炎相關之全身促炎性細胞介素的顯著及趨向性抑制。

【0546】 實例15 - IL-10遞送構築體在噁唑酮及葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導之潰瘍性結腸炎之鼠類模型中的劑量-反應功效

【0547】 DSS誘導之實驗性結腸炎小鼠模型採用在飲用水中遞送具有抗凝劑特性之化學結腸炎原。損害導致大腸之上皮單層受損且促炎性腸內含物分散至皮下組織中。此IBD研究模型由於其快速性及再現性而流行，且該模型可經操縱以取決於DSS濃度及投與頻率而引發急性、慢性及復發性IBD模型。

【0548】 實例13表明IL-10遞送構築體在防治性給藥時的治療潛能；8.45 mg/kg IL-10遞送構築體之口服給藥溶液針對預防結腸炎發展顯示中等功效，如藉由多個疾病參數所量測。

【0549】 在此實例中，噁唑酮及DSS誘導之結腸炎模型均用於評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之劑量-反應功效。將消炎劑5-ASA包括於研究內以充當抑制噁唑酮誘導之發炎的陽性對照。5-ASA由於其相對有效性、安全性及高耐受性已廣泛用於臨床以治療輕度至中度UC。免疫抑制劑環孢靈(CsA)用作DSS研究中之陽性對照；此治療在臨床上頻繁用於治療克羅恩氏病(CD)。

【0550】 為了評估吾人之給藥溶液的目標接合，將IL-1受體拮抗劑(IL-1Ra)評估為IL-10遞送構築體之候選藥效學生物標記。由上皮細胞、免疫細胞及脂肪細胞分泌，IL-1Ra結合IL-1受體但不能誘導信號傳導，因此拮抗IL-1介導之發炎。藉由活體內評估多個疾病參數來評估IL-10遞送構築體防治性治療之功效。另外，亦評估IL-10遞送構築體對隨著腸道發炎而改變的細胞介素及趨化因子之循環濃度的效應。

【0551】 此研究之目標為：(1)藉由評估多個生存期疾病參數(體重減輕、大便堅實度、隱血)、存活率、屍體剖檢後結腸形態(重量及長度)及結腸組織病理學來評估噁唑酮誘導之鼠類結腸炎中之IL-10遞送構築體

(0.3、1、3及9 mg/kg)的劑量-反應；(2)藉由評估生存期及屍體剖檢疾病參數及組織學來評估對DSS-結腸炎模型中之IL-10遞送構築體(0.3、3、10、30 mg/kg)的劑量反應；(3)藉由使用Luminex及MSD平台量測細胞介素及趨化因子之血漿濃度來評估IL-10遞送構築體之消炎功效及機制；及(4)藉由測定IL-1Ra之組織基因表現及血漿濃度及pSTAT3之組織濃度來評估潛在IL-10遞送構築體誘導之藥效學生物標記。

【0552】 *方法*

【0553】 將小鼠維持在受控環境中，溫度為70-72°F，濕度為30-70%，且光循環為12小時光照及12小時黑暗。向小鼠任意提供TEKLAD 2018-Global 18%飼料及Arrowhead飲用水。使小鼠適應七天之時段。

【0554】 進行小鼠中藉由嘮唑酮之結腸炎誘導及防治性治療。7-8週齡之雌性SJL/J小鼠在第-5天於一塊背側皮膚上用嘮唑酮於100%乙醇中之3%溶液(Sigma Aldrich, USA；目錄號：E0753)預致敏且在第0天用1%嘮唑酮於40%乙醇中之溶液進行直腸內刺激。在第-5天至第6天用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (0.3、1、3及9 mg/kg)、胺基水楊酸鹽(5-ASA，100 mg/kg；Sigma Aldrich, USA；目錄號：A3537)或媒劑對照(含10 mg/mL大豆胰蛋白酶抑制劑之200 mM碳酸氫鈉；IL-10遞送構築體配方緩衝液)之給藥溶液一天一次地經口治療動物。初始小鼠經預致敏且僅用乙醇刺激。記錄每日體重及疾病參數(大便堅實度、隱血陽性)以產生疾病活動性指數(DAI)。在第7天於研究終止時收集血漿及結腸組織。此研究係在非GLP條件下進行且根據INVITEK方案及INVITEK標準操作程序進行。嘮唑酮治療之實驗設計及組編號概述於**表41**中。

【0555】 鼠類結腸炎之DSS誘導係由Bolder BioPATH, Inc. (CO,

USA)進行。在第0天至第7天在飲用水中向雌性C57BL6/J小鼠(8-10週齡)任意給與2.5%聚葡萄糖硫酸鈉(w/v) (Spectrum，批次號2DC0020)。在第7天，用水替換DSS，且維持動物直至第10天。在第0天開始直至第10天向小鼠經口投與(q.d.) IL-10遞送構築體(0.3、3.0、10或30 mg/kg)、媒劑對照(含10 mg/mL大豆胰蛋白酶抑制劑之200 mM碳酸氫鈉；用於IL-10遞送構築體之配方緩衝液)或陽性對照環孢靈A (Teva，批次號4R506001)(其在Kolliphor EL (Sigma，C5135，批次號BCBP4773V)及1%羧甲基纖維素(CMC:BBP，批號2017，批次號3)中以75 mg/kg製備)，在第10天於給藥後4小時將其處死以收集血漿及組織。DSS治療之實驗設計及組編號概述於**表42**中。

表41-喔唑酮組及治療資訊

組	描述	N	投與途徑	劑量(mg/kg)	劑量體積(mL/kg)	給藥頻率
A	對照，無喔唑酮(初始)	5	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
B	喔唑酮+經口管飼媒劑(媒劑)	10	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
C	5-ASA (陽性對照l)	15	p.o.	100	10	q.d.，第-5至+6天
D	IL-10遞送構築體(9.0 mg/kg；藍色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
E	IL-10遞送構築體(3.0 mg/kg；綠色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
F	IL-10遞送構築體(1.0 mg/kg；紅色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
G	IL-10遞送構築體(0.3 mg/kg；紫色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天

表42-DSS組及治療資訊

組	描述	N	投與途徑	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (mL/kg)	給藥頻率
1	初始	5	n/a	n/a	n/a	n/a
2	媒劑	10	PO	n/a	10	q.d.，第0-10天
3	CsA	10	PO	75	10	q.d.，第0-10天
4	IL-10遞送構築體	10	PO	0.3	10	q.d.，第0-10天
5	IL-10遞送構築體	10	PO	3	10	q.d.，第0-10天
6	IL-10遞送構築體	10	PO	10	10	q.d.，第0-10天
7	IL-10遞送構築體	10	PO	30	10	q.d.，第0-10天

【0556】對於噁唑酮及DSS結腸炎研究，由Bolder BioPath (Boulder, CO)進行近似近端、中段及遠端結腸之福馬林固定及石蠟包埋之橫切面的蘇木精及曙紅染色。對於各區域，切割兩個等距切片且包埋於石蠟中。個別地評估各切片，且對於近端、中段、遠端及總結腸之值分別求平均值。藉由水腫、發炎、腺損失、糜爛、黏膜厚度及增生之存在盲法評估組織病理學，以得到加總評分。亦確定發炎性細胞浸潤之存在及淋巴聚集體計數及直徑。

【0557】在Stanford University之Human Immune Monitoring Center進行Luminex分析。小鼠38 plex套組係購自eBiosciences/Affymetrix且根據製造商之建議伴以如本文所述之修改來使用。將珠粒添加至96孔盤且在Biotek ELx405洗滌器中洗滌。將樣品添加至含有混合抗體連接珠粒之盤且在室溫下培育1小時，接著在4℃下振盪隔夜培育。在定軌振盪器上以500-600 rpm進行低溫及室溫培育步驟。在隔夜培育之後，將盤在Biotek ELx405洗滌器中洗滌且接著在室溫下持續75

分鐘振盪添加生物素標記之偵測抗體。如上地洗滌盤且添加抗生蛋白鏈菌素-PE。在室溫下培育30分鐘之後，如上地進行洗滌且將讀取緩衝液添加至孔中。一式兩份地量測各樣品。使用Luminex 200儀器以50個珠粒/樣品/細胞介素之下限讀取盤。將Radix Biosolutions之定製分析對照珠粒添加至所有孔。

【0558】 自喔唑酮發炎及經治療小鼠之接近遠端結腸區段(距直腸1-2 cm)提取RNA。RNA純度在260/280之吸光度比下確認為1.9-2.15且在260/230之吸光度比下確認為>1.7。使用RNeasy Mini Kit (Qiagen，#74106)及iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad，#1708891BUN)將RNA樣品逆轉錄為cDNA。使用Applied Biosystems PowerUp SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific，#A25777)在技術重複中進行小鼠*IL-1Ra*、*IL-1*β及*GAPDH*之RT-PCR分析。在**表43**中列出引子序列。轉錄物表現標準化為內部對照GAPDH之轉錄物表現，且使用ΔΔ-CT法計算倍數變化。

表43 - RT-PCR引子序列

引子名稱	序列	**SEQ ID NO:**
ms IL-1Ra-F	GCTCATTGCTGGGTACTTACAA	SEQ ID NO: 14
ms IL-1Ra-R	CCAGACTTGGCACAAGACAGG	SEQ ID NO: 15
ms IL-1β-F	CACAGCAGCACATCAACAAG	SEQ ID NO: 16
ms IL-1β-R	GTGCTCATGTCCTCATCCTG	SEQ ID NO: 17
ms GAPDH-F	TGTGTCCGTCGTGGATCTGA	SEQ ID NO: 18
ms GAPDH-R	CCTGCTTCACCACCTTCTTGA	SEQ ID NO: 19

【0559】 使用V-plex Proinflammatory Panel 1 Mouse Kit來定量血漿細胞介素。使用來自小鼠IL-1Ra/IL-1F3 DuoSet ELISA (R&D Systems #DY480)、抗生蛋白鏈菌素SULFO-TAG Labeled (MSD #R32AD-1)、Multi-Array 96 Plate Pack、SECTOR Plate MSD #L15XA-3及Read Buffer T (4×) (MSD #R92TC-2)之抗體對藉由夾心免疫分析來定量血漿

IL-1Ra。在QuickPlex SQ 120盤讀取器(Meso Scale Discovery, Rockville, MD)上讀取樣品。

【0560】Human IL-10 Base套組(MSD #K151AOA-4)用於量測血漿中之rhIL-10。此免疫分析中之抗人類IL-10捕捉及偵測抗體對不與小鼠IL-10反應，但與人類IL-10反應。在使用之前將MSD Small Spot IL-10盤與稀釋劑41 (25微升/孔)一起在室溫下振盪培育30分鐘。對照及樣品用彙集之CD-1小鼠血漿(BioIVT，定製訂單)稀釋2倍，且亦在小鼠血漿中製備校準標準物。添加標準物、稀釋樣品及對照(25微升/孔)，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用磷酸鹽緩衝鹽水伴以Tween-20 (PBST)洗滌3次，且將25微升/孔之1× SULFO TAG抗人類IL-10抗體(在稀釋劑45中製備)添加至盤中。將盤在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，添加150微升/孔之2×MSD讀取緩衝液，且在MSD Sector Imager 600盤讀取器中讀取盤。

【0561】使用Prism 5.0 (Invitek資料)或Prism 7.0 (GraphPad Software, Inc.)進行統計分析。對於噁唑酮研究，使用單因素變異數分析或雙因素變異數分析，接著使用包法隆尼、鄧尼特或圖基事後測試來分析資料。分析DSS-資料，使用單因素變異數分析，接著使用鄧尼特事後測試來分析參數資料，或使用克拉斯卡-瓦立斯測試(Kruskal-Wallis test)與鄧恩事後測試來分析非參數資料。P值<0.05係視為顯著。

【0562】*結果：噁唑酮誘導之結腸炎*

【0563】噁唑酮誘導之結腸發炎導致顯著體重損失(至多15%)及存活率降低(**圖42**及**圖43**)。消炎劑5-ASA自損害後6天開始顯著減少噁唑酮誘導之體重減輕($p < 0.05$)。最高濃度(1、3及9 mg/kg)之IL-10遞送構築體

產生改善體重減輕之趨勢。在治療組之間未偵測到對反映大便堅實度及隱血陽性之DAI的顯著效應(**圖44**)。

【0564】 另外，喔唑酮誘導結腸長度減小及結腸重量增加，如由結腸重量/長度比增加反映(**圖45**)。藉由用5-ASA治療改善此增加；然而，IL-10遞送構築體在測試之任一劑量下均對結腸重量或長度不具有統計顯著效應。

【0565】 按照1-4之等級(1=極小，2=輕度，3=中度，4=顯著)對七個發炎參數(黏膜/黏膜下層發炎、糜爛、腺損失、增生、水腫、透壁性發炎、漿膜發炎)評分，以評估近端、中段及遠端結腸之組織病理學。基於此等七個參數之加總評分(組織學評分)，發現對於所有治療組，組織病理學在遠端結腸中最顯著且在近端結腸中最少(**圖46**)。當相比於媒劑對照時，所有測試劑量之IL-10遞送構築體均不在近端、中段或遠端結腸中誘導組織學評分之任何變化。

【0566】 除了總疾病參數以外，亦藉由評估38種生長因子、趨化因子及細胞介素之循環濃度來評估IL-10遞送構築體功效(**圖47A-圖47LL**)。喔唑酮治療誘導顆粒球群落刺激因子(GCSF，亦稱為群落刺激因子3或CSF3；**圖47A**)之血漿濃度增加，及朝向巨噬細胞趨化MIP1α (**圖47L**)及生長因子顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子(GMCSF；**圖47B**)及巨噬細胞集落刺激因子(MCSF；**圖47C**)增加的趨勢，其分別調動嗜中性白血球及巨噬細胞之釋放及分化。用陽性對照、5-ASA或IL-10遞送構築體進行之防治性預治療減少喔唑酮誘導之GCSF/CSF3增加。MSCF亦在IL-10遞送構築體之最高劑量下減少。亦針對MIP1α觀測到朝向減少的趨勢(**圖47L**)。用IL-10遞送構築體治療緩和了由喔唑酮誘導的LPS誘導性CXC趨化因子

(LIX，**圖47I**)、白血病抑制因子(LIF，**圖47E**)及IP10 (CXCL10，**圖47H**)含量的變化。

【0567】 除了影響先天免疫細胞以外，細胞介素亦控制效應T細胞功能。與消炎效應一致，IL-10遞送構築體預治療(9.0 mg/kg劑量)預防產生IL-12及IL-17，其分別為Th1及Th17細胞之關鍵效應子。用IL-10遞送構築體治療使得IL-3 (9.0 mg/kg劑量；**圖47S**)、IL-4 (9.0 mg/kg；**圖47T**)、IL-28 (3.0及9.0 mg/kg；**圖47EE**)及IL-31 (0.3 mg/kg；**圖47FF**)之濃度降低至接近基線含量。相比於媒劑對照，IL-13 (**圖47Y**)及IL-15 (**圖47Z**)之血漿濃度展現朝向IL-10遞送構築體介導之降低的趨勢。除了促炎性細胞介素以外，噁唑酮(僅媒劑治療)指示朝向內源性IL-10 (**圖47JJ**)及免疫抑制性細胞介素TGF-β (**圖47LL**)分泌增加的趨勢。針對發炎之此明顯逆反應與觀測到的UC結腸組織中之TGF-β增加一致。IL-10遞送構築體治療(3.0 mg/kg)相對於媒劑減少TGF-β且改善此朝向增加內源IL-10分泌之趨勢。對於分析之許多細胞介素，在噁唑酮治療之後未顯著誘導血漿濃度。此外，當觀測到噁唑酮誘導之增加時，5-ASA在許多測試參數中未有效地使細胞介素之表現返回至基線(初始)含量。

【0568】 另外使用MSD 10-plex促炎性圖評估暴露於噁唑酮誘導之結腸炎及用IL-10遞送構築體進行防治性治療之小鼠的全身性細胞介素濃度。相對於初始對照，患有噁唑酮誘導之結腸炎的經媒劑治療之小鼠中之血漿IFN-γ及IL-5減少，但相對於量測之其他細胞介素，此等組之間不存在顯著差異(**圖48A-圖48J**)。觀測到IL-1β及IL-6之表現回應於噁唑酮損害而增加的趨勢。然而，此反應為藉由遞送陽性對照、5-ASA或IL-10遞送構築體而減弱。由於不存在實質性噁唑酮誘導之發炎性反應，IL-10遞送

構築體治療之效應不易於判讀；然而，對於分析之任何細胞介素均未偵測到媒劑治療與IL-10遞送構築體之間的顯著差異。

【0569】 藉由分析IL-1Ra (由IL-10增強之IL-1β拮抗劑)之表現來評估IL-10遞送構築體於全身循環及結腸組織中之功效。IL-1Ra之循環量在喔唑酮損害或用5-ASA或IL-10遞送構築體治療之後未顯著改變(**圖49A**)，可能是由於資料變化性及低統計功效。然而，IL-10遞送構築體治療誘導朝向增加IL-1Ra之劑量依賴性趨勢。在接近遠端結腸組織中，9 mg/kg之最高劑量的IL-10遞送構築體治療展現強化IL-1Ra之mRNA表現的趨勢(**圖49B**)。亦由IL-1Ra/IL-1β比增加來反映此結果(**圖49D**)。

【0570】 *結果：硫酸葡聚糖鈉(DSS)誘導之結腸炎*

【0571】 此實例檢查當此中鏈長度脂肪酸結合劑存在於飲用水中時，IL-10遞送構築體構築體抑制由葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導的特徵在於發炎、水腫及黏膜壞死之輕度至中度多灶性結腸炎的能力。持續10日每日一次向小鼠經口給與媒劑(作為陰性對照)或SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體(0.3-30 mg/kg)以誘導DSS誘導之結腸炎(**圖50A**)。每日給與75 mg/kg環孢靈A (CsA)之小鼠係用作該模型之陽性對照而非治療比較物。在研究之生存期部分期間，SEQ ID NO: 5之遞送構築體顯著減少DSS誘導之體重減輕(**圖50B**)。DSS損害引起媒劑組中約10%之體重減輕(或與體重增加之初始組相差約17%)，(**圖50C**)。用CsA治療部分減少DSS誘導之體重減輕($p < 0.05$)，如在最高測試劑量(30 mg/kg)之IL-10遞送構築體的情況下所觀測。在任一治療組中均不存在死亡。亦將體重減輕、大便堅實度及糞便隱血(評分0-3)之個別評分加總以得到DAI(0-9範圍內)。相對於媒劑組在第7天時3.8 (及初始組0)之加總評分，IL-10遞送構築體治療組之評分在

4.0至4.3範圍內，無劑量相關性，且因此不支持藉由IL-10遞送構築體改善疾病活動性指數(DAI) (第10天之評分不可用)，(**圖51**)。結腸長度在IL-10遞送構築體之兩個最高劑量(10及30 mg/kg；相比於媒劑之$p < 0.05$)下之顯著改善指示IL-10遞送構築體依賴性治療效果的存在(**圖52**)。

【0572】 基於發炎、腺損失、糜爛及增生(各為最大5分)對結腸組織學進行評分，且在彙總評分中將此等評分加總。所有四個參數均在DSS損害之後於中段及遠端結腸中顯著增加(相對於初始之$p < 0.05$)。CsA治療緩和四個量測參數之加總評分，但用IL-10遞送構築體治療未展示任何顯著改善(**圖53**)。亦定量五個額外參數(水腫、嗜中性白血球浸潤、黏膜厚度、淋巴聚集體及淋巴聚集體尺寸)。與疾病自遠端至近端結腸傳播一致，針對若干參數，組織病理學在遠端結腸中最嚴重且在用媒劑治療之近端結腸中可忽略。相對於媒劑，IL-10遞送構築體(30 mg/kg)治療顯著改善中段區域中之水腫寬度(**圖54**)、黏膜厚度(**圖55**)及增生(**圖56**)。CsA未展示DSS損害之後的任何明顯治療效果，除了嗜中性白血球評分得以改善(相對於媒劑之$p < 0.05$)。此等組織學結果因此指示輕度的局部藥物功效。

【0573】 在DSS研究中之最終劑量之後4小時於循環中偵測到可變濃度之IL-10遞送構築體。相比於用0.3及3 mg/kg之劑量的IL-10遞送構築體治療之動物中之媒劑治療的背景濃度，rhIL-10之含量(藉由抗rhIL-10捕捉抗體來偵測)在高10-300倍範圍內(**圖57A**)；然而，此效應在較高IL-10遞送構築體劑量下喪失。此外，在低IL-10遞送構築體劑量下，rhIL-10之濃度高於IL-10遞送構築體(用抗cholix捕捉抗體測定)指示存在IL-10遞送構築體裂解產物，其將與GI環境中普遍的蛋白酶活性一致。用IL-10遞送

構築體進行防治性治療似乎在任何測試劑量下均不影響IL-1Ra之血漿濃度(**圖57B**)。

【0574】 *論述*

【0575】 在此等研究中，評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在唔唑酮及DSS模型中預防發炎性結腸炎發展的功效。在兩個研究中，均觀測到多個生存期及屍體剖檢參數改善的趨勢。在DSS損害之後，IL-10遞送構築體之兩個最高劑量(10及30 mg/kg)下之結腸長度改善證明了IL-10遞送構築體依賴性治療效果。DSS研究中不存在死亡，而存活率在唔唑酮治療之後降低了高達30%，表明唔唑酮方案誘導嚴重得多的結腸炎模型。

【0576】 DSS模型之顯著特徵為生物複本之間的組織病理學更一致；相比於唔唑酮模型，DSS模型之組內變化性似乎減小。在DSS模型中，最高劑量(30 mg/kg)下之IL-10遞送構築體在中段結腸但不在遠端結腸中有效地減小三個組織學參數，亦即水腫寬度、黏膜厚度及增生。

【0577】 在呈現之劑量-反應唔唑酮研究中，藉由IL-10遞送構築體介導之循環細胞介素濃度的變化來表明功效。GCSF (或CSF3)之血漿濃度對唔唑酮損害作出反應而增加，且此反應藉由用5-ASA或IL-10遞送構築體進行防治性預治療而減輕。用IL-10遞送構築體(9.0 mg/kg劑量)進行預治療亦預防產生IL-12及IL-17，其為Th1及Th17細胞之關鍵效應子。另外，IL-10遞送構築體使得MCSF (9.0 mg/kg劑量)、IL-3 (9.0 mg/kg)、IL-4 (9.0 mg/kg)、IL-28 (3.0 mg/kg及9.0 mg/kg)及IL-31 (0.3 mg/kg)之濃度降低至接近基礎(初始)含量。許多分析之細胞介素的血漿濃度在唔唑酮治療之後未顯著改變。當存在唔唑酮誘導之增加時，陽性對照5-ASA在許多測試參數中未有效地使細胞介素之表現返回至基線含量。因此，在不

存在藉由5-ASA穩定減少發炎性細胞介素的情況下，可質疑此藥劑作為對照治療之適合性。另外，此喔唑酮誘導之發炎模型可能不足以在此等小鼠中觸發實質性全身細胞介素反應。

【0578】 9 mg/kg之最高劑量的IL-10遞送構築體治療展現強化IL-1Ra之mRNA表現的趨勢及結腸組織中之IL-1Ra/IL-1β比增加的趨勢。先前臨床資料已表明IL-1Ra/IL-1β之比與IBD嚴重度逆相關，且IL-10可恢復IL-1Ra/IL-1β比。此等結果證明了IL-10遞送構築體在此模型中之治療功效。

【0579】 *結論*

【0580】 總而言之，在喔唑酮及DSS誘導之發炎性結腸炎的情況下，此報導中呈現之資料指示用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療展現治療功效，如藉由活體內發炎參數的改善所量測。在喔唑酮研究中，藉由用IL-10遞送構築體治療降低IL-12、IL-17及IL-28之循環濃度，其伴隨著結腸組織中之IL-1Ra/IL-1β比增加的趨勢。

【0581】 實例16-在長尾獼猴中經口投與單劑量之IL-10遞送構築體

【0582】 選擇非人類靈長類動物(NHP)長尾獼猴作為測試評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之臨床前功效、藥理學活性及藥物動力學的模型系統。由於人類與諸如長尾獼猴之NHP之間的顯著遺傳相似性，NHP一般表示比小鼠更適當的人類模型，因為NHP更密切地模擬人類生物學及免疫學。將10 mg咖啡鹼添加至IL-10遞送構築體膠囊係用於此研究中以探究膠囊打開。

【0583】 此研究之目標為：(1)評估藉由口服膠囊以多個含量(1、4、20.5及82 mg)單次給藥對長尾獼猴中之IL-10遞送構築體(如藉由總IL-

10及確立之生物標記IL-1Ra所量測)之藥物動力學概況的影響；(2)評估促炎性細胞介素IFNγ、IL-1β、IL-2、IL-6、IL-8及TNFα對藉由膠囊向長尾獼猴投與之IL-10遞送構築體之多個含量(1、4、20.5及82 mg)之單次經口劑量的反應；及(3)藉由監測給藥之長尾獼猴中之咖啡鹼(如包括於前述經口給藥膠囊中)的血漿含量來探究膠囊效能。

【0584】 *方法*

【0585】 將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼按重量計填充至1號Capsugel V-Cap羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊中，用於經口投與。接著在盤式噴霧塗佈機中用三層聚合物連續包覆膠囊。第一層及第三層為HPMC之薄包衣，第一層密封將膠囊殼聚集在一起的褶痕，且第三層使膠囊彼此的黏著最小化。第二包衣由Eudragit® (Evonik Industries AG)腸溶丙烯酸聚合物FS 30 D及L 30 D-55之50:50混合物構成，經設計以在pH 6.5處溶解且允許膠囊打開。所述測試物品及其對應批次號之概述呈現於**表44**中。

表44-測試物品之概述

名稱	描述
1 mg IL-10遞送構築體膠囊	1號包覆腸溶包衣之膠囊，含有1 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)+10 mg咖啡鹼
20.5 mg IL-10遞送構築體膠囊	1號包覆腸溶包衣之膠囊，含有20.5 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)+10 mg咖啡鹼

【0586】 將MSD Small Spot IL-10盤在使用之前用PBST洗滌3次。在稀釋劑2 (MSD目錄號R51BB)中製備標準物，且將樣品在稀釋劑2中稀釋2倍。將標準物及稀釋樣品添加至分析盤且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST及1× SULFO TAG抗huIL-10洗滌3次。將抗體添加至盤中，隨後在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且在MSD Sector Imager 600盤讀取器中讀取盤。

將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0587】 IL-1Ra分析之目的為量測NHP血漿中之內源性IL-1Ra。此夾心免疫分析中之抗體對與人類及NHP IL-1Ra兩者反應。樣品使用由人類IL-1Ra校準劑(在5.5-4021 pg/mL範圍內，加上0 pg/mL)製備之8點標準曲線定量。將生物素標記之抗NHP IL-1Ra捕捉抗體添加至MSD Small Spot抗生蛋白鏈菌素盤中且在室溫下振盪培育一小時。在彙集之血漿中製備表示低(16 mg/mL)、中(160 mg/mL)及高濃度(3245 pg/mL)之對照，在稀釋劑43 (MSD目錄號R50AG)中製備標準物(校準劑9摻合物)，且將樣品在稀釋劑43中稀釋10倍。將標準物、對照及稀釋樣品添加至分析盤，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST洗滌3次，且將1× SULFO TAG抗IL-1Ra抗體添加至盤。將盤在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且使用MSD Sector Imager 600盤讀取器讀取盤。將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0588】 為了定量血漿咖啡鹼含量，採用LC-MS/MS偵測系統。25 μL基質等分試樣係用25 μL之2.00 μg/mL咖啡鹼-三甲基-$^{13}C_3$內標工作溶液強化。經由支撐液體萃取(SLE)來分離分析物。將一部分溶離液轉移且在氮氣流下在大約45℃下蒸發，且將剩餘的殘餘物用500 μL水/乙腈(95:5，v/v)復原。經由HPLC與MS/MS偵測，使用陽離子電噴霧及逆相層析來分析最終萃取物。使用類似運行之校準對照來測定咖啡鹼濃度。

【0589】 使用購自MSD之多重套組來評估細胞介素組(IFNγ、IL-1β、IL-2、IL-6及IL-8)。此組中之分析為夾心免疫分析。MSD盤在獨立及預定義之點上用捕捉抗體預塗佈，且針對使用來自MSD之細胞介素混

合物(Proinflammatory Panel 1 (人類)校準劑摻合物)製備的8點標準曲線來定量樣品。標準物包括0 pg/mL及此等濃度範圍：IFNγ (0.37-1500 pg/mL)、IL-1β (0.14-589 pg/mL)、IL-2 (0.36-1490 pg/mL)、IL-6 (0.18-721 pg/mL)及IL-8 (0.14-553 pg/mL)。

【0590】 將MSD盤(用捕捉抗體預塗佈)在使用之前用PBST洗滌3次。在稀釋劑2 (MSD目錄號R51BB)中製備標準物，且將測試樣品在稀釋劑2中稀釋2倍。將標準物及稀釋樣品添加至分析盤，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST洗滌3次，且將1× SULFO TAG偵測抗體之混合物添加至盤。將盤在室溫下振盪培育2小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且使用MSD Sector Imager 600盤讀取器讀取盤。將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0591】 TNFα免疫分析之目的為定量血漿中之NHP TNFα濃度。此免疫分析中之抗體對與人類及NHP TNFα兩者反應。使用由在5.6-4052 pg/mL之濃度範圍內且包括0 pg/mL之人類TNFα校準劑製備的8點標準曲線來定量樣品。

【0592】 將生物素標記之抗NHP TNFα捕捉抗體添加至MSD Small Spot抗生蛋白鏈菌素盤中且在室溫下振盪培育一小時。在彙集血漿中製備對照，在稀釋劑43 (MSD目錄號R50AG)中製備標準物，且將測試樣品在稀釋劑43中稀釋2倍。將標準物、對照及稀釋樣品添加至分析盤，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST洗滌3次，且將1× SULFO TAG抗huTNFα抗體添加至盤。將盤在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且使用MSD Sector Imager 600盤讀取器讀取盤。將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0593】分析血漿樣品之總IL-10、IL-1Ra、咖啡鹼含量及一組促炎性細胞介素。分析LLOQ為：總IL-10=0.3 pg/mL；IL-1Ra=78 pg/mL；及咖啡鹼=25 ng;mL。IL-10之血漿濃度可指天然存在之IL-10及附加至載體之IL-10 (例如本文所述之IL-10遞送構築體中之IL-10)的血漿濃度。

【0594】由Valley Biosystems (West Sacramento, CA)進行非初始成年雄性長尾獼猴中之多個固定劑量下之IL-10遞送構築體給藥。成年NHP用含有固定劑量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)及10 mg咖啡鹼(1、4、20.5及82 mg)的膠囊經口治療。劑量組描述於**表45**中。

表45-劑量組之概述

組	**N**	**途徑**	**測試物品**	**SEQ ID NO: 5 劑量**	**每隻動物之劑量**	**咖啡鹼劑量**
A	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	20.5 mg	一個 20.5 mg之膠囊	10 mg
B	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	82 mg	四個 20.5 mg之膠囊	40 mg
C	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	1 mg	一個1 mg之膠囊	10 mg
D	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	4 mg	四個1 mg之膠囊	40 mg

【0595】對動物禁食直至3小時血液樣品收集之後，此時給與食物。為進行給藥，對動物進行手動約束且將牙墊置於頜間。將含有給藥膠囊之藥丸槍插入至口腔背面且釋放膠囊。至多連續投與4個膠囊且給與少量水以誘導吞咽。一旦確認劑量投與，便移除牙墊且釋放頭部。

【0596】在給藥前及給藥後0.5、1、2、3、4、5、6、7、8及24小時在K_2EDTA管中收集來自各動物之血液樣品。在2小時樣品收集之後使動物返回至居住籠。在身體約束之後，經由使用頭靜脈、股靜脈或隱靜脈之直接靜脈穿刺收集血液樣品，將其加工為血漿且在-60℃下冷凍儲存直

至裝運。

【0597】 *結果*

【0598】 所有給藥組之血漿中之總IL-10的濃度-時間曲線呈現於**圖58**中。在藉由膠囊以82 mg (4×20.5 mg膠囊)經口投與IL-10遞送構築體之後，總IL-10之血漿濃度在給藥後2小時之Tmax處達到1.34 pg/mL之Cmax。以20.5 mg (1×20.5 mg膠囊) IL-10遞送構築體給藥亦產生給藥後2小時之Tmax，與顯著低於82 mg劑量之Cmax (0.45 pg/mL)。1 mg (1×1 mg膠囊)及4 mg (4×1 mg膠囊)劑量之Tmax比更高劑量更晚(分別為4小時及3小時)，且值得注意的是，1 mg劑量之Cmax高於4 mg劑量之Cmax (分別為0.39相對於0.27 pg/mL)。在給藥後6小時，總IL-10之血漿濃度返回至基線含量。

【0599】 所有給藥組之血漿中之IL-1Ra的濃度-時間曲線呈現於**圖59**中。在經口給與82 mg IL-10遞送構築體之後，NHP IL-1Ra血漿濃度在給藥後3小時處達到26,367 pg/mL之Cmax。跨越較低劑量含量(1、4及20.5 mg)未針對Cmax觀測到劑量反應關係。對於所有劑量組，IL-1Ra之血漿濃度截至給藥後24小時的時間點返回至基線含量。

【0600】 在如**表45**中所指定之IL-10遞送構築體/咖啡鹼膠囊的單次劑量之後，NHP中之咖啡鹼的血漿濃度呈現於**圖60**中。應注意，1 mg (1×1 mg膠囊)及20.5 mg (1×20.5 mg膠囊)給藥組中之動物各接受1×10 mg劑量之咖啡鹼，而投與4mg (4×1 mg膠囊)及82mg (4×20.5 mg膠囊)劑量之動物各接受4×10 mg劑量之咖啡鹼。此解釋相比於1及20.5 mg給藥組(分別為1352 ng/mL及800 ng/mL)，針對4及82 mg給藥組(分別為6117 ng/mL及3793 ng/mL)所見之咖啡鹼的顯著更高C_{max}。在給藥後2-3小時可

觀測到咖啡鹼吸收(表明膠囊打開)且所有劑量在Tmax均為給藥後4小時。

【0601】 投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊與血漿IFNγ (**圖61A**)、IL-1β (**圖61B**)、IL-2 (**圖61C**)、IL-8 (**圖61D**)或IL-6含量(**圖61E**)之任何一致趨勢不相關，但針對血漿IFNγ、IL-2、IL-6及IL-8觀測到個別時間點之離群值的高變化性及對平均值的顯著影響。TNFα之類似定量展示所有樣品之呈信號形式之誘導均不低於偵測極限(資料未示出)。

【0602】 另外，在投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊之後評估IL-10、IL-1Ra及IFN-γ之血漿含量，將其相比於靜脈內投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (**圖104A-圖104C**)。經由包覆腸溶包衣之膠囊向非人類靈長類動物經口遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在不顯著誘導IFN-γ的情況下增加IL-1Ra。

【0603】 *論述及結論*

【0604】 IL-10遞送構築體之全身濃度(如藉由總IL-10所量測)在所有劑量含量(1、4、20.5及82 mg)下增加至顯著高於基線含量，且在劑量投與之六小時內返回至基線含量。總IL-10暴露似乎不存在明顯劑量關係，而IL-10遞送構築體之最高劑量(82 mg)產生最高C_{max}。在所有給藥組中，在無明顯劑量關係的情況下藉由IL-10遞送構築體投與誘導IL-1Ra，而對於總IL-10，IL-10遞送構築體之最高劑量(82 mg)產生最高C_{max}。

【0605】 血漿咖啡鹼濃度係用作膠囊打開及效能之標記。在給藥後2-3小時可觀測到咖啡鹼吸收(表明膠囊打開)且所有劑量在Tmax均為給藥後4小時。

【0606】 投與IL-10遞送構築體膠囊與血漿IFNγ、IL-1β、IL-2、IL-6或IL-8含量之任何一致趨勢不相關。

【0607】 **實例17-固有層中之細胞靶向**

【0608】 平均體重為約250 g之雄性成年(7-8週齡)威斯塔大鼠用於進行活體內研究，該研究檢查IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之固有層中之細胞靶向。大鼠使用吸入之異氟醚麻醉且藉由吸入之CO_2安樂死。

【0609】 藉由切開大約4 cm腹部切口以接近小腸之空腸中段區域而啟動實驗。在進行切開之後，使用1 mL注射器經由27規格針頭將50 µl IL-10遞送構築體之製備溶液(通常以約1 mg/mL)注射至無食物的腸腔區域中。用標記來標記鄰近於注射部位之腸系膜且將腸傳回至腹腔，將切口用夾鉗封閉。

【0610】 在特定時間，取回注射之腸，以手術方式分離且用4℃等張PBS沖洗。將洗滌、切除之樣品在4℃下固定(含4%多聚甲醛之PBS)隔夜，隨後經由分級系列之乙醇/水溶液脫水且在氯仿中培育隔夜。

【0611】 將脫水組織浸入蠟中、切片且安裝在聚離胺酸載玻片上且經加工以使用檸檬酸鈉進行抗原修復。之後，將切片用含0.2% Triton-X100之PBS滲透，隨後在PBS中洗滌三次且用2% BSA+2%血清阻斷已產生二級抗體之動物。將一級抗體在含1% BSA、0.1% Triton-X100之PBS中稀釋且在4℃下於加濕空氣中培育隔夜。將螢光二級抗體在含1% BSA、0.1% Triton-X100之PBS中稀釋且在室溫下培育2小時，隨後加工用於共聚焦顯微法。有時收集注射部位處大約1 cm之腸區段用於生物化學研究。

【0612】 藉由免疫螢光使用共聚焦顯微鏡檢查特定細胞類型之蛋白質。分別用IL-10之多株抗體(pAb)或單株抗體(mAb)或載體域之pAb或mAb追蹤IL-10遞送構築體組分(載體，在本文中亦稱為「cholix」，及IL-

10)，以允許與可用的pAb或mAb共定位(**表46**)。

表46-pAb及mAb之概述

目標	pAb/mAb	物種反應性	宿主	IHC之稀釋度(P)	標記之細胞	目錄號
載體	pAb		兔	1/500		
IL-10	pAb	人類	山羊	1/25		Ab10775
CD11c					樹突狀細胞	
CD19	mAb	小鼠	小鼠		B細胞	Ab25177
CD34	mAb	小鼠，人類	小鼠	1/500	內皮細胞	Ab187282
CD3	mAb	大鼠	小鼠		T細胞	Ab185763

【0613】 IL-10遞送構築體與腸上皮細胞中之LAMP1陽性溶酶體展示極少或無共定位，但在固有層之細胞內聚集，與將此蛋白質導引至溶酶體的最終消耗一致(**圖62**)。進行1分鐘脈衝，接著進行時程研究，其截至15分鐘證實大量的IL-10遞送構築體到達固有層且進入由此構築體之載體組分靶向之細胞中。

【0614】 CD11c抗原標記大鼠空腸之固有層內的一個稀疏細胞(例如樹突狀細胞)集。IL-10遞送構築體不與CD11c抗原在任何顯著程度上共定位(**圖63**)。有趣的是，接近腸上皮細胞之頂表面的囊泡共標記CD11c及IL-10，表明載體蛋白與含有此抗原之囊泡區室之間的相互作用。

【0615】 IL-10遞送構築體未能與固有層內之少數CD19陽性細胞(例如B淋巴細胞)共定位(**圖64**)。

【0616】 IL-10遞送構築體未能與固有層內之少數CD34陽性細胞(例如內皮細胞)共定位(**圖65**)。

【0617】 IL-10遞送構築體與CD3抗原展現顯著共定位，表明載體蛋白顯著靶向至固有層內之T淋巴細胞(**圖66**)。另外，與上皮內淋巴細胞一致之細胞亦為共定位位點。

【0618】 小鼠空腸之固有層內之細胞展示與針對大鼠觀測相同的靶向結果中的一些。然而，此等研究之複雜性為人類IL-10經小鼠IL-10受體

識別之能力，在一些情況下導致兩種潛在細胞走向。

【0619】 總之，IL-10遞送構築體中用於促進將人類IL-10胞吞轉運穿過腸上皮細胞之載體似乎接近固有層內之所選細胞群體。此等靶向細胞內之載體的走向似乎與最可能為溶酶體之LAMP1陽性區室相交，表明其在固有層內之明顯局部破壞。T淋巴細胞似乎為固有層內存在之最大細胞類型，其由IL-10遞送構築體中所用之載體靶向。

【0620】 **實例18-比較錠劑與膠囊**

【0621】 為了評估自IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊之藥物釋放，及將效能與錠劑之效能比較，在各種包衣條件(自僅HPMC包衣至不同重量增加之Eudragit包衣)下獲得IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊。

【0622】 相比於具有腸溶包衣之膠囊，僅具有HPMC包衣之膠囊展示顯著更高的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度及濃度。儘管如所預期，Eudragit包衣之存在引起IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之延遲釋放，但對二聚體純度及活性藥物釋放量的影響與針對相同溶解條件下之HPMC包覆錠劑獲得的結果形成對比(**圖68**)。檢查1號HPMC膠囊的溶解，該膠囊含有20 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)且包覆有改變量(約10 mg至約35 mg)之50:50包衣重量比的Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D。Eudragit包衣延遲自膠囊釋放IL-10遞送構築體，但對IL-10遞送構築體二聚體純度(二聚體%)具有負面效應(**圖68**)。在4型溶解裝置(流通模式)上，在pH 7.0溶解緩衝液中於37℃下量測溶解。用於此等測定之活體外溶解測試為此項技術中之若干標準測試之一，尤其用於延釋錠劑，例如參見USP <711> Dissolution或Ph. Eur. 2.9.3。在

USP裝置4 (流通池裝置，開放模式，在pH 7.0溶解緩衝液中於37℃下)中進行IL-10遞送構築體之測試。將個別錠劑置於裝置中且在指定時間(例如10、20、30及60分鐘)進行取樣。藉由自通向廢物瓶之管道收集流通溶液來進行取樣。將樣品溶液在SEC HPLC分析之前保持於冰上之小瓶中。在各時間點處，測定流體樣品中之IL-10遞送構築體之濃度(例如藉由經驗證之HPLC方法)，由此准許計算已自錠劑釋放之量。

【0623】 相比之下，對於錠劑，Eudragit包衣在不影響IL-10遞送構築體二聚體純度(二聚體%)之情況下延遲IL-10遞送構築體自錠劑之釋放(**圖69**)。錠劑為F3錠劑配方，IL-10遞送構築體濃度為6 mg，用HPMC噴霧包覆，且接著具有50:50之Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D的包衣重量比。檢查兩種不同的Eudragit包衣重量(8 mg及20 mg)。在4型溶解裝置(流通模式)上，在pH 7.0溶解緩衝液中於37℃下量測溶解。

【0624】 對於具有不同量之包衣的錠劑及膠囊計算IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放量(**圖70**)。藉由SEC定量相關雜質(HMW聚集體及LMW單體)。活性物(二聚體)及雜質之求和得到自配方釋放之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)相關物質的總量。獲得之結果進一步指示錠劑與膠囊之間就IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放而言的效能差。

【0625】 一般而言，塗覆錠劑展示與未包衣錠劑類似的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放。自錠劑釋放之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)相關物質的總量一般接近錠劑中之IL-10遞送構築體的量，但在較高塗覆含量下觀測到一定蛋白質損失。另外，當考慮溶解研究過程中之所有材料時，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體之相對二聚體純度為所有錠劑之總釋放材料的大約50%。Eudragit塗覆膠囊展示相對較低比

例及量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放，其中將大部分蛋白質鑑別為HMW聚集體。釋放之總蛋白質亦減少，大概由於高級聚集時形成之不溶性物種。

【0626】 亦可在此模型中確定非活性組分，諸如高分子聚集體及單體之程度。在**圖70**之左側展示之錠劑溶解組中，未包衣錠劑用作參考，且包衣組合物在50:50 (FS:L30D)至80:20 (FS:L30D)之間變化，遞增包衣重量增加為8 mg、13 mg及20 mg。

【0627】 錠劑相對於膠囊之效能改善可由各配方內之API的形式、溶解過程之性質及/或Eudragit之相對量產生。

【0628】 包覆腸溶包衣之錠劑上之包衣重量可顯著小於膠囊，其由於給定API重量之較低表面積(壓縮錠劑相對於填充至膠囊之粉末)，且亦由於錠劑表面幾何結構，無膠囊帽與主體之間的接合部，使其更易於針對給定重量獲得均一錠劑包衣。錠劑可使用較低包衣厚度。因此，由於較小表面積及/或較小厚度，相對於膠囊，錠劑可具有每一IL-10遞送構築體之量較少的聚合物(例如Eudragit)。

【0629】 另外，膠囊溶解之性質可對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放有害。囊封之IL-10遞送構築體可相對鬆散地安置在來自膠囊主體內之粉末內。在經由溶解膠囊初始接近流體時，實質(例如全部)量之蛋白質可經潤濕。此類快速潤濕可引起聚集或另外破壞二聚體結構。相比之下，在錠劑中，IL-10遞送構築體可在不溶性基質中摻合及壓縮，該基質不在初始流體接觸時立即完全潤濕，而是在比膠囊溶解更長的時段內崩解及溶解。此可降低錠劑溶解期間聚集的傾向且增加維持呈活性二聚體形式之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的可能性。

【0630】 實例19-在4型溶解裝置中比較包衣錠劑與無包衣錠劑

【0631】 假設相對於無包衣錠劑，在包衣錠劑溶解時觀測到的較低IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度可反映在經溶解Eudragit聚合物及IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之溶液中的同時存在，因為先前已展示此組合引起IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體損失。然而，此不可反映錠劑溶解之活體內情況，因為在經口投與之後於胃腸道中，包衣材料與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之接觸可為更有限的。替代地，隨著錠劑沿腸移動，包衣材料可在完全釋放藥物之前自錠劑核心逐漸移除，因此將包衣材料與蛋白質分離。

【0632】 用USP溶解4型裝置實施活體外流通方法(**圖98**)以更好地預測胃腸道中之藥物釋放。相比於2型裝置(在不具有活動流之攪拌腔室中進行溶解)，4型儀器可以「開放模式」操作，藉此遞送恆定入流量之溶解介質以維持無限下沉條件(亦即，無蛋白質或錠劑組分之局部積聚)。

【0633】 使用開放模式(流通)之4型裝置藉由活體外溶解來評估經包覆及未包覆之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑(**圖69**)。如所預期，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之釋放隨著增加包衣重量而延遲，但釋放曲線(二聚體含量)不受包衣影響，展示各錠劑類似的初始二聚體純度及降解速率(**圖69**)。

【0634】 包衣錠劑亦展示延遲釋放，但IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體含量相比於無包衣錠劑大幅減少，大概係由於IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)與Eudragit聚合物不相容。吾人預期4型儀器提供更代表經包覆IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑於胃腸道中之行為的環境，且因此應更好地模擬活體內效能。

【0635】 除了監測IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度以外，亦在4型溶解期間獲得各時間點處之藥物釋放量(**圖98**)。各錠劑展示類似的藥物釋放持續時間，其中增加包衣量延遲藥物溶解。此等資料表明一旦錠劑崩解開始，釋放過程便以類似方式進展，其中不管包衣厚度，一旦移除包衣材料，包衣錠劑核心便經歷相同表面水合及崩解過程。因此，由腸溶包衣提供之延遲釋放特徵對錠劑核心中之藥物品質展示極小(若存在)影響。

【0636】 塗佈有不同Eudragit配方之第二組錠劑展示類似溶解行為(圖**99**)，進一步支持IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之釋放不受4型裝置中之此等條件下的包覆顯著影響。

【0637】 **實例20-錠劑之HPMC-AS包衣**

【0638】 亦評估Eudragit包衣之替代物。出於類似的pH反應特性，及弱離子結構特徵而選擇AQOAT® (Shin-Etsu)乙酸丁二酸羥丙甲纖維素(HPMCAS)。此等特徵與Eudragit之強離子結構形成對比，且可使得在藥物錠劑包衣及藥物釋放過程期間與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)結構完整性更好地相容。進行相容性之初步篩選。將Eudragit L30D-55及FS 30D相比於AQOAT®產品AS-HF及AS-MF，據報導該等產品分別在pH 6.8及pH 6.0處變得可溶。如藉由二聚體含量所量測的與各種包衣劑一起在PBS中培育之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之二聚體純度展示於**表47**中。與AS-HF及AS-MF一起培育展示IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之極少或無降解，指示藉由此類HPMC-AS衍生物顯著改善藥物相容性。

表47-包衣材料與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之相容性；與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)蛋白質一起在PBS中培育2小時，藉由SEC方法

分析結構完整性

組分	二聚體	單體	HMW
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO:5)	88.1	8.8	3.2
Eudragit FS30D	45.8	12.2	42.0
Eudragit L30D55	12.6	45.2	42.1
HPMCAS-HF	86.2	11.5	2.3
HPMCAS-MF	88.3	8.7	3.0

【0639】藉由4型裝置上的溶解來評估包覆有50:50 AS-HF及AS-MF之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑(**圖100，圖101**)。發現釋放材料之初始二聚體純度與藥物物質(凍乾之IL10遞送構築體)基本上相同，指示HPMCAS塗層對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之二聚體純度幾乎無影響。與錠劑包衣厚度相關之釋放延遲(展示初始延遲之後類似的釋放速率，且與未包衣錠劑類似)進一步指示包衣材料在錠劑崩解期間無負面效應。

【0640】當相比於Eudragit包覆之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑時，HPMC-AS包覆錠劑展示基本上等效或改良之釋放概況，如由藥物純度、降解速率及活體外藥物暴露(二聚體濃度之AUC)所表徵。此藉由2型裝置上之溶解測試進一步說明(**圖102，圖103**)。相對於4型溶解裝置中之測試，包衣與IL-10遞送構築體之間的不相容性之影響在此類背景下變得更明顯。實際活體內釋放可能與4型溶解裝置所採用之條件更類似。儘管如此，在兩種情況下，HPMC-AS包衣均顯示優於Eudragit包衣之有利藥物穩定性概況。

【0641】相對於溶解時間繪製IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放之二聚體純度及濃度。在2型溶解裝置上，包衣重量增加之錠劑與更長的釋放延遲相關。藥物濃度在初始崩解之後20-30分鐘達到最大累積濃度，與在4型裝置上之溶解中觀測到的崩解在包衣經初始破壞之後的類似

時間間隔內完成相關聯。

【0642】 總體而言，相對於Eudragit，HPMCAS包衣材料展現與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體之優良化學相容性。就兩種常用活體外溶解模型中之二聚體純度及暴露而言，HPMCAS包覆之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑顯示基本上等效或改良之釋放概況。流通模型上之兩階段溶解確認塗層為pH反應性的，因為其在較低pH下穩定且在高pH下變得不穩定以用於藥物釋放。HPMCAS包衣在低pH下對IL-10遞送構築體提供保護。發現在低pH下藉由包衣保護藥物有效，因為溶解測試中之藥物暴露在具有或不具有酸處理之情況下保持相同。

【0643】 實例21-在非人類靈長類動物中經由用乙狀結腸鏡進行泛結腸投與來評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之藥物動力學及藥效動力學

【0644】 進行此非GLP研究以探究經由用乙狀結腸鏡進行泛結腸投與而投與1、3或10 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之單次劑量的雄性食蟹獼猴(n=3隻/組)中之PK及PD。IL-10遞送構築體溶液(對於低、中及高劑量組，濃度分別為0.1、0.3及1.0 mg/mL)係經由經直腸途徑使用乙狀結腸鏡及與噴嘴連接之注射器以360°噴霧模式投與。藉由乙狀結腸鏡收集系列活檢樣品(給藥前、給藥後0.25、0.5、0.75、8及24-28小時)。收集給藥前0分鐘至給藥後24-28小時的系列血漿樣品以用於分析IL-10遞送構築體。

【0645】 *總IL-10及IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之血漿濃度*

【0646】 在投藥之15分鐘內於血漿中偵測到由經由乙狀結腸鏡直接遞送至結腸之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之單次劑量產生的暴露(藉

由總IL-10濃度測定)(**圖71A**)。在所有三個劑量組(1、3及10 mg)中，總IL-10暴露隨著劑量而增加，且t_{max}在遞送之一小時內出現(**圖71A**)。除了總IL-10分析以外，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度係藉由抗cholix^{386}捕捉抗體以及抗人類IL-10偵測抗體確定。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度(**圖71B**)比3 mg及10 mg劑量下之IL-10濃度低10倍(**圖71A**)。各組間未展現IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之劑量依賴性反應。相比於總IL-10，較低血漿IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度暗示循環IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)可由IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之裂解或另外加工之型式構成，其中cholix^{386}域(SEQ ID NO: 4)不再結合至rhIL-10。

【0647】 *在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後的IL-1Ra之血漿濃度*

【0648】 在所有三個劑量(1、3及10 mg)下觀測到IL-1Ra之血漿濃度的誘導。相比於1 mg，回應於3及10 mg劑量而在較高濃度下偵測到IL-1Ra(**圖71C**)；然而，偵測到高組內變化性且未觀測到明顯劑量依賴性反應。在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之較高濃度下不存在劑量依賴性效應表明IL-1Ra之IL-10誘導在10 mg劑量處飽和。總IL-10在大約0.5-1小時處達到峰值(**圖71A**)，且最大血漿IL-1Ra濃度隨後在3-4小時處(**圖71C**)。儘管動物之間的暴露及IL-1Ra產量的變化相當大，但總IL-10及IL-1Ra偵測之相對動力學表明IL-1Ra誘導可由IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)介導。

【0649】 *IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後的促炎性細胞介素之血漿濃度*

【0650】 結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)不引起促炎性細胞介素IFN-γ、IL-1β、IL-2或IL-8之全身濃度的增加，但在3及10 mg組中適度地誘導IL-6 (**圖72**)。

【0651】 在結腸組織(**圖105C**)及全身循環(**圖105A**)中偵測藉由總IL-10濃度評估的自單次劑量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之暴露，該構築體經由乙狀結腸鏡直接遞送至結腸。亦藉由全身循環中之IL-1Ra濃度來評估暴露(**圖105B**)。在組織中偵測到總IL-10之劑量依賴性增加，其在15分鐘之第一取樣時間點處達到峰值。除了總IL-10分析以外，亦測定結腸組織中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的濃度。組織IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度不在各組中展示明顯劑量依賴性(**圖105D**)。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度在1及10 mg劑量之後15分鐘增加，在組內偵測到高變化性。

【0652】 *在泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後結腸組織中之IL-1Ra濃度*

【0653】 評估在以1、3及10 mg劑量泛結腸遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後NHP之結腸組織中的IL-1Ra濃度。在基線處在結腸組織中偵測到高濃度之內源IL-1Ra，且IL-1Ra濃度不回應於IL-10遞送構築體而進一步強化(**圖73**)。

【0654】 *在泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後組織中之STAT3磷酸化*

【0655】 STAT3磷酸化為IL-10受體活化之後的早期下游事件。在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後的若干時間點(15、30及45分鐘、8小時及24小時)於結腸組織樣品中研究STAT3磷酸化。在所有測試劑

量下在IL-10遞送構築體治療之後觀測到較高比率之結腸組織pSTAT3/STAT3，其指示結腸STAT3活化(**圖74**)。

【0656】 *在泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後結腸組織溶解物中之促炎性細胞介素濃度的分析*

【0657】 未觀測到結腸組織中之促炎性細胞介素誘導；然而，有證據表明IL-6之血漿濃度隨著IL-10遞送構築體治療而增加(**圖75**)。

【0658】 針對以下各者分析各組織時間點處之結腸活檢體：IL-10遞送構築體、總IL-10、IL-1Ra、可溶性細胞介素之局部濃度；STAT3之活化；及投與IL-10遞送構築體之後的基因表現。IL-10遞送構築體治療上調多種消炎基因，尤其包括CD163、miR24-2及NOX1，其在耐受原性M2巨噬細胞之分化或功能中起作用。另外，STC1、MTNR1A及VNN2編碼抑制NFkβ信號傳導路徑之蛋白質，該路徑為調節關鍵促炎性細胞介素之路徑。IL-10遞送構築體治療下調藥物代謝酶CYP1A1之表現；然而，治療之前的12小時禁食可影響CYP1A1表現(**圖76**)。IL-10遞送構築體投與減少多種促炎性基因，包括MHCII及PLA2G2D，其藉由樹突狀細胞及巨噬細胞表現。此與IL-10抑制此等細胞之活化或朝向促炎性免疫表型分化的能力一致。另外，IL-10遞送構築體下調CCL20及CCL13，其分別為募集巨噬細胞及先天免疫細胞之化學引誘劑(**圖77**)。在IL-10遞送構築體治療下，多種促炎性基因亦上調，包括基質金屬蛋白酶：MMP1、MMP3及MMP19 (**圖78**)。重要的是，與IL-10之調節功能一致，IL-10遞送構築體亦增加基質金屬蛋白酶抑制劑TIMP1，以及其他組織修復(**圖79**)及抗微生物基因(**圖80**)。

【0659】 實例22-評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在潰瘍性結

腸炎之小鼠模型中之效應

【0660】 進行此研究以探究在鼠類喔唑酮誘導之潰瘍性結腸炎模型中用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)經口治療之功效。小鼠中之喔唑酮誘導之結腸炎構成與人類潰瘍性結腸炎中所述之發炎的組織病理學特徵及分佈具有類似性之UC動物模型，且可用於篩選潛在治療劑。

【0661】 健康幼齡雌性SJL/J小鼠用局部施加之200 µl喔唑酮(4-乙氧基亞甲基-2-苯基-2-喔唑啉-5-酮)於100%乙醇中之3% (w/v)溶液預致敏。在預致敏之後五天，小鼠用150 µL含1%喔唑酮之40%乙醇進行直腸內刺激。對照小鼠在第-5天用100%乙醇預致敏，接著直腸內投與150 µL之40%乙醇(無喔唑酮)。小鼠在第-5天至第+6天一天一次(q.d.)地藉由經口管飼給與IL-10遞送構築體、5-ASA (100 mg/kg，15隻小鼠)或媒劑，持續總共12個劑量。IL-10遞送構築體係以四種不同劑量提供：9 mg/kg、3 mk/kg、1 mg/kg及0.3 mg/kg。各治療組中具有15隻小鼠，媒劑治療組中具有10隻小鼠，且初始對照組中具有5隻小鼠。

【0662】 將血液樣品收集至含有EDTA之微量採血管(BD 365974)中且在室溫(RT)下在500 RCF下離心10分鐘。上清液經收集且轉移至清潔管中且在13,000 RCF RT下再離心10分鐘。將血漿樣品等分為兩個80-100 µL規模等分試樣且儲存於-80℃下。來自各存活小鼠之空腸及迴腸經移除且用冷PBS清除所有糞便內含物且將大約1 cm之每一部分速凍。來自各存活小鼠之結腸(負盲腸)經移除且用冷PBS清除所有糞便物質。記錄結腸長度及重量。沿結腸長度之不同點(區域1近端、區域2中段、在區域2與4之間的區域3及區域4遠端)自結腸切割樣品，且將其保存在10%中性福馬林緩衝液中24小時且接著轉移至70% EtOH。將此等樣品切片且藉由蘇木精

及曙紅染色或免疫螢光來染色。將相同結腸之區域3速凍。

【0663】 用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療使得結腸組織病理學改善。**圖81A**展示初始結腸之蘇木精及曙紅染色，而**圖81B**展示來自小鼠之結腸區段，該小鼠用噁唑酮治療以誘導疾病病況，但在治療期接受媒劑。結腸組織病理學在**圖81C**中改善，該圖展示來自用IL-10遞送構築體(8.5 mg/kg)治療之代表性噁唑酮誘導小鼠的區段。

【0664】 用經口IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療降低發炎性標記IL-4 (**圖82A**)、IL-6 (**圖82B**)、IL-1β (**圖82C**)、IL-17A (**圖82D**)、IL-10 (**圖82E**)、MIP1α (**圖82F**)及GCSF/CSF3 (**圖82G**)之表現。使用單因子變異數分析與圖基氏事後測試進行統計分析。

【0665】 用經口IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療誘導組織及循環生物標記的上調。**圖84**展示在用IL-10遞送構築體治療後，IL-1Ra之全身表現以劑量依賴型方式提高(劑量在x軸上以mg/kg展示)。用9 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療相比於媒劑提高IL-1Ra之結腸表現(**圖85A**)，相比於媒劑降低IL-1β之結腸表現(**圖85B**)，且使IL-1Ra與IL-1β之比增加約2.5倍(**圖85C**)。用IL-10遞送構築體治療使得磷酸化STAT3(pSTAT3)與總STAT3之比在小腸組織中增加約2倍，且在結腸組織中增加約3倍(**圖86**)。

【0666】 實例23-評估在未發炎小鼠之結腸組織中IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對STAT3之效應。

【0667】 為了評估在未發炎結腸組織中經口IL-10遞送構築體對STAT3之效應，向小鼠投與媒劑、IL-10遞送構築體(1 mg/kg)或重組人類IL-10 (rhIL-10，0.9 mg/kg，與IL-10遞送構築體之劑量為等莫耳劑量。

藉由ELISA MSD來分析總STAT3及磷酸化STAT3 (pSTAT3)。**圖83A**展示用IL-10遞送構築體治療使得pSTAT3與總STAT3之比增加大約50%，而rhIL-10治療不顯著改變pSTAT3與總STAT3之比。

【0668】 為了評估在未發炎結腸組織中經口IL-10遞送構築體對IL-1Ra之效應，向小鼠投與媒劑、IL-10遞送構築體(10 mg/kg)或重組人類IL-10 (rhIL-10，3 mg/kg，與IL-10遞送構築體之劑量為等莫耳劑量。藉由ELISA MSD來分析全身性IL-1Ra。**圖83B**展示全身性IL-1Ra之含量在用IL-10遞送構築體治療之小鼠中增加約3倍，而用rhIL-10治療不顯著增加全身性IL-1Ra含量。

【0669】 實例24-評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對非人類靈長類動物之免疫穩態及傷口癒合的效應。

【0670】 為了評估IL-10遞送構築體對促炎性及抗炎性標記之效應，藉由具有噴嘴之結腸乙狀結腸鏡將IL-10遞送構築體遞送至雄性長尾獼猴(約5至約8 kg)。IL-10遞送構築體係以白蛋白中調配之1 mg、3 mg及10 mg劑量投與。用IL-10遞送構築體治療降低促炎性標記之表現(**圖87**)、提高抗炎性標記之表現(**圖88**)且提高與組織修復及傷口癒合相關之生物標記的表現(**圖89**)。

【0671】 實例25-評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於非人類靈長類動物中之藥物動力學及藥效動力學

【0672】 為了比較不同遞送途徑，如下地向長尾獼猴投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)：以1 mg (N=6)或5 mg (N=6)經口、以0.2 mg/kg皮下(N=3)或以0.05 mg/kg靜脈內(N=3)。對於經口投與，在0號包覆腸溶包衣之膠囊中調配IL-10遞送構築體。對於靜脈內或皮下投與，將

其調配為DS凍乾配方中之液體。相比於皮下或靜脈內投與，用IL-10遞送構築體經口治療產生最小全身IL-10含量(**圖90A**)。全身IL-1Ra含量展示於**圖90B**中。用IL-10遞送構築體經口治療將IL-1Ra/IL-10比在1 mg處增加至約15,000:1，且對於3 mg劑量增加至大於20,000:1，而自皮下或靜脈內投與可見極小效應(**圖91**)。

【0673】 **實例26-評估界面活性劑**

【0674】 探究在經受剪應力之前及之後，界面活性劑對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之二聚化的效應。更特定言之，將各種界面活性劑添加至包含IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之溶液，且在經受剪應力之前，及在以800 rpm連續渦旋4小時之後測試所得溶液。考慮以下界面活性劑：(1)對照(1× PBS，無界面活性劑)，(2)聚山梨醇酯80 (PS80)，0.1%於1× PBS中，(3)聚山梨醇酯20 (PS20)，0.1%於1× PBS中，及泊洛沙姆188 (F68)，0.3%於1× PBS中。

【0675】 在渦旋後，目測檢查溶液。無界面活性劑之樣品略微混濁，而具有界面活性劑之樣品在渦旋之後澄清。在渦旋之後評估溶液之濁度(340-360 nm)。在無界面活性劑之情況下，吸光度在340-360 nm範圍內增加(**圖92**)，且亦在0.1% PS20下觀測到吸光度增加。

【0676】 在渦旋之前(**圖93**)及之後(**圖94**)對IL-10遞送構築體配方進行SEC-HPLC (**表48**)。對於IL-10遞送構築體之所有樣品，此等結果均未展示渦旋之前及之後的顯著變化。然而，聚山梨醇酯80展示(IL-10遞送構築體之) HMW聚集體及單體在渦旋之前增加，指示對IL-10遞送構築體之一定不穩定效應。另外，聚山梨醇酯20在渦旋之前展示最大量之單體，指示IL-10遞送構築體出現一定解離。總之，0.3%之界面活性劑F68 (泊洛沙

姆188)似乎在剪應力下使1× PBS中之IL-10遞送構築體穩定。

表48-藉由渦旋之前及之後的SEC-HPLC評估的呈單體、二聚體及聚集體(HMW)形式之IL-10遞送構築體%

SEC(%)	在渦旋之前				在渦旋之後			
	對照	0.3%F68	0.1%PS80	0.1%PS20	對照	0.3%F68	0.1%PS80	0.1%PS20
HMW	0.57	0.49	3.47	0.9	0.82	0.81	3.43	0.94
二聚體	93.6	94	87.3	82.5	92.5	93.5	86.6	82.9
單體	5.81	5.5	9.2	16.65	6.73	5.66	10	16.17

【0677】 實例27 - pSTAT3之活體內評估

【0678】 進行小鼠之活體內研究，其中針對刺激小鼠IL-10受體及增加固有層內之細胞中之STAT3磷酸化(pSTAT3)的能力來評估人類IL-10在胞吞轉運之後的生物活性。此等研究表明經顯示，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (且並非單獨的無載體分子之IL-10)選擇性地轉運穿過上皮細胞，且能夠在轉運穿過上皮細胞之後增加固有層內之細胞的STAT3磷酸化。另外，腸組織中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)暴露增加且全身暴露減至最小。

【0679】 腔內注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)增加固有層內之細胞的STAT3磷酸化。rhIL-10及pSTAT3之組織定位係藉由將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)腔內注射至Balb/C小鼠之空腸中之後約10分鐘的免疫螢光共聚焦顯微法來偵測(**圖107**)。大量的rhIL-10 (SEQ ID NO: 5)運輸穿過腸上皮細胞。另外，在腸上皮細胞之底外側表面處及pSTAT3陽性的固有層內存在淋巴細胞樣細胞群體。pSTAT3磷酸化隨時間推移之增加展示於**圖108**中。

【0680】 在不同鼠類模型中證實將IL-10遞送構築體運輸穿過腸上皮細胞，如由共聚焦顯微法所示(**圖109**)。

【0681】 將小鼠之整個腸分離且加工為「瑞士卷」，且藉由免疫螢

光共聚焦顯微法來偵測pSTAT3之定位(**圖110**)。在經口管飼之後經由偵測沿固有層之STAT3磷酸化而表明沿腸之長度(在所有腸區段中，包括結腸)的IL-10活性，指示免疫信號傳導路徑活化。

【0682】 實例28-在發炎性腸病之T細胞轉移模型中腔內注射SEQ ID NO: 5

【0683】 進行此研究以檢查載體蛋白將rhIL-10自腸腔轉運至發炎腸組織之黏膜下層區域中的潛力。使用T淋巴細胞(T細胞)轉移模型，因為其為在小鼠中誘導慢性結腸炎之公認模型，且呈現許多在IBD患者中觀測到的必需免疫標誌。經由腔內注射至遠端迴腸及近端、中段及遠端結腸中而向九隻BALB/c小鼠及十二隻SCID小鼠(包括具有結腸炎樣發炎模型之九隻)給與20 μl測試物品。向健康BALB/c小鼠及患有誘導結腸炎之SCID小鼠投與159皮莫耳IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，向健康BALB/c小鼠及患有誘導結腸炎之SCID小鼠投與159皮莫耳rhIL-10，且向健康BALB/c小鼠以及健康及誘導結腸炎SCID小鼠(n=3隻/組)投與PBS媒劑。各組中，兩隻小鼠在腔內注射之後10分鐘終止，且一隻在腔內注射之後40分鐘終止。收集腸組織及血清。收集之組織經固定、包埋、切片及H&E染色以進行發炎性狀態的組織學評估。對由腸組織及血清製備之溶解物進行ELISA分析以量測rhIL 10 (**圖106A-圖106D**)。

【0684】 組織之組織病理學評估在結腸之所有層級下於所有SCID T細胞轉移小鼠中確認發炎。

【0685】 相比於僅注射rhIL-10之小鼠，注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之小鼠在10分鐘暴露時間點處之rhIL-10之ELISA量測值顯著更高(**圖106A-圖106B**)。此外，相比於未發炎組織，IL-10遞送構築體(SEQ

ID NO: 5)更有效地轉運至發炎組織中。在正常腸組織中，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)吸收相比於僅注射rhIL-10之小鼠高2至5倍。在發炎組織中，在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)注射之後量測之rhIL-10含量比在僅rhIL-10之後量測之含量高大約10倍(**圖106B**)。在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後偵測到的重組人類IL-10係在暴露時間後40分鐘於大部分組織中偵測，但相比於發炎組織，似乎在健康更穩定(**圖106C-圖106D**)。

【0686】 IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，但並非rhIL-10投與以時間依賴性方式產生在健康動物之血清中偵測的適度高rhIL-10。在發炎動物中，自IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)及rhIL-10腔內注射均偵測到血清中極小量之rhIL-10，指示發炎腸組織中之一定輕度非特異性滲漏。

【0687】 健康小鼠相對於患病小鼠之全身暴露差異可歸因於腸『下沉效應(sink effect)』，其描述IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)可靶向之疾病病況中的浸潤免疫細胞數目較高。如由腸黏膜及黏膜下層中之組織病理學觀測到的許多浸潤白血球將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)/rhIL-10限制於固有層，同時限制全身暴露。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與使得rhIL-10於結腸組織中之腸吸收增強，其證明cholix[386]促進將rhIL-10胞吞轉運穿過上皮細胞。

【0688】 實例29 - 1a期臨床研究

【0689】 IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)經設計以評估增加健康男性個體之IL-10遞送構築體之單次口服劑量的安全性及耐受性、藥物動力學及藥效動力學(A部分)。在研究之B部分中，在潰瘍性結腸炎(UC)患者中之多遞增劑量之IL-10遞送構築體之後，收集關於安全性及耐受性、

藥物動力學、藥效動力學及早期臨床反應的早期資料(B部分)。

【0690】 主要目標為評估單遞增劑量及多遞增劑量之IL-10遞送構築體在健康成年志願者及患有活動性UC之患者中之安全性及耐受性。研究之其他目標為評估：IL-10遞送構築體之藥物動力學(PK)及藥效動力學(PD)、評估針對IL-10遞送構築體之抗藥物抗體的發生率、評估血漿及組織中之IL-10遞送構築體之潛在PD生物標記(僅B部分)、基於PD反應評估IL-10遞送構築體向結腸組織之遞送及評估在治療兩週之後患有活動性UC之患者中之IL-10遞送構築體的臨床活性。

【0691】 *1a期試驗設計*

【0692】 A部分由健康男性志願者中之單遞增劑量(SAD)遞增組成。進行由經口投與之單遞增劑量組成的六組。在各劑量含量下，在第1天登記6個個體，以2:4隨機分至接受單次劑量之安慰劑或IL-10遞送構築體。選擇之劑量為1 mg、3 mg、10 mg、30 mg、60 mg及120 mg。

【0693】 *初步1a期資料*

【0694】 A部分之結果確認IL-10遞送構築體為安全及良好耐受的。出現總共3個不良事件，12個安慰劑患者中具有1個且總共24個活動性IL-10遞送構築體患者中具有2個。所有事件均為輕度、自限制不良事件。來自所有劑量(1-120 mg)之藥物動力學分析的結果確認IL-10遞送構築體為腸選擇性的，因為在血液中未偵測到藥物。

【0695】 臨床前模型已將周邊IL-1Ra產生鑑別為將IL-10接合至黏膜淋巴細胞中之IL-10R的標記。為了確定IL-10遞送構築體是否主動轉運穿過上皮細胞內層進入固有層及是否能夠與淋巴細胞相互作用，評估IL-1Ra誘導含量。

【0696】 結果確認IL-10遞送構築體能夠誘導IL-1Ra表現(**圖111**)。在60及120 mg處損失免疫調節活性(IL-1Ra誘導)與IL10生物學一致。

【0697】 **實例30 - 1b期臨床研究**

【0698】 在14天之治療內，在患有活動性UC之成年患者中之多遞增劑量(MAD)之IL-10遞送構築體之後，收集關於安全性、耐受性、藥物動力學、藥效動力學及初始臨床反應的資料。將IL-10遞送構築體及賦形劑(甘胺酸、蔗糖、泊洛沙姆188及磷酸鉀)之凍乾組合物添加至0號HPMC膠囊中以製備劑量濃度為1 mg、5 mg及20 mg之三個不同批次。將具有50:50重量比之Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D的包衣以14.8至16.0 mg/cm^{2}之厚度及大約76 mg之重量塗覆至各膠囊。使用類似包覆之空膠囊產生安慰劑膠囊。

【0699】 *1b期試驗設計*

【0700】 如**圖112**中所示，1b期試驗由患有活動性UC之成年患者中的MAD遞增組成向總共四組給與1 mg、3 mg、10 mg或30 mg之IL-10遞送構築體，該四組3:1隨機分至接受持續十四日每日一次投與之IL-10遞送構築體或安慰劑。試驗目標為經由內視鏡檢、組織學、生物標記及血清樣品來評估IL-10遞送構築體之安全性及UC疾病活動性之任何變化。在基線及治療之第14天處獲得大便樣品及結腸活檢體以基於Geboes評分系統之盲法集中讀取來評估糞便鈣衛蛋白以及組織學。糞便鈣衛蛋白UC研究中之臨床反應的客觀標記，且Geboes評分系統為組織學反應之量度。此實例之Geboes評分系統使用0-22分組織學評分系統，其中更高評分表示更嚴重疾病。

【0701】 *初步1b期資料已表明經口IL-10遞送構築體具有良好耐受*

性

【0702】 1b期試驗之結果表明觀測到患有UC之患者對經口IL-10遞送構築體具有良好耐受性。**表49**展示觀測到總共23個TEAE，包括四個安慰劑患者中之三個，及12個活動性IL-10遞送構築體患者中之20個。1b期試驗之不良事件包括鼻咽炎及與潛在UC症狀，諸如腹痛、腹瀉及噁心相關的不良事件。所有不良事件均為自限制及輕度至中度的，其中無不良事件需要提早中止治療。重要的是，不同於先前研究中全身遞送之IL-10，未觀測到治療引發之貧血或血小板減少症AE。

表49-在活動性個體及安慰劑中觀測到的治療引發之不良事件(TEAE)

	1 mg (n=3)	3 mg (n=3)	10 mg (n=3)	30 mg (n=3)	所有活動性 (n=12)	安慰劑 (n=4)
TEAS之數目 (% pts)	2 (67%)	7 (67%)	5 (67%)	6 (67%)	20 (67%)	3 (50%)

【0703】 *臨床反應之初步結果*

【0704】 糞便鈣衛蛋白(FCP)為患有UC之患者之疾病活動性的臨床標記。大於150 μg/g之FCP值與活動性發炎相關。如**圖113**中可見，給與1 mg及3 mg IL-10遞送構築體在僅給藥14天之後引起44%及27%之安慰劑調節之平均FCP減少。全身遞送IL-10之先前臨床研究展示活性在較高劑量下降低，亦在IL-10遞送構築體之10 mg及30 mg劑量下觀測到該降低。

【0705】 C反應蛋白(CRP)為全身性發炎之生物標記。在1及3 mg下，當與安慰劑相比時，在基線CRP為大於5 mg/L之UC患者中觀測到CRP含量之更大降低(**圖114**)。根據設計，IL-10遞送構築體為GI選擇性蛋白質且在全身循環中未偵測到。然而，CRP含量降低表明用經口GI選擇性IL-10遞送構築體治療UC患者產生局部腸以及全身免疫調節活性，其有助於使得能夠治療周邊發炎適應症。

【0706】 Geboes組織學評分系統為併有免疫細胞(淋巴細胞及嗜中性白血球)浸潤至固有層及上皮細胞中以及隱窩結構及破壞，及潰瘍及糜爛之存在的系統。當添加各分量時，總分可在0 (正常)至22(嚴重發炎及組織破壞)範圍內。為了評估IL-10遞送構築體對GI黏膜之活性，在基線處且接著在給藥14天之後獲得結腸活檢體，且由盲化、集中讀取之GI病理學家來評估Geboes評分。當相比於0% (2/10)安慰劑患者時，IL-10遞送構築體在60% (6/10)活動性IL-10遞送構築體患者中降低Geboes評分(**圖115**)。

【0707】 **圖116**展示來自UC患者之給藥前及治療後組織學影像，在1b期試驗中給與該患者10 mg IL-10遞送構築體，其中Geboes評分自15分改善為3分(使用22分量表)，其中較高評分指示較嚴重疾病活動性。給藥前影像展現UC患者在基線處在其結腸中具有隱窩破壞及發炎性細胞浸潤，其在用IL-10遞送構築體治療14天之後於治療後影像中消退。

【0708】 實例31：比較具有或不具有亞硫酸分解之IL-10遞送構築體的純化

【0709】 使用如**圖2A**中所述之包括亞硫酸分解步驟中方法或**圖2B**中所述之類似方法自包涵體純化IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，但圖2B之方法不包括澄清與再摺疊步驟之間的亞硫酸分解及切向流過濾步驟。兩種方法中之再摺疊均在4℃下進行。兩種方法中所用之再摺疊溶液均含有1 mM還原麩胱甘肽、0.5 mM氧化麩胱甘肽、1 M精胺酸-HCl、250 mM蔗糖、100 mM Tris pH 8.5 (在4℃下)及2 mM EDTA。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體含量係在再摺疊之後但在使用獲自Tosoh Biosciences之TSKgel SW3000 4 μm，4.6/300進行AEX層析之前的超濾/透濾步驟之後藉由SEC-HPLC表徵(**表50**)，且在藉由Capto Q ImpRes®

(GE)層析圖進行AEX層析之後進一步表徵(**表51-52**)。

表50-各種形式(高分子量聚集體、二聚體及單體)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的百分比

方法類型*	聚集體%	二聚體%	單體%
SIB之亞硫酸分解(TFF-2在室溫下持續20小時)	68	17	8
無SIB之亞硫酸分解(2× UF/DF在4℃下)	36	27	22
無SIB之亞硫酸分解(2× UF/DF在室溫下持續66小時)	57	22	11

*圓括號中包括之*為再摺疊與AEX層析之間的TFF步驟的描述*

表51 - Capto Q層析之後的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)產率

方法類型	Capto Q負載(mg)	UFDF濃度(mg/mL)	Capto Q池體積(mL)	Capto Q產率	二聚體純度(%)
SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	1680	1.85	270	151	74
無SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	1680	1.68	270	262	84

表52 - Capto Q層析之後的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體回收

方法類型	Capto Q負載中之二聚體含量(%)	Capto Q總蛋白質回收(%)	Capto Q二聚體回收(%)	二聚體純度(%)
SIB之亞硫酸分解(平均3個)	20	17	55	82-83
SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	16.5	9	54.5	74
無SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	25	15.6	62.4	84

【0710】 實例32：比較具有或不具有亞硫酸分解之IL-10遞送構築體的純化

【0711】 此實例展現將由SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列組成之遞送構築體活體內胞吞轉運穿過威斯塔大鼠之完整極化腸上皮細胞。資料表明遞送構築體快速且有效地將IL-10負載物轉運穿過極化腸上皮細

胞，進入固有層中。

【0712】使用雄性威斯塔大鼠來測試活體內胞吞轉運。使用12/12小時光/暗循環在每籠圈養3-5隻雄性威斯塔大鼠，且當該等雄性威斯塔大鼠在置放於研究時為約225-275 g (大致6-8週大)。在日間階段期間使用非回收協定進行實驗，該非回收協定使用持續異氟醚感覺缺失。進行暴露空腸中段區域之4-5 cm腹部中線切開。在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中製備呈3.86×10^{-5} M之遞送構築體的儲備溶液，其中藉由使用29規格針頭進行腔內注射(ILI)來投與50 μL (每250 g大鼠)。隨後用永久性標記來標記注射部位腸系膜。在研究終止時，將所捕獲之標記腸片段之3-5 mm區域分離且處理以用於顯微評估。根據1986年之英國動物(科學程序)法案、1986年之歐洲共同體委員會指示(86/609/EEC)進行活體內實驗。

【0713】具有SEQ ID NO: 5之遞送構築體的胞吞轉運活性結果展示於**圖117A-圖117C**中。資料展示顯微影像表明在將具有SEQ ID NO: 5中闡述之序列的遞送構築體內腔施加至大鼠空腸之後的不同時間點處，將IL-10負載物轉運穿過威斯塔大鼠之極化腸上皮細胞。遞送構築體(SEQ ID NO: 5)包括具有SEQ ID NO: 4 (且進一步包括N端甲硫胺酸)之cholix載體，其經由具有SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸的間隔子偶聯至具有SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸的IL-10負載物。綠色螢光指示存在IL-10 (經由用抗IL-10抗體染色)。藍色螢光指示標記DNA之DAPI染色，且紅色螢光指示可在胞吞轉送期間與cholix源性載體共定位(例如在上皮細胞之核上區域中)之CK-8 (細胞角蛋白-8)的存在。白色箭頭#1突出顯示上皮細胞之頂端膜，且白色箭頭#2突出顯示上皮細胞之基底膜。

【0714】**圖117A**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中

所闡述之序列的遞送構築體之後一分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。資料展示，IL-10負載自頂端轉運至基底位點以及轉運至固有層中早在施加遞送構築體之後1分鐘發生。白色箭頭#3指示IL-10存在於固有層中。

【0715】 **圖117B**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後五分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。資料展示在內腔施加遞送構築體之後5分鐘存在於固有層(參見例如白色箭頭#3)中之增加量的經轉運IL-10負載物。

【0716】 **圖117C**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後十分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。資料展示在內腔施加遞送構築體之後10分鐘存在於固有層(參見例如白色箭頭#3)中之甚至更高量的經轉運IL-10負載物。

【0717】 此資料表明具有SEQ ID NO: 4中闡述之序列(且進一步包括N端甲硫胺酸)之cholix源性載體能夠快速且有效地將IL-10負載物(SEQ ID NO: 2)活體內轉運穿過完整極化腸上皮細胞，如藉由早在內腔施加遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後1分鐘固有層中存在IL-10負載物所表明。在此實驗之過程中，在固有層中偵測到增加量之經轉運IL-10。

【0718】 實例33：SEQ ID NO: 5之遞送構築體的元件在活體外具功能活性

【0719】 此實例提供cholix源性載體(SEQ ID NO: 4)將IL-10負載物(SEQ ID NO: 2)轉運穿過腸上皮細胞之能力的功能評估，使用在活體外於半透膜上培養之人類小腸細胞的極化、匯合單層來驗證(**圖118**)。儘管分子量大得多，但遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在比重組人類IL-10 (rhIL-10)更大的程度上轉運穿過此等單層，表明SEQ ID NO: 5之cholix源性載體保

留其經歷頂端至基底(A→B)胞吞轉運之能力。隨後在活體外測試遞送構築體(SEQ ID NO: 5)以確保融合蛋白之IL-10元件具生物活性。經工程化以表現涉及IL-10信號轉導之兩種受體(IL-10RA及IL-10RB)且由於配位體誘導之受體二聚化而呈現發光事件之U2OS骨肉瘤細胞株係用於測試增加劑量之遞送構築體、單獨的cholix源性載體及單獨的rhIL-10。相比於rhIL-10之91.53 pM，遞送構築體之EC50為971.4 pM (圖**119**)，而單獨的cholix源性載體不誘導IL-10R二聚化。為了評估下游效力，使用小鼠巨噬細胞J774.2細胞來檢查遞送構築體、rhIL-10或cholix源性載體誘導信號轉導及轉錄活化因子3 (STAT3)之磷酸化的潛力。相比於此分析中之hIL-10之商業製劑的40.98 pM，SEQ ID NO: 5之遞送構築體展現263.6 pM之EC50 (**圖120**)。值得注意的是，相比於hIL-10之2.19%，遞送構築體具有約1.47%之減小幅度的pSTAT3/總STAT3。最後，用SEQ ID NO: 5之遞送構築體預治療人類外周血單核細胞(PBMC)引起分泌之腫瘤壞死因子α (TNFα，**圖121**)之劑量依賴性減少，且引起HLA-DR (**圖122**)，但不引起分泌之IL-6 (**圖123**)之表面表現，其通常由內毒素(脂多醣)治療誘導。共同地，此等資料展示經由GS多肽序列間隔子將hIL-10與SEQ ID NO: 4之cholix源性載體結合產生保留到達腸固有層內之細胞及活化該區室中之IL-10受體信號傳導路徑所需之特性的嵌合體。

【0720】 實例34：SEQ ID NO: 5之遞送構築體在活體內胞吞轉運

【0721】 此實例提供SEQ ID NO: 5之遞送構築體是否可經歷有效活體內胞吞轉運之評估，其藉由使用在經口管飼PBS、rhIL-10或遞送構築體之後40分鐘分離之大鼠腸組織檢查pSTAT3誘導。來自經PBS治療之動物之組織的免疫螢光顯微法未能展現固有層或腸上皮細胞中存在針對hIL-

10或pSTAT3誘導之任何免疫反應性(**圖124**)。在一些情況下，rhIL-10治療之動物在腸上皮細胞中但未在固有層內之細胞中展現pSTAT3誘導；未在組織內偵測到hIL-10 (**圖125**)。此觀測結果與小鼠中之以下發現一致：腸上皮細胞可在產生與及維持障壁功能相關之某些條件下於其頂表面處表現IL-10受體。自用SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體治療之動物分離的組織展現大量hIL-10及許多對於固有層內之pSTAT3呈陽性之細胞(**圖126**)。為了定量測試物品如何影響腸IL-10信號轉導路徑，進行影像分析：收集高通量影像批次，相對於固有層定位藉由上皮，且接著藉由細胞特徵分段。所得分段圖案允許產生施加至組分資料之二進制圖，從而得到核pSTAT3+細胞之腸道絨毛分佈評分(**圖127**)。用SEQ ID NO: 5之遞送構築體處理之組織展示比自PBS或rhIL-10治療之動物收集之腸組織中所觀測更大的固有層內之細胞及腸上皮細胞中之pSTAT3誘導。

【0722】 此實例亦評估SEQ ID NO: 5之遞送構築體是否可轉運穿過發炎之腸組織。藉由轉移CD4+ CD45RBhigh T細胞誘導之結腸炎的小鼠模型係以ILI格式使用，其中將約160皮莫耳之IL-10遞送構築體或rhIL-10在PBS中投與至結腸之遠端迴腸或近端、中段或遠端區域(**圖128**)。腸組織之組織病理學顯微評估在結腸之所有層級下確認發炎，但在迴腸中未確認。在ILI之後10分鐘，相比於rhIL-10治療，遠端迴腸組織對於SEQ ID NO: 5之遞送構築體含有高約5倍的hIL-10含量；在發炎組織中，相比於rhIL-10治療，在SEQ ID NO: 5之遞送構築體之ILI之後量測的hIL-10含量高約10倍(**圖128**)。相對於未發炎之遠端迴腸，在發炎之結腸中觀測到的hIL-10之較高組織含量可能歸因於此等組織之障壁特性的差異。在ILI之後40分鐘檢查之組織表明經由SEQ ID NO: 5之遞送構築體遞送之hIL-10

反映在10分鐘處獲得之資料，其中在未發炎之遠端迴腸中觀測到較大相對吸收(資料未示出)。重要的是，未在全身循環中觀測到hIL-10 (**圖128**)。

【0723】 進行分析以確保SEQ ID NO: 5之遞送構築體之遺傳結構保留應由cholix源性載體賦予之A-B胞吞轉運特性，該載體涉及在不靶向至極化腸上皮細胞中之溶酶體降解路徑之情況下的受體介導之吸收及囊泡運輸。SEQ ID NO: 5之遞送構築體之融合蛋白之cholix衍生載體及hIL-10元件在A-B胞吞轉運期間保持在一起且保持在固有層內，允許hIL-10之定位精確描述SEQ ID NO: 5之遞送構築體的分佈(圖129)。儘管Rab7+囊泡(界定晚期內體)存在於腸上皮細胞之頂端及基底囊泡區室中，但與遞送構築體之共定位主要出現於頂端囊泡區室中(**圖130**)。亦在腸上皮細胞之頂端及基底區室中觀測到Rab11+囊泡(界定再循環內體)，但與Rab7相反，共定位大多出現於基底囊泡區室中(**圖131**)。相比於固有層中之細胞內的Rab7，SEQ ID NO: 5之遞送構築體在更大程度上與Rab11共定位(**圖130**及**圖131**)。

【0724】 已展示MAN1 (凝集素，甘露糖結合1)蛋白涉及cholix胞吞轉運，該蛋白為內質網-高基體中間區室(ERGIC)之居住者且已知涉及蛋白質及脂質之分選或再循環。SEQ ID NO: 5之遞送構築體亦在A-B胞吞轉運期間與再分佈LMAN1共定位(**圖132**)：在1分鐘處，當遞送構築體剛剛進入內腔膜時，LMAN1定位於頂室中；在5分鐘處，LMAN1及一些內化的SEQ ID NO: 5之遞送構築體存在於與ERGIC分佈相關的核上區域中；截至10分鐘，SEQ ID NO: 5之遞送構築體及LMAN1在基底室中廣泛地共定位；且截至15分鐘，LMAN1在整個腸上皮細胞中之再分佈及與SEQ ID NO: 5之遞送構築體共定位的程度最大化。LMAN1再分佈至基底

室之時序與在固有層內之非極化細胞中最終偵測到hIL-10的存在一致，在固有層中，hIL-10與LMAN1不相關。與SEQ ID NO: 5之遞送構築體A-B胞吞轉運相關的LMAN1之此再分佈與針對cholix先前所觀測相同。

【0725】 已顯示cholix進入之A-B胞吞轉運路徑與Rab7+及LAMP1+囊泡相交；儘管此等為晚期內體及溶酶體之標記，但cholix似乎不運輸至腸上皮細胞內之溶酶體樣結構。為了針對SEQ ID NO: 5之遞送構築體檢查此點，進行LAMP1及遞送構築體共定位之時程(**圖133**)。在ILI後1分鐘處於極化腸上皮細胞中觀測道有限的LAMP1/遞送構築體共定位，其中此等共定位之程度在完成遞送構築體之A-B胞吞轉運所需的15分鐘時程內不增加。固有層內之非極化細胞中的LAMP1+結構在ILI後1分鐘及5分鐘處不展示與SEQ ID NO: 5之遞送構築體的共定位。然而，在ILI後10分鐘及15分鐘處，在固有層內之非極化細胞中存在廣泛LAMP1/遞送構築體共定位。共同地，此等資料表明SEQ ID NO:5之遞送構築體的A-B胞吞轉運在10-15分鐘時程內完成，且涉及頂室Rab7+囊泡、基底室Rab11+囊泡、LMAN1再分佈及避免與針對cholix A-B胞吞轉運先前所觀測類似的腸上皮細胞中之溶酶體命運。最終，遞送構築體係遞送至固有層內之一大部分細胞內的溶酶體樣結構，其為將限制遞送構築體在A-B胞吞轉運之後的全身分佈的結果。

【0726】 實例35：固有層中之巨噬細胞藉由SEQ ID NO: 5之遞送構築體活化

【0727】 在確定SEQ ID NO: 5之遞送構築體在活體內具生物活性之後，使用免疫螢光顯微法來探究遞送構築體之細胞靶標。hIL-10遞送至固有層之論證展示於小鼠空腸組織樣品連同pSTAT3誘導及免疫細胞標記中

(**圖67**)。在經口管飼之後的此40分鐘時間點處，在腸上皮細胞之基底區域中及固有層內之線性組織中觀測到hIL-10，該等線性組織與乳糜管及/或血管一致。鄰近於所偵測hIL-10之區域在固有層內之許多細胞中展現強pSTAT3表現，且在極化腸上皮細胞之一些細胞核中展現含量低得多的表現。觀測到固有層內之適中比例的CD3+細胞與pSTAT3共定位：此區室內存在之許多CD3+細胞對於pSTAT3不呈陽性，且存在許多對CD3不呈陽性之pSTAT3+細胞(**圖134**)。然而，使用巨噬細胞特異性標記F4/80，吾人觀測到與pSTAT3之廣泛共定位(**圖135及圖136**)。F4/80及pSTAT3標記之額外實例係在獲自小鼠之小腸(**圖137**)及結腸(**圖138**)的組織樣品(在管飼給與SEQ ID NO: 5之遞送構築體之後獲得)中突出顯示，與固有層內之巨噬細胞細胞群體的廣泛IL-10活化一致。結果表明SEQ ID NO: 5之遞送構築體在A→B胞吞轉運之後最終靶向至CD3+ T淋巴細胞，可能經由由其cholix源性載體元件驅動之相互作用，而巨噬細胞由hIL-10元件廣泛地靶向。

【0728】 實例36：小鼠之循環IL-1Ra及全身hIL-10回應於經口管飼SEQ ID NO: 5之遞送構築體而增加

【0729】 IL-1β之發炎作用係藉由稱為IL-1Ra之特定受體拮抗劑的存在來調節。增加之血清IL-1Ra含量可由IL-10誘導，其可在不存在促炎性狀態的情況下發生。理解了與多少生物活性遞送構築體自胃釋放到達小腸及何時釋放以及其在經口管飼之後於固有層內之吸收及作用時序相關的不確定性，吾人檢查IL-1Ra在未發炎小鼠中之功能作為IL-10遞送構築體之作用的生物標記。

【0730】 經口管飼10 mg/kg SEQ ID NO: 5之遞送構築體產生早在1小時於全身循環中偵測到的約50 pM hIL-10，其在4小時處增加至約700

pM (**圖139**)。遠端小腸(**圖140**)及結腸(**圖141**)組織中之hIL-10偵測在1及2.5小時處不顯著升至高於基線，但在4小時處展示具有高變化性的略微增加；小腸溶解物中之hIL-10比結腸溶解物中高約10倍。血清IL-1Ra含量在4小時處顯著增加(**圖142**)。此等結果表明IL-1Ra誘導之起始出現於經口管飼之後2.5-4小時之間，在遠端小腸及結腸組織中觀測到hIL-10之組織含量之可偵測增加的大約相同時間。此結果表明在遞送構築體於遠端小腸及結腸組織中經吸收之後幾乎立即誘導IL-1Ra，或此誘導在經口管飼之後於上小腸中幾乎快速吸收遞送構築體之後的幾小時出現。為了測試此問題，將遞送構築體直接沈積至非人類靈長類動物模型中之結腸黏膜的內腔表面上。

【0731】 實例37：在向非人類靈長類動物(NHP)結腸內噴灑SEQ ID NO: 5之遞送構築體之後的IL-1Ra誘導

【0732】 局部噴霧方法用於將1、3或10 mg (總劑量) SEQ ID NO: 5之遞送構築體投與至健康、禁食之非人類靈長類動物(食蟹獼猴)之結腸黏膜(近端、中段及遠端)的內腔表面上。此使用具有連接噴嘴之結腸鏡達成。以此方式，可在特定局部劑量下獲得關於IL-1Ra誘導之起始及持續時間的精細資訊。IL-1Ra之循環量在結腸噴霧之後2-3小時以表明此反應在最低測試劑量下接近飽和的方式增加(**圖147**)。結腸組織活檢體中之pSTAT3誘導的分析展示針對此事件之起始及恢復至基線的預期時程，該事件與SEQ ID NO: 5之遞送構築體在內腔施加之後約15分鐘到達固有層相關(**圖148**)。偵測之pSTAT3/總STAT3變化性與此活體內模型中之組織捕捉及穩定性挑戰一致。量測組織遞送構築體含量具有類似組織捕捉及穩定性挑戰，展示所收集組織樣品之低量及可變量(**圖143**)。重要的是，儘管

可在結腸組織中偵測到SEQ ID NO: 5之遞送構築體，但遞送構築體之血清含量低於分析偵測極限(**圖145**)，與此材料在腸固有層中之保留一致。由於IL-10可誘導細胞產生更多IL-10，吾人亦尋找誘導之IL-10。在結腸內噴灑SEQ ID NO: 5之遞送構築體之後的15分鐘內，觀測到組織IL-10含量之劑量依賴性及瞬時增加(**圖144**)。IL-10之血清含量亦以劑量依賴性方式增加至藉由結腸噴霧給藥之遞送構築體的量(**圖146**)；此等增加之血清含量儘管仍在皮莫耳範圍內，但比結腸組織中觀測之血清含量更耐久。重要的是應注意，由於人類及NHP IL-10之類似性，所示之ELISA值亦可包括在某種程度上與遞送構築體分子之載體域分離的hIL-10。儘管此無法排除，但無其他資料支持此作為結果，且似乎可能的是大部分(若非全部)量測之組織及血清IL-10表示NHP源。

【0733】 實例38：針對處理期間之二聚體穩定性的鹽篩選

【0734】 進行各種鹽及鹽濃度篩選以評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在各種液體介質中之穩定性。以表53中所指示之鹽及鹽濃度，在20 g/Lin 10 mM磷酸鈉，pH 7.0下用遞送構築體製備配方。藉由尺寸排阻HPLC如先前所指示地評估以二聚體形式、單體形式及高分子量聚集體(HMW Agg)存在之IL-10遞送構築體的百分比。表53展示緊接在調配之後及在25℃下培育2天之後的結果。表54展示在所評估配方之初始時間點處之其他鹽濃度的結果，150 mM 1× PBS及200 mM NaCl展示最高穩定性。對於Na_2SO_4及NH_4SO_4考慮較高濃度(資料未示出)。然而，在緩衝液交換期間，可見IL-10遞送構築體沈澱。

表53-不同鹽配方中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體百分比

配方	t0			25C，2天		
	HMW Agg	二聚體	單體	HMW Agg	二聚體	單體
起始物質	3.5	88.8	7.7	5.1	86.76	8.2
NaCl 150mM	3.7	91.3	5.0	6.3	83.9	9.8
NaCl 200mM	2.8	91.7	5.4	5.7	84.3	9.97
NaCl 250mM	3.6	91.4	4.97	5.5	84.3	10.1
KCl 50mM	3.5	91.6	4.9	7.0	84.1	8.9
KCl 100mM	3.9	91.5	4.6	7.8	81.5	10.6
KCl 150mM	3.1	91.6	5.3	6.3	83.9	9.8
$MgCl_2$ 25mM	9.6	85.6	4.8	40.8	52.8	6.4
$MgCl_2$ 50mM	8.5	87.2	4.3	31.9	60.5	7.5
$MgCl_2$ 75mM	7.2	86.2	6.6	23.0	67.9	9.0
Na_2SO_4 250mM	3.3	90.9	5.7	5.0	82.5	12.5
Na_2SO_4 500mM	4.2	90.9	4.9	6.7	83.4	9.9
NH_4SO_4 250mM	3.2	89.6	7.1	6.1	79.6	14.3
NH_4SO_4 500mM	3.5	89.7	6.8	8.5	74.1	17.4

表54-不同鹽配方中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體百分比

緩衝液	鹽	濃度	HMW Agg	二聚體	單體
起始物質			3.1	92.3	4.6
10mM磷酸鈉	NaCl	150mM	3.3	91.8	4.9
		500mM	2.7	92.0	5.2
		1M	2.8	91.6	5.6
	Na_2SO_4	25mM	3.1	91.7	5.2
		50mM	2.9	91.9	5.1
		75mM	3.4	91.4	5.2
	NH_4SO_4	25mM	4.1	90.5	5.4
		50mM	2.9	91.9	5.2
		75mM	3.2	91.5	5.3
		100mM	3.2	91.0	5.8

【0735】 實例39：針對IL-10遞送構築體用S-650F陽離子交換管柱

比較不同純化條件

【0736】 使用與**圖2B**中所述類似的方法自包涵體純化IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。在4℃下在含有1 mM還原麩胱甘肽、0.5 mM氧化麩胱甘肽、1 M精胺酸-HCl、250 mM蔗糖、100 mM Tris pH 8.5 (在4℃下)及2 mM EDTA之再摺疊溶液中進行再摺疊。使用表55-57中所述之三種流程鏈中之每一者純化IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。表56中之用於CHT結合/溶離步驟之緩衝液A亦可包含25 mM Tris，pH7.5、300 mM NaCl、5.0 mM NaPi、0.5 mM CaCl2。使用之管柱描述於表58中。

【0737】 表55：流程鏈1

管柱	緩衝液A	緩衝液B	樣品製備	管柱平衡	管柱洗滌	溶離
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5，1M NaCl	2×UFDF (25 mM Tris pH7.5，150 mM NaCl)	15% B	15% B	15-40% B，16 CV
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0，1M NaCl	用 40 mM NaPi pH7.0 進行1/1稀釋	20% B	20% B	20-45% B，10 CV
CHT (FT- 模式)	80 mM NaPi pH7.0	200 mM NaPi pH7.0	添加 1 M NaPi pH7.0 直至最終60 mM (X L × 0.0417)	0% B	100% B	FT-模式

【0738】 表56：流程鏈2

管柱	緩衝液A	緩衝液B	樣品製備	管柱平衡	管柱洗滌	溶離
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5，1M NaCl	2xUFDF (25 mM Tris pH7.5，150 mM NaCl)	15% B	15% B	15-40% B，16 CV 梯度溶離
CHT (結合/溶離)	25 mM Tris pH7.5，150 mM NaCl	200 mM NaPi pH7.0	無	0% B	0% B	30%B 2CV 梯度溶離
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0，1M NaCl	用水1:1稀釋	20% B	20% B	20-45% B，10 CV 梯度溶離

【0739】 表57：流程鏈3

管柱	緩衝液A	緩衝液B	樣品製備	管柱平衡	管柱洗滌	溶離
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0，1M NaCl	2xUFDF (NaPi pH7.0，200 mM)	20% B	20% B	階段梯度 (45% B)，2-3 CV
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5，1M NaCl	用 75 mM Tris pH7.5進行1/2稀釋	15% B	15% B	15-40% B，16 CV
CHT (FT-模式)	40 mM NaPi pH7.0	200 mM NaPi pH7.0	添加 1 M NaPi pH7.0 直至最終60 mM (X L × 0.064)	0% B	100% B	FT-模式

【0740】 表58：管柱

管柱	DBC	起始量(5 L再摺疊)	管柱體積
Capto Q ImpRes	16 g/L	5 g (20 cm h)	320 mL
S-650F	20 g/L	200 mg (20 cm h)	41 mL
CHT	20 g/L	200 mg (20 cm h)	106 mL

【0741】 在各步驟之後，且在各流程鏈之後評估IL-10遞送構築體

之產率、回收率及純度。表59展示流程鏈2與對照流程之間的比較。

【0742】 表59：流程鏈2 (PT2)與對照之間的比較

名稱	流程	產率	純度	回收率
PT2	Capto Q ImpRes CHT步驟B/E 80 mM NaPi S-650F	26 mg	78.5%	1%
對照	Capto Q ImpRes CHT梯度B/E	68 mg	78.2	1.5%

【0743】 表60：不同流程鏈之比較

流程鏈	層析	純度	回收率	內毒素
對照*	Capto Q CHT (線性溶離)	*85%	-	*8 EU/mg
PT1	Capto Q S-650F CHT (FT模式)	92%	24%	8.9 EU/mg
PT2	Capto Q CHT (分佈溶離) S-650F	91%	24%	5 EU/mg
PT3	S-650F Capto Q CHT (FT模式)	96%	20%	0.4 EU/mg

* 基於歷史資料

【0744】 表60展示三種不同流程鏈，及無S-650F管柱之對照流程鏈的比較。具有S-650F陽離子交換管柱純化之所有三種流程鏈均使得IL-10遞送構築體之純度較高。流程鏈2及3產生比對照流程更低的內毒素含量。出人意料的是陽離子交換樹脂適用於IL-10遞送構築體之純化，因為陽離子交換樹脂帶負電，且因此結合至具有正電荷之蛋白質。此處，IL-10遞送構築體具有5.49之計算等電點(pI)，且因此預期在陽離子交換層析中傳統使用之條件下具有負電荷。然而，出人意料地，IL-10遞送構築體結合至陽離子交換樹脂。

【0745】 IL-10遞送構築體結合至硫酸鹽-650F樹脂之可能的解釋為

儘管IL-10遞送構築體之計算pI為5.49，但各域(cholix及IL-10)維持其自身獨特特性且具有與總構築體之pI顯著不同的局部pI。舉例而言，IL-10之計算pI為8.1且在工作條件(例如pH 7)下，IL-10遞送構築體將具有結合至陽離子交換樹脂之帶正電IL-10域。

實例40：在對於抗TNF療法展現不充分(部分)反應的患有活動性類風濕性關節炎之成人中的隨機雙盲安慰劑控制探索性藥物試驗。

【0746】 IL-10被視為先天及後天免疫系統之主調節因子，因為其不僅抑制炎性體，且亦抑制發現與開始於巨噬細胞活化及分泌IL-1、IL-6、TNFα、MMP-1/2之RA相關的許多發炎事件，同時減少發炎之全身性病徵及T調節細胞之發育。

【0747】 經口遞送IL-10遞送構築體將IL-10局部遞送至GI黏膜免疫系統，同時避免藥物之高全身含量。將IL-10局部遞送至GI黏膜亦可能夠實現全身免疫調節。在免疫細胞穿過GI黏膜時調節免疫細胞活性可引起有效全身免疫調節，因為彼等細胞接著在整個身體中運動。因此，將IL-10靶向遞送至GI黏膜免疫系統可能夠引起有效免疫調節以在增強之安全性下治療例如類風濕性關節炎個體。

【0748】 此研究評估持續12週經由IL-10遞送構築體向個體每日經口遞送IL-10之安全性及耐受性，該個體患有活動性類風濕性關節炎，對TNF抑制劑僅展現部分反應。該研究亦藉由疾病活動性評分28 (DAS-28)(CRF)、簡化疾病活動性指數(SDAI)及臨床疾病活動性指數(CDAI)之變化來評估持續12週每日用IL-10遞送構築體經口治療的生物活性。另外，該研究檢查IL-10遞送構築體之藥物動力學及藥效學效應，且檢查IL-10遞送構築體之免疫原性。該研究亦在持續12週經由IL-10遞送構築體每

日經口遞送IL-10之後藉由健康評估調查表-殘疾指數(HAQ-DI)來評估生活品質(QOL)。

【0749】 此為大約18個個體之隨機雙盲安慰劑對照研究，該等個體患有活動性類風濕性關節炎，對抗TNF療法具有不充分(部分)反應。個體以2:1比率隨機分至持續12週接受IL-10遞送構築體或安慰劑。研究群體包含患有活動性類風濕性關節炎、對TNF療法具有不充分(部分)反應之成年個體。

【0750】 若個體符合以下納入標準，則將其包括於研究中。個體在簽署知情同意書時為≥18歲且<75歲。根據1987美國風濕病學會(ACR)或2010 ACR/歐洲風濕病防治聯合會(EULAR)標準，個體診斷患有類風濕性關節炎(RA)。個體已接受批准劑量之抗TNF生物治療，且投與≥12週但僅具有部分反應。生物製劑治療史應限於阿達木單抗、英利昔單抗、戈利木單抗、依那西普(包括生物仿製藥)之中的1或2種抗TNF劑。在篩選期，個體具有至少一個展示活動性疾病之關節(根據MRI/FOI)及兩個或更多個觸痛關節(在28個關節中)及2個或更多個腫脹關節 個體能夠繼續抗TNF之穩定劑量方案直至完成或直至研究中止。在篩選期，個體具有≥0.6毫克/分升(dL)之C反應蛋白(CRP)含量或≥28毫米/小時(mm/hr.)之紅血球沈降速率(ESR)。個體之體重為≥30公斤(kg)且≤100 kg。要求個體自願簽署參與此研究之書面同意書。所有個體充分瞭解參與研究之條件，能夠理解，且必須願意及能夠遵守方案之所有態樣。

【0751】 若個體具有任何可表明提高的風險或可能的混淆因素之病史，則將其自研究排除。若個體患有除類風濕性關節炎或休格連氏症候群以外的發炎性關節炎病症，或若個體診斷患有IV級類風濕性關節炎(根據

ACR 1991全局功能狀態分類修訂標準(Revised Criteria for the Classification of Global Functional Status))，則將其自研究排除。若個體最近接受免疫球蛋白製劑、血液產品或活疫苗，則亦將其排除。若個體具有嚴重過敏史(休克或類過敏症狀)，則將其自此研究排除。若個體具有癌症或免疫缺陷史，或癌症或免疫缺陷之當前病況，則亦將其排除。亦可排除具有傳染病史或當前患有傳染病之個體。個體必須未懷孕或處於哺乳期，且必須同意在試驗持續時間內及之後的一段時間使用高效避孕方法。若個體具有在研究人員或助理研究人員看來將損害參與者安全地完成研究之能力的醫學病況或伴隨醫學病況之任何病史，則將其自此研究排除。

結果量度

【0752】臨床監測個體，包括藉由身體檢查、血液學、化學、EKG及尿檢。臨床功效係藉由若干不同量度來評估。疾病活動性評分28(DAS-28)為數學計算之連續、複合指標，其向以下分量中之每一者給與差異性權重：觸痛關節計數(28個關節)、腫脹關節計數(28個關節)、急性期反應物及關節炎之患者全局評估。簡化疾病活動性指數(SDAI)量測腫脹及觸痛關節(肩、肘、手腕、手之掌骨指骨關節及近端指骨關節)之數目，疾病活動性及CRP之患者及醫師全局評估。CDAI與SDAI相同但略去CRP值。HAQ-DI評估在過去一週內患者在八個日常生活活動領域中經歷的困難程度：穿衣及梳洗、起床、進食、行走、衛生、伸展、抓握及其他活動。DAS28 (病例報告表)、SDAI及CDAI全部在基線、第2、4、8及12週時評估；評估身體機能變化的健康評估調查表-殘疾指數(HAQ-DI)將在基線及第4、8、12及16 (最後一個劑量之後4週)時評估。

【0753】IL-10遞送構築體及IL-10之血清含量係在基線及第1天於

給藥後4、8及24小時以及第2、4、8、12及16週評估。

【0754】評估之藥效學標記包括單核球HLA-DR表現；血清IL-1Ra、CRP、血清澱粉狀蛋白A、VCAM-1、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2、ESR、EGF及VEGF-α：在基線及第1天-於24小時處及第2、4、8、12及16週獲得。在第12及16週評估抗IL-10遞送構築體含量之總計/效價。

【0755】將監測個體安全性且若個體經歷不良事件或嚴重不良事件，或臨床顯著的實驗室變化，則將其自研究移除。

【0756】關於隨時間推移之變化，及在完成療法時及完成後4週治療在以下各者中考慮功效：

1. DAS-28 (病例報告表)、SDAI及CDAI；

2. DAS-28小於2.6之個體的比例；

3. 相比於基線之HAQ-DI；及

4. 急性期反應物(CRF、ESR)之變化。

【0757】繪製及考慮IL-10遞送構築體及血清IL-10含量相比於基線之變化：第1-8天及24小時及第2、4、8及12週。關於單核球HLA-DR表現、血清IL-1Ra、血清澱粉狀蛋白A、VCAM-1、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2、EGF及VEGF-α將生物標記之變化相比於基線：基線及第1天-於8及24小時處及第2、4、8及12週。將第12及16週時之抗藥物抗體發生率相比於基線。陽性結果可為相比於單獨的TNFα抑制劑，上述參數中之任一者藉由組合療法之增量收益。

實例41：探索性醫學試驗-潰瘍性結腸炎TNF部分反應者

【0758】此研究旨在評估IL-10遞送構築體在患有中度至重度活動

性潰瘍性結腸炎之患者中的功效及安全性，該等患者為抗腫瘤壞死因子α抗體治療之部分反應者。

【0759】 此研究評估持續12週每日經由經口IL-10遞送構築體向患有中度至重度潰瘍性結腸炎之個體遞送IL-10的安全性及耐受性，該等個體對於TNF單株抗體抑制劑僅展現部分反應。該研究亦藉由改良梅歐評分、MMS分量表及組織病理學之變化來評估持續12週每日經由經口IL-10遞送構築體遞送IL-10之臨床活性。此研究檢查IL-10遞送構築體之藥物動力學及藥效學效應，以及其免疫原性。

【0760】 此為在大約12個患有中度至重度潰瘍性結腸炎之個體中的開放標籤研究，該等個體對抗TNF療法具有不充分(部分)反應。個體接受對應於SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的IL-10遞送構築體持續12週，同時繼續其抗TNF療法之穩定劑量，且持續額外4週追蹤安全性。

【0761】 研究群體係獲取自患有活動性中度至重度潰瘍性結腸炎(改良梅歐評分為4-9，不包括GPA，且集中讀取梅歐內視鏡分項評分為2或3)之成年個體，該等個體對抗TNF單株抗體療法具有不充分(部分)反應。

【0762】 藉由以下合格性標準來評估潛在個體。對於納入，所有患者必須提供書面知情同意書；且為18-75歲。

【0763】 根據美國胃腸病學會指南，個體診斷患有UC。個體在篩選時患有中度至重度活動性UC，其定義為：4-9分的改良梅歐臨床評分(MMS)及2級或更高的集中讀取MCS內視鏡分項評分，及1分或更高的MMS直腸出血分項評分，及自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。允許之伴隨藥物治療的穩定劑量包括：在D1給藥之前≥2週之穩定經口皮質類固醇(亦即，≤20毫克/天之潑尼松，≤9毫克/天之布地奈德)；在研究經允許期

間根據研究人員之判斷逐漸減少的經口皮質類固醇；在D1給藥之前≥2週之穩定經口5-胺基水楊酸劑量；在D1給藥之前≥2週之穩定益生菌劑量；及在D1給藥之前≥2週之穩定止瀉藥。患者必須接受針對UC之抗腫瘤壞死因子α療法且在D1給藥之前展現不充分(部分)反應，或必須在篩選之前未用抗TNF療法治療；允許之抗TNF包括英利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(humira)及戈利木單抗(Simponi)，但排除依那西普。

【0764】 先前用環孢靈或他克莫司治療之患者必須在D1給藥之前中止療法≥4週。局部皮質類固醇及局部5-胺基水楊酸製劑必須在D1給藥之前已停藥≥2週。非類固醇消炎藥(NSAID)必須在D1給藥之前已停藥≥4週。托法替尼或其他Janus激酶(JAK)抑制劑必須在D1給藥之前已停藥≥2週。具有生殖潛力之女性必須在登記之前具有陰性妊娠測試結果。具有生殖潛力之男性及女性必須願意自研究開始至研究藥物之最終劑量之後≥3個月使用高效避孕方法。生育控制之高效方法定義為產生低失效率(小於1%每年)之方法。

【0765】 若個體具有以下GI相關排除標準中之任一者，則將其自此研究排除：不確定型結腸炎(IBD-U)或疑似克羅恩氏病、任何結腸切除術史、存在迴腸造口術或結腸造口術、結腸黏膜發育不良或短腸症候群之病史或跡象。

【0766】 若個體具有以下一般健康相關排除標準中之任一者，則將其自此研究排除：懷孕或哺乳期、在研究人員看來不能遵守研究方案、近5年之發育不良或惡性腫瘤史(除了完全切除之皮膚基底細胞癌或鱗狀細胞癌或子宮頸原位癌)、根據研究人員判斷之肝硬化或活躍酒精濫用、控制不佳的糖尿病(HbA1c>8.0%)、顯著篩選ECG異常或腎功能受損。自此研

究排除在醫學檢查中具有在研究人員看來將損害患者安全性或資料品質的當前或先前臨床顯著疾病、醫學病況或發現之跡象的個體。

【0767】 臨床監測個體，包括藉由身體檢查、血液學、化學、EKG及尿檢。臨床功效係藉由若干不同量度來評估。評估在第12週具有臨床緩解之患者的比例。臨床緩解定義為0/1之內視鏡分項評分、0之直腸出血分項評分及0或1之大便頻率分項評分與自基線降低至少1點。臨床緩解亦可定義為：大便頻率=0，大便出血=0；0或1之內視鏡檢評分，大便頻率分項評分亦可為大便頻率分項評分自基線(試驗開始)降低至少1點以達成大便頻率分項評分=0或1。

【0768】 評估具有內視鏡反應之患者的比例。內視鏡反應定義為0或1之改良梅歐臨床評分內視鏡分量表評分。將使用Geboes或Robarts組織病理學指數系統評估組織學活動級別自基線之變化。組織學治癒定義為組織學級別=0。

【0769】 IL-10遞送構築體及IL-10之血清含量係在基線及第1天、第2、4、8及12週評估。

【0770】 評估之藥效學指標包括單核球HLA-DR表現；血清IL-1Ra、CRP、ESR、糞便鈣衛蛋白變化、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2及IFNg，其在基線及第1天及第2、4、8、12及16週獲得。

【0771】 在基線及第8、12及16週評估抗IL-10遞送構築體含量之總計/效價。藉由光學顯微術、免疫組織化學、流式細胞測量術及基因陣列來檢查基線及治療期末期之結腸活檢體。

【0772】 監測個體安全性，且若個體經歷不良事件或嚴重不良事件，或臨床顯著的實驗室變化，則將其自研究移除。

【0773】 關於隨時間推移之變化，及在4、8及12週及完成後4週時在以下各者中考慮治療功效：

1. 改良梅歐評分之變化；

2. 大便出血分量表之變化；

3. 大便頻率分量表之變化；

4. 內視鏡檢分量表之變化；

5. 急性期反應物(CRF、ESR)之變化；及

6. 組織病理學評分(Geboes或Robarts)之變化。

【0774】 繪製及考慮IL-10遞送構築體及血清IL-10含量相比於基線之變化：第1天-8及24小時及在第2、4、8及12週。在基線及第1天-於8及24小時處及第2、4、8及12週針對以下各者考慮生物標記相比於基線之變化：單核球HLA-DR表現血清IL-1Ra、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2、EGF及VEGF-α。將第12及16週時之抗藥物抗體發生率相比於基線。特異性染色將用於藉由免疫化學及/或流式細胞測量術及基因陣列使浸潤發炎細胞及結腸上皮細胞中之HLA-DR表現可視化。陽性結果可為相比於單獨的TNFα抑制劑，上述參數中之任一者藉由組合療法之增量收益。

【0775】 儘管本文已展示及描述本發明之較佳實施例，但熟習此項技術者將明白，此類實施例僅藉助於實例提供。本領域中熟習此項技術者現將在不背離本發明之情況下想到許多變化、改變及取代。應瞭解，本文所述之本發明實施例之各種替代方案均可用於實踐本發明。預期以下申請專利範圍界定本發明之範圍，且因此涵蓋此等申請專利範圍及其等效物之範圍內的方法及結構。

【符號說明】

【0776】

1:通道/箭頭

2:通道/箭頭

3:通道/箭頭

4:通道

5:通道

6:通道

7:通道

8:通道

9:通道

10:通道

11:通道

12:通道

13:通道

14:通道

15:通道

16:通道

17:通道

18:通道

19:通道

20:通道

100: 均二聚體

101: IL-10

102: 間隔子

103: 結合域

104: 易位域

200:例示性方法

201: 步驟

202: 步驟

203: 步驟

204: 步驟

205: 步驟

206:步驟

207:步驟

208:步驟

209:步驟

210:步驟

211:步驟

300:例示性方法

301:步驟

302:步驟

303:步驟

304:步驟

305:步驟

306:步驟

307:步驟

308:步驟

309:步驟

3200:口服配方

3201:內部區

3202:第二包衣

3203:第一包衣

3204:第三包衣

3205:口服配方

ST0:胃培育期

SI0:小腸培育期

SI0, 5:小腸培育期

SI1:小腸培育期

SI1, 5:小腸培育期

SI2:小腸培育期

SI3:小腸培育期

ST45:胃培育期

A:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

B:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

C:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

D:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

E:膠囊包衣

F:膠囊包衣

G:膠囊包衣/杯狀細胞

H:膠囊包衣

l-p:固有層

【序列表】

<110> 美商應用分子運輸公司(APPLIED MOLECULAR TRANSPORT INC.)

<120> 組合物、配方及介白素生產及純化

<130> 40566-721.851

<140>
<141>

<150> 63/055,886
<151> 2020-07-23

<150> 63/033,077
<151> 2020-06-01

<150> 63/020,996
<151> 2020-05-06

<150> 63/013,309
<151> 2020-04-21

<150> 62/986,579
<151> 2020-03-06

<150> 62/971,126
<151> 2020-02-06

<150> 62/970,627
<151> 2020-02-05

<150> 62/939,495
<151> 2019-11-22

<150> 62/898,934
<151> 2019-09-11

<150> 62/898,709
<151> 2019-09-11

<150> 62/898,729
<151> 2019-09-11

<150> 62/898,899
<151> 2019-09-11

<150> 62/888,144

<151> 2019-08-16

<150> 62/888,237
<151> 2019-08-16

<150> 62/887,963
<151> 2019-08-16

<150> 62/887,933
<151> 2019-08-16

<160> 156

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 178
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

```
Met His Ser Ser Ala Leu Leu Cys Cys Leu Val Leu Leu Thr Gly Val
1               5                  10                  15

Arg Ala Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His
            20                  25                  30

Phe Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe
        35                  40                  45

Ser Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu
    50                  55                  60

Leu Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys
65                  70                  75                  80

Gln Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro
                85                  90                  95

Gln Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu
            100                 105                 110

Gly Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg
```

115 120 125

Phe Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn
130 135 140

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

Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile
165 170 175

Arg Asn

<210> 2
<211> 160
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro
1 5 10 15

Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg
20 25 30

Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu
35 40 45

Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala
50 55 60

Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu
85 90 95

Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu

100 105 110

Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe
115 120 125

Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp
130 135 140

Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn
145 150 155 160

<210> 3
<211> 634
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 3

Val Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 4
<211> 386
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 4
Val Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala
385

<210> 5
<211> 561
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 5

```
Met Val Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys
1               5                  10                  15

Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile
            20                  25                  30

Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr
        35                  40                  45

Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser
    50                  55                  60

Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr
65                  70                  75                  80

Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr
                85                  90                  95

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

Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser Ile
        115                 120                 125

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

Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp
145                 150                 155                 160

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

Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu
```

180 185 190

Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu
195 200 205

Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln
210 215 220

Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val
225 230 235 240

Ala Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys
245 250 255

Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala
260 265 270

Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg
275 280 285

Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln
290 295 300

Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser
305 310 315 320

His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu
325 330 335

Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro
340 345 350

Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp
355 360 365

Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly
370 375 380

Ala Gln Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
385 390 395 400

Gly Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe
405 410 415

Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser
420 425 430

Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu
435 440 445

Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln
450 455 460

Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln
465 470 475 480

Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly
485 490 495

Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe
500 505 510

Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala
515 520 525

Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe
530 535 540

Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg
545 550 555 560

Asn

<210> 6

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 6
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 7
<211> 60
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(60)
<223> 此序列可包含1-15個「Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 7
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40 45

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
50 55 60

<210> 8
<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(75)
<223> 此序列可包含1-15個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 8
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
65 70 75

<210> 9
<211> 90
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(90)
<223> 此序列可包含1-15個「Gly Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
85 90

<210> 10
<211> 1683
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 10
atggtagaag aagcgctgaa tatttttgac gagtgtcgta gcccgtgtag cctgactccg 60

gaaccgggca agccgattca gtccaaactg tctatcccga gcgacgttgt gctggatgag 120

ggcgtgttgt attacagcat gacgatcaat gatgagcaaa acgacatcaa agacgaagat 180

aagggtgagt ctattatcac cattggcgag tttgcgacgg tgcgtgcaac gcgccattac 240

gtgaatcaag acgcgccgtt tggtgtcatt cacctggata tcacgaccga aaatggcacg 300

aaaacctatt cgtataatcg caaagagggc gagttcgcga tcaactggct ggttccgatc 360

ggtgaggata gcccggcgag catcaagatc agcgttgatg aactggatca gcagcgcaac 420

attattgaag tcccgaagtt gtatagcatc gacctggata atcagaccct ggagcagtgg 480

aaaacccagg gtaacgttag cttctccgtg acccgtccgg agcacaacat tgccattagc 540

tggccgagcg ttagctacaa agccgcacag aaagagggtt cccgccacaa gcgttgggct 600

cattggcata ccggtttggc gctgtgttgg ctggtgccga tggatgcgat ctataactac 660

atcacgcagc aaaattgcac gctgggtgac aattggttcg gtggcagcta cgagactgtg 720

gcgggtaccc ctaaggttat taccgtcaaa cagggtattg agcaaaagcc tgtcgagcag 780

cgtatccact ttagcaaggg taacgccatg tctgctctgg cggctcatag agtttgcggc 840

gttccgctgg agactctggc ccgttcccgc aagccgcgtg acctgaccga tgacctgagc 900

tgcgcgtatc aagcgcaaaa cattgttagc ttattcgttg cgacgcgcat tttgttttcg 960

cacctggata gcgtgttcac gctgaacctg gatgaacagg aaccagaagt ggcagagcgt 1020

ctgtcagatc tgcgtcgtat caacgaaaac aacccgggca tggttaccca ggtccttacg 1080

gttgcacgcc agatttacaa tgattacgtg acccatcacc cgggtctgac cccagaacaa 1140

accagcgcag gcgcacaagc gggtggcggt ggttccggtg gcggtggtag cggtggcggt 1200

ggtagccctg gtcaaggcac ccaatccgag aatagctgca cgcattttcc aggcaatctg 1260

ccgaatatgc tgcgtgacct ccgcgacgcg ttctctcgtg ttaagacctt ttttcagatg 1320

aaagaccagc tggacaatct gctgctgaaa gaatccctgc tggaagattt caaaggctat 1380

ctgggttgcc aggccctgag cgagatgatc caattctact tggaagaggt catgccgcag 1440

gccgaaaatc aagacccgga catcaaggca cacgtgaaca gcttgggcga aaacctgaaa 1500

accctgcgtt tgcgcctgcg tcgttgtcac cgtttcctgc cgtgcgagaa taagagcaaa 1560

gccgtcgaac aagtcaaaaa tgcattcaac aagctgcaag agaaaggtat ctacaaggct 1620

atgagcgagt ttgacatttt cattaactac attgaagcgt acatgaccat gaagatccgt 1680

aac 1683

<210> 11
<211> 634
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 11

Leu Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser

385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 12
<211> 386
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 12
Leu Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His

305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala
385

<210> 13
<211> 561
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 13
Met Leu Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys
1 5 10 15

Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile
20 25 30

Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr
35 40 45

Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser
50 55 60

Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr

65 70 75 80

Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr
85 90 95

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

Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser Ile
115 120 125

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

Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp
145 150 155 160

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

Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu
180 185 190

Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu
195 200 205

Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln
210 215 220

Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val
225 230 235 240

Ala Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys
245 250 255

Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala
260 265 270

Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg
275 280 285

Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln
290 295 300

Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser
305 310 315 320

His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu
325 330 335

Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro
340 345 350

Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp
355 360 365

Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly
370 375 380

Ala Gln Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
385 390 395 400

Gly Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe
405 410 415

Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser
420 425 430

Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu
435 440 445

Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln
450 455 460

Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln

465 470 475 480

Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly
485 490 495

Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe
500 505 510

Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala
515 520 525

Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe
530 535 540

Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg
545 550 555 560

Asn

<210> 14
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 14
gctcattgct gggtacttac aa 22

<210> 15
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 15

ccagacttgg cacaagacag g 21

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 16
cacagcagca catcaacaag 20

<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 17
gtgctcatgt cctcatcctg 20

<210> 18
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 18
tgtgtccgtc gtggatctga 20

<210> 19
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 19
cctgcttcac caccttcttg a 21

<210> 20
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 20

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Leu Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 21
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 21
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu

260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Ala Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Val Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Asn Gly Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 22
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 22

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Asn Gly Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Asp Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala

580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 23
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 23
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Met Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Tyr Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Arg Val
565 570 575

Asp Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Pro Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 24
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 24
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Ile Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asp Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 25
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 25
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys His
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 26
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 26
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp Arg Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu

260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 27
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 27

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Asn Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala

580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 28
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 28
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Leu Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 29
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 29
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Lys Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 30
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 30
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile Tyr Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 31
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 31
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu

260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 32
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 32

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile Tyr Ala

580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 33
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 33
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Lys Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 34
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 34
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Arg Val
565 570 575

Asp Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 35
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 35
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Asn Gly Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Asp Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 36
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 36
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu

260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 37
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 37

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Ile Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala

580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 38
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 38
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Phe Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 39
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 39
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala
290 295 300

Gln Gln Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His
305 310 315 320

Ile Asp Ser Ile Phe Thr Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Asp Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Ile Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Gln Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Ser Asp Thr Glu Ser Glu Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr
485 490 495

Asp Ala Ser Val Ala Tyr Gly Tyr Ala Arg Ile Gln Glu Gly Thr Ala
500 505 510

Asp Gly Gly Gly Leu Thr Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

Leu Arg Val Tyr Leu Pro Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile
530 535 540

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

His Pro Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu
565 570 575

Glu Gly Ser Asp Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 40
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 40
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 41
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 41
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu

260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asp Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 42
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 42

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Asn Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala

580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 43
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 43
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Ile Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 44
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 44
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 45
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 45
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Thr Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 46
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 46
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu

260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 47
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 47

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Thr Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala

580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 48
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 48
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Leu
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 49
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 49
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Thr Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 50
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 50
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu

340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 51
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 51
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Gln Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys

260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 52
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 52

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr

580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 53
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 53

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr

500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 54
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 54
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr

420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 55
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 55
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Ile Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu

340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 56
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 56
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Ile Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys

260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 57
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 57

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly

180 185 190

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

Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln Gln Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile Asp Ser Ile Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Asp Asp
325 330 335

Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Ile Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Ser
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Gln Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr

580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 58
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 58

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Asp Gly
180 185 190

Ala Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Leu Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Met Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Gly
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Gln Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Thr Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Ile Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr Glu His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Glu Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Lys His Gln Thr
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Thr Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Lys Glu Glu Glu Trp Gly Gly Val Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Leu Ala His Arg Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Asn Gly Leu Pro Thr Thr Glu Glu Lys Lys Ser Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Ile Pro Leu Glu Asn Ala Asp Glu His Val Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Pro Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu His Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 59
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 59
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Asp Gly
180 185 190

Ala Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Leu Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Met Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Gly
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Gln Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Thr Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Ile Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr Glu His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Glu Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln

420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Lys His Gln Thr
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Thr Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Lys Glu Glu Glu Trp Gly Gly Val Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Asn His Arg Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Asn Gly Leu Pro Thr Thr Glu Glu Lys Lys Ser Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Ile Pro Leu Glu Asn Ala Asp Glu His Val Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Pro Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu His Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 60
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 60
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Asp Gly
180 185 190

Ala Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Leu Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Met Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Gly
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Gln Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Thr Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly

340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Ile Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr Glu His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Glu Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Lys His Gln Thr
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Thr Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Lys Glu Glu Glu Trp Gly Gly Val Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Leu Ala His Arg Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Asn Gly Leu Pro Thr Thr Glu Lys Lys Lys Ser Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Ile Pro Leu Glu Asn Ala Asp Glu His Val Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Pro Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asn Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu His Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 61
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 61
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys

260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 62
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 62

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr

580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Gly Leu Thr Thr Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
610 615 620

Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 63
<211> 633
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 63

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Asp Gly
180 185 190

Ala Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Leu Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Met Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Gly
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Gln Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Thr Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Ile Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr Glu His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Glu Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Lys His Gln Thr
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Thr Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Lys Glu Glu Glu Trp Gly Gly Val Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Leu Ala His Arg Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly

500 505 510

Glu Asn Gly Leu Pro Thr Thr Glu Glu Lys Lys Ser Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Ile Pro Leu Glu Asn Ala Asp Glu His Val Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Pro Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu His Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 64
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 64
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr

420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 65
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 65

Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Asn	Ile	Phe	Asp	Glu	Cys	Arg	Ser	Pro	Cys	Ser
1				5				10					15		

Leu	Thr	Pro	Glu	Pro	Gly	Lys	Pro	Ile	Gln	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	Pro
			20					25					30		

Ser	Asp	Val	Val	Leu	Asp	Glu	Gly	Val	Leu	Tyr	Tyr	Ser	Met	Thr	Ile
		35					40					45			

Asn	Asp	Glu	Gln	Asn	Asp	Ile	Lys	Asp	Glu	Asp	Lys	Gly	Glu	Ser	Ile
	50					55					60				

Ile	Thr	Ile	Gly	Glu	Phe	Ala	Thr	Val	Arg	Ala	Thr	Arg	His	Tyr	Val
65					70				75					80	

Ser	Gln	Asp	Ala	Pro	Phe	Gly	Val	Ile	Asn	Leu	Asp	Ile	Thr	Thr	Glu
				85				90					95		

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu

340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 66
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 66
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Asn Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys

260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu
405 410 415

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 67
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 67

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Asn Gly Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr

580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 68
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 68
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr

500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Arg Val Asp Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 69
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 69
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr

420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Arg Val Asp Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 70
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 70
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Glu Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Glu Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Glu Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Gln Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu

340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 71
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 71
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

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

Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys

260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln Gln Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile Asp Ser Ile Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Asp Asp
325 330 335

Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Ile Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Ser
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Gln Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Ser Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly Ser Asp Thr Glu Ser Glu
465 470 475 480

Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr Asp Ala Ser Val Ala Tyr
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Gln Glu Gly Thr Ala Asp Gly Gly Gly Leu Thr
500 505 510

Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Leu Pro
515 520 525

Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile Asn Ala Asp Leu Glu Lys
530 535 540

Glu Arg Asn Leu Val Glu Arg Val Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu Glu Gly Ser Asp Glu Thr
565 570 575

Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 72
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 72

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly

180 185 190

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

Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln Gln Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile Asp Ser Ile Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Asp Asp
325 330 335

Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Ile Gln Val Leu
340 345 350

Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Leu
355 360 365

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Ser
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Gln Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Ser Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly Ser Asp Thr Glu Ser Glu
465 470 475 480

Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr Asp Ala Ser Val Ala Tyr
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Gln Glu Gly Thr Ala Asp Gly Gly Gly Leu Thr
500 505 510

Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Leu Pro
515 520 525

Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile Asn Ala Asp Leu Glu Lys
530 535 540

Glu Arg Asn Leu Val Glu Arg Val Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu Glu Gly Ser Asp Glu Thr
565 570 575

Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly Val Ala Ile Pro Ser Thr

580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 73
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 73
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Ser Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

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

Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln Gln Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile Asp Ser Ile Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Asp Asp
325 330 335

Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Ile Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Ser
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Gln Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Ser Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly Ser Asp Thr Glu Ser Glu
465 470 475 480

Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr Asp Ala Ser Val Ala Tyr
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Gln Glu Gly Thr Ala Asp Gly Gly Gly Leu Thr

500 505 510

Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Leu Pro
515 520 525

Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile Asn Ala Asp Leu Glu Lys
530 535 540

Glu Arg Asn Leu Val Glu Arg Val Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu Glu Gly Ser Asp Glu Thr
565 570 575

Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 74
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 74
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Phe Ile Pro

20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Ile Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr

420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 75
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 75

Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Asn	Ile	Phe	Asp	Glu	Cys	Arg	Ser	Pro	Cys	Ser
1				5				10					15		

Leu	Thr	Pro	Glu	Leu	Gly	Lys	Pro	Ile	Gln	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	Pro
			20				25					30			

Ser	Asp	Val	Val	Leu	Asp	Glu	Gly	Val	Leu	Tyr	Tyr	Ser	Met	Thr	Ile
		35				40					45				

Asn	Asp	Glu	Gln	Asn	Asp	Ile	Lys	Asp	Glu	Asp	Lys	Gly	Glu	Ser	Ile
	50				55					60					

Ile	Thr	Ile	Gly	Glu	Phe	Ala	Thr	Val	Arg	Ala	Thr	Arg	His	Tyr	Val
65					70					75					80

Asn	Gln	Asp	Ala	Pro	Phe	Gly	Val	Ile	Asn	Leu	Asp	Ile	Thr	Thr	Glu
				85				90					95		

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

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

Ile	Ser	Val	Asp	Glu	Ile	Asp	Gln	Gln	Arg	Asn	Ile	Ile	Glu	Val	Pro
	130				135					140					

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro Lys Val
195 200 205

Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp Tyr Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu

340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Thr Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Asp Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 76
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 76
Val Glu Asp Glu Leu Lys Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys

260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 77
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 77

Val Glu Asp Glu Leu Lys Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly

180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Ala Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp
325 330 335

Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asp Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Thr Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
500 505 510

Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr

580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 78
<211> 628
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 78
Val Glu Asp Glu Leu Lys Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu Phe Ala

100 105 110

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Asp Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Ala Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
450 455 460

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
465 470 475 480

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
485 490 495

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Asn Gly Gly Leu Pro Thr

500 505 510

Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
515 520 525

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

Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
545 550 555 560

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
565 570 575

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile Tyr Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
580 585 590

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
595 600 605

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
610 615 620

Asp Glu Leu Lys
625

<210> 79
<211> 617
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 79
Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro Gly
1 5 10 15

Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile Asn

20 25 30

Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile Ile
35 40 45

Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val Ser
50 55 60

Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu Asn
65 70 75 80

Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Ser Glu Phe Ala Ile
85 90 95

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

Ser Ile Asp Glu Leu Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro Lys
115 120 125

Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys Thr
130 135 140

Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile Ala
145 150 155 160

Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly Ser
165 170 175

Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp
180 185 190

Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys
195 200 205

Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly
210 215 220

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

Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala
245 250 255

Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg
260 265 270

Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln
275 280 285

Gln Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile
290 295 300

Asp Ser Ile Phe Thr Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala
305 310 315 320

Glu Arg Leu Asp Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met
325 330 335

Val Ile Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val
340 345 350

Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln
355 360 365

Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys
370 375 380

Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser
385 390 395 400

Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly
405 410 415

Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu

420 425 430

Thr Gln Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val
435 440 445

Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly Ser
450 455 460

Asp Thr Glu Ser Glu Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr Asp
465 470 475 480

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

Gly Gly Gly Leu Thr Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met Leu
500 505 510

Arg Val Tyr Leu Pro Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile Asn
515 520 525

Ala Asp Leu Glu Lys Glu Arg Asn Leu Val Glu Arg Val Ile Gly His
530 535 540

Pro Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu Glu
545 550 555 560

Gly Ser Asp Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly Val
565 570 575

Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ser Tyr Ala Gln Leu Pro Ile
580 585 590

Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro
595 600 605

Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
610 615

<210> 80
<211> 605
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 80

Ser Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser
1 5 10 15

Met Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly
20 25 30

Glu Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg
35 40 45

His Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile
50 55 60

Thr Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly
65 70 75 80

Glu Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala
85 90 95

Ser Ile Lys Ile Ser Val Asp Glu Leu Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile
100 105 110

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

Gln Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu
130 135 140

His Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln
145 150 155 160

Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu
165 170 175

Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr
180 185 190

Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu
195 200 205

Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu
210 215 220

Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met
225 230 235 240

Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu
245 250 255

Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala
260 265 270

Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu
275 280 285

Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu
290 295 300

Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn
305 310 315 320

Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr
325 330 335

Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser
340 345 350

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

355 360 365

Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile
370 375 380

Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile
385 390 395 400

Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr
405 410 415

His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly
420 425 430

Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val
435 440 445

Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr
450 455 460

Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu
465 470 475 480

Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg
485 490 495

Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe
500 505 510

Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln
515 520 525

Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro
530 535 540

Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala
545 550 555 560

Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu
565 570 575

Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser
580 585 590

Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
595 600 605

<210> 81
<211> 594
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 81
Met Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Met Asp Glu Gly Lys Gly
1 5 10 15

Glu Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg
20 25 30

His Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile
35 40 45

Thr Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly
50 55 60

Glu Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala
65 70 75 80

Ser Ile Lys Ile Ser Val Asp Glu Leu Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile
85 90 95

Glu Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu
100 105 110

Gln Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu
115 120 125

Gln Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser
130 135 140

Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His
145 150 155 160

Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile
165 170 175

Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe
180 185 190

Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val
195 200 205

Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser
210 215 220

Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val
225 230 235 240

Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp
245 250 255

Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val
260 265 270

Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn
275 280 285

Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg
290 295 300

Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val

305 310 315 320

Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr
325 330 335

Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu
340 345 350

Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln
355 360 365

Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu
370 375 380

Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln
385 390 395 400

Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe
405 410 415

Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn
420 425 430

Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys
435 440 445

Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr
450 455 460

Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala
465 470 475 480

Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala
485 490 495

Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu
500 505 510

Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu
515 520 525

Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile
530 535 540

Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro
545 550 555 560

Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys
565 570 575

Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu
580 585 590

Leu Lys

<210> 82
<211> 588
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 82
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Met Asp Glu Gly Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Thr Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr
165 170 175

Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp
180 185 190

His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr
195 200 205

Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly
210 215 220

Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys
225 230 235 240

Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys
245 250 255

Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro

260 265 270

Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp
275 280 285

Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala
290 295 300

Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu
305 310 315 320

Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg
325 330 335

Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala
340 345 350

Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro
355 360 365

Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe
370 375 380

Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala
385 390 395 400

Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn
405 410 415

Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu
420 425 430

Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val
435 440 445

Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg
450 455 460

Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp
465 470 475 480

Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala
485 490 495

Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu
500 505 510

Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser
515 520 525

Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu
530 535 540

His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala
545 550 555 560

Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Ile Ile Gly
565 570 575

Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580 585

<210> 83
<211> 588
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 83
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Met Asp Glu Gly Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr
165 170 175

Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp
180 185 190

His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr
195 200 205

Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly
210 215 220

Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys

225 230 235 240

Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys
245 250 255

Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro
260 265 270

Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp
275 280 285

Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala
290 295 300

Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu
305 310 315 320

Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln
325 330 335

Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala
340 345 350

Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro
355 360 365

Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe
370 375 380

Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala
385 390 395 400

Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn
405 410 415

Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu
420 425 430

Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val
435 440 445

Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg
450 455 460

Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp
465 470 475 480

Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala
485 490 495

Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu
500 505 510

Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser
515 520 525

Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu
530 535 540

His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala
545 550 555 560

Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly
565 570 575

Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580 585

<210> 84
<211> 588
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 84

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Met Asp Glu Gly Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr
165 170 175

Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp
180 185 190

His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr

195 200 205

Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly
210 215 220

Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys
225 230 235 240

Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys
245 250 255

Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro
260 265 270

Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp
275 280 285

Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala
290 295 300

Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu
305 310 315 320

Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln
325 330 335

Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala
340 345 350

Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro
355 360 365

Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe
370 375 380

Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala
385 390 395 400

Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn
405 410 415

Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu
420 425 430

Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val
435 440 445

Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg
450 455 460

Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp
465 470 475 480

Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala
485 490 495

Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu
500 505 510

Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser
515 520 525

Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu
530 535 540

His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala
545 550 555 560

Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly
565 570 575

Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580 585

<210> 85

<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 85

Met Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly
1 5 10 15

Glu Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg
20 25 30

His Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile
35 40 45

Thr Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly
50 55 60

Glu Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala
65 70 75 80

Ser Ile Lys Ile Ser Val Asp Glu Leu Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile
85 90 95

Glu Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu
100 105 110

Gln Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu
115 120 125

Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His
130 135 140

Lys Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu
145 150 155 160

Pro Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr

165 170 175

Gly Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro
180 185 190

Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Ala Val Glu Gln
195 200 205

Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His
210 215 220

Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro
225 230 235 240

Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile
245 250 255

Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser
260 265 270

Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg
275 280 285

Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr
290 295 300

Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His
305 310 315 320

His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala
325 330 335

Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala
340 345 350

Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg
355 360 365

Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr
370 375 380

Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg
385 390 395 400

Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala
405 410 415

Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr
420 425 430

Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu
435 440 445

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

Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val
465 470 475 480

Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro
485 490 495

Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu
500 505 510

Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu
515 520 525

Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile Tyr Ala Val Ala Ile
530 535 540

Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu
545 550 555 560

Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys

565 570 575

Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
580

<210> 86
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 86
Met Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly
1 5 10 15

Glu Ser Ile Ile Thr Ile Gly Asp Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg
20 25 30

His Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile
35 40 45

Thr Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly
50 55 60

Glu Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala
65 70 75 80

Ser Ile Lys Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile
85 90 95

Glu Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu
100 105 110

Gln Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu
115 120 125

Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His

130 135 140

Lys Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser
145 150 155 160

Pro Lys Val Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr
165 170 175

Gly Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro
180 185 190

Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln
195 200 205

Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His
210 215 220

Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro
225 230 235 240

Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile
245 250 255

Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser
260 265 270

Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg
275 280 285

Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr
290 295 300

Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His
305 310 315 320

His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala
325 330 335

Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala
340 345 350

Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg
355 360 365

Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr
370 375 380

Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg
385 390 395 400

Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala
405 410 415

Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr
420 425 430

Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu
435 440 445

Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly
450 455 460

Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val
465 470 475 480

Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro
485 490 495

Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu
500 505 510

Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Arg Val Asp Gly Glu
515 520 525

Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile

530 535 540

Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu
545 550 555 560

Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys
565 570 575

Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
580

<210> 87
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 87
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Gln Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser

100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly

500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Arg Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 88
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 88
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr

65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val

465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 89
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 89
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu

35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr

435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 90
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 90
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser

1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Ile Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Pro Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr

405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 91
<211> 583
<212> PRT

<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 91

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

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

370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Asn Gly Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Asp Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 92
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 92
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn

340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Leu Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 93
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 93
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Met Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln
225 230 235 240

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Tyr Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro

305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Arg Val Asp Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 94
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 94
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Asp Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr

275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Ile Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asp Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 95
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 95
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Asp Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu

245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asp Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Leu Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 96
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 96
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr

210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 97
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 97

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala

180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Thr Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser

580

<210> 98
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 98

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His

145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Tyr Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu

545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 99
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 99
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

115 120 125

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Asn Gly Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr

515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 100
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 100
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu

85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Lys Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly

485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 101
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 101
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His

50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro

450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 102
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 102
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Ser Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met

20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Pro Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His

420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 103
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：

Cholix序列

<400> 103

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

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

385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 104
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 104

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Glu Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala

355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 105
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 105
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn

325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asp Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 106
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 106
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe

290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Pro Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 107
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 107
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

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

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala

260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Arg Val Asp Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 108
<211> 583
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 108
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Leu Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Asp Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Lys Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys
165 170 175

Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala
180 185 190

Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln
195 200 205

Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr
210 215 220

Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln

225 230 235 240

Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu
245 250 255

Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala
260 265 270

Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr
275 280 285

Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe
290 295 300

Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro
305 310 315 320

Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn
325 330 335

Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn
340 345 350

Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala
355 360 365

Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp
370 375 380

Lys Pro Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu
385 390 395 400

Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr
405 410 415

Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His
420 425 430

Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr
435 440 445

Asn His Val Ala Ala Gln Asn Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro
450 455 460

Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly
485 490 495

Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly
500 505 510

Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr
515 520 525

Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val
530 535 540

Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu
545 550 555 560

Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile
565 570 575

His Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 109
<211> 582
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 109

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Met Asp Glu Gly Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr
165 170 175

Lys Ala Ala His Lys Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp
180 185 190

Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu

195 200 205

Leu Cys Thr Tyr Gly Glu Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val
210 215 220

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

Thr Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala
245 250 255

Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg
260 265 270

Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln
275 280 285

Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser
290 295 300

His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu
305 310 315 320

Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro
325 330 335

Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp
340 345 350

Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly
355 360 365

Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys
370 375 380

Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser
385 390 395 400

Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro
405 410 415

Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln
420 425 430

Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn
435 440 445

His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg
450 455 460

Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala
465 470 475 480

Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr
485 490 495

Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val
500 505 510

Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg
515 520 525

Thr Asn Thr Leu Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile
530 535 540

Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser
545 550 555 560

Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His
565 570 575

Ala Val Ala Ile Pro Ser
580

<210> 110

<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 110

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Ser Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys

165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro
180 185 190

Lys Val Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Asp Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro

565 570 575

Ser

<210> 111
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 111

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Ser Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln

130 135 140

Trp Glu Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro
180 185 190

Lys Val Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Asp Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Ala Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro

530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 112
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 112
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser

100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr

500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 113
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 113
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr

65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Ala Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asp Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Thr Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val

465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 114
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 114
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu

35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln

435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Asn Gly Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile Tyr Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 115
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 115
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser

1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

Ile Lys Ile Ser Val Asp Glu Ile Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu
115 120 125

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Phe Thr Thr Ser Pro
180 185 190

Lys Val Thr Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Ala Gln Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Ile Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn

405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Asp Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Gln Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 116
<211> 577
<212> PRT

<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 116

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Glu Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Glu Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Gly
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser

370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 117
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 117

Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Glu Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Glu Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Glu
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His

340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 118
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 118
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Ile Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Tyr Asn Arg Lys Glu Gly Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

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

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Lys Val Val Leu Cys Phe Tyr Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu

305 310 315 320

Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Val Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Asp Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu
420 425 430

Asp Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu
450 455 460

Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val
465 470 475 480

Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu
485 490 495

Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Thr Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu
515 520 525

Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp
545 550 555 560

Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 119
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 119
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Ser Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

Ile Lys Ile Ser Ile Asp Glu Leu Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu
115 120 125

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Val Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg
245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln Gln Ile Val

275 280 285

Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile Asp Ser Ile
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Asp Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Ile Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Gln Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Ser Ile Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly Ser Asp Thr Glu
450 455 460

Ser Glu Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr Asp Ala Ser Val
465 470 475 480

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

Leu Thr Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Leu Pro Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile Asn Ala Asp Leu
515 520 525

Glu Lys Glu Arg Asn Leu Val Glu Arg Val Ile Gly His Pro Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu Glu Gly Ser Asp
545 550 555 560

Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 120
<211> 577
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 120
Cys Ser Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met
20 25 30

Thr Ile Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu
35 40 45

Ser Ile Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His
50 55 60

Tyr Val Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr
65 70 75 80

Thr Glu Asn Gly Thr Lys Thr Tyr Ser Phe Asn Arg Lys Glu Ser Glu
85 90 95

Phe Ala Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser
100 105 110

Ile Lys Ile Ser Ile Asp Glu Leu Asp Gln Gln Arg Asn Ile Ile Glu
115 120 125

Val Pro Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln
130 135 140

Trp Glu Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln
145 150 155 160

Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys
165 170 175

Asn Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Val Val Leu Cys Phe Phe Glu Asp Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly
195 200 205

Asp Asp Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys
210 215 220

Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg
225 230 235 240

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

245 250 255

Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg
260 265 270

Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala Gln Gln Ile Val
275 280 285

Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His Ile Asp Ser Ile
290 295 300

Phe Thr Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu
305 310 315 320

Asp Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Ile Gln
325 330 335

Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His
340 345 350

Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Ser Ala Gln Ala Ala Asp
355 360 365

Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser
370 375 380

Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Gln Gln Gly Val Thr Asn
405 410 415

Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Gln Glu
420 425 430

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln
435 440 445

Ser Ile Val Asn Arg Ile Ser Pro Val Pro Arg Gly Ser Asp Thr Glu
450 455 460

Ser Glu Arg Ala Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr Asp Ala Ser Val
465 470 475 480

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

Leu Thr Pro Ala Glu Arg Lys Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr
500 505 510

Leu Pro Gln Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Ile Asn Ala Asp Leu
515 520 525

Glu Lys Glu Arg Asn Leu Val Glu Arg Val Ile Gly His Pro Leu Pro
530 535 540

Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Thr Asp Ala Glu Glu Gly Ser Asp
545 550 555 560

Glu Thr Ala Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Gly Val Ala Ile Pro
565 570 575

Ser

<210> 121
<211> 531
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 121
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Gln Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn

210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Lys Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

Leu Arg Val
530

<210> 122
<211> 491
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 122
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Glu Lys Asp Gly
180 185 190

Ala Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Leu Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala

225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Met Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Gly
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Gln Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Thr Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Ile Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr Glu His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Leu Cys Pro Asp Ala Asp Gly Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Lys His Gln Thr
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Thr Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Lys Glu Glu Glu Trp Gly Gly
485 490

<210> 123
<211> 491
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 123
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Glu Lys Asp Gly
180 185 190

Ala Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Leu Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Met Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Gly
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Gln Cys Ala Tyr Gln Ala

290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Thr Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Ile Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr Glu His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Glu Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Lys His Gln Thr
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Ser Ile Val Asn Arg Ile Thr Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Lys Glu Glu Glu Trp Gly Gly
485 490

<210> 124
<211> 488
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 124

Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys Thr Gln
1 5 10 15

Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile Ala Ile
20 25 30

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

His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu
50 55 60

Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr
65 70 75 80

Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr
85 90 95

Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu
100 105 110

Gln Arg Ile His Phe Ser Asn Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu Ala Ala
115 120 125

His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys
130 135 140

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

Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp
165 170 175

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

Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val
195 200 205

Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr
210 215 220

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

Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val
245 250 255

Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly
260 265 270

Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val
275 280 285

Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr
290 295 300

Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala
305 310 315 320

Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn
325 330 335

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

Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr

355 360 365

Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg
370 375 380

Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr
385 390 395 400

Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser
405 410 415

Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly
420 425 430

Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala
435 440 445

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

Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr
465 470 475 480

Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
485

<210> 125
<211> 459
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 125
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro

20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala His Lys Asn Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala Asn Trp Leu Thr Thr Leu Pro Lys Val
195 200 205

Val Leu Cys Phe Tyr Glu Glu Pro Glu Leu Cys Thr Tyr Gly Glu Asp
210 215 220

Trp His Gly Gly Ala Tyr Lys Thr Val Ala Gly Thr Pro Glu Ala Ile
225 230 235 240

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Thr Val Glu Gln Arg Ile His
245 250 255

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
260 265 270

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
275 280 285

Gln Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu
290 295 300

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr
305 310 315 320

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
325 330 335

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
340 345 350

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

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
370 375 380

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn
385 390 395 400

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

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr

420 425 430

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
435 440 445

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val
450 455

<210> 126
<211> 415
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 126
Val Glu Glu Ala Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Gly Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Ser Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

Ile Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser Ile Lys

115 120 125

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Asn Ala
290 295 300

Gln Gln Ile Val Ser Leu Phe Leu Ala Thr Arg Ile Leu Phe Thr His
305 310 315 320

Ile Asp Ser Ile Phe Thr Leu Asn Leu Asp Gly Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Asp Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Ile Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Ser Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser
405 410 415

<210> 127
<211> 318
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 127
Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu His Glu Gln
1 5 10 15

Glu Pro Ala Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu
20 25 30

Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile
35 40 45

Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr

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

Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn
85 90 95

Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val
100 105 110

Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala
115 120 125

Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His
130 135 140

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

Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu
165 170 175

Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys
180 185 190

Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala
195 200 205

Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu Arg
210 215 220

Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr
225 230 235 240

Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly
245 250 255

Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met

260 265 270

Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr
275 280 285

Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile
290 295 300

Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
305 310 315

<210> 128
<211> 208
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 128
Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu
1 5 10 15

Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly
20 25 30

Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile
35 40 45

Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly
50 55 60

Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg
65 70 75 80

Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg
85 90 95

Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu

100 105 110

Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His
115 120 125

Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe
130 135 140

Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp
145 150 155 160

Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn
165 170 175

Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln
180 185 190

Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
195 200 205

<210> 129
<211> 207
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 129
Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu
1 5 10 15

Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly
20 25 30

Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile
35 40 45

Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly

50 55 60

Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg
65 70 75 80

Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg
85 90 95

Asp Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu
100 105 110

Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His
115 120 125

Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe
130 135 140

Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp
145 150 155 160

Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn
165 170 175

Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln
180 185 190

Ser Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu
195 200 205

<210> 130
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 130
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser

1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg

405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 131
<211> 644
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 131
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Lys Gln Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser
180 185 190

Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp
195 200 205

Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp
210 215 220

Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn
225 230 235 240

Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile
245 250 255

Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His
260 265 270

Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys
275 280 285

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu
290 295 300

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

Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr

325 330 335

Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala
340 345 350

Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu
355 360 365

Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly
370 375 380

Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
385 390 395 400

Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro Cys Val Ala Ser Asn Asn
405 410 415

Asp Gln Ala Asn Ile Asn Val Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu
420 425 430

Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
435 440 445

Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr
450 455 460

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile
465 470 475 480

Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu
485 490 495

Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His
500 505 510

Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr
515 520 525

Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro
530 535 540

Arg Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn
545 550 555 560

Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg
565 570 575

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr
580 585 590

Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr
595 600 605

Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val
610 615 620

Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys
625 630 635 640

Asp Glu Leu Lys

<210> 132
<211> 639
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 132
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Met Asp Glu Gly Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ala Val Thr Arg Pro Glu Gln Ser Ile
165 170 175

Ala Lys Gln Ser Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala
180 185 190

Ala Gln Lys Glu Gly Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr
195 200 205

Gly Leu Ala Leu Cys Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr
210 215 220

Ile Thr Gln Gln Asn Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser

225 230 235 240

Tyr Glu Thr Val Ala Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly
245 250 255

Ile Glu Gln Lys Pro Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn
260 265 270

Ala Met Glu Ala Leu Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu
275 280 285

Thr Leu Ala Arg Ser Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser
290 295 300

Cys Ala Tyr Gln Ala Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg
305 310 315 320

Ile Leu Phe Ser His Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu
325 330 335

Gln Glu Pro Glu Val Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn
340 345 350

Glu Asn Asn Pro Gly Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln
355 360 365

Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln
370 375 380

Thr Ser Ala Gly Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro
385 390 395 400

Asp Ala Asp Lys Ser Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile
405 410 415

Asn Ile Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala
420 425 430

Val Ile Thr Pro Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu
435 440 445

Ala Thr His Gln Ala Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr
450 455 460

His Gly Thr Asn His Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala
465 470 475 480

Pro Val Pro Arg Gly Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly
485 490 495

Leu Tyr Val Ala Thr His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile
500 505 510

Lys Glu Gly Thr Gly Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp
515 520 525

Ala Arg Gly Val Met Leu Arg Val Tyr Ile Pro Arg Ala Ser Leu Glu
530 535 540

Arg Phe Tyr Arg Thr Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile
545 550 555 560

Thr Gln Val Ile Gly His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr
565 570 575

Gly Pro Glu Ser Ala Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp
580 585 590

Met Ala Ile His Ala Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala
595 600 605

Tyr Glu Glu Leu Ala Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser
610 615 620

Ile Ser Thr Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys

625 630 635

<210> 133
<211> 639
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 133

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu

145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly

545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Arg Leu Thr
595 600 605

Pro Ala Glu Glu Ala Val Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser
610 615 620

Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630 635

<210> 134
<211> 639
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 134
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val

65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile His Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly

465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Arg Leu Thr
595 600 605

Pro Ala Glu Glu Ala Val Val Lys Glu Ala Ile Ala Lys Glu Gln Ser
610 615 620

Ile Ser Ala Lys Pro Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630 635

<210> 135
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：

Cholix序列

<400> 135

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Gln Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser

385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Lys Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 136
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 136
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His

305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 137
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 137
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Met Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala

225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Val Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Gly Asn Ala Met Ser Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Asp Leu Arg Arg Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ser Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys

625 630

<210> 138
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 138

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys

145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Thr Asp Asp Leu Ser Cys Val Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Lys Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly

545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 139
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 139
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val

65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly

465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 140
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：

Cholix序列

<400> 140

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser

385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asp Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 141
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 141
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His

305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Ile Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 142
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 142
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala

225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Ile Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys

625 630

<210> 143
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 143

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys

145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Met Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Ile Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Glu Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Arg His Ile Thr Gln Val Ile Gly

545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 144
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 144
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val

65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly

465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Leu Lys Lys Gly Thr Gly
500 505 510

Asn Ala Glu Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr His Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Arg Val
565 570 575

Asp Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Val Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Glu Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 145
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：

Cholix序列

<400> 145

Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Lys
145 150 155 160

Thr Gln Gly Asn Val Phe Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His
305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Glu Val
325 330 335

Thr Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Pro

385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Thr Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 146
<211> 634
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：
Cholix序列

<400> 146
Val Glu Asp Glu Leu Asn Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Ser
1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Pro Gly Lys Pro Ile Gln Ser Lys Leu Ser Ile Pro
20 25 30

Ser Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Lys Asp Glu Asp Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Ile Gly Glu Phe Ala Thr Val Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Asn Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Asn Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

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

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

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

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Glu
145 150 155 160

Asn Gln Gly Asn Val Ser Phe Ser Val Thr Arg Pro Glu His Asn Ile
165 170 175

Ala Ile Ser Trp Pro Ser Val Ser Tyr Lys Ala Ala Gln Lys Glu Gly
180 185 190

Ser Arg His Lys Arg Trp Ala His Trp His Thr Gly Leu Ala Leu Cys
195 200 205

Trp Leu Val Pro Ile Asp Ala Ile Tyr Asn Tyr Ile Thr Gln Gln Asn
210 215 220

Cys Thr Leu Gly Asp Asn Trp Phe Gly Gly Ser Tyr Glu Thr Val Ala
225 230 235 240

Gly Thr Pro Lys Ala Ile Thr Val Lys Gln Gly Ile Glu Gln Lys Pro
245 250 255

Val Glu Gln Arg Ile His Phe Ser Lys Lys Asn Ala Met Glu Ala Leu
260 265 270

Ala Ala His Arg Val Cys Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Ser
275 280 285

Arg Lys Pro Arg Asp Leu Pro Asp Asp Leu Ser Cys Ala Tyr Gln Ala
290 295 300

Gln Asn Ile Val Ser Leu Phe Val Ala Thr Arg Ile Leu Phe Ser His

305 310 315 320

Leu Asp Ser Val Phe Thr Leu Asn Leu Asp Glu Gln Glu Pro Ala Val
325 330 335

Ala Glu Arg Leu Ser Ala Leu Arg Gln Ile Asn Glu Asn Asn Pro Gly
340 345 350

Met Val Thr Gln Val Leu Thr Val Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr
355 360 365

Val Thr His His Pro Gly Leu Thr Pro Glu Gln Thr Ser Ala Gly Ala
370 375 380

Gln Ala Ala Asp Ile Leu Ser Leu Phe Cys Pro Asp Ala Asp Lys Ser
385 390 395 400

Cys Val Ala Ser Asn Asn Asp Gln Ala Asn Ile Asn Ile Glu Ser Arg
405 410 415

Ser Gly Arg Ser Tyr Leu Pro Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Pro Gln
420 425 430

Gly Val Thr Asn Trp Thr Tyr Gln Glu Leu Glu Ala Thr His Gln Ala
435 440 445

Leu Thr Arg Glu Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His
450 455 460

Val Ala Ala Gln Thr Ile Val Asn Arg Ile Ala Pro Val Pro Arg Gly
465 470 475 480

Asn Asn Thr Glu Asn Glu Glu Lys Trp Gly Gly Leu Tyr Val Ala Thr
485 490 495

His Ala Glu Val Ala His Gly Tyr Ala Arg Ile Lys Glu Gly Thr Gly
500 505 510

Glu Tyr Gly Leu Pro Thr Arg Ala Glu Arg Asp Ala Arg Gly Val Met
515 520 525

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

Asn Thr Pro Leu Glu Asn Ala Glu Glu His Ile Thr Gln Val Ile Gly
545 550 555 560

His Ser Leu Pro Leu Arg Asn Glu Ala Phe Thr Gly Pro Glu Ser Ala
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Glu Thr Val Ile Gly Trp Asp Met Ala Ile His Ala
580 585 590

Val Ala Ile Pro Ser Thr Ile Pro Gly Asn Ala Tyr Glu Glu Leu Ala
595 600 605

Ile Asp Glu Glu Ala Val Ala Lys Glu Gln Ser Ile Ser Ala Lys Pro
610 615 620

Pro Tyr Lys Glu Arg Lys Asp Glu Leu Lys
625 630

<210> 147
<211> 649
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> V或L

<220>
<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)
<223> E或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> A或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> N或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> S或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> P或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> P或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (30)..(30)
<223> S或F

<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> S或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (56)..(56)
<223> K或M

<220>
<221> MOD_RES
<222> (59)..(59)
<223> D或G

<220>
<221> MOD_RES

<222> (67)..(67)
<223> I或F

<220>
<221> MOD_RES
<222> (73)..(73)
<223> V或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (81)..(81)
<223> N或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (90)..(90)
<223> H或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (101)..(101)
<223> T或M

<220>
<221> MOD_RES
<222> (104)..(104)
<223> Y或F

<220>
<221> MOD_RES
<222> (108)..(108)
<223> E或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (109)..(109)
<223> G或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (114)..(114)
<223> N或H

<220>
<221> MOD_RES

<222> (118)..(118)
<223> P或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (119)..(119)
<223> I或P

<220>
<221> MOD_RES
<222> (131)..(131)
<223> V或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (134)..(134)
<223> L或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (137)..(137)
<223> Q或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (160)..(160)
<223> K或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (161)..(161)
<223> T或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (166)..(166)
<223> S或F

<220>
<221> MOD_RES
<222> (168)..(168)
<223> S或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (174)..(174)
<223> H或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (175)..(185)
<223> 此區域可包含「N」、「S」、「SIAKQS」或「SIAKQSIAKQS」

<220>
<221> MOD_RES
<222> (196)..(196)
<223> K或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (199)..(199)
<223> Q、E或H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (201)..(201)
<223> E、N或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (203)..(203)
<223> S或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (210)..(210)
<223> H或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (212)..(212)
<223> H、L、F或R

<220>
<221> MOD_RES
<222> (214)..(214)
<223> G或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (215)..(215)
<223> L或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (216)..(216)
<223> A或P

<220>
<221> MOD_RES

<222> (217)..(217)
<223> L、E或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (218)..(218)
<223> C或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (219)..(219)
<223> W、V或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (221)..(221)
<223> V或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (222)..(222)
<223> P或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (223)..(223)
<223> M、I、L或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (224)..(224)
<223> D或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (225)..(225)
<223> A或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (226)..(226)
<223> I或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (227)..(227)
<223> Y或C

<220>
<221> MOD_RES

<222> (228)..(228)
<223> N或F

<220>
<221> MOD_RES
<222> (229)..(229)
<223> Y或F

<220>
<221> MOD_RES
<222> (230)..(230)
<223> I或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (231)..(231)
<223> T或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (232)..(232)
<223> Q或P

<220>
<221> MOD_RES
<222> (233)..(233)
<223> Q、E或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (234)..(234)
<223> N、L或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (237)..(237)
<223> L或Y

<220>
<221> MOD_RES
<222> (239)..(239)
<223> D或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (240)..(240)
<223> N或D

<220>
<221> MOD_RES

<222> (242)..(242)
<223> F、H或Y

<220>
<221> MOD_RES
<222> (245)..(245)
<223> S或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (247)..(247)
<223> E或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (252)..(252)
<223> T或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (254)..(254)
<223> K、E或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (255)..(255)
<223> V或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (257)..(257)
<223> T或M

<220>
<221> MOD_RES
<222> (262)..(262)
<223> I或M

<220>
<221> MOD_RES
<222> (266)..(266)
<223> P、T或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (275)..(275)
<223> K、Q或N

<220>
<221> MOD_RES

<222> (276)..(276)
<223> G或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (279)..(279)
<223> M或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> S或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (281)..(281)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> S或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (303)..(303)
<223> D或Y

<220>
<221> MOD_RES
<222> (305)..(305)
<223> T、P或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (309)..(309)
<223> S或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (311)..(311)
<223> A或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (313)..(313)
<223> Q或N

<220>
<221> MOD_RES

<222> (316)..(316)
<223> N或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (322)..(322)
<223> V或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (326)..(326)
<223> I或M

<220>
<221> MOD_RES
<222> (329)..(329)
<223> S或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (331)..(331)
<223> L或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (334)..(334)
<223> V或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (340)..(340)
<223> D、E或H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (341)..(341)
<223> E或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (343)..(343)
<223> E或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (345)..(345)
<223> E或A

<220>
<221> MOD_RES

<222> (347)..(347)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (351)..(351)
<223> S、D或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (352)..(352)
<223> D或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (353)..(353)
<223> L或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (355)..(355)
<223> R或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (359)..(359)
<223> N或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (363)..(363)
<223> M或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (365)..(365)
<223> T或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (370)..(370)
<223> V或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (381)..(381)
<223> H或E

<220>
<221> MOD_RES

<222> (384)..(384)
<223> G或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (386)..(386)
<223> T或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (393)..(393)
<223> G或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (403)..(403)
<223> F或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (404)..(404)
<223> C或Y

<220>
<221> MOD_RES
<222> (407)..(407)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (409)..(409)
<223> K、E或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (410)..(410)
<223> S、P或H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (414)..(414)
<223> S或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (415)..(415)
<223> N或D

<220>
<221> MOD_RES

<222> (416)..(416)
<223> N或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (423)..(423)
<223> I或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (433)..(433)
<223> P或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (441)..(441)
<223> P或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> E或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (454)..(454)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (455)..(455)
<223> T或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (458)..(458)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (461)..(461)
<223> R或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (463)..(463)
<223> G或D

<220>
<221> MOD_RES

<222> (475)..(475)
<223> V或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (479)..(479)
<223> T、S或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (485)..(485)
<223> A、S或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (491)..(491)
<223> N或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (492)..(492)
<223> N或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (495)..(495)
<223> N、S或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (497)..(497)
<223> E、R或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (498)..(498)
<223> K、A或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (502)..(502)
<223> L或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (505)..(505)
<223> A或S

<220>
<221> MOD_RES

<222> (507)..(507)
<223> H或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (509)..(509)
<223> E或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (510)..(510)
<223> V或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (511)..(511)
<223> A或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (512)..(512)
<223> H或Y

<220>
<221> MOD_RES
<222> (513)..(513)
<223> G或R

<220>
<221> MOD_RES
<222> (515)..(515)
<223> A或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (517)..(517)
<223> I或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (518)..(518)
<223> K或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (519)..(519)
<223> E或K

<220>
<221> MOD_RES

<222> (522)..(522)
<223> G或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (523)..(523)
<223> E、D或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (524)..(524)
<223> Y、G、A或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (525)..(525)
<223> G或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (526)..(526)
<223> L或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (527)..(527)
<223> P或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (529)..(529)
<223> R、P或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (530)..(530)
<223> A或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (531)..(531)
<223> E或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (532)..(532)
<223> R、Q或K

<220>
<221> MOD_RES

<222> (533)..(533)
<223> D、K或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (534)..(534)
<223> A、T或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (540)..(540)
<223> R或K

<220>
<221> MOD_RES
<222> (543)..(543)
<223> I或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (544)..(544)
<223> P或H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (545)..(545)
<223> R或Q

<220>
<221> MOD_RES
<222> (554)..(554)
<223> T或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (556)..(556)
<223> T、A或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (557)..(557)
<223> P或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (560)..(560)
<223> N或K

<220>
<221> MOD_RES

<222> (561)..(561)
<223> A或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (562)..(562)
<223> E、R或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (563)..(563)
<223> E、N或R

<220>
<221> MOD_RES
<222> (564)..(564)
<223> H或L

<220>
<221> MOD_RES
<222> (565)..(565)
<223> I或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (566)..(566)
<223> T或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (567)..(567)
<223> Q、R、H或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (572)..(572)
<223> S或P

<220>
<221> MOD_RES
<222> (583)..(583)
<223> P或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (584)..(584)
<223> E或D

<220>
<221> MOD_RES

<222> (585)..(585)
<223> S、A或R

<220>
<221> MOD_RES
<222> (586)..(586)
<223> A、E或V

<220>
<221> MOD_RES
<222> (587)..(587)
<223> G、E或D

<220>
<221> MOD_RES
<222> (589)..(589)
<223> E或S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (590)..(590)
<223> D或N

<220>
<221> MOD_RES
<222> (593)..(593)
<223> V或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (598)..(598)
<223> M或I

<220>
<221> MOD_RES
<222> (601)..(601)
<223> H或Y

<220>
<221> MOD_RES
<222> (602)..(602)
<223> A或G

<220>
<221> MOD_RES
<222> (613)..(613)
<223> A或S

<220>
<221> MOD_RES

<222> (615)..(615)
<223> E或A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (616)..(616)
<223> E、A、Q、G、V或R

<220>
<221> MOD_RES
<222> (618)..(618)
<223> A、P或T

<220>
<221> MOD_RES
<222> (619)..(619)
<223> I、T或P

<220>
<221> MOD_RES
<222> (620)..(620)
<223> D或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (624)..(629)
<223> 此區域可包含「V」或「VVKEAI」

<220>
<221> MOD_RES
<222> (631)..(631)
<223> K或E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (637)..(637)
<223> T、A或P

<220>
<221> MOD_RES
<222> (644)..(644)
<223> R、Q或 H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (645)..(645)
<223> K或不存在

<400> 147
Xaa Glu Xaa Xaa Leu Xaa Ile Phe Asp Glu Cys Arg Ser Pro Cys Xaa

1 5 10 15

Leu Thr Pro Glu Xaa Gly Lys Xaa Ile Gln Ser Lys Leu Xaa Ile Pro
20 25 30

Xaa Asp Val Val Leu Asp Glu Gly Val Leu Tyr Tyr Ser Met Thr Ile
35 40 45

Asn Asp Glu Gln Asn Asp Ile Xaa Asp Glu Xaa Lys Gly Glu Ser Ile
50 55 60

Ile Thr Xaa Gly Glu Phe Ala Thr Xaa Arg Ala Thr Arg His Tyr Val
65 70 75 80

Xaa Gln Asp Ala Pro Phe Gly Val Ile Xaa Leu Asp Ile Thr Thr Glu
85 90 95

Asn Gly Thr Lys Xaa Tyr Ser Xaa Asn Arg Lys Xaa Xaa Glu Phe Xaa
100 105 110

Ile Xaa Trp Leu Val Xaa Xaa Gly Glu Asp Ser Pro Ala Ser Ile Lys
115 120 125

Ile Ser Xaa Asp Glu Xaa Asp Gln Xaa Arg Asn Ile Ile Glu Val Pro
130 135 140

Lys Leu Tyr Ser Ile Asp Leu Asp Asn Gln Thr Leu Glu Gln Trp Xaa
145 150 155 160

Xaa Gln Gly Asn Val Xaa Phe Xaa Val Thr Arg Pro Glu Xaa Xaa Xaa
165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Ala Ile Ser Trp Pro Ser
180 185 190

Val Ser Tyr Xaa Ala Ala Xaa Lys Xaa Gly Xaa Arg His Lys Arg Trp
195 200 205

Ala Xaa Trp Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa
210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Thr Xaa Gly Xaa Xaa
225 230 235 240

Trp Xaa Gly Gly Xaa Tyr Xaa Thr Val Ala Gly Xaa Pro Xaa Xaa Ile
245 250 255

Xaa Val Lys Gln Gly Xaa Glu Gln Lys Xaa Val Glu Gln Arg Ile His
260 265 270

Phe Ser Xaa Xaa Asn Ala Xaa Xaa Xaa Leu Ala Ala His Arg Val Cys
275 280 285

Gly Val Pro Leu Glu Thr Leu Ala Arg Xaa Arg Lys Pro Arg Xaa Leu
290 295 300

Xaa Asp Asp Leu Xaa Cys Xaa Tyr Xaa Ala Gln Xaa Ile Val Ser Leu
305 310 315 320

Phe Xaa Ala Thr Arg Xaa Leu Phe Xaa His Xaa Asp Ser Xaa Phe Thr
325 330 335

Leu Asn Leu Xaa Xaa Gln Xaa Pro Xaa Val Xaa Glu Arg Leu Xaa Xaa
340 345 350

Xaa Arg Xaa Ile Asn Glu Xaa Asn Pro Gly Xaa Val Xaa Gln Val Leu
355 360 365

Thr Xaa Ala Arg Gln Ile Tyr Asn Asp Tyr Val Thr Xaa His Pro Xaa
370 375 380

Leu Xaa Pro Glu Gln Thr Ser Ala Xaa Ala Gln Ala Ala Asp Ile Leu
385 390 395 400

Ser Leu Xaa Xaa Pro Asp Xaa Asp Xaa Xaa Cys Val Ala Xaa Xaa Xaa

405 410 415

Asp Gln Ala Asn Ile Asn Xaa Glu Ser Arg Ser Gly Arg Ser Tyr Leu
420 425 430

Xaa Glu Asn Arg Ala Val Ile Thr Xaa Gln Gly Val Thr Asn Trp Thr
435 440 445

Tyr Gln Glu Leu Xaa Xaa Xaa His Gln Xaa Leu Thr Xaa Glu Xaa Tyr
450 455 460

Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Asn His Xaa Ala Ala Gln Xaa Ile
465 470 475 480

Val Asn Arg Ile Xaa Pro Val Pro Arg Gly Xaa Xaa Thr Glu Xaa Glu
485 490 495

Xaa Xaa Trp Gly Gly Xaa Tyr Val Xaa Thr Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa
500 505 510

Xaa Tyr Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Gly Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr
515 520 525

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Gly Val Met Leu Xaa Val Tyr Xaa Xaa
530 535 540

Xaa Ala Ser Leu Glu Arg Phe Tyr Arg Xaa Asn Xaa Xaa Leu Glu Xaa
545 550 555 560

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Ile Gly His Xaa Leu Pro Leu Arg
565 570 575

Asn Glu Ala Phe Thr Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Glu Thr
580 585 590

Xaa Ile Gly Trp Asp Xaa Ala Ile Xaa Xaa Val Ala Ile Pro Ser Thr
595 600 605

Ile Pro Gly Asn Xaa Tyr Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Glu Glu Ala Xaa
610 615 620

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Glu Gln Ser Ile Ser Xaa Lys Pro Pro
625 630 635 640

Tyr Lys Glu Xaa Xaa Asp Glu Leu Lys
645

<210> 148
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 148
Ser Ile Ala Lys Gln Ser
1 5

<210> 149
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 149
Ser Ile Ala Lys Gln Ser Ile Ala Lys Gln Ser
1 5 10

<210> 150
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 150
Val Val Lys Glu Ala Ile
1 5

<210> 151
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> 此區域可包含1-15個「Gly Ser」重複單元

<400> 151
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
20 25 30

<210> 152
<211> 45
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(45)
<223> 此區域可包含1-15個「Gly Gly Ser」重複單元

<400> 152
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
35 40 45

<210> 153
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 153
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 154
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 154
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 155
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 155

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

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

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

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

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

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 156
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 156
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Thr Asp Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

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

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

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

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

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

Lys Thr
225

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種遞送構築體，其由SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列組成。

【請求項2】

如請求項1之遞送構築體，其中該遞送構築體由SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列組成。

【請求項3】

如請求項1之遞送構築體，其中該遞送構築體由SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列組成。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之遞送構築體，其中該遞送構築體為均二聚體之一部分。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之遞送構築體，其中該遞送構築體安置於調配用於經口投與之組合物內，其中該用於經口投與之組合物包含與該遞送構築體相同的複數個遞送構築體，且其中至少80%之該等遞送構築體呈二聚體形式。

【請求項6】

一種治療個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向該個體投與有效量的如請求項1至5中任一項之遞送構築體。

【請求項7】

如請求項6之方法，其中該發炎性疾病為潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲

袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【請求項8】

如請求項6之方法，其中該發炎性疾病為潰瘍性結腸炎。

【請求項9】

如請求項6之方法，其中該發炎性疾病為克羅恩氏病。

【請求項10】

如請求項6之方法，其中該發炎性疾病為乳糜瀉。

【請求項11】

一種再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：

(i)使包含該IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；

(ii)使該可溶性IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊之IL-10遞送構築體；其中該方法不包含在步驟(ii)之該接觸之前使該可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解劑或還原劑接觸。

【請求項12】

如請求項11之方法，其中該IL-10遞送構築體包含載體。

【請求項13】

如請求項12之方法，其中該載體衍生自細菌分泌之多肽。

【請求項14】

如請求項13之方法，其中該細菌為霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。

【請求項16】

如請求項11至15中任一項之方法，其中該IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【請求項17】

如請求項16之方法，其中該IL-10遞送構築體在該載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【請求項18】

如請求項11至17中任一項之方法，其中該再摺疊溶液包含比率為0.8:1至1.2:1之該還原麩胱甘肽與該氧化麩胱甘肽。

【請求項19】

如請求項11至18中任一項之方法，其中該再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM還原麩胱甘肽。

【請求項20】

如請求項11至19中任一項之方法，其中該再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM氧化麩胱甘肽。

【請求項21】

如請求項11至20中任一項之方法，其中該再摺疊溶液之pH為7.5至8.5。

【請求項22】

如請求項11至21中任一項之方法，其中該再摺疊溶液包含精胺酸、

Tris及EDTA。

【請求項23】

如請求項22之方法，其中該再摺疊溶液包含蔗糖。

【請求項24】

如請求項11至21中任一項之方法，其中該再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。

【請求項25】

如請求項22之方法，其中精胺酸係以900 mM至1.1 M之濃度存在於該再摺疊溶液中。

【請求項26】

如請求項22至25中任一項之方法，其中蔗糖以200 mM至300 mM之濃度存在於該再摺疊溶液中。

【請求項27】

如請求項22至26中任一項之方法，其中Tris以75 mM至125 mM之濃度存在於該再摺疊溶液中。

【請求項28】

如請求項22至27中任一項之方法，其中EDTA以1.75 mM至2.25 mM之濃度存在於該再摺疊溶液中。

【請求項29】

如請求項11至28中任一項之方法，其進一步包含溶解包含該等包涵體之細胞。

【請求項30】

如請求項29之方法，其中該細胞為細菌。

【請求項31】

如請求項30之方法，其中該細菌為大腸桿菌。

【請求項32】

如請求項29至31中任一項之方法，其中該溶解包含高壓均質化。

【請求項33】

如請求項11至32中任一項之方法，其進一步包含分離該等包涵體。

【請求項34】

如請求項11至33中任一項之方法，其中該離液劑包含鹽酸胍或脲。

【請求項35】

如請求項11至34中任一項之方法，其中該溶解溶液進一步包含Tris。

【請求項36】

如請求項11至35中任一項之方法，其中該可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生至少16小時。

【請求項37】

如請求項11至36中任一項之方法，其中該可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生12小時至18小時。

【請求項38】

如請求項11至37中任一項之方法，其中該IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸在2℃至8℃發生。

【請求項39】

如請求項11至38中任一項之方法，其進一步包含該再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。

【請求項40】

如請求項39之方法，其中該第一無菌過濾在與該再摺疊溶液接觸之後發生。

【請求項41】

如請求項40之方法，其進一步包含進行該再摺疊之IL-10遞送構築體的切向流過濾。

【請求項42】

如請求項41之方法，其中該切向流過濾包含透濾。

【請求項43】

如請求項42之方法，其中該透濾包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。

【請求項44】

如請求項43之方法，其中該第一透濾體積及該第二透濾體積包含冷緩衝液。

【請求項45】

如請求項44之方法，其中該第三透濾體積及該第四透濾體積包含室溫緩衝液。

【請求項46】

如請求項44或45之方法，其中該冷緩衝液及該室溫緩衝液包含Tris及NaCl。

【請求項47】

一種自包含呈二聚體形式、單體形式及聚集體形式之IL-10遞送構築體的池富集IL-10遞送構築體二聚體之方法，該方法包含：

(i)　對該池進行陰離子交換(AEX)層析，其藉由將該等IL-10遞送

構築體二聚體結合至陰離子交換管柱且隨後自該陰離子交換管柱溶離該等IL-10遞送構築體二聚體，由此產生第一複數個溶離份，其中之一者為富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第一溶離份；及

(ii) 對該富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的溶離份進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析，由此產生第二複數個溶離份，其中之一者為進一步富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第二溶離份。

【請求項48】

如請求項47之方法，其中該IL-10遞送構築體包含載體。

【請求項49】

如請求項48之方法，其中該載體衍生自細菌分泌之多肽。

【請求項50】

如請求項49之方法，其中該細菌為霍亂弧菌。

【請求項51】

如請求項50之方法，其中霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。

【請求項52】

如請求項47至51中任一項之方法，其中該IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【請求項53】

如請求項52之方法，其中該IL-10遞送構築體在該載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【請求項54】

如請求項47至53中任一項之方法，其進一步包含測定該第一複數個

溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。

【請求項55】

如請求項54之方法，其中該測定係藉由尺寸排阻層析。

【請求項56】

如請求項55之方法，其中該尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。

【請求項57】

如請求項47之方法，其進一步包含測定該第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。

【請求項58】

如請求項57之方法，其中該測定係藉由尺寸排阻層析。

【請求項59】

如請求項58之方法，其中該尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。

【請求項60】

如請求項47至59中任一項之方法，其中該第一溶離份中至少75%之該等IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。

【請求項61】

如請求項47至60中任一項之方法，其中該第二溶離份中至少80%之該等IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。

【請求項62】

如請求項47至61中任一項之方法，其進一步包含進行該第二溶離份之切向流過濾。

【請求項63】

如請求項62之方法，其中該切向流過濾包含超濾。

【請求項64】

如請求項63之方法，其進一步包含透濾。

【請求項65】

如請求項64之方法，其進一步包含進行該第二溶離份之無菌過濾。

【請求項66】

如請求項47至65中任一項之方法，其中該方法不包含陽離子交換層析。

【請求項67】

如請求項47至66中任一項之方法，其中該池包含獲自如請求項11至46中任一項之方法的再摺疊之IL-10遞送構築體。

【請求項68】

一種口服配方，其包含：

(a) IL-10遞送構築體；

(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑；及

(c)包含兩種或更多種各自具有不同標稱溶解pH之共聚物的第一包衣；

其中該口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基本上不釋放任何該IL-10遞送構築體。

【請求項69】

如請求項68之口服配方，其中該pH為1.0之溶液為含有鹽酸之溶解介質。

【請求項70】

如請求項68或69之口服配方，其中該口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之該IL-10遞送構築體。

【請求項71】

如請求項68至70中任一項之口服配方，其中在暴露於該pH為7.0之溶液2小時之後釋放之至少5%、至少10%、至少20%或至少25%的該等IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【請求項72】

如請求項70或71之口服配方，其中該pH為7.0之溶液為檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。

【請求項73】

如請求項68至72中任一項之口服配方，其中該IL-10遞送構築體包含載體。

【請求項74】

如請求項73之方法，其中該載體衍生自細菌分泌之多肽。

【請求項75】

如請求項74之方法，其中該細菌為霍亂弧菌。

【請求項76】

如請求項75之方法，其中霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。

【請求項77】

如請求項73至76中任一項之口服配方，其中IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【請求項78】

如請求項77之口服配方，其中該等IL-10遞送構築體在該載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【請求項79】

如請求項68至78中任一項之口服配方，其中該口服配方在膠囊或錠劑中。

【請求項80】

如請求項68至79中任一項之口服配方，其中第一共聚物在pH>5.5處具有至少50%標稱溶解，且第二共聚物在pH>7.0處具有至少50%標稱溶解。

【請求項81】

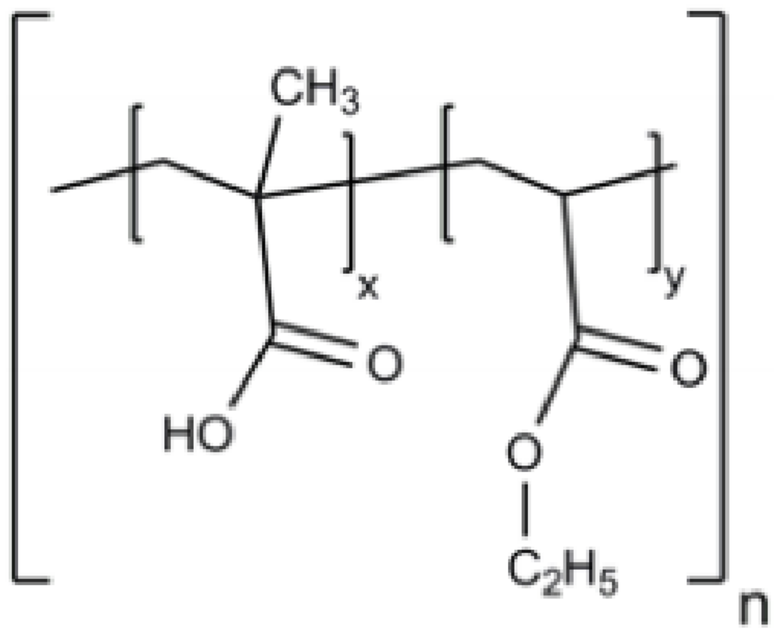
如請求項80之口服配方，其中該第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。

【請求項82】

如請求項80或81之口服配方，其中該第一聚合物之重量平均分子量為200,000 g/mol至450,000 g/mol，或250,000 g/mol至400,000 g/mol，或280,000 g/mol至370,000 g/mol，或300,000 g/mol至340,000 g/mol。

【請求項83】

如請求項80至82中任一項之口服配方，其中該第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1。

【請求項84】

如請求項80至83中任一項之口服配方，其中該第一共聚物中之游離羧基與酯基之比為0.8:1及1.2:1。

【請求項85】

如請求項80至84中任一項之口服配方，其中該第二共聚物不同於該第一共聚物。

【請求項86】

如請求項80至85中任一項之口服配方，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為15:85至55:45。

【請求項87】

如請求項80至85中任一項之口服配方，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。

【請求項88】

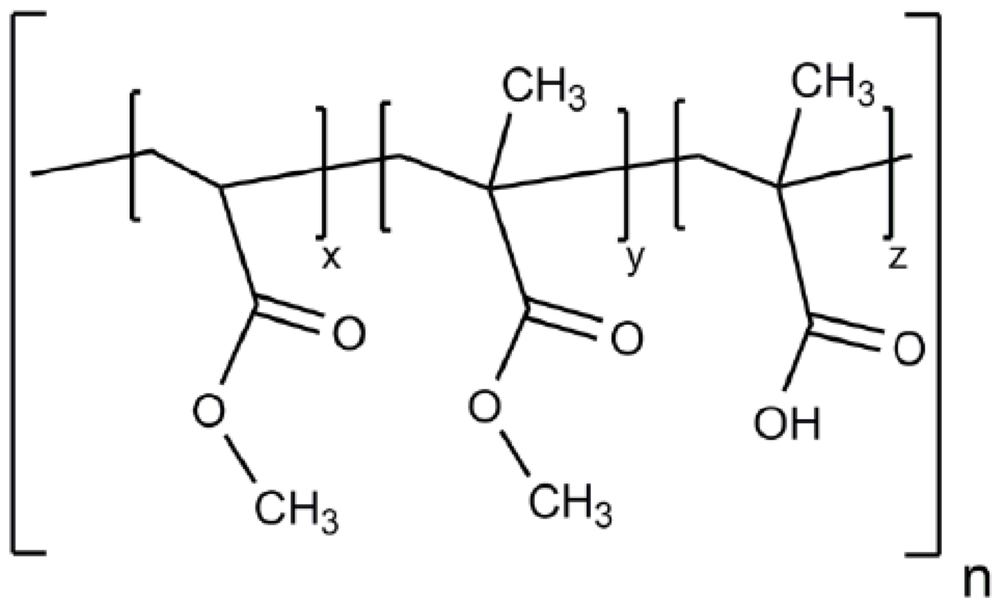
如請求項80至87中任一項之口服配方，其中該第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。

【請求項89】

如請求項80至88中任一項之口服配方，其中該第二聚合物之重量平均分子量為160,000 g/mol至400,000 g/mol，或200,000 g/mol至360,000 g/mol，或240,000 g/mol至320,000 g/mol，或260,000 g/mol至300,000 g/mol。

【請求項90】

如請求項80至89中任一項之口服配方，其中該第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1。

【請求項91】

如請求項80至90中任一項之口服配方，其中該第二共聚物中之游離羧基與酯基之比為0.8:1至1.2:1。

【請求項92】

如請求項80至91中任一項之口服配方，其中該第一包衣進一步包含防黏劑、塑化劑、界面活性劑或其組合。

【請求項93】

如請求項92之口服配方，其中該第一包衣包含防黏劑，其中該防黏劑包含單硬脂酸甘油酯。

【請求項94】

如請求項92或93之口服配方，其中該第一包衣包含塑化劑，其中該塑化劑為檸檬酸三乙酯。

【請求項95】

如請求項92至94中任一項之口服配方，其中該第一包衣包含界面活性劑，其中該界面活性劑為聚山梨醇酯80。

【請求項96】

如請求項92至95中任一項之口服配方，其中5%至15% (w/w)之該第一包衣為單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物。

【請求項97】

如請求項68至96中任一項之口服配方，其中該第一包衣之厚度基本上等同於1號膠囊上之60 mg包衣之厚度。

【請求項98】

如請求項68至96中任一項之口服配方，其中該第一包衣以0.1 mg/mm^2至0.2 mg/mm^2之量安置於內部部分周圍。

【請求項99】

如請求項68至96中任一項之口服配方，其中該第一包衣之質量為30 mg至60 mg。

【請求項100】

如請求項68至99中任一項之口服配方，其進一步包含在該第一包衣外部之第二包衣。

【請求項101】

如請求項100之口服配方，其中該第二包衣包含羥丙基甲基纖維素

(HPMC)。

【請求項102】

如請求項100或101之口服配方，其進一步包含在該第一包衣內部且在該等IL-10遞送構築體及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。

【請求項103】

如請求項102之口服配方，其中該第三包衣包含HPMC。

【請求項104】

如請求項68至103中任一項之口服配方，其中該等IL-10遞送構築體以1 mg至20 mg之量存在於該口服配方中。

【請求項105】

如請求項68至103中任一項之口服配方，其中該等IL-10遞送構築體以1 mg、5 mg或20 mg之量存在於該口服配方中。

【請求項106】

如請求項68至105中任一項之口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑、滲透劑、鹽及增積劑。

【請求項107】

如請求項106之口服配方，其中該鹽包含包含磷酸鉀，該增積劑包含甘胺酸，該滲透劑包含蔗糖，且該界面活性劑包含泊洛沙姆188。

【請求項108】

如請求項106或107之口服配方，其中該口服配方包含重量比為0.45:1至0.55:1、較佳約0.5:1之該滲透劑與該IL-10遞送構築體。

【請求項109】

如請求項106至108中任一項之口服配方，其中該口服配方包含重量比為0.12:1至0.18:1、較佳約0.15:1之該界面活性劑與該IL-10遞送構築體。

【請求項110】

如請求項106至109中任一項之口服配方，其中該口服配方包含重量比為0.05:1至0.09:1、較佳約0.07:1之該鹽與該IL-10遞送構築體。

【請求項111】

如請求項106至110中任一項之口服配方，其中該口服配方包含重量比為0.8:1至1.2:1、較佳約1:1之該增積劑與該IL-10遞送構築體。

【請求項112】

如請求項68至111中任一項之口服配方，其中該口服配方為固體。

【請求項113】

如請求項68至112中任一項之口服配方，其中該口服配方呈單位劑型。

【請求項114】

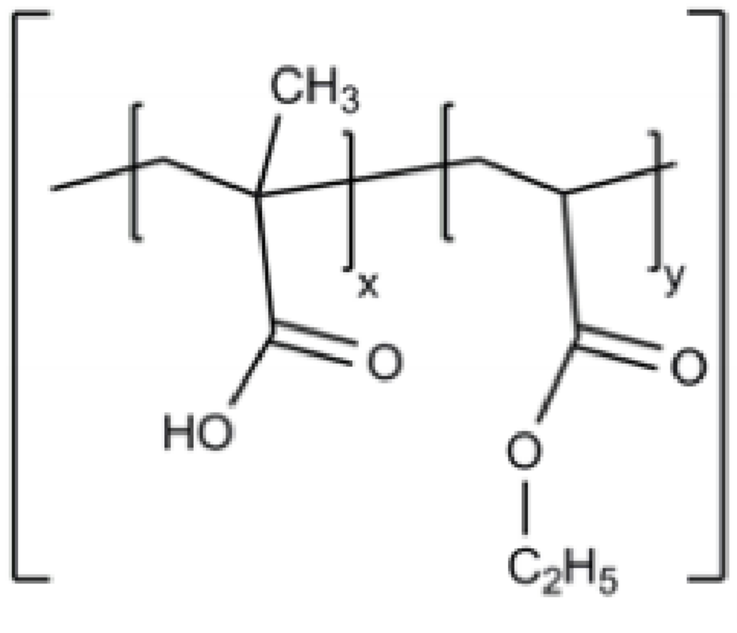
如請求項68至113中任一項之口服配方，其中該口服配方具有至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月之存放期。

【請求項115】

如請求項68之口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中該泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且

其中該口服配方進一步包含：

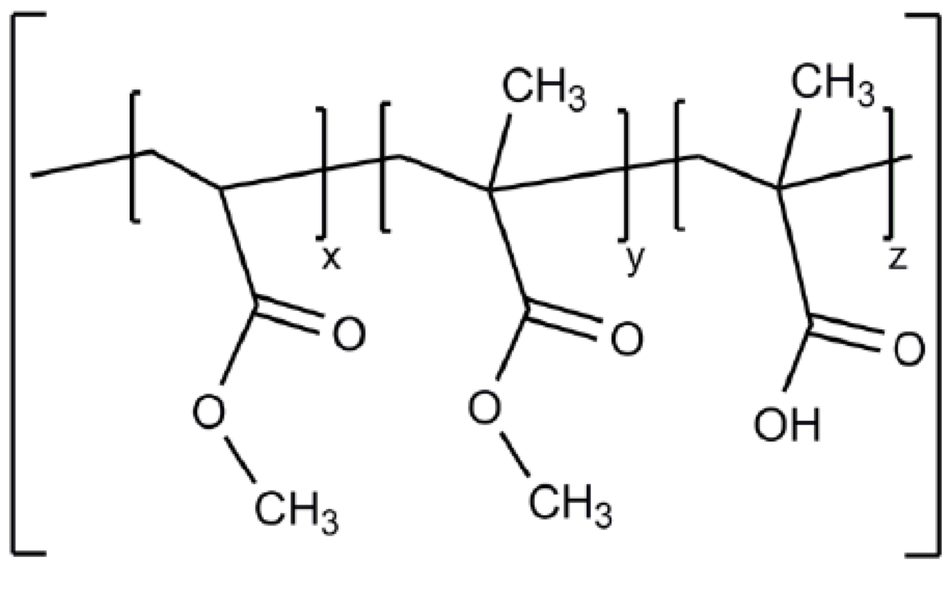
(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中該第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；

且進一步包含第二共聚物，其中該第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；

其中該第一共聚物與該第二共聚物之比為30:70；且

其中該第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；

(d)位於該第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及

(e)位於該第一包衣內部及該治療負載物及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【請求項116】

一種固體組合物，其包含：

IL-10遞送構築體；及

一或多種賦形劑；

其中該等IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10，該載體促進胞吞轉運該IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；且

其中大於80%之該等IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【請求項117】

如請求項116之固體組合物，其中該固體組合物經凍乾或噴霧乾燥。

【請求項118】

如請求項116或117之固體組合物，其中該固體組合物為錠劑或膠囊。

【請求項119】

如請求項116至118中任一項之固體組合物，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。

【請求項120】

如請求項119之固體組合物，其中該界面活性劑為泊洛沙姆。

【請求項121】

如請求項120之固體組合物，其中該泊洛沙姆為泊洛沙姆188。

【請求項122】

如請求項119之固體組合物，其中該界面活性劑不包括聚山梨醇酯。

【請求項123】

如請求項116至122中任一項之固體組合物，其中該一或多種醫藥學

上可接受之賦形劑包含滲透劑。

【請求項124】

如請求項123之固體組合物，其中該滲透劑為蔗糖。

【請求項125】

如請求項116至124中任一項之固體組合物，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。

【請求項126】

如請求項125之固體組合物，其中該鹽為磷酸鉀。

【請求項127】

如請求項116至126中任一項之固體組合物，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。

【請求項128】

如請求項127之固體組合物，其中該增積劑為甘胺酸。

【請求項129】

如請求項116至128中任一項之固體組合物，其中該IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【請求項130】

如請求項116至129中任一項之固體組合物，其中該IL-10經由連接子偶聯至該載體。

【請求項131】

如請求項130之固體組合物，其中該連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。

【請求項132】

如請求項116至131中任一項之固體組合物，其中該載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。

【請求項133】

如請求項116至131中任一項之固體組合物，其中該載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。

【請求項134】

如請求項116至132中任一項之固體組合物，其中該IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【請求項135】

如請求項134之固體組合物，其中該IL-10遞送構築體在該載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【請求項136】

如請求項116至135中任一項之固體組合物，其中大於81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%或90%之該等IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【請求項137】

如請求項116至135中任一項之固體組合物，其中85%至92%之該等IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【請求項138】

如請求項116至137中任一項之固體組合物，其中該固體組合物包含第一包衣。

【請求項139】

如請求項138之固體組合物，其中該第一包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中該第一包衣在該等IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部。

【請求項140】

如請求項139之固體組合物，其中該第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。

【請求項141】

如請求項139或140之固體組合物，其中該第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。

【請求項142】

如請求項139至141中任一項之固體組合物，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為約15:85至約55:45。

【請求項143】

如請求項139至141中任一項之固體組合物，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。

【請求項144】

如請求項138至143中任一項之固體組合物，其進一步包含在該第一包衣外部之第二包衣。

【請求項145】

如請求項144之固體組合物，其中該第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。

【請求項146】

如請求項138至145中任一項之固體組合物，其進一步包含在該第一包衣內部且在該等IL-10遞送構築體及該一或多種賦形劑外部之第三包衣。

【請求項147】

如請求項146之固體組合物，其中該第三包衣包含HPMC。

【請求項148】

一種固體口服配方，其包含：

(a)包含與載體偶聯之IL-10的IL-10遞送構築體，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；及

(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含非離子潤滑劑；及

(c)在該IL-10遞送構築體及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑周圍之第一包衣。

【請求項149】

如請求項148之固體口服配方，其中該非離子潤滑劑為山嵛酸甘油酯。

【請求項150】

如請求項148或149之固體口服配方，其中該口服配方不含硬脂酸鎂。

【請求項151】

如請求項148至150中任一項之固體口服配方，其中該口服配方呈錠劑形式。

【請求項152】

如請求項148至151中任一項之固體口服配方，其中該口服配方經設計以使得在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基本上不自該口服配方釋放任何該IL-10遞送構築體。

【請求項153】

如請求項148至152中任一項之固體口服配方，其中該口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之該IL-10遞送構築體。

【請求項154】

如請求項148至153中任一項之固體口服配方，其中該口服配方進一步包含第一包衣，其包含兩種或更多種各自具有不同標稱溶解pH之共聚物。

【請求項155】

如請求項148至154中任一項之固體口服配方，其中至少45%之該IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【請求項156】

如請求項148至155中任一項之固體口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑、崩解劑或其組合。

【請求項157】

如請求項156之固體口服配方，其中該增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。

【請求項158】

如請求項156之固體口服配方，其中該崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。

【請求項159】

如請求項148至158中任一項之固體口服配方，其中該IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【請求項160】

如請求項159之固體口服配方，其中該IL-10遞送構築體在該載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【請求項161】

如請求項148至160中任一項之固體口服配方，其中該口服配方係藉由壓縮該IL-10遞送構築體及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑而產生。

【請求項162】

如請求項161之固體口服配方，其中該壓縮在約2000磅-力(lbf)至約3500 lbf之壓縮力下進行。

【請求項163】

如請求項148至162中任一項之固體口服配方，其中該第一包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中該第一包衣在該等IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。

【請求項164】

如請求項163之固體口服配方，其中該第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。

【請求項165】

如請求項163或164之固體口服配方，其中該第二共聚物包含甲基丙

烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。

【請求項166】

如請求項163至165中任一項之固體口服配方，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為約15:85至約55:45。

【請求項167】

如請求項163至165中任一項之固體口服配方，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。

【請求項168】

如請求項163至167中任一項之固體口服配方，其進一步包含在該第一包衣外部之第二包衣。

【請求項169】

如請求項168之固體口服配方，其中該第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。

【請求項170】

如請求項163至169中任一項之固體口服配方，其進一步包含在該第一包衣內部且在該等IL-10遞送構築體及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。

【請求項171】

如請求項170之固體口服配方，其中該第三包衣包含HPMC。

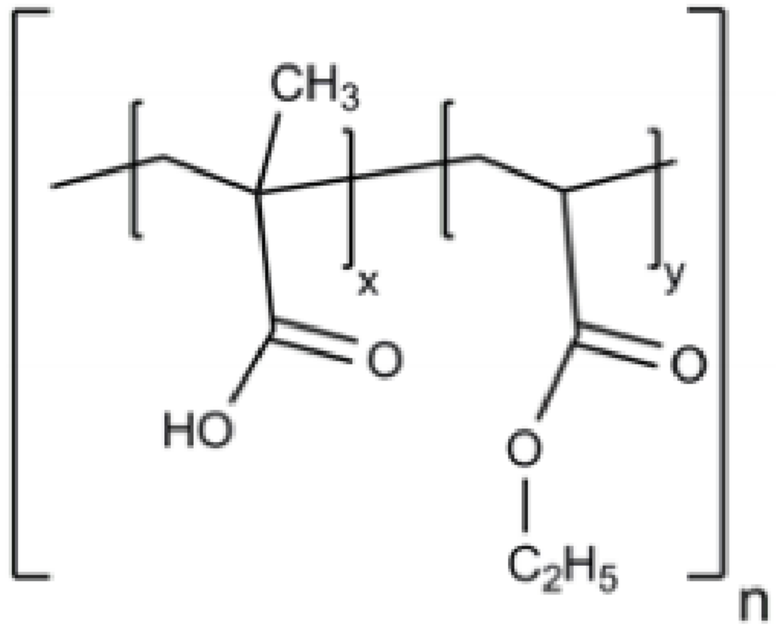
【請求項172】

如請求項148之固體口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑進一步包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中該泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%

至90重量%；且

其中該口服配方進一步包含：

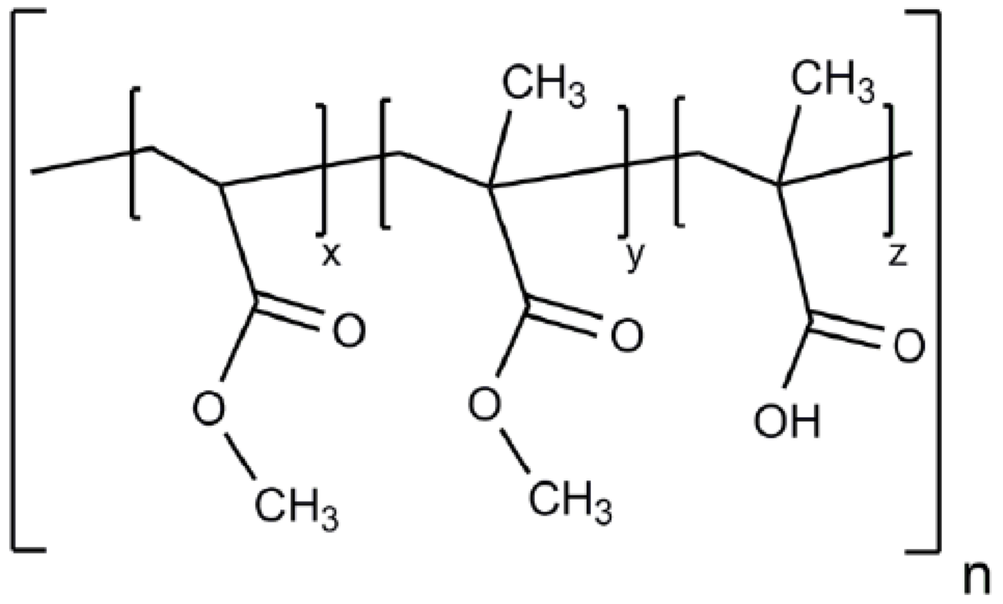
(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中該第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；

且進一步包含第二共聚物，其中該第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；

其中該第一共聚物與該第二共聚物之比為30:70；且

其中該第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；

(d)位於該第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及

(e)位於該第一包衣內部及該治療負載物及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【請求項173】

一種口服配方，其包含：(a) IL-10及(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中向個體投與口服配方之劑量產生選自由以下組成之群的免疫調節反應：

(i)糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低，

(ii) C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線之降低，

(iii) Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低，及

(iv) (i)-(iii)之組合。

【請求項174】

如請求項173之口服配方，其中該免疫調節反應包含FCP相對於該FCP基線之降低。

【請求項175】

如請求項173或174之口服配方，其中該FCP濃度係測定自糞便樣品或結腸活檢體。

【請求項176】

如請求項173至175中任一項之口服配方，其中該FCP濃度之降低為相對於該FCP基線至少20%、30%、40%或50%之降低。

【請求項177】

如請求項173至176中任一項之口服配方，其中該FCP基線為在投藥之前該個體中之初始FCP濃度。

【請求項178】

如請求項177之口服配方，其中該初始FCP濃度可指示該個體之胃腸道適應症。

【請求項179】

如請求項178之口服配方，其中該初始FCP濃度為大於150 μg/g。

【請求項180】

如請求項178或179之口服配方，其中該胃腸道適應症為潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病。

【請求項181】

如請求項177至180中任一項之口服配方，其中該FCP濃度相對於該初始FCP濃度降低至少50%，且該口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【請求項182】

如請求項174至176中任一項之口服配方，其中該FCP基線為安慰劑調節之FCP基線。

【請求項183】

如請求項182之口服配方，其中該FCP濃度相對於該安慰劑調節之FCP基線降低至少20%，且該口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【請求項184】

如請求項174至183中任一項之口服配方，其中該FCP濃度降低至50 μg/g或更小。

【請求項185】

如請求項173至184中任一項之口服配方，其中該免疫調節反應包含該CRP濃度相對於該CRP基線之降低。

【請求項186】

如請求項185之口服配方，其中該CRP濃度為全身性CRP濃度。

【請求項187】

如請求項185或186之口服配方，其中該CRP濃度係測定自血液樣品。

【請求項188】

如請求項185至187中任一項之口服配方，其中該CRP濃度之降低為相對於該CRP基線至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%之降低。

【請求項189】

如請求項185至188中任一項之口服配方，其中該CRP基線為在投藥之前該個體中之初始CRP濃度。

【請求項190】

如請求項189之口服配方，其中該初始CRP濃度為大於5 mg/L。

【請求項191】

如請求項189或190之口服配方，其中該初始CRP濃度指示該個體之胃腸道適應症。

【請求項192】

如請求項191之口服配方，其中該胃腸道適應症為大腸激躁症(IBD)。

【請求項193】

如請求項189至192中任一項之口服配方，其中該CRP濃度相對於該初始CRP濃度降低至少40%，且該口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【請求項194】

如請求項185至188中任一項之口服配方，其中該CRP基線為安慰劑調節之CRP基線。

【請求項195】

如請求項194之口服配方，其中該CRP濃度相對於該安慰劑調節之CRP基線降低至少10%，且該口服配方之劑量為約3 mg。

【請求項196】

如請求項194之口服配方，其中該CRP濃度相對於安慰劑調節之CRP基線降低至少40%，且該口服配方之劑量為約1 mg。

【請求項197】

如請求項185至196中任一項之口服配方，其中該CRP濃度係降低至小於5 mg/L。

【請求項198】

如請求項173至197中任一項之口服配方，其中該免疫調節反應包含該Geboes評分相對於該Geboes評分基線之降低。

【請求項199】

如請求項198之口服配方，其中該Geboes評分基線為在投藥之前的初始Geboes評分。

【請求項200】

如請求項198之口服配方，其中該Geboes評分基線為安慰劑調節之Geboes評分基線。

【請求項201】

如請求項200之口服配方，其中該Geboes評分相對於該安慰劑調節之Geboes評分基線降低至少2個單位，且該口服配方之劑量為約1 mg至約30

mg。

【請求項202】

如請求項173至201中任一項之口服配方，其中小於5%之所投與IL-10進入該個體之血流。

【請求項203】

如請求項173至202中任一項之口服配方，其中在每日投與該口服配方之劑量持續14日之後觀測該免疫調節反應。

【請求項204】

如請求項173至203中任一項之口服配方，其中該口服配方之劑量為10 mg或更小。

【請求項205】

如請求項204之口服配方，其中該口服配方之劑量為1 mg至10 mg、3 mg至10 mg或1 mg至3 mg。

【請求項206】

如請求項204之口服配方，其中該口服配方之劑量為1 mg、3 mg或10 mg。

【請求項207】

如請求項173至206中任一項之口服配方，其中該口服配方為膠囊。

【請求項208】

如請求項173至207中任一項之口服配方，其中該口服配方為可生物降解的。

【請求項209】

如請求項173至208中任一項之口服配方，其中該一或多種醫藥學上

可接受之賦形劑包含界面活性劑。

【請求項210】

如請求項209之口服配方，其中該界面活性劑為泊洛沙姆188。

【請求項211】

如請求項173至210中任一項之口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。

【請求項212】

如請求項211之口服配方，其中該滲透劑為蔗糖。

【請求項213】

如請求項173至212中任一項之口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。

【請求項214】

如請求項213之口服配方，其中該鹽為磷酸鉀。

【請求項215】

如請求項173至214中任一項之口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。

【請求項216】

如請求項215之口服配方，其中該增積劑為甘胺酸。

【請求項217】

如請求項173至216中任一項之口服配方，其中該口服配方包含第一包衣，其中該第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。

【請求項218】

如請求項217之口服配方，其中該第一包衣含有包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯之第一共聚物及包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯之第二共聚物。

【請求項219】

如請求項218之口服配方，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為約15:85至55:45。

【請求項220】

如請求項218之口服配方，其中該第一包衣中之該第一共聚物與該第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。

【請求項221】

如請求項217至219中任一項之口服配方，其進一步包含位於該第一包衣內部及該IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第二包衣。

【請求項222】

如請求項221之口服配方，其中該第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。

【請求項223】

如請求項217至222中任一項之口服配方，其進一步包含在該第一包衣內部且在該IL-10及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。

【請求項224】

如請求項223之口服配方，其中該第三包衣包含HPMC。

【請求項225】

如請求項173至224中任一項之口服配方，其中該IL-10為與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。

【請求項226】

如請求項225之口服配方，其中該IL-10遞送構築體包含載體。

【請求項227】

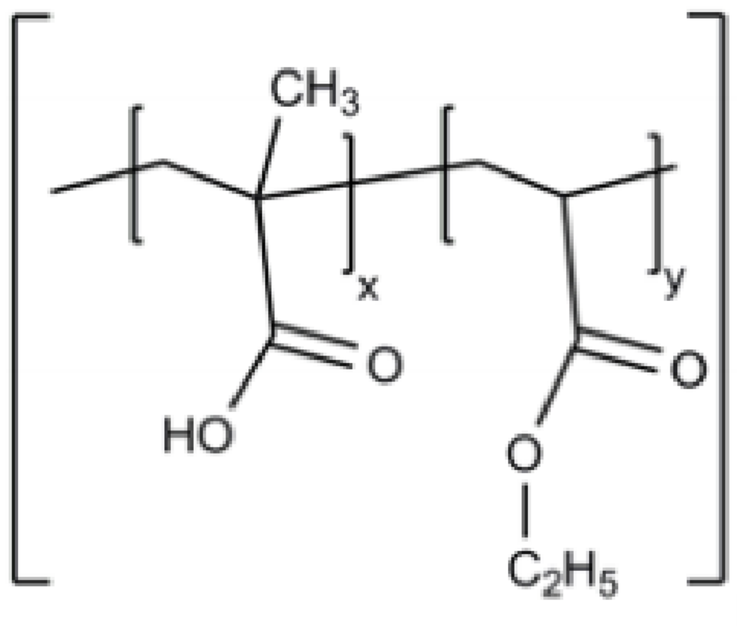
如請求項226之口服配方，其中該IL-10遞送構築體在該載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【請求項228】

如請求項173之口服配方，其中該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中該泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且

其中該口服配方進一步包含：

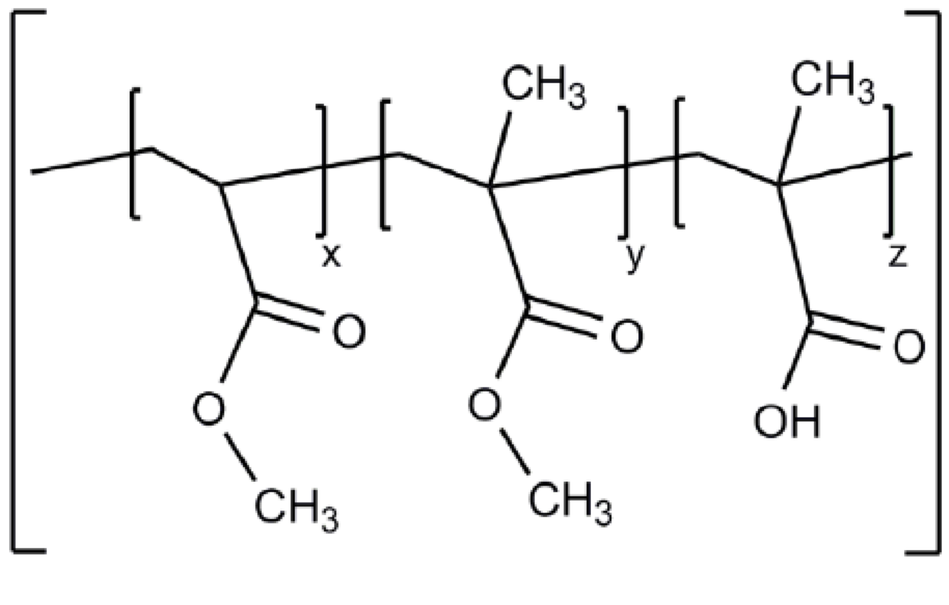
(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中該第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；

且進一步包含第二共聚物，其中該第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；

其中該第一共聚物與該第二共聚物之比為30:70；且

其中該第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；

(d)位於該第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及

(e)位於該第一包衣內部及該治療負載物及該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【請求項229】

一種治療個體之發炎性病症之方法，該方法包含向該個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中該投與產生選自由以下組成之群的免疫調節反應：

(i)糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低，

(ii) C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線之降低，

(iii) Geboes評分相對於基線Geboes評分之降低，及

(iv) (i)-(iii)之組合。

【請求項230】

如請求項229之方法，其中該發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、乳糜瀉、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【請求項231】

如請求項229或230之方法，其中該口服配方為如請求項68至115或148至228中任一項之口服配方。

【請求項232】

一種調節患有發炎性病症之個體中之生物標記之方法，該方法包含向該個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，

其中該生物標記係選自由以下組成之群：糞便鈣衛蛋白(FCP)、C反應蛋白(CRP)及其組合。

【請求項233】

如請求項232之方法，其中該投與引起FCP濃度相對於FCP基線之降低。

【請求項234】

如請求項232或233之方法，其中該投與引起CRP濃度相對於CRP基線之降低。

【請求項235】

如請求項232至234中任一項之方法，其中該投與進一步引起Geboes評分相對於基線Geboes評分之降低。

【請求項236】

如請求項232至235中任一項之方法，其進一步包含治療患有發炎性病症之個體。

【請求項237】

如請求項232至236中任一項之方法，其中該發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、乳糜瀉、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【請求項238】

如請求項232至237中任一項之方法，其中該口服配方為如請求項68至115或148至228中任一項之口服配方。

【請求項239】

一種治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向該個體投與包含IL-10之配方。

【請求項240】

如請求項239之方法，其中該消炎劑為胺基水楊酸鹽。

【請求項241】

如請求項240之方法，其中該胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。

【請求項242】

如請求項239至241中任一項之方法，其中該消炎劑為皮質類固醇。

【請求項243】

如請求項242之方法，其中該皮質類固醇為潑尼松。

【請求項244】

如請求項242或243之方法，其中該皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。

【請求項245】

如請求項239至244中任一項之方法，其中該消炎劑為免疫抑制劑。

【請求項246】

如請求項245之方法，其中該免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。

【請求項247】

如請求項239至246中任一項之方法，其中該消炎劑為TNFα抑制劑。

【請求項248】

如請求項247之方法，其中該TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗(adalimumab)、賽妥珠單抗(certolizumab)、依那西普(etanercept)、戈利木單抗(golimumab)及英利昔單抗(infliximab)。

【請求項249】

如請求項239至248中任一項之方法，其中該至少一種消炎劑為Janus激酶(JAK)抑制劑。

【請求項250】

如請求項249之方法，其中該JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼(filgotinib)、優帕替尼(upadacitinib)、皮非替尼(peficitinib)及托法替尼(tofacitinib)。

【請求項251】

如請求項239至250中任一項之方法，其中該至少一種消炎劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。

【請求項252】

如請求項251之方法，其中該S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫(ozanimod)、阿瑟利莫(amiselimod)及伊拉斯莫(etrasimod)。

【請求項253】

如請求項239至252中任一項之方法，其中該至少一種消炎劑為整合素阻斷劑。

【請求項254】

如請求項253之方法，其中該整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗(etrolizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、維多珠單抗(vedolizumab)、阿布里單抗(abrilumab)及卡洛斯特甲基(carotegrast methyl)。

【請求項255】

如請求項239至254中任一項之方法，其中該至少一種消炎劑為IL-23抑制劑。

【請求項256】

如請求項255之方法，其中該IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗(ustekinumab)、密利基單抗(mirikizumab)、布拉奇單抗(brazikumab)、古賽庫單抗(guselkumab)及里森基單抗(risankizumab)。

【請求項257】

如請求項239至256中任一項之方法，其中該至少一種消炎劑為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。

【請求項258】

如請求項257之方法，其中該至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特(apremilast)、西洛司特(cilomilast)、羅氟司特(roflulmilast)、替托司特(tetomilast)及咯利普蘭(rolipram)。

【請求項259】

如請求項239至258中任一項之方法，其中該至少一種消炎劑為拉喹莫德(laquinimod)。

【請求項260】

一種治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向該個體經口投與IL-10治療劑及向該個體投與非IL-10免疫抑制劑。

【請求項261】

一種治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向該個體經口投與IL-10治療劑，其中該個體同時接受非IL-10免疫抑制劑。

【請求項262】

一種治療個體之發炎性疾病之方法，其中該個體對非IL-10免疫抑制劑之反應不充分，該方法包含向該個體經口投與IL-10治療劑。

【請求項263】

如請求項262之方法，其進一步包含將該非IL-10免疫抑制劑與該IL-10治療劑一起投與。

【請求項264】

如請求項262之方法，其中在確定不充分反應之前，該個體用該非IL-10免疫抑制劑治療至少6週。

【請求項265】

如請求項262之方法，其中在確定不充分反應之前，該個體用該非IL-10免疫抑制劑治療至少12週。

【請求項266】

如請求項262之方法，其中該不充分反應為部分反應。

【請求項267】

如請求項260至266中任一項之方法，其中該發炎性疾病係選自由以下組成之群：發炎性腸病、牛皮癬、斑塊型牛皮癬、化膿性汗腺炎、牛皮癬性關節炎、類風濕性關節炎、幼年特發性關節炎、僵直性脊椎炎、細菌性敗血症、克羅恩氏病、瘻管性克羅恩氏病、中度至重度潰瘍性結腸炎、輕度至中度潰瘍性結腸炎、潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎、缺血性結腸炎、改道性結腸炎、白塞氏症候群、不確定型結腸炎、胰臟炎、肝炎、儲袋炎、直腸炎、葡萄膜炎、移植物抗宿主疾病及上皮細胞損傷。

【請求項268】

如請求項260至267中任一項之方法，其中該發炎性疾病為發炎性腸病。

【請求項269】

如請求項260至267中任一項之方法，其中該發炎性疾病係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病。

【請求項270】

如請求項262至266中任一項之方法，其中該發炎性疾病為類風濕性關節炎，且該具有不充分反應之個體的一或多個關節患有活動性疾病。

【請求項271】

如請求項270之方法，其中該一或多個關節患有活動性疾病係藉由螢光光學成像或磁共振成像鑑別。

【請求項272】

如請求項270或271中任一項之方法，其中該具有不充分反應之個體另外具有兩個或更多個觸痛的關節。

【請求項273】

如請求項270至272中任一項之方法，其中該具有不充分反應之個體另外具有兩個或更多個腫脹的關節。

【請求項274】

如請求項262之方法，其中該發炎性疾病為潰瘍性結腸炎，且該具有不充分反應之個體患有中度至重度潰瘍性結腸炎。

【請求項275】

如請求項274之方法，其中該具有不充分反應之個體的改良梅歐臨床評分(MMS)為約4分至約9分。

【請求項276】

如請求項274或275之方法，其中該具有不充分反應之個體的集中讀取MCS內視鏡分項評分為2級或更高。

【請求項277】

如請求項274至276中任一項之方法，其中該具有不充分反應之個體的MMS直腸出血分項評分為1分或更高。

【請求項278】

如請求項274至277中任一項之方法，其中該具有不充分反應之個體患有自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。

【請求項279】

如請求項260至278中任一項之方法，其中該IL-10治療劑為IL-10遞送構築體。

【請求項280】

如請求項279之方法，其中該IL-10遞送構築體包含由SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列組成之載體。

【請求項281】

如請求項279之方法，其中該IL-10遞送構築體包含由與SEQ ID NO: 4至少90%一致之胺基酸序列組成之載體。

【請求項282】

如請求項279之方法，其中該IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列。

【請求項283】

如請求項260至282中任一項之方法，其中該非IL-10免疫抑制劑為TNFα抑制劑。

【請求項284】

如請求項283之方法，其中該TNFα抑制劑為單株抗體。

【請求項285】

如請求項283之方法，其中該TNFα抑制劑選自由以下組成之群：英利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(Humira)及戈利木單抗(Simponi)。

【請求項286】

如請求項283之方法，其中該TNFα抑制劑包含SEQ ID NO: 151及SEQ ID NO: 152。

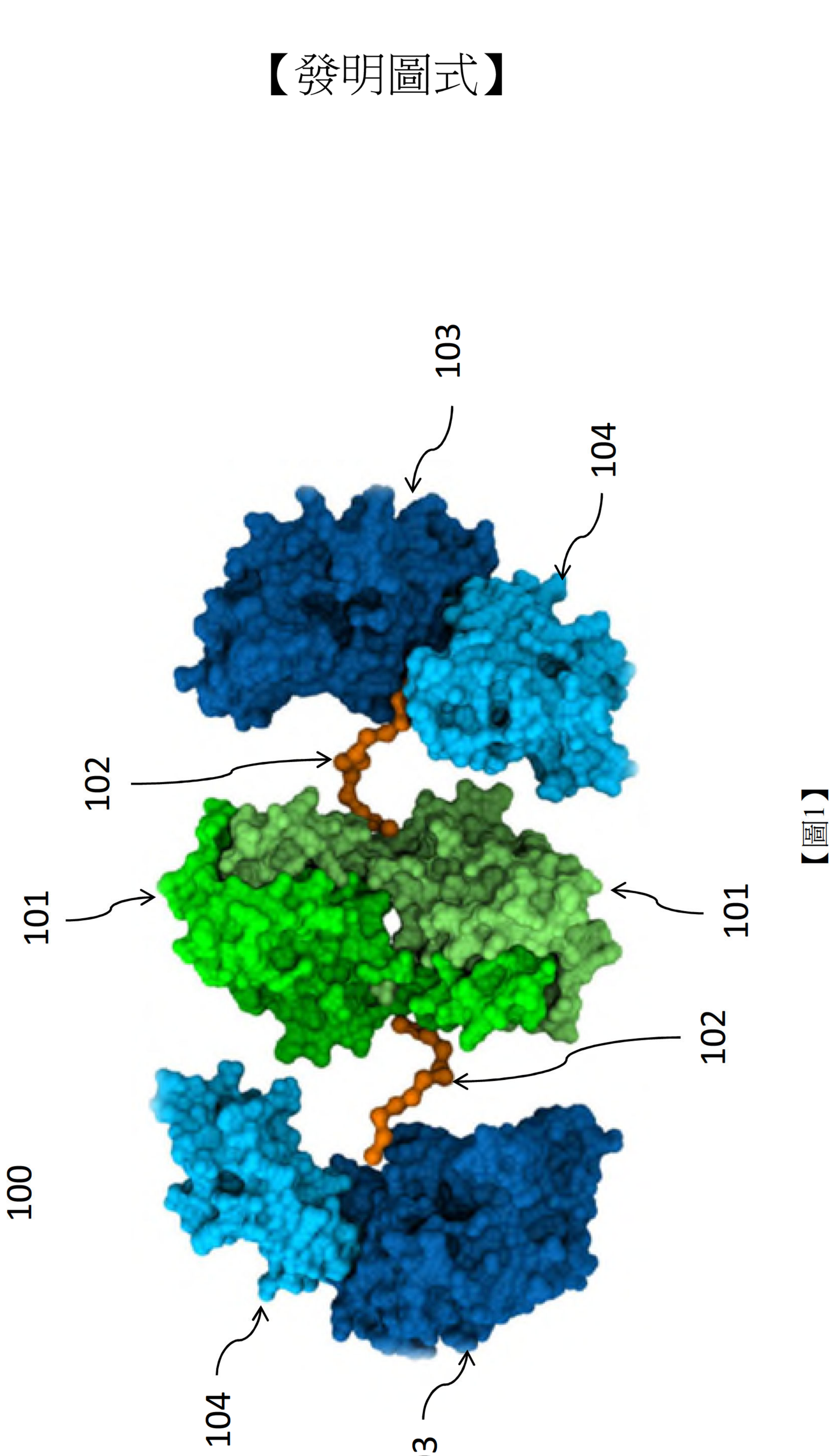
【請求項287】

如請求項283之方法，其中該TNFα抑制劑包含SEQ ID NO: 153及SEQ ID NO: 154。

【請求項288】

如請求項260至287中任一項之方法，其中該TNFα抑制劑不為依那西普。

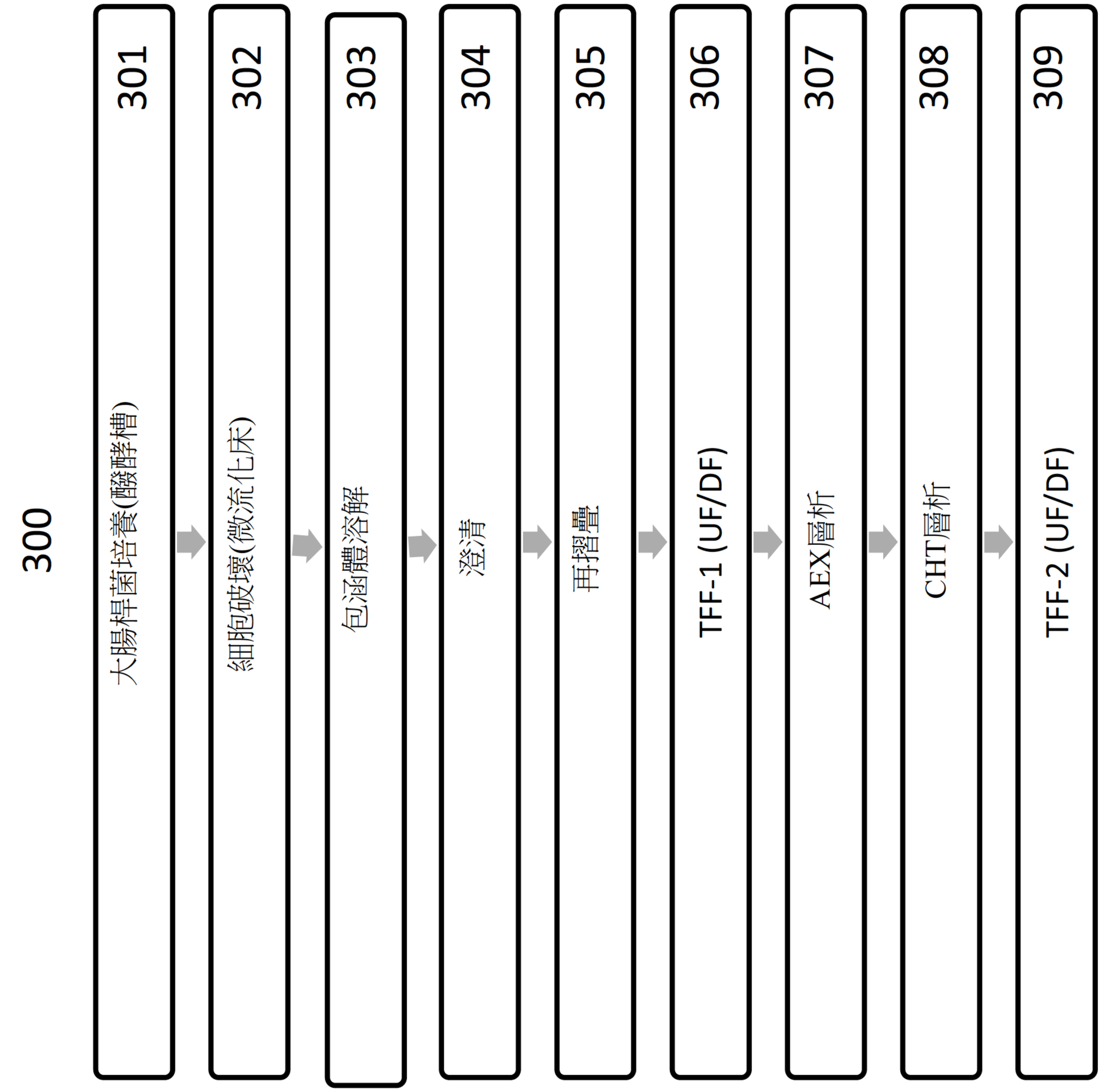
【發明圖式】



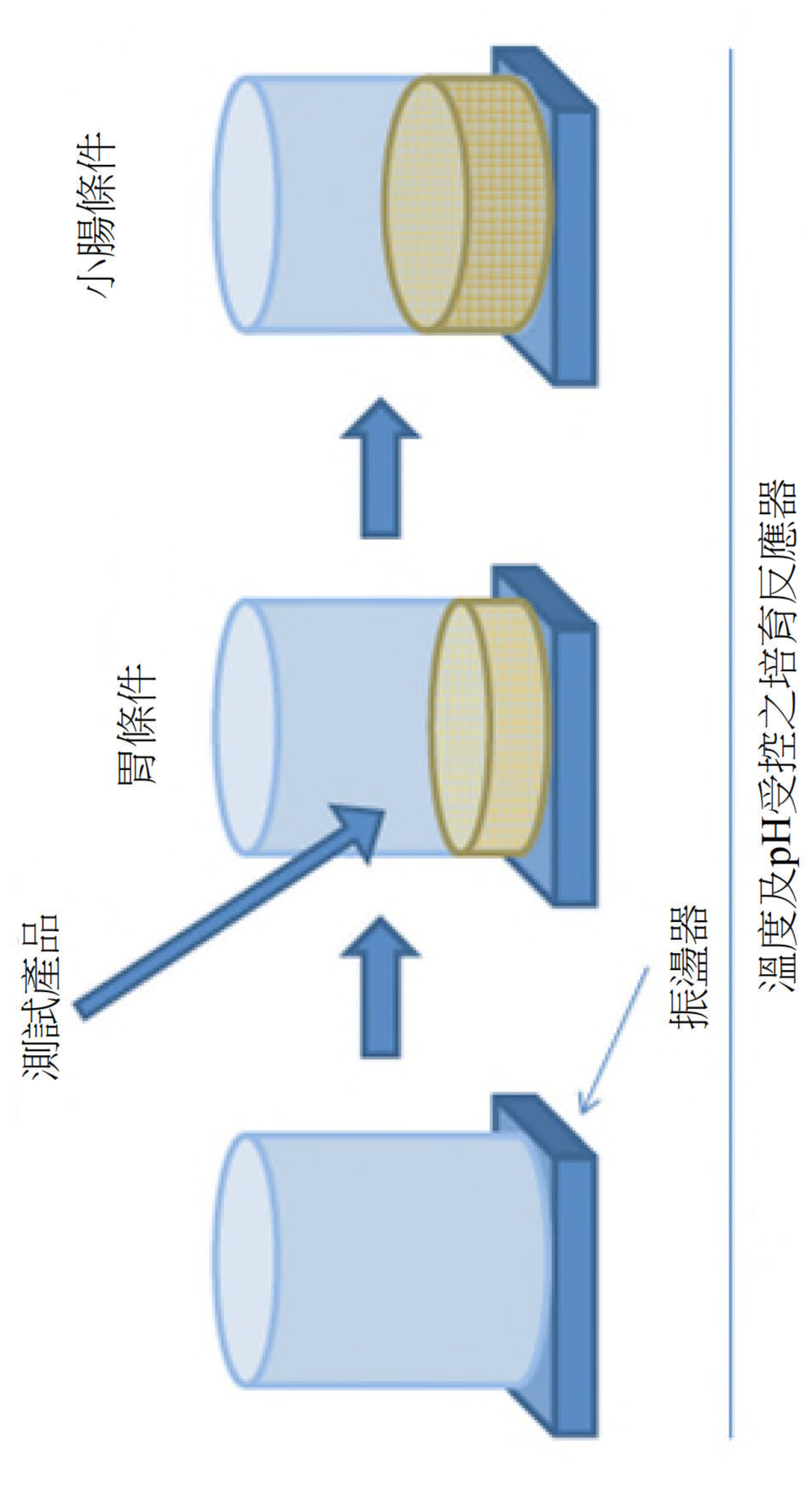
【圖1】


200
大腸桿菌培養(醱酵槽) 201
細胞破壞(微流化床) 202
溶解之包涵體 203
亞硫酸分解 204
澄清 205
TFF-1 (UFDF) 206
再摺疊 207
TFF-2 (DF) 208
Capto Q Impres層析 209
CHT層析 210
TFF-3 (最終配方) (UFDF) 211

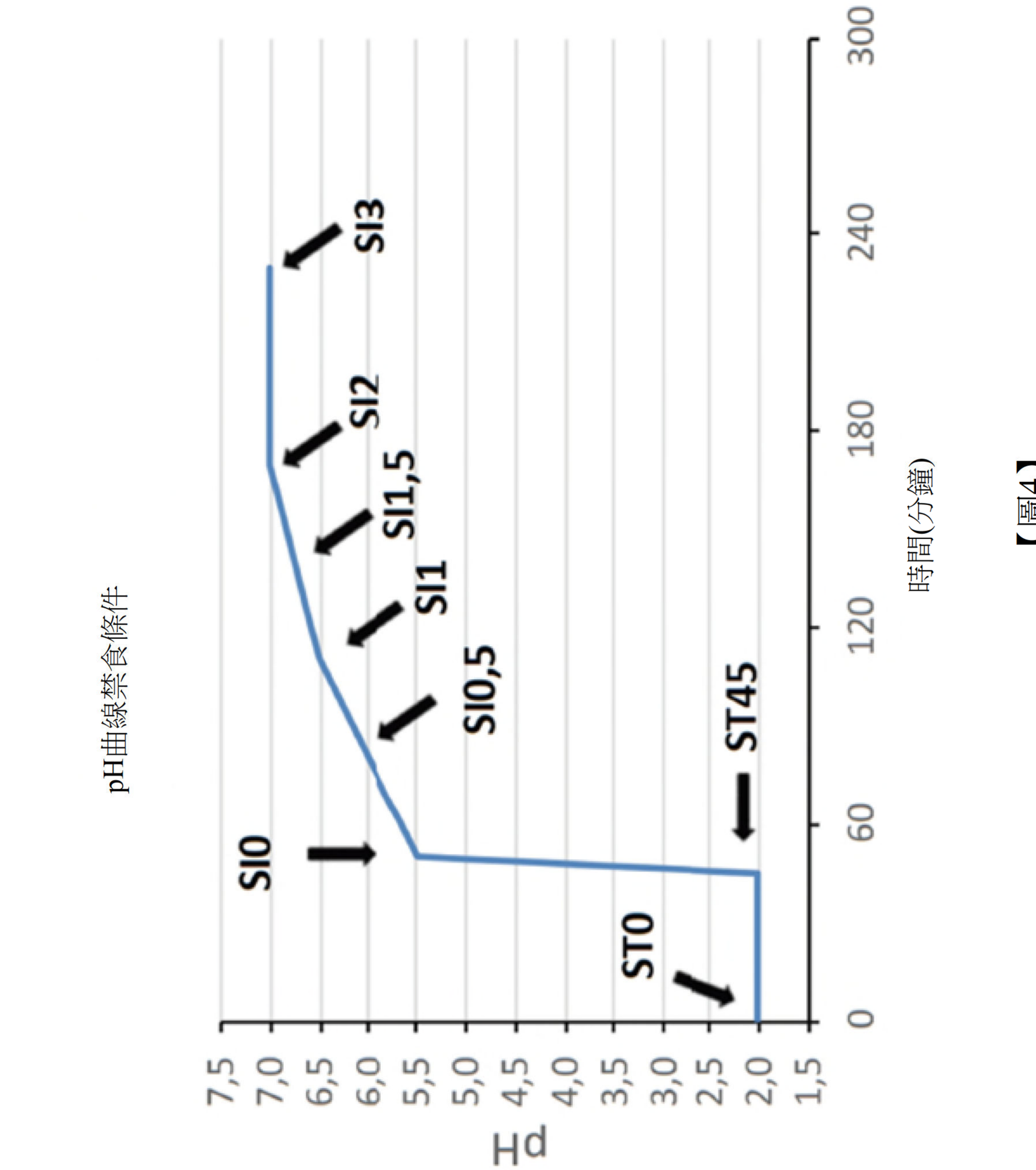
【圖2A】


300
大腸桿菌培養(醱酵槽)
301
細胞破壞(微流化床)
302
包涵體溶解
303
澄清
304
再摺疊
305
TFF-1 (UF/DF)
306
AEX層析
307
CHT層析
308
TFF-2 (UF/DF)
309

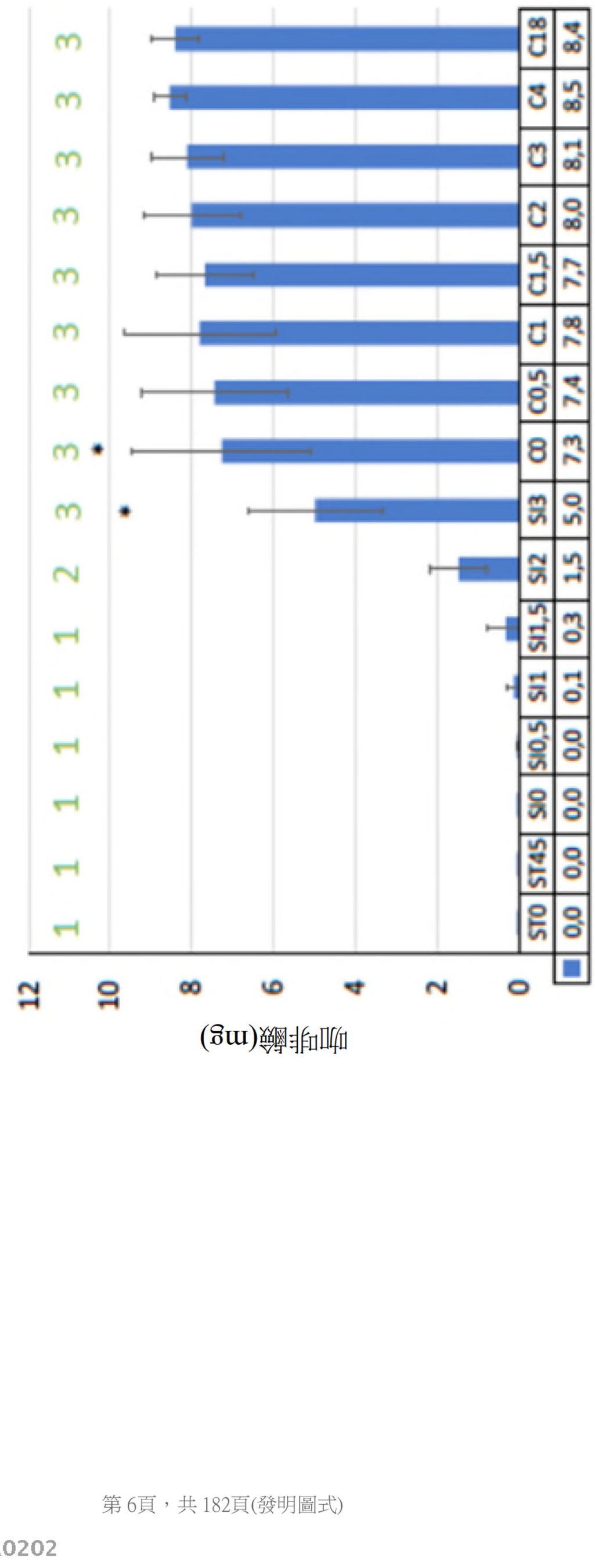
【圖2B】



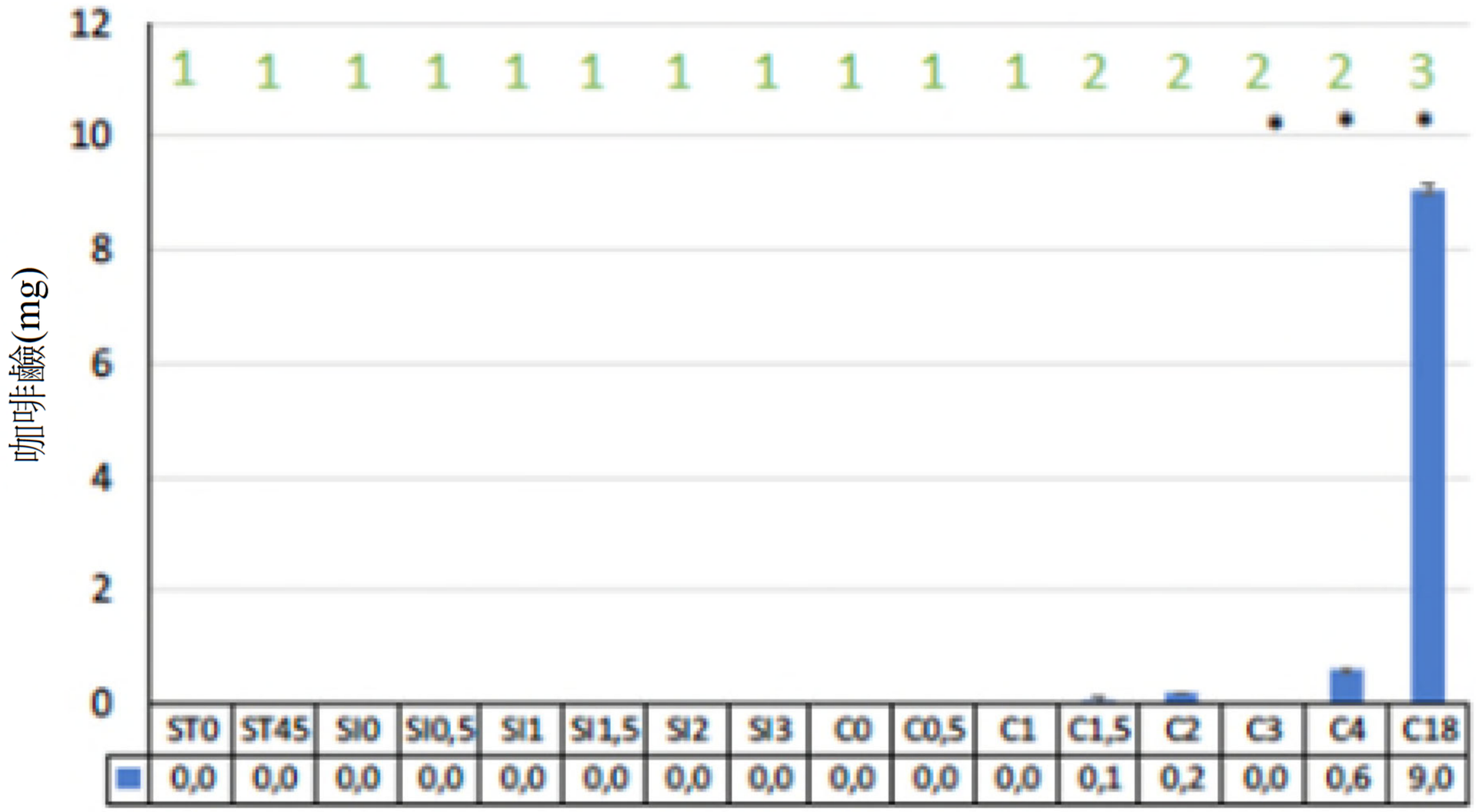
【圖3】


pH曲線禁食條件
SI0
SI1,5
SI2
SI3
SI0,5
SI1
ST0
ST45
pH
7,5
7,0
6,5
6,0
5,5
5,0
4,5
4,0
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
0
60
120
180
240
300
時間(分鐘)

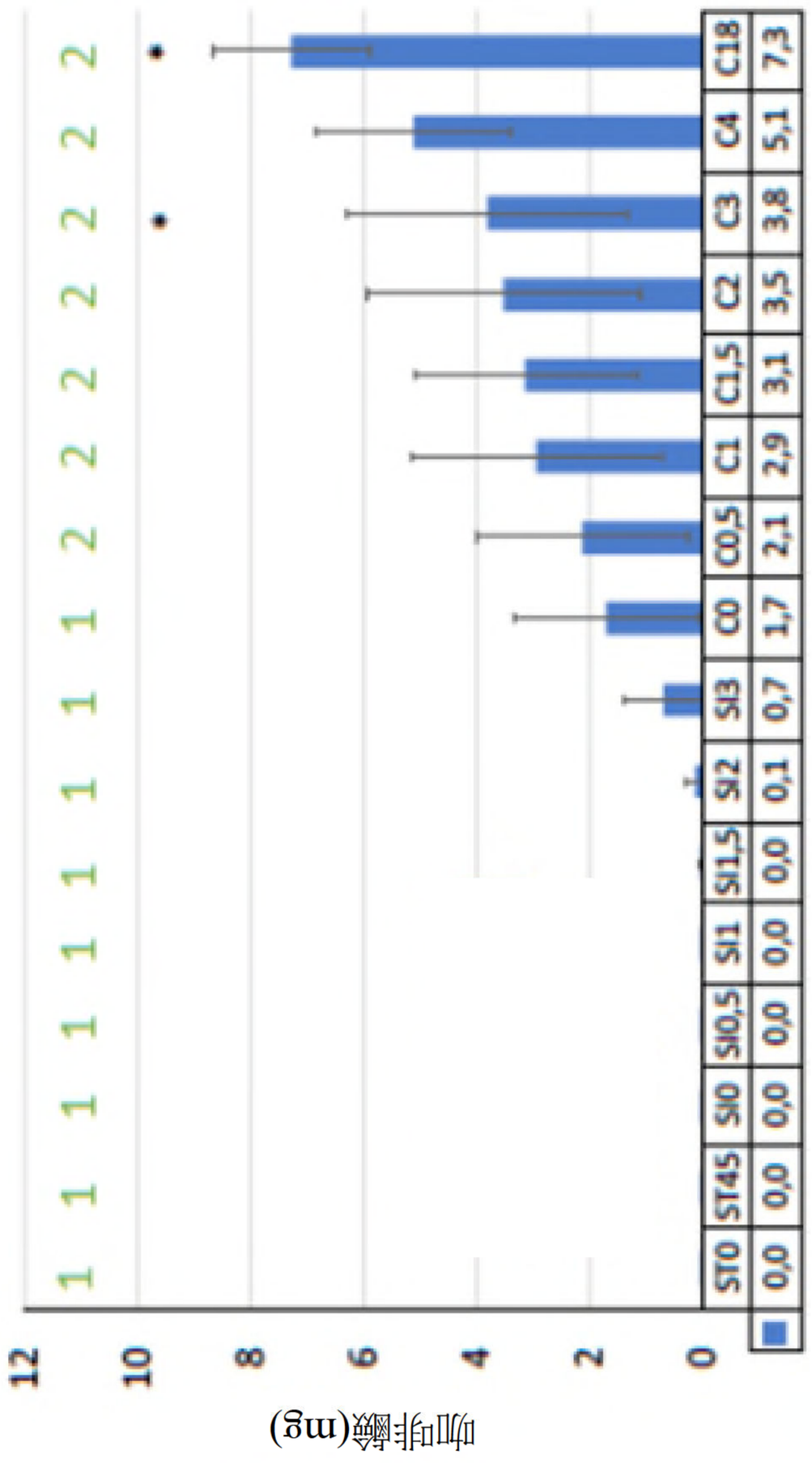
【圖4】


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0,0 0,0 0,0 0,0 0,1 0,3 1,5 5,0 7,3 7,4 7,8 7,7 8,0 8,1 8,5 8,4

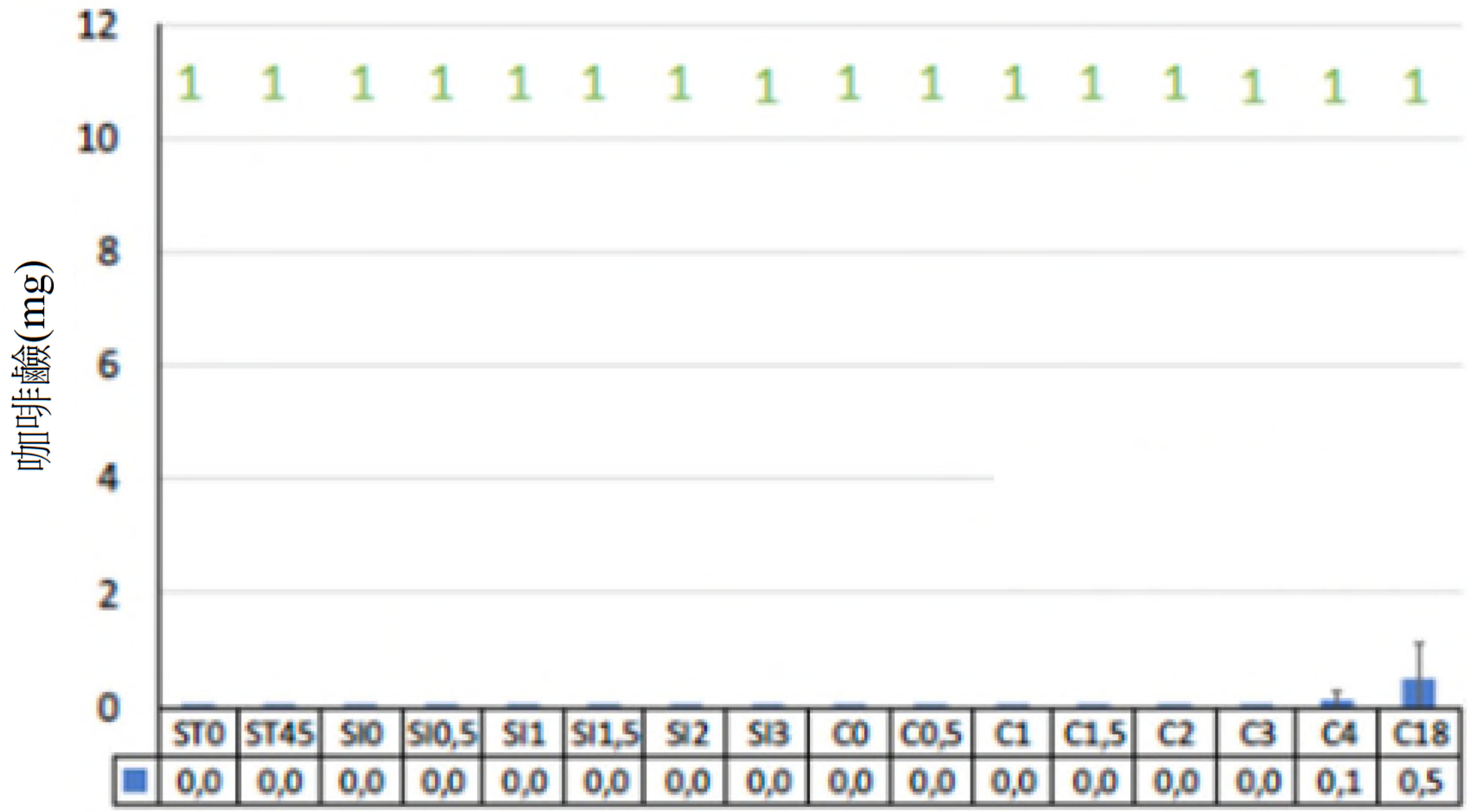
【圖5A】


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 3
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,1 0,2 0,0 0,6 9,0

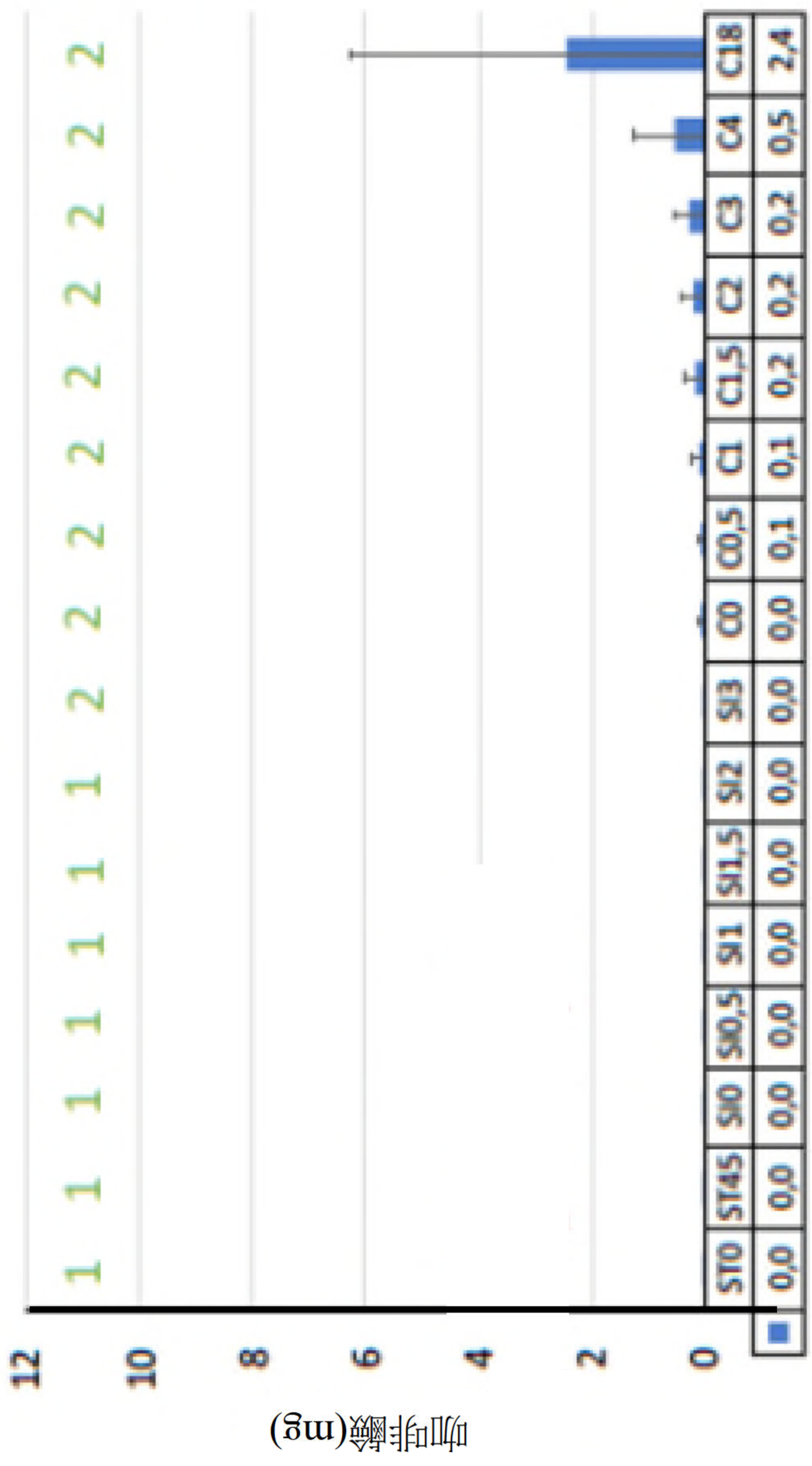
【圖5B】


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
ST0 ST45 S10 S105 S11 S115 S12 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0'0 0'0 0'0 0'0 0'0 0'0 0'1 1'7 2'1 2'9 3'1 3'5 3'8 5'1 7'3

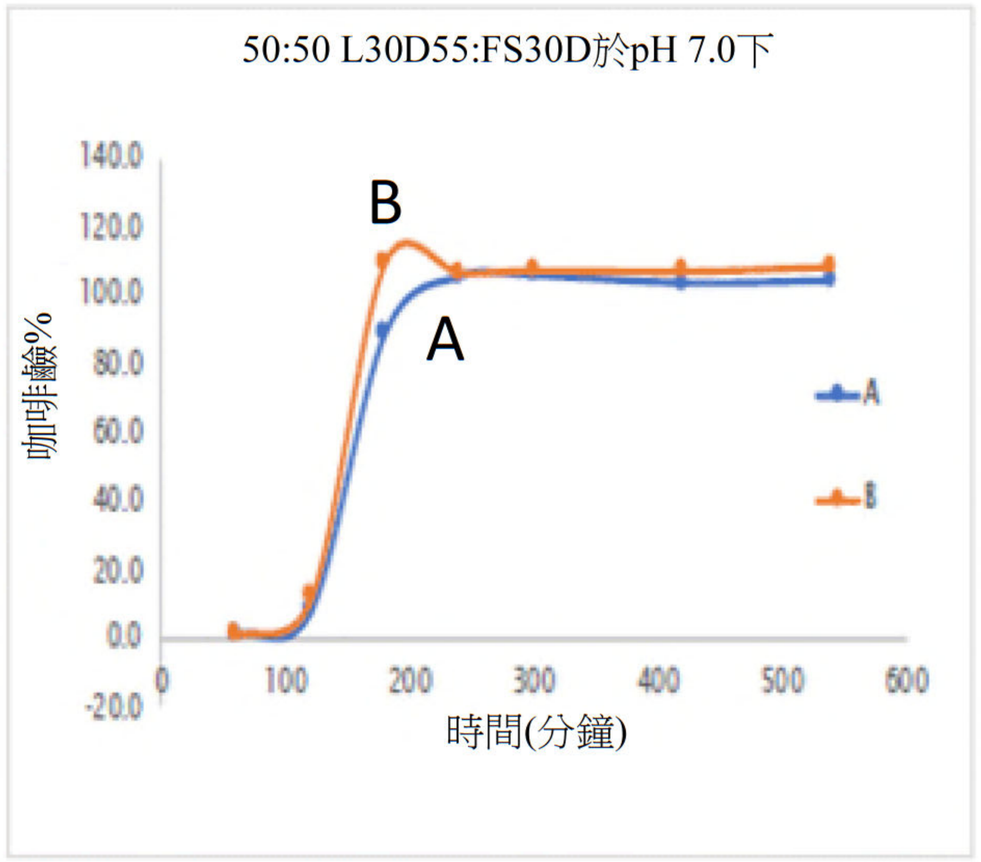
【圖5C】


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,1 0,5

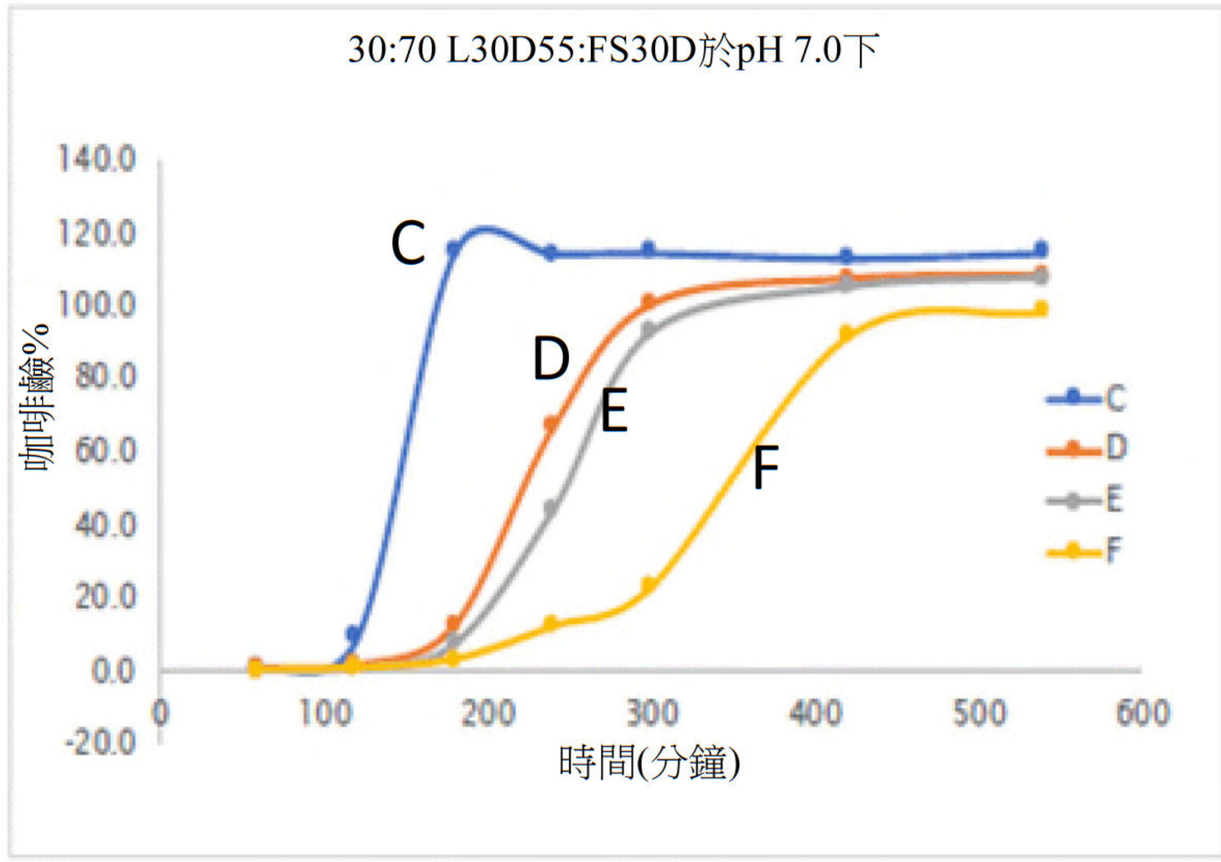
【圖5D】


咖啡鹼(mg)
0
2
4
6
8
10
12
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,1 0,1 0,2 0,2 0,2 0,5 2,4

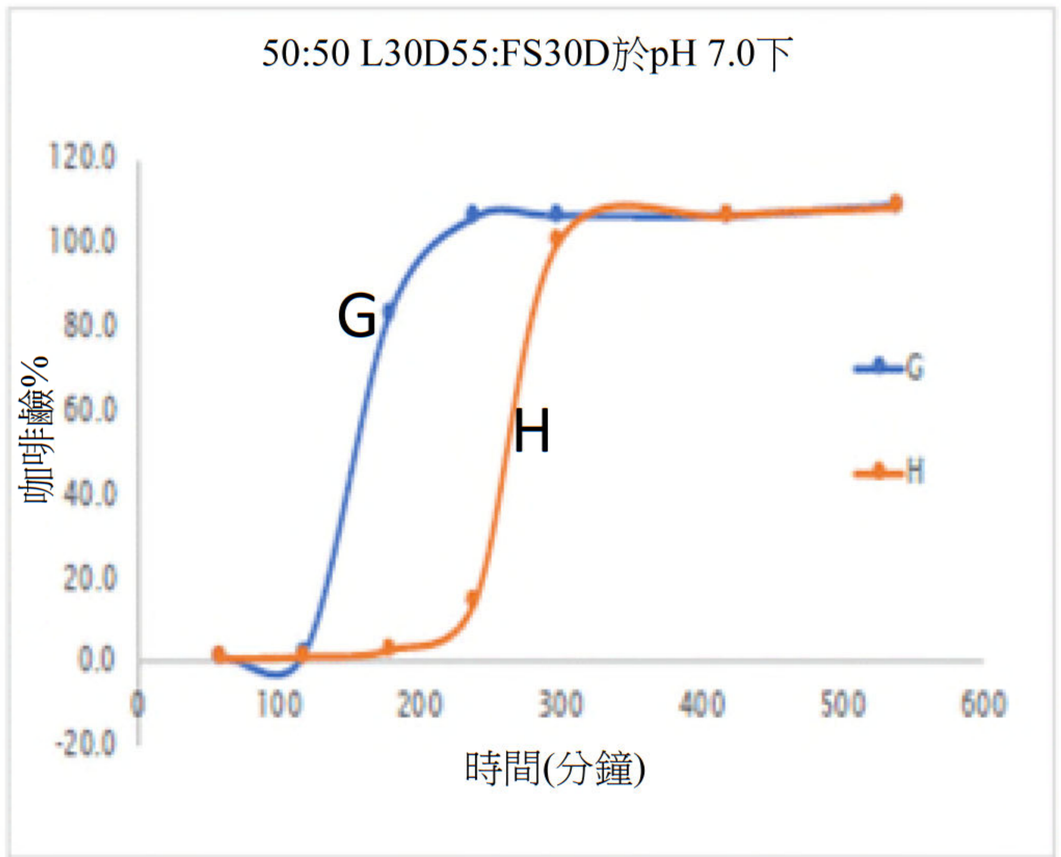
【圖5E】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
A
B
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

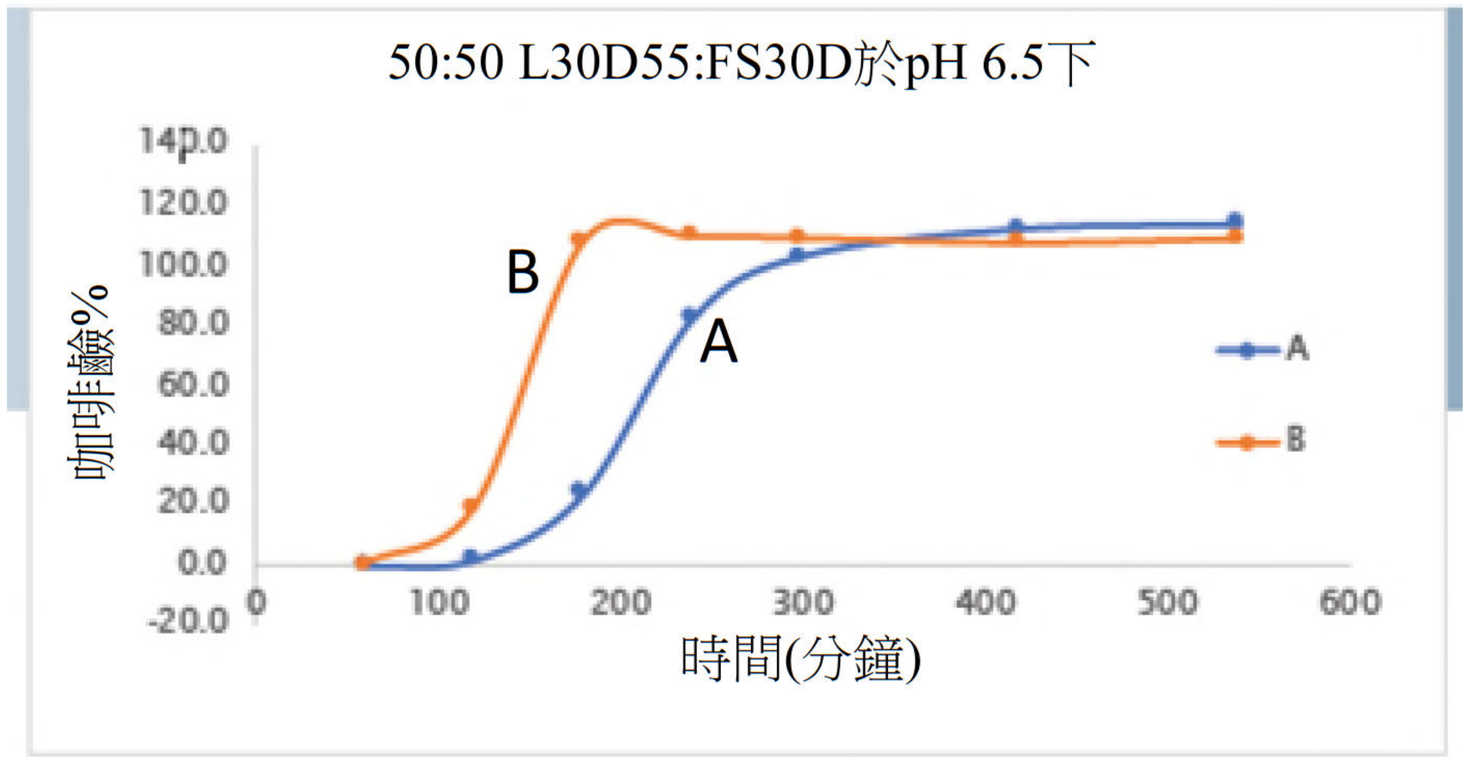
【圖6A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 7.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
C
D
E
F
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

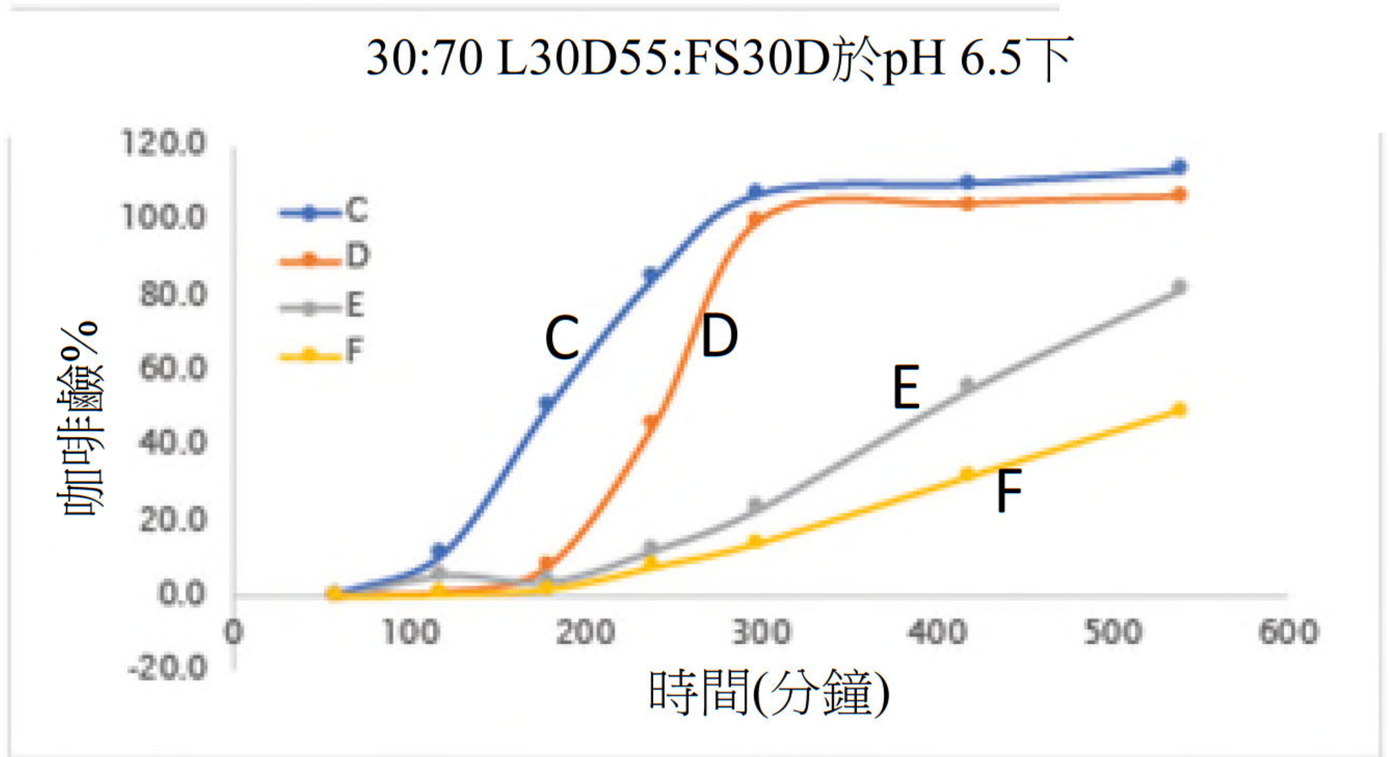
【圖6B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
G
H
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

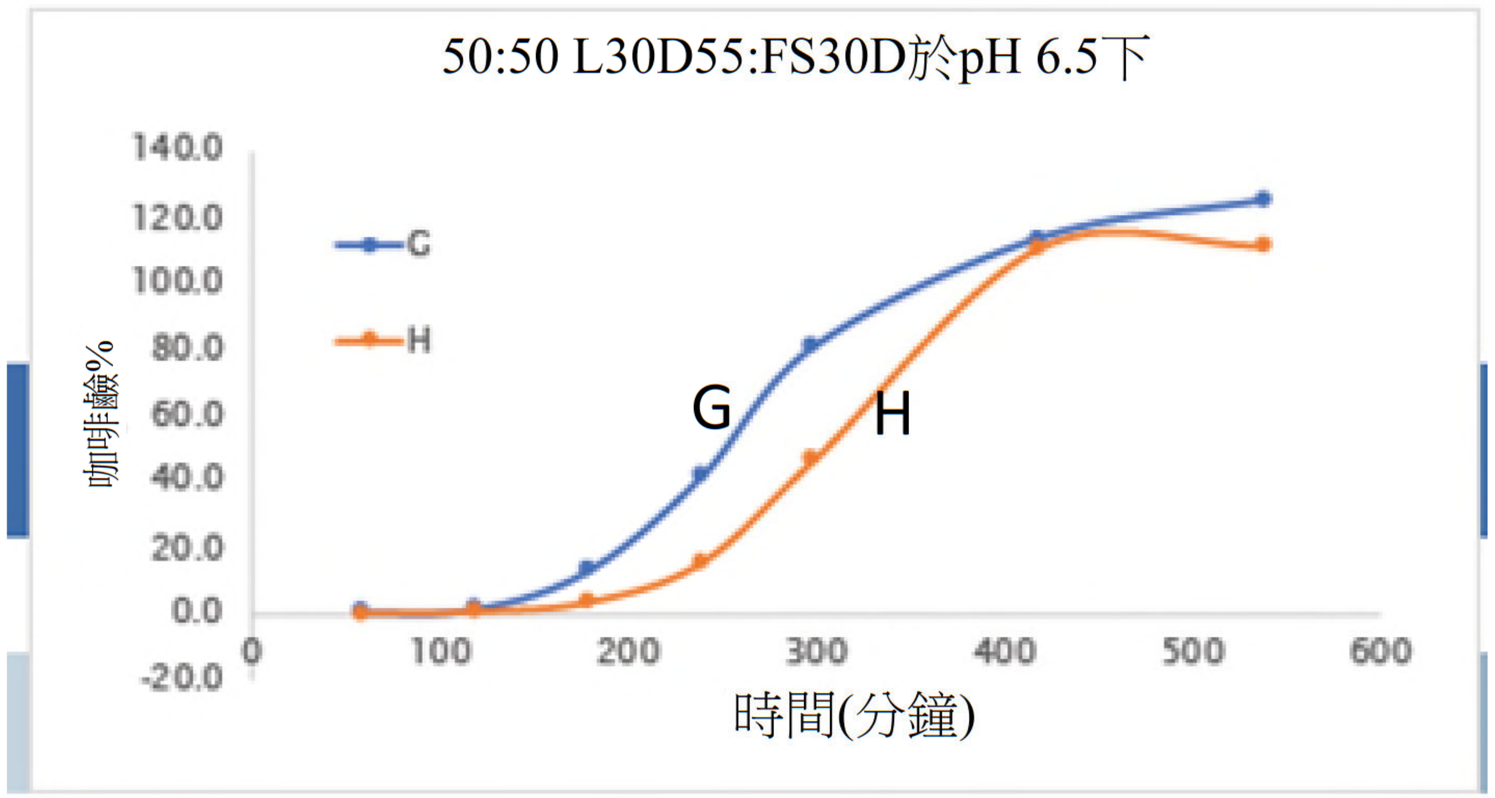
【圖6C】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.5下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
A
B
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

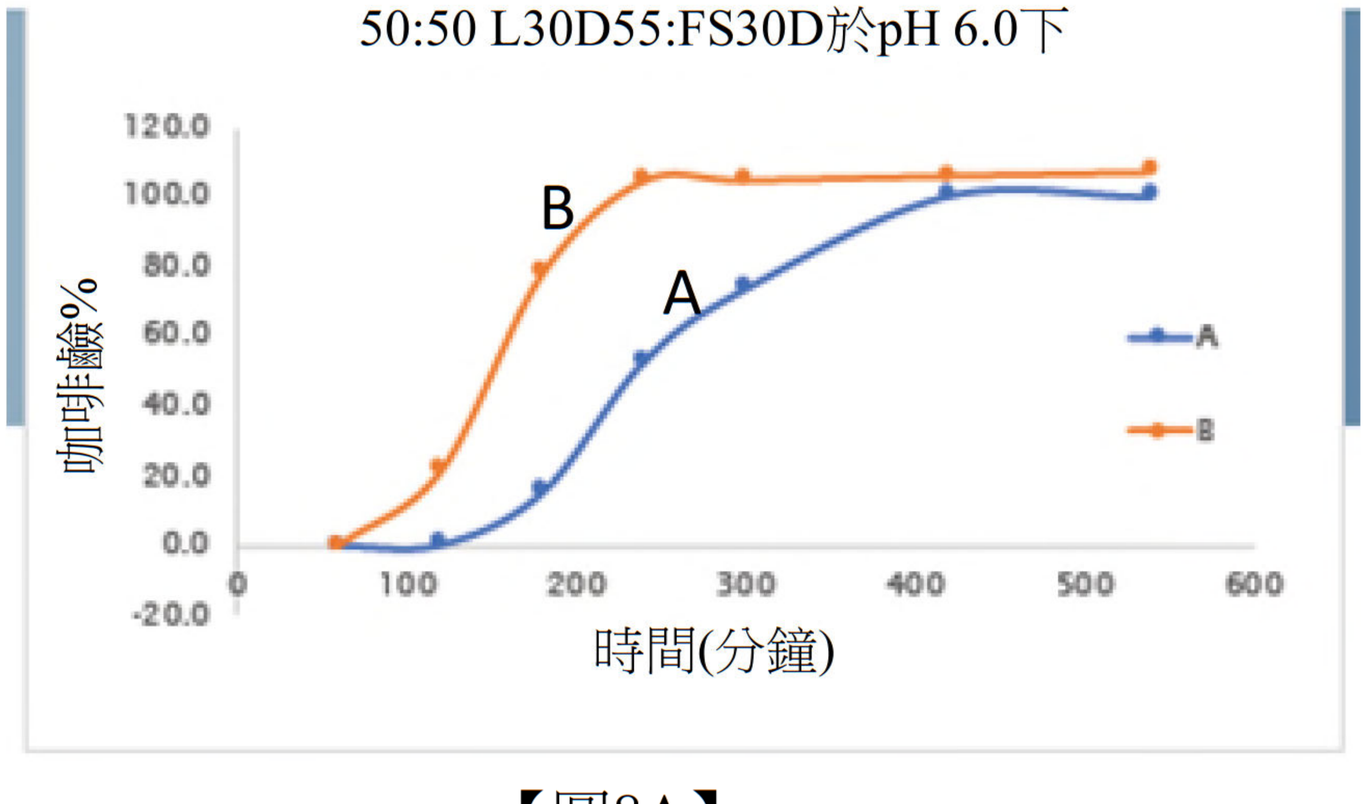
【圖7A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 6.5下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
C
D
E
F
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

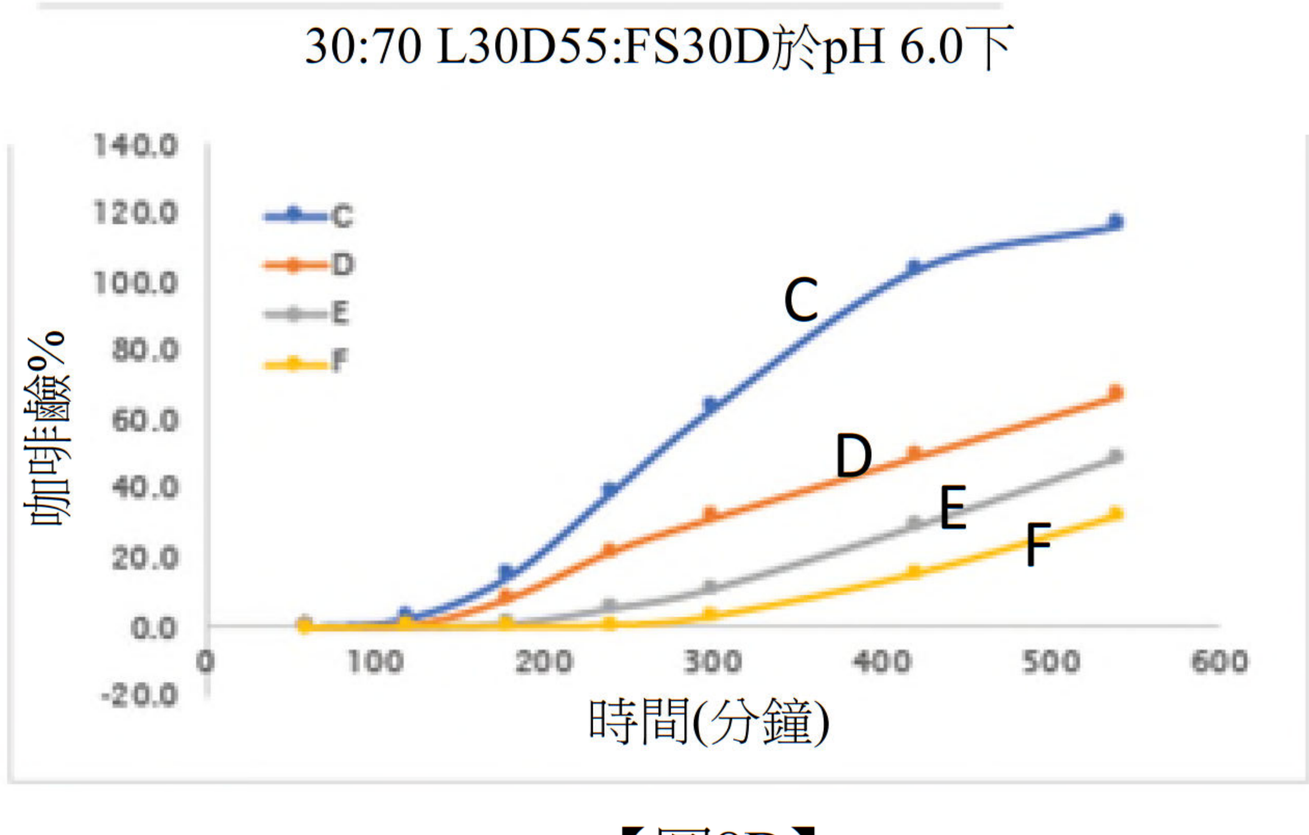
【圖7B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.5下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
G
H
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

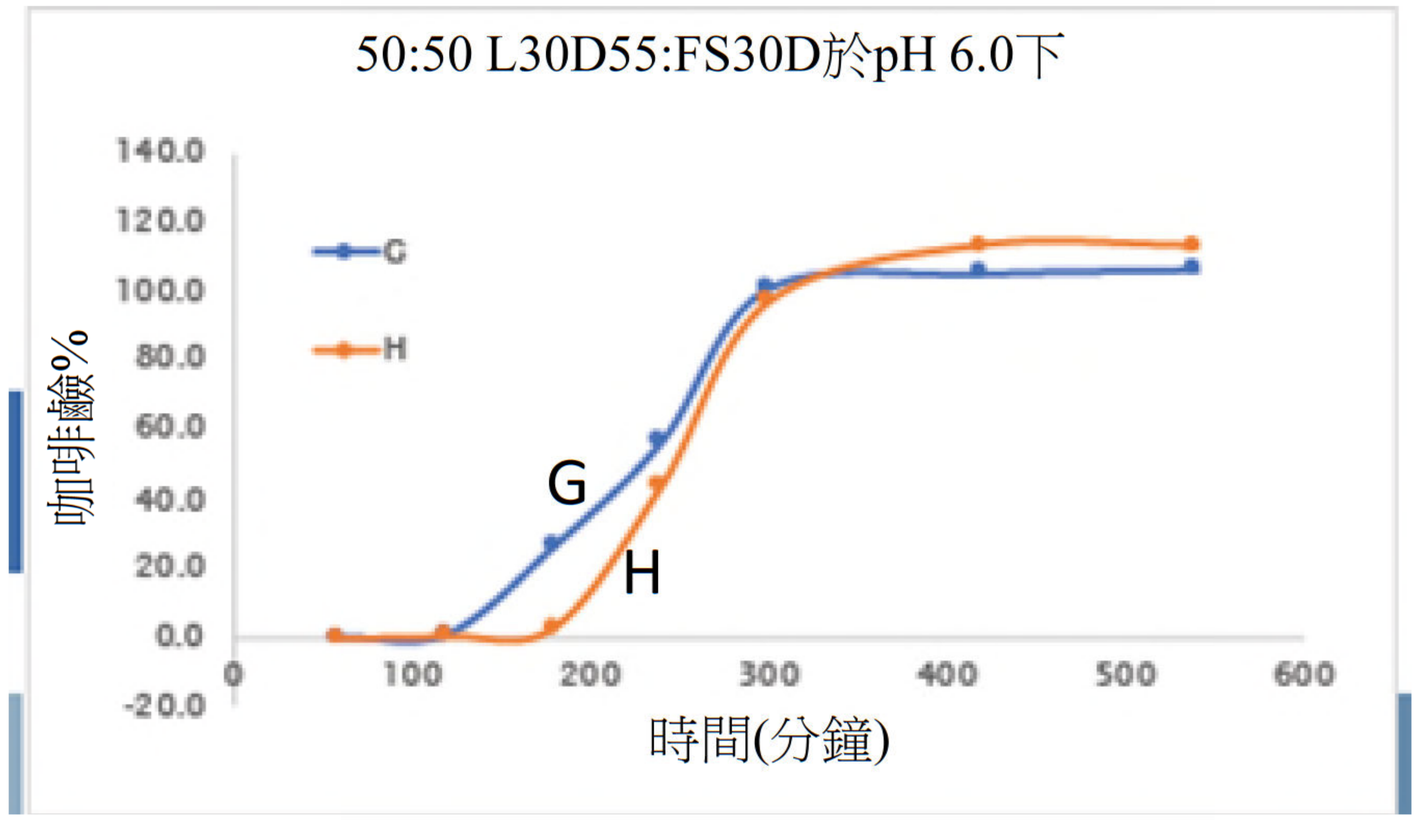
【圖7C】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
A
B
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

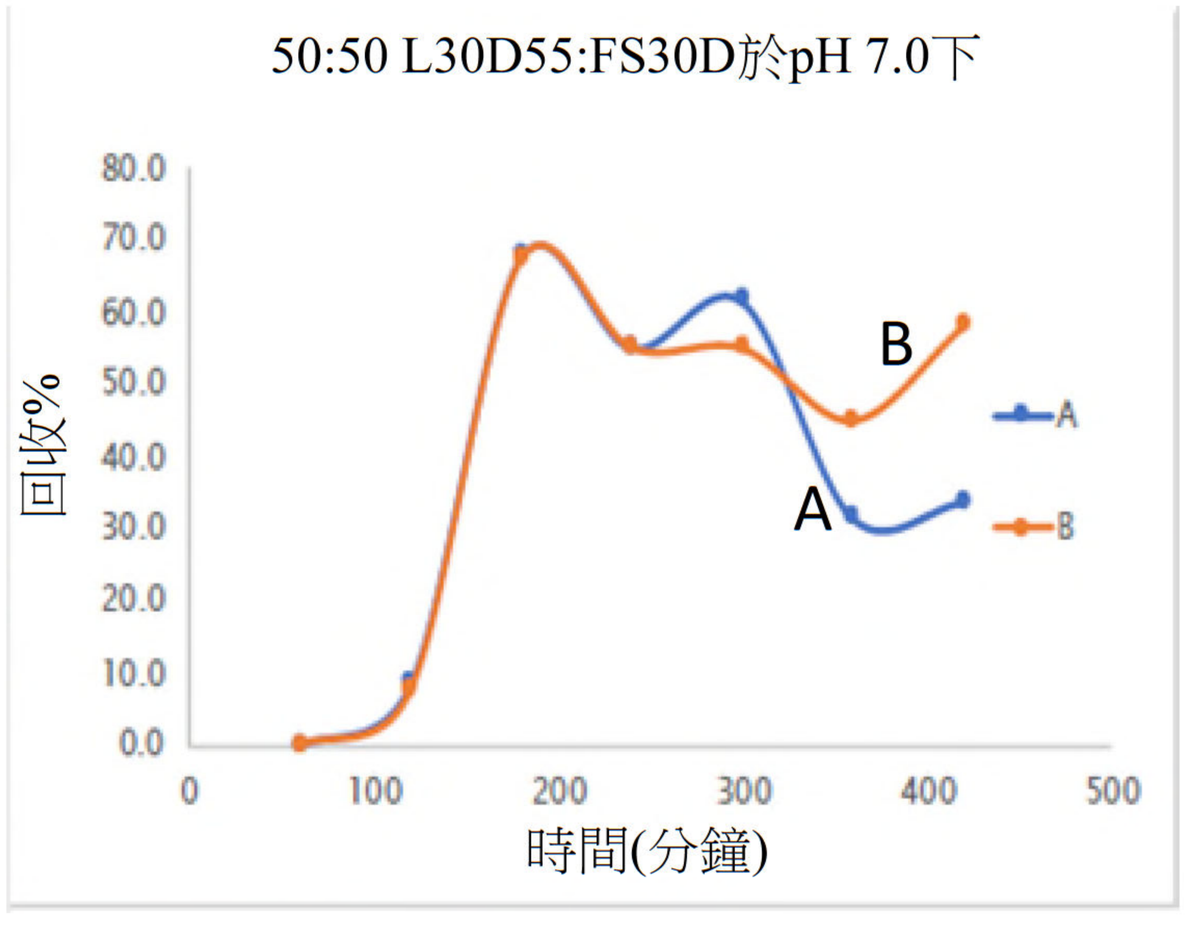
【圖8A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 6.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
C
D
E
F
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

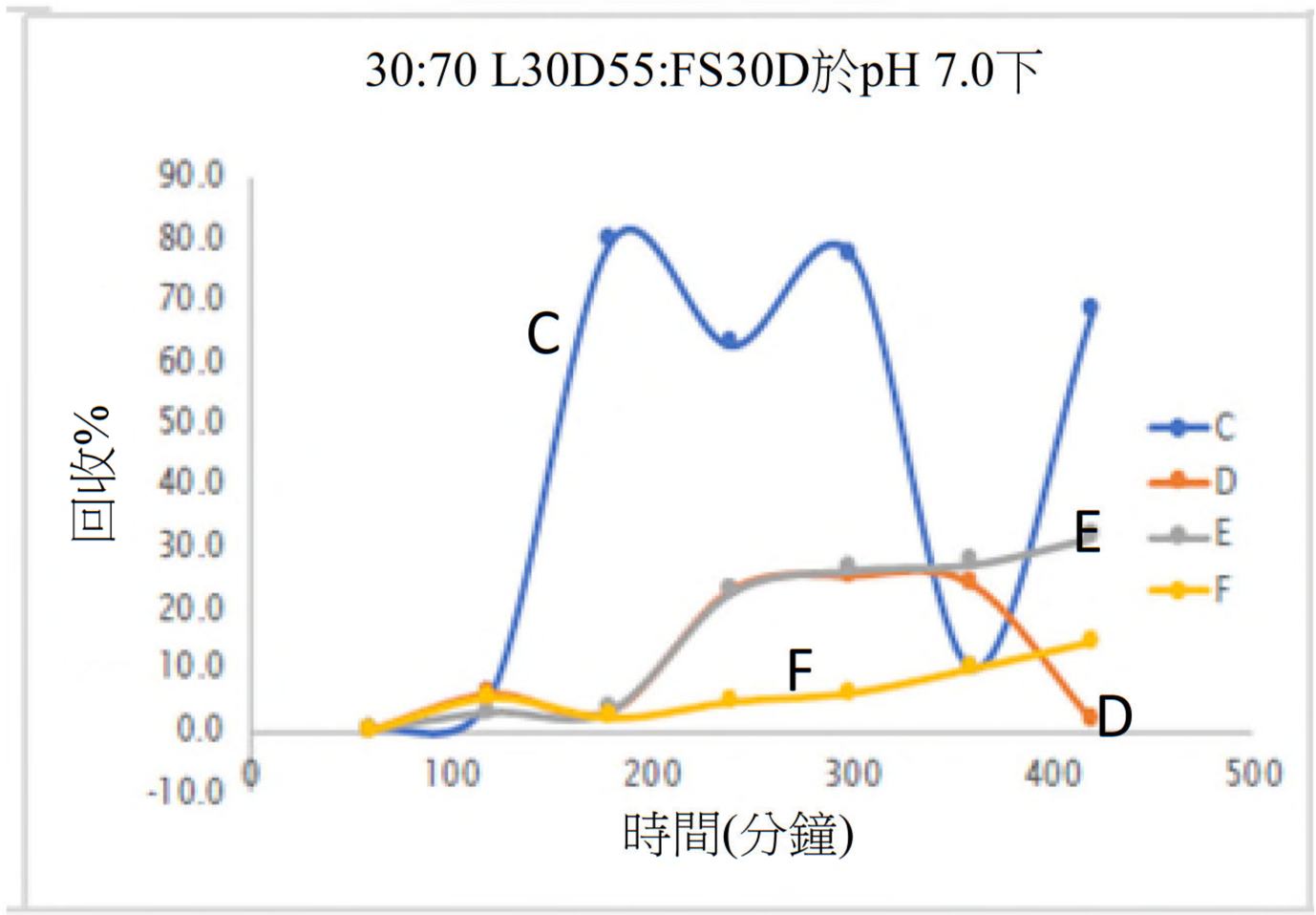
【圖8B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
G
H
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

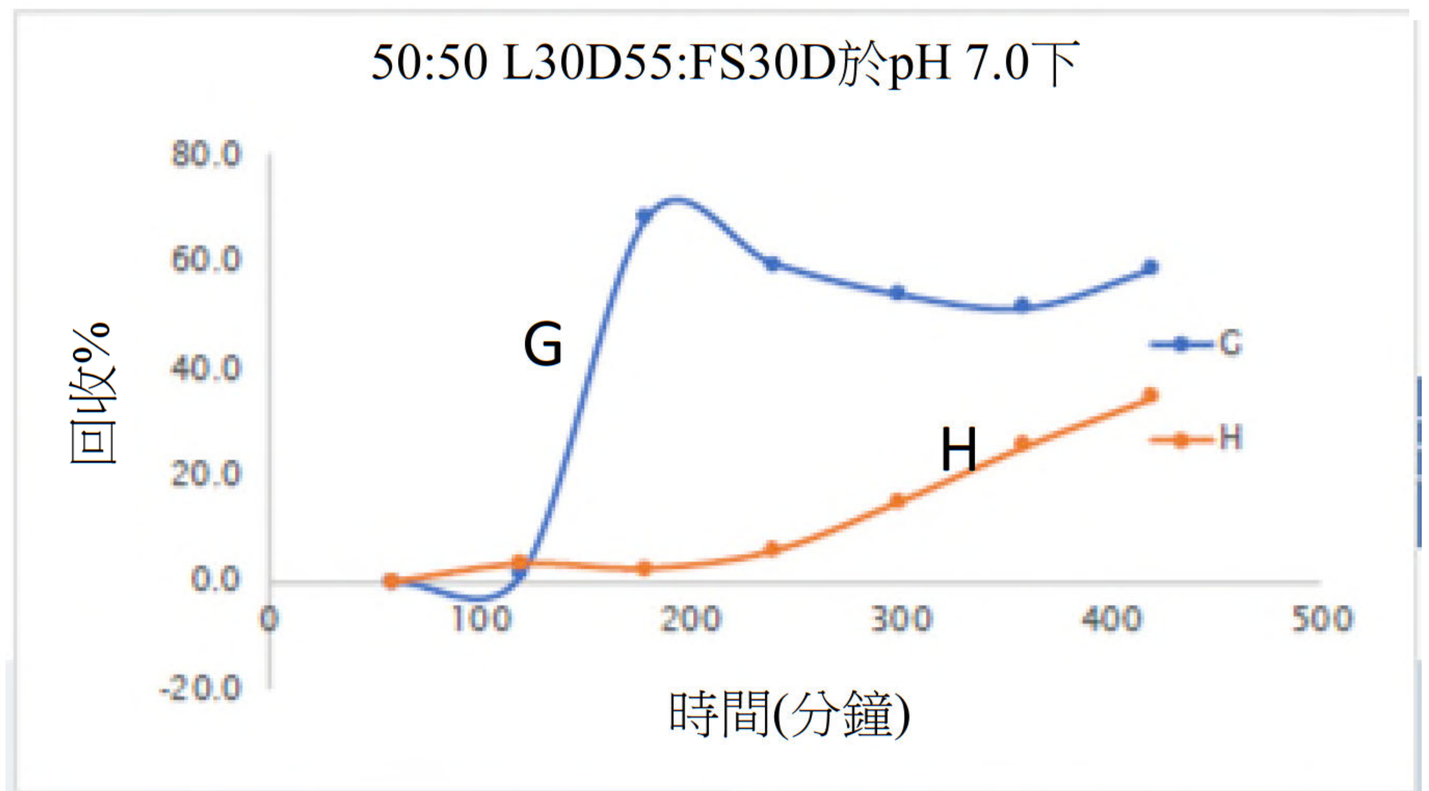
【圖8C】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
回收%
時間(分鐘)
A
B
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
0
100
200
300
400
500

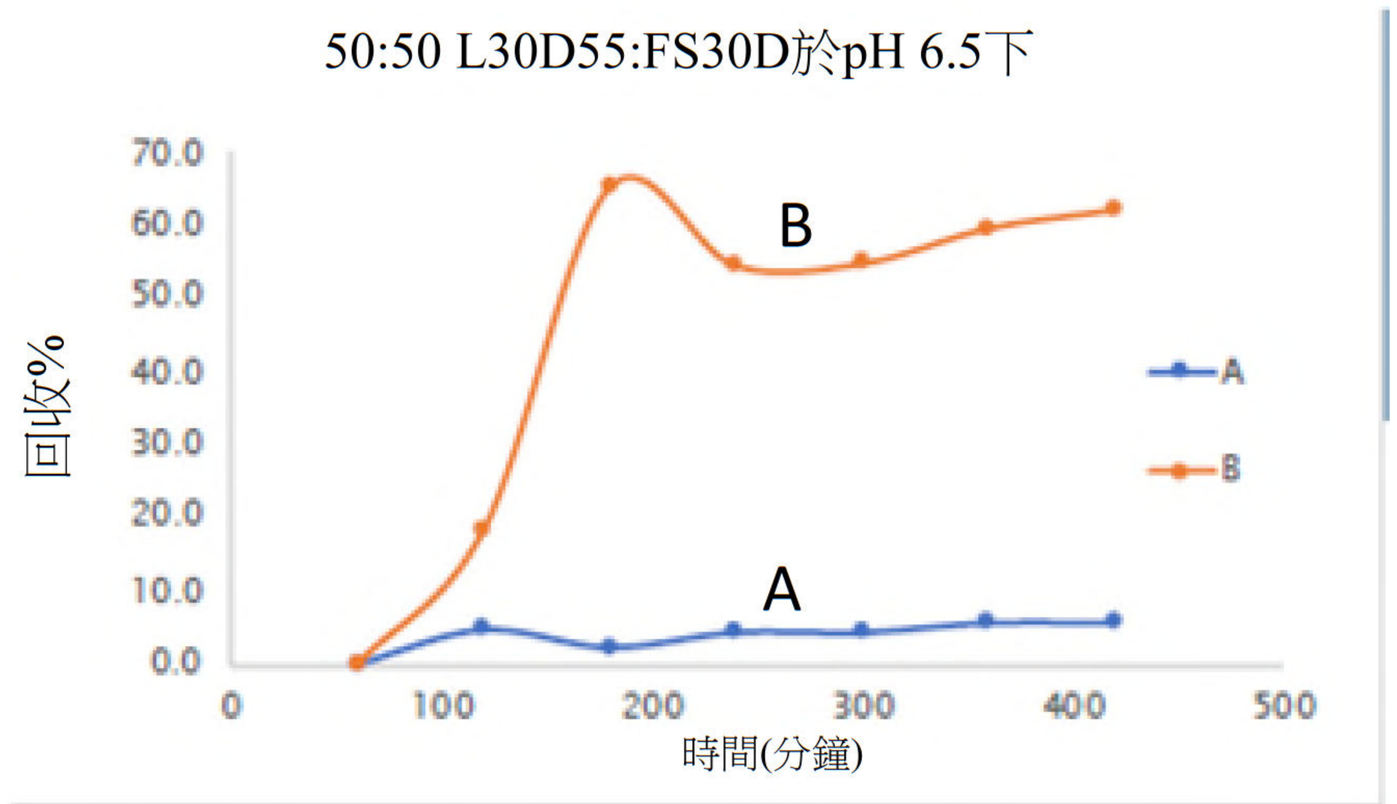
【圖9A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 7.0下
回收%
時間(分鐘)
C
D
E
F
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
-10.0
0
100
200
300
400
500

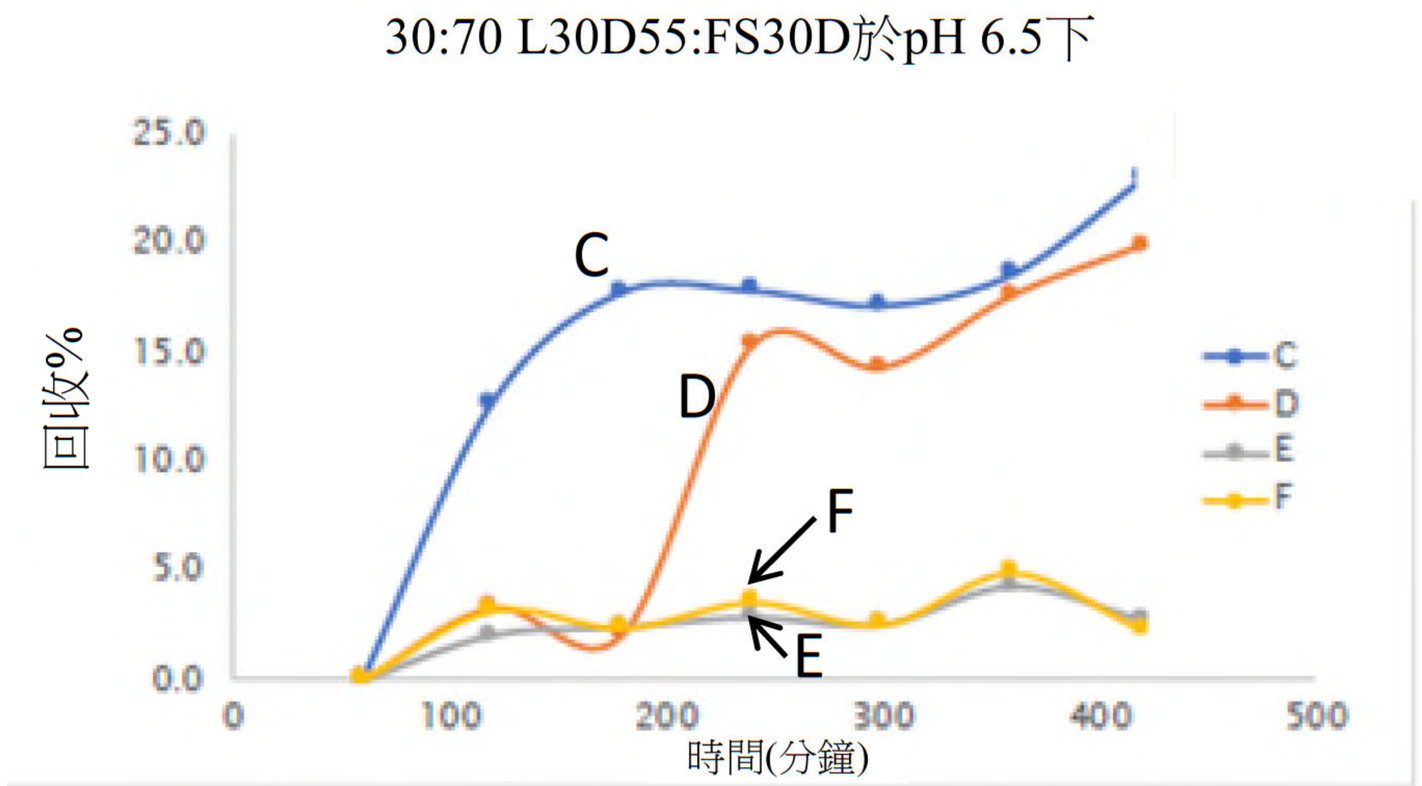
【圖9B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
回收%
時間(分鐘)
G
H
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500

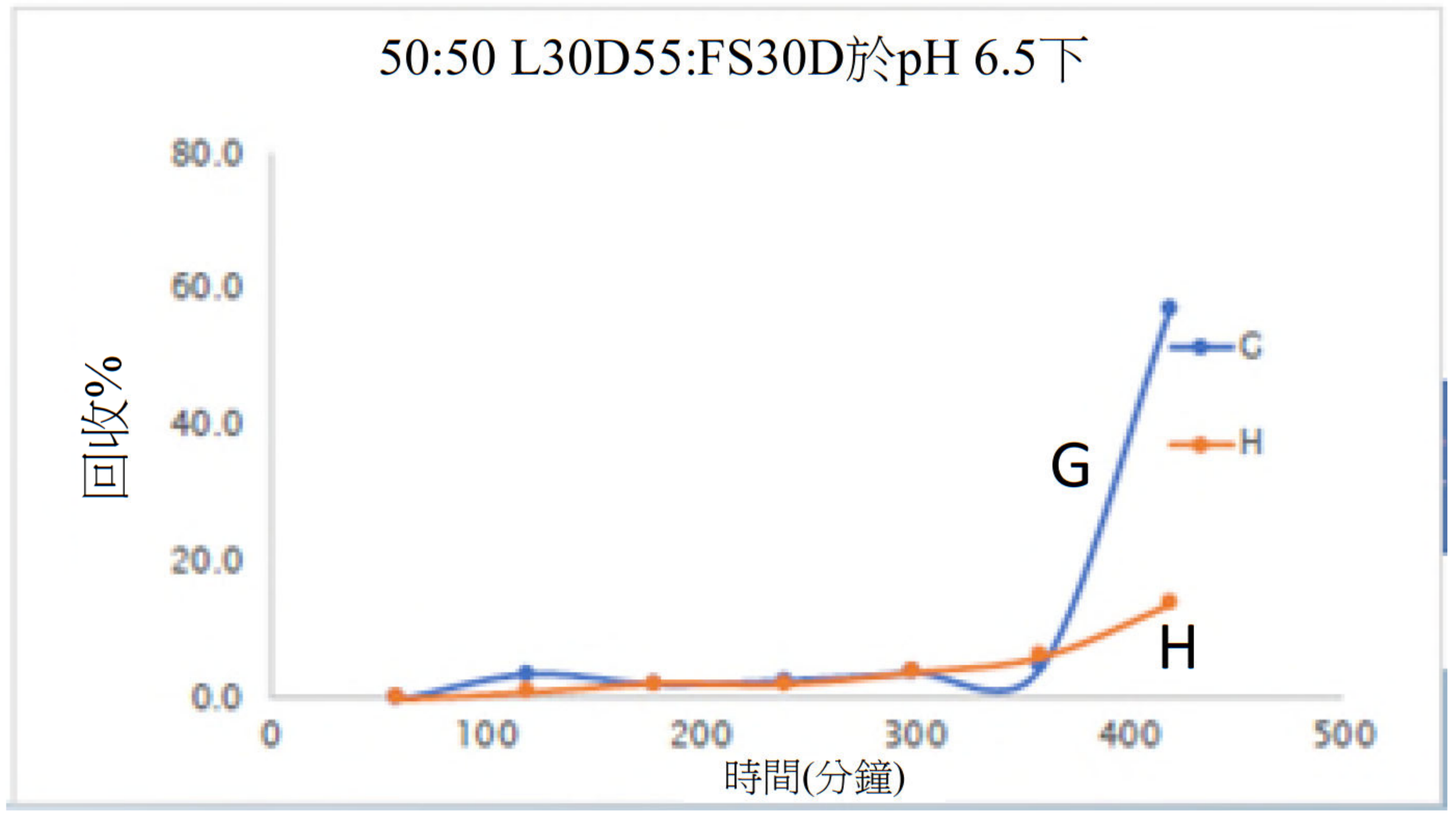
【圖9C】



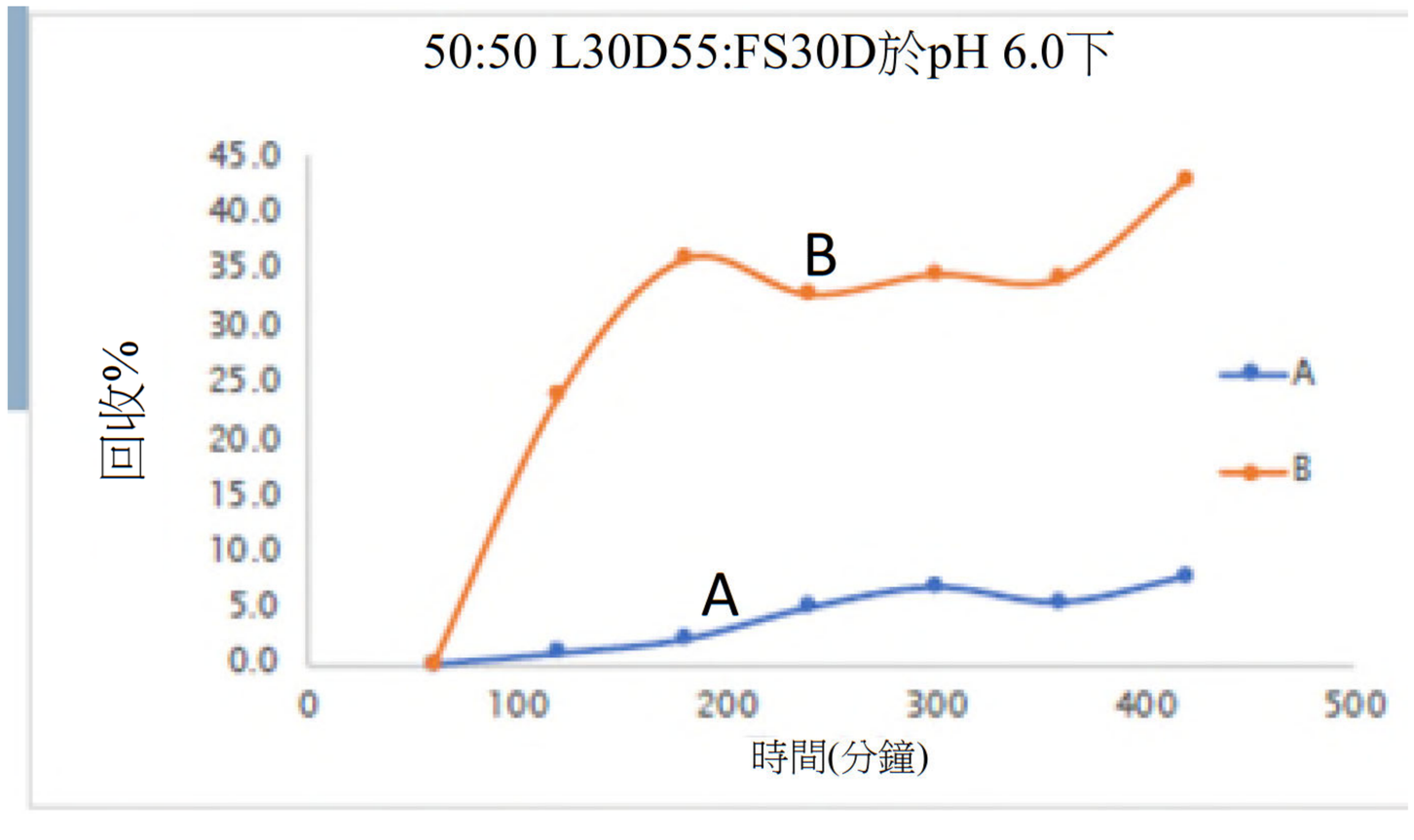
【圖10A】



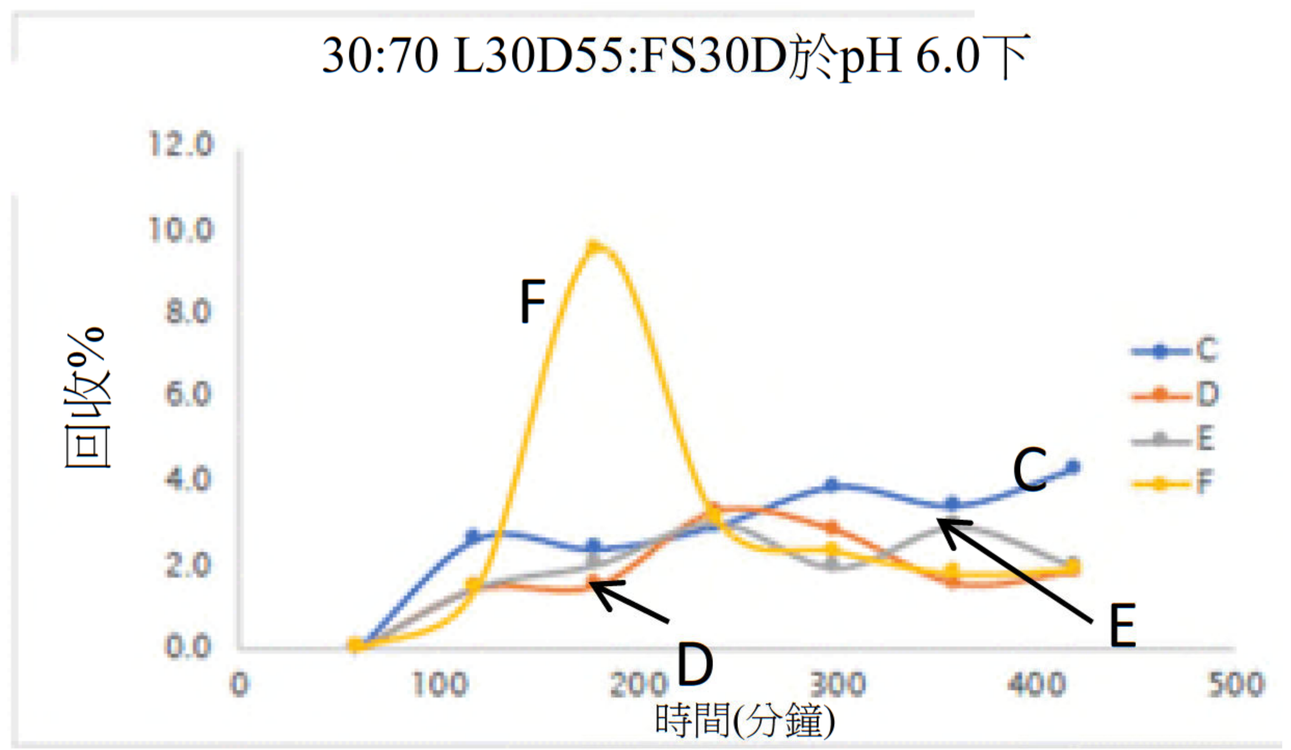
【圖10B】



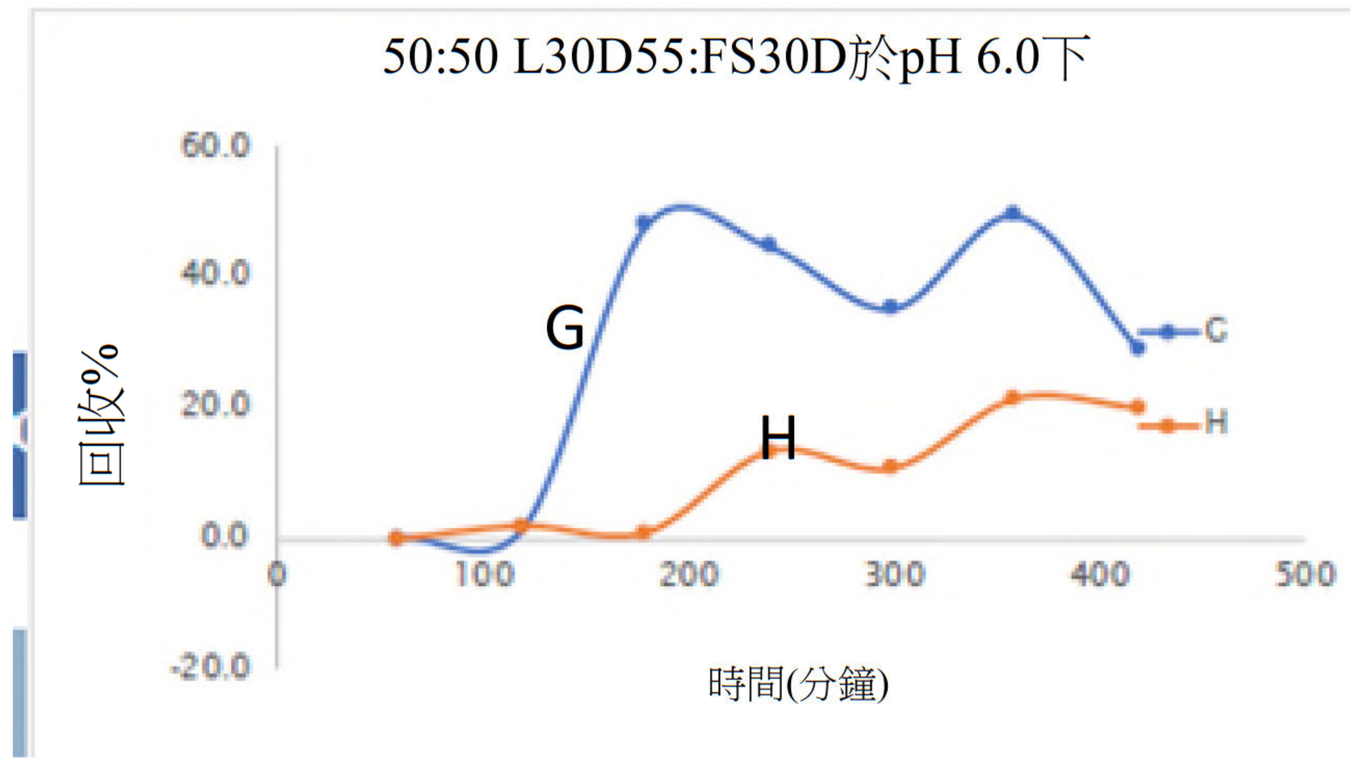
【圖10C】



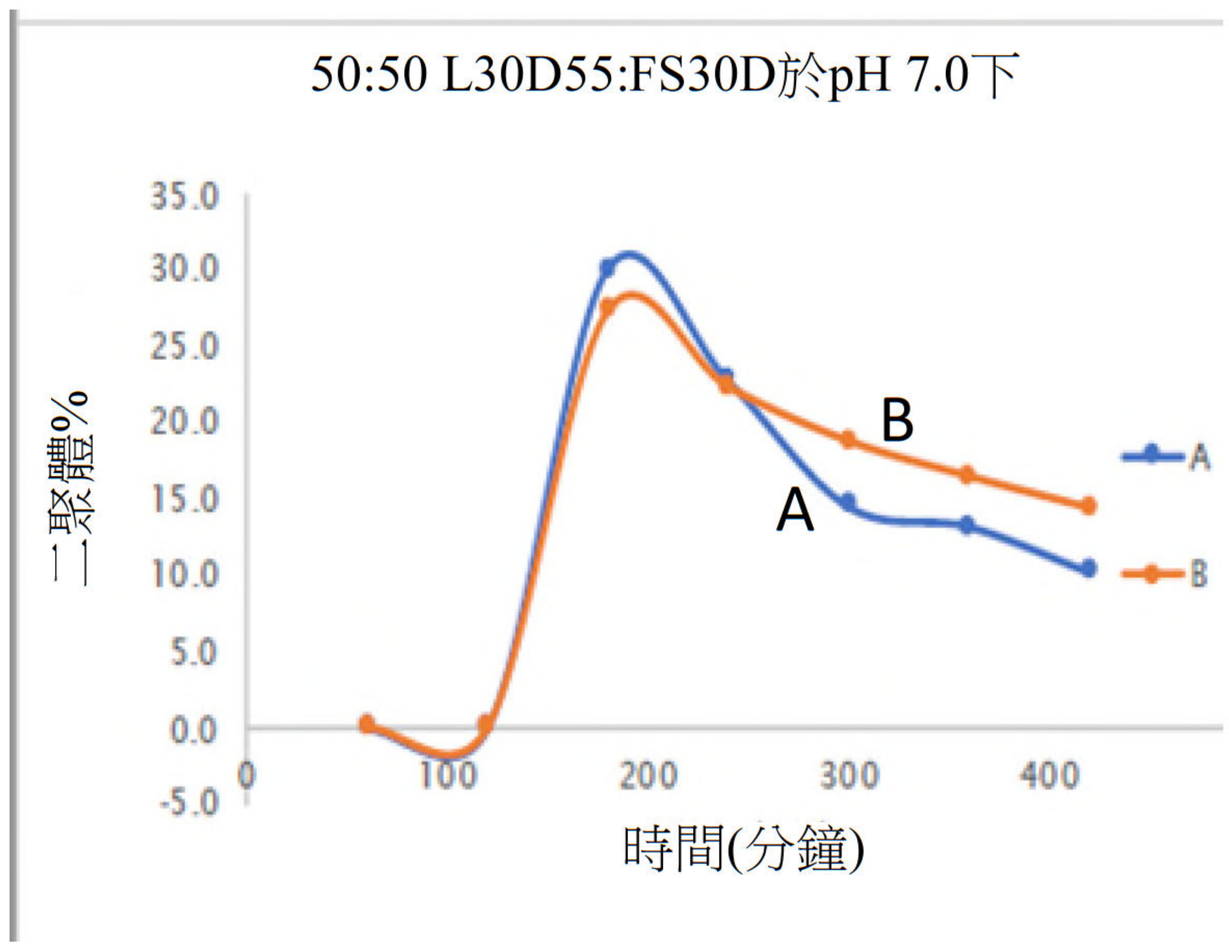
【圖11A】



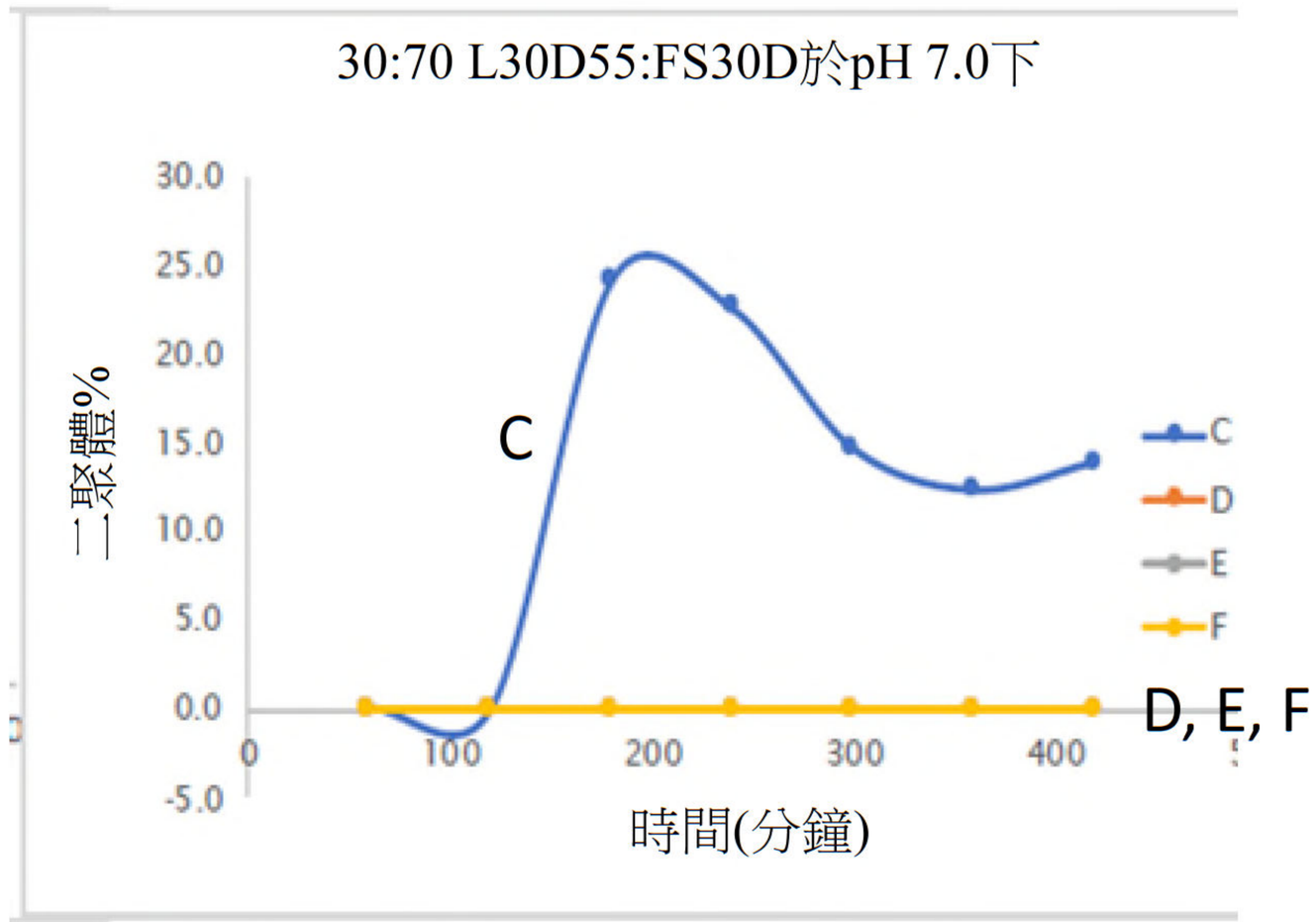
【圖11B】



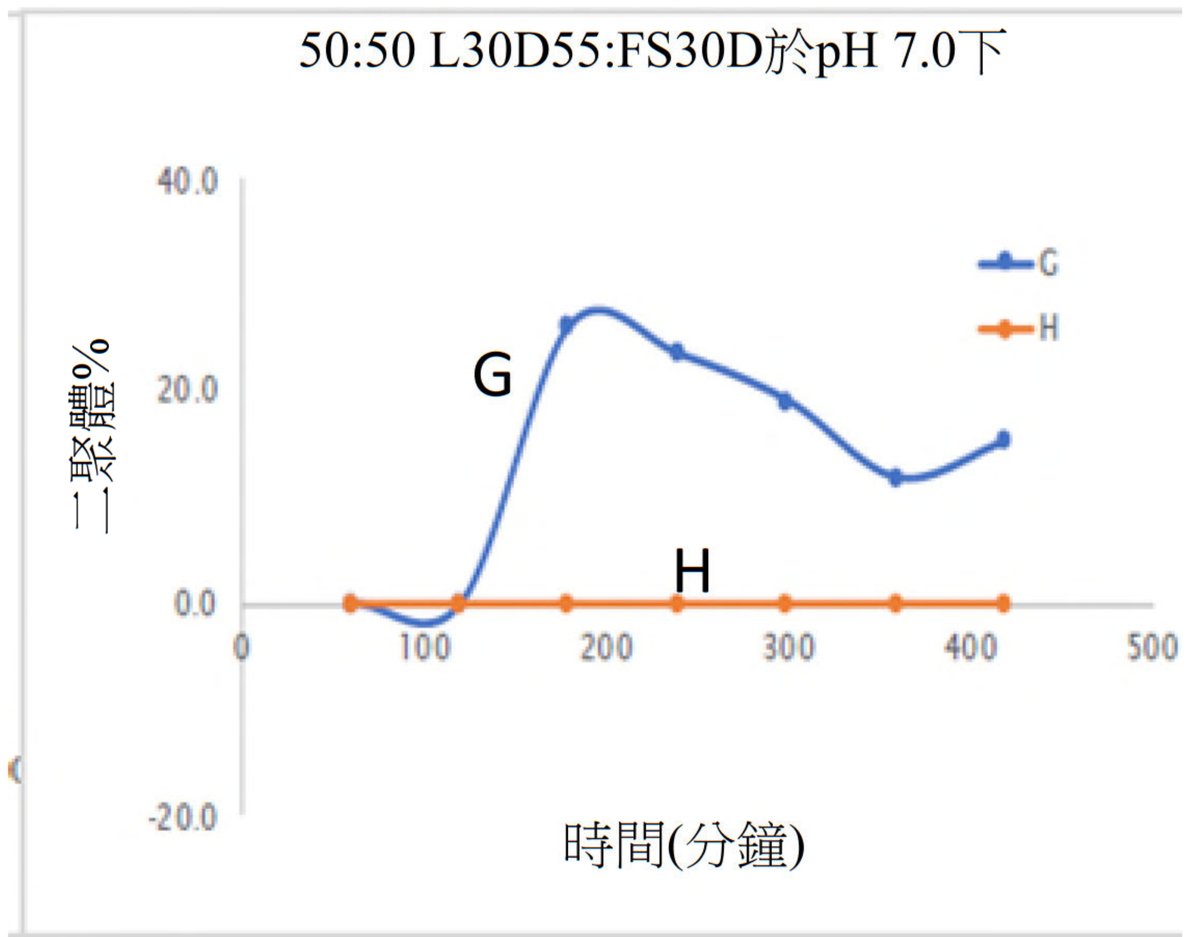
【圖11C】



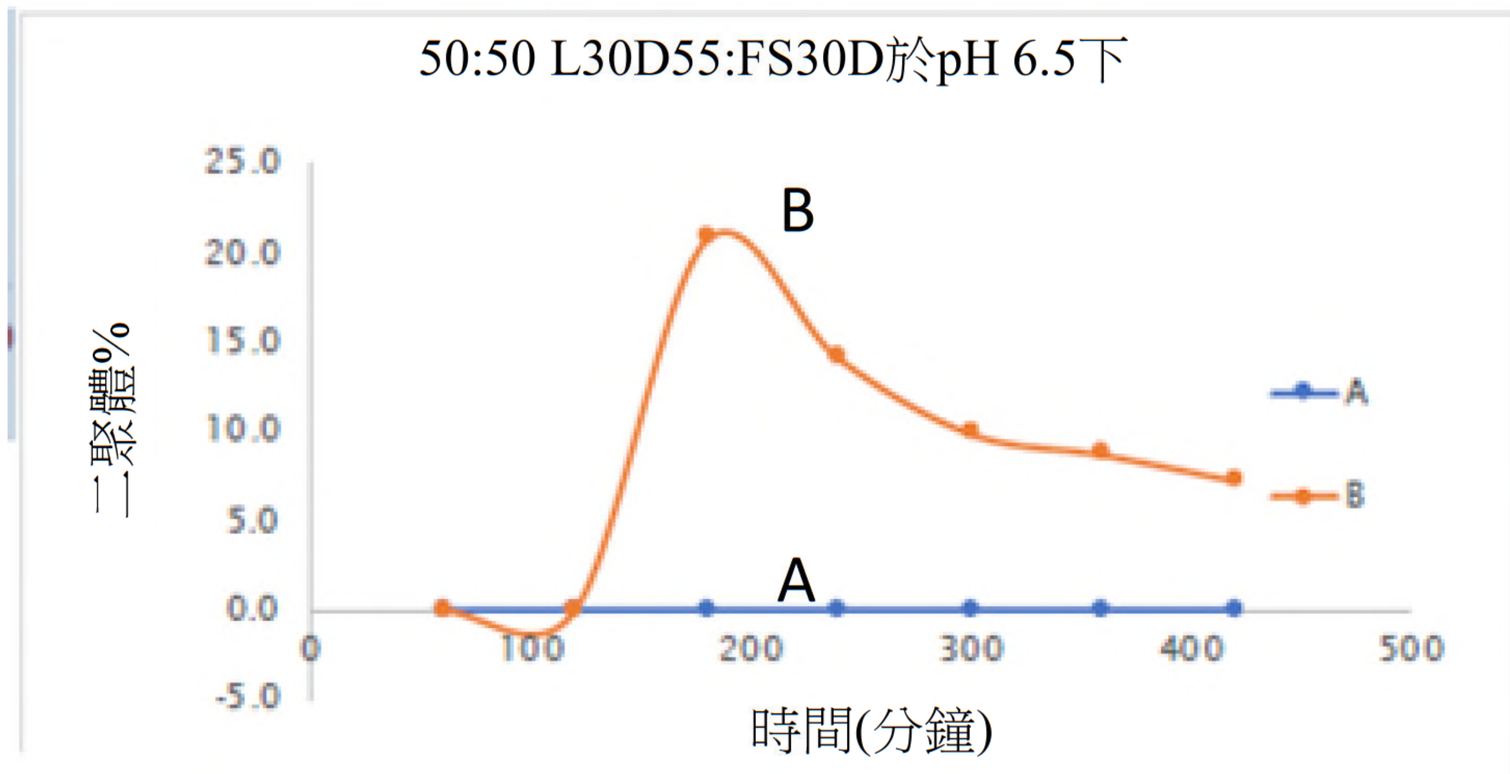
【圖12A】



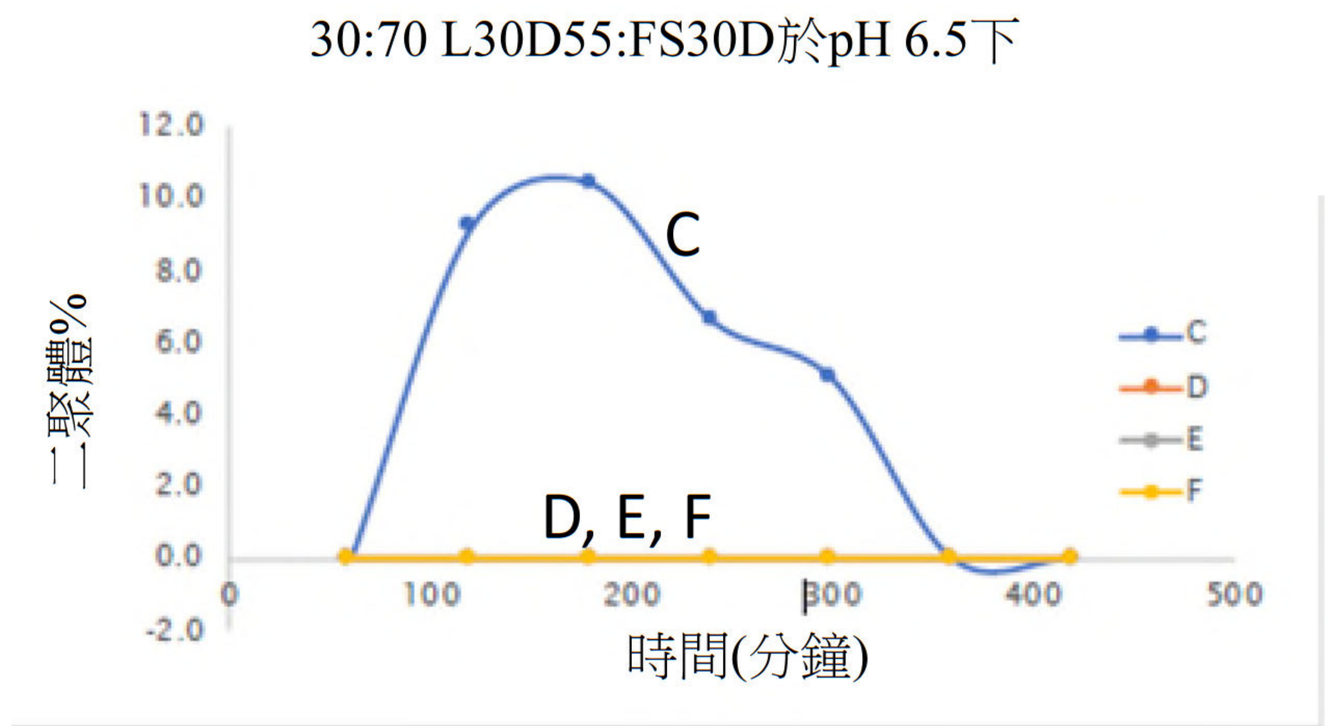
【圖12B】



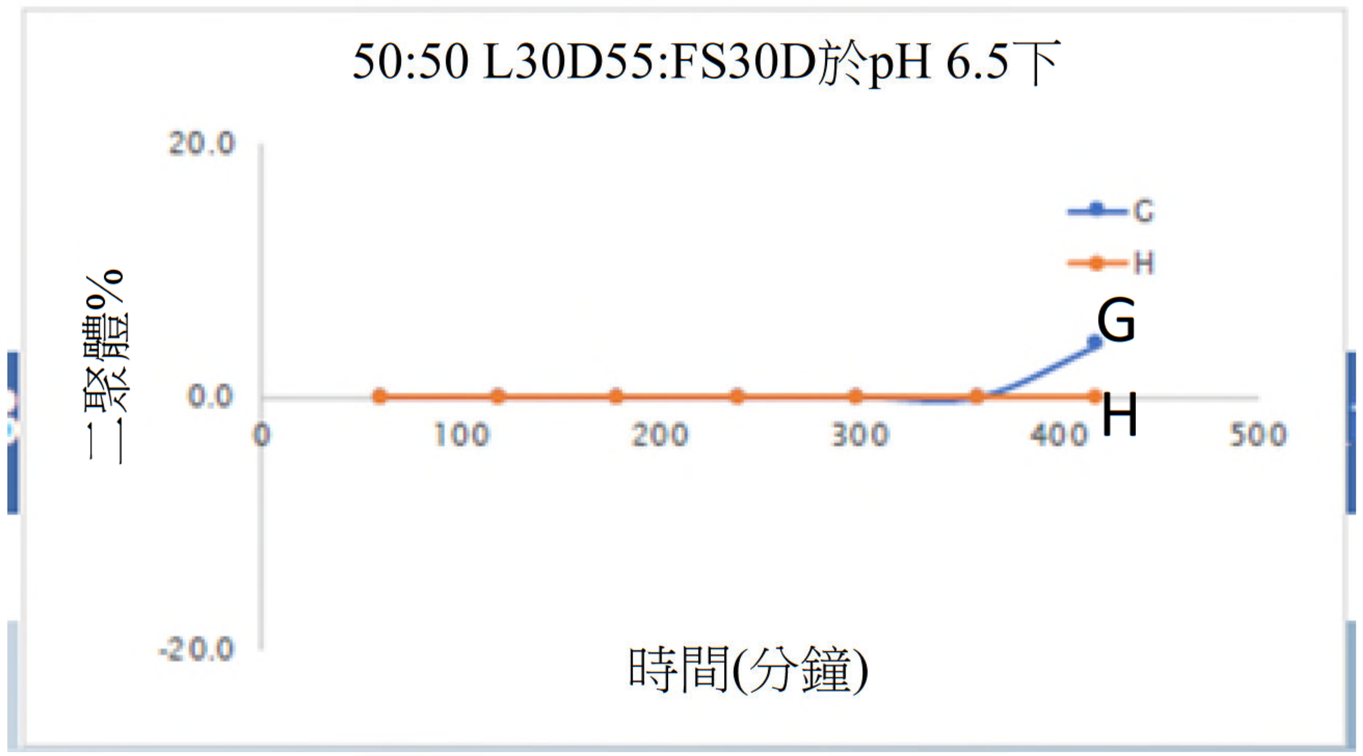
【圖12C】



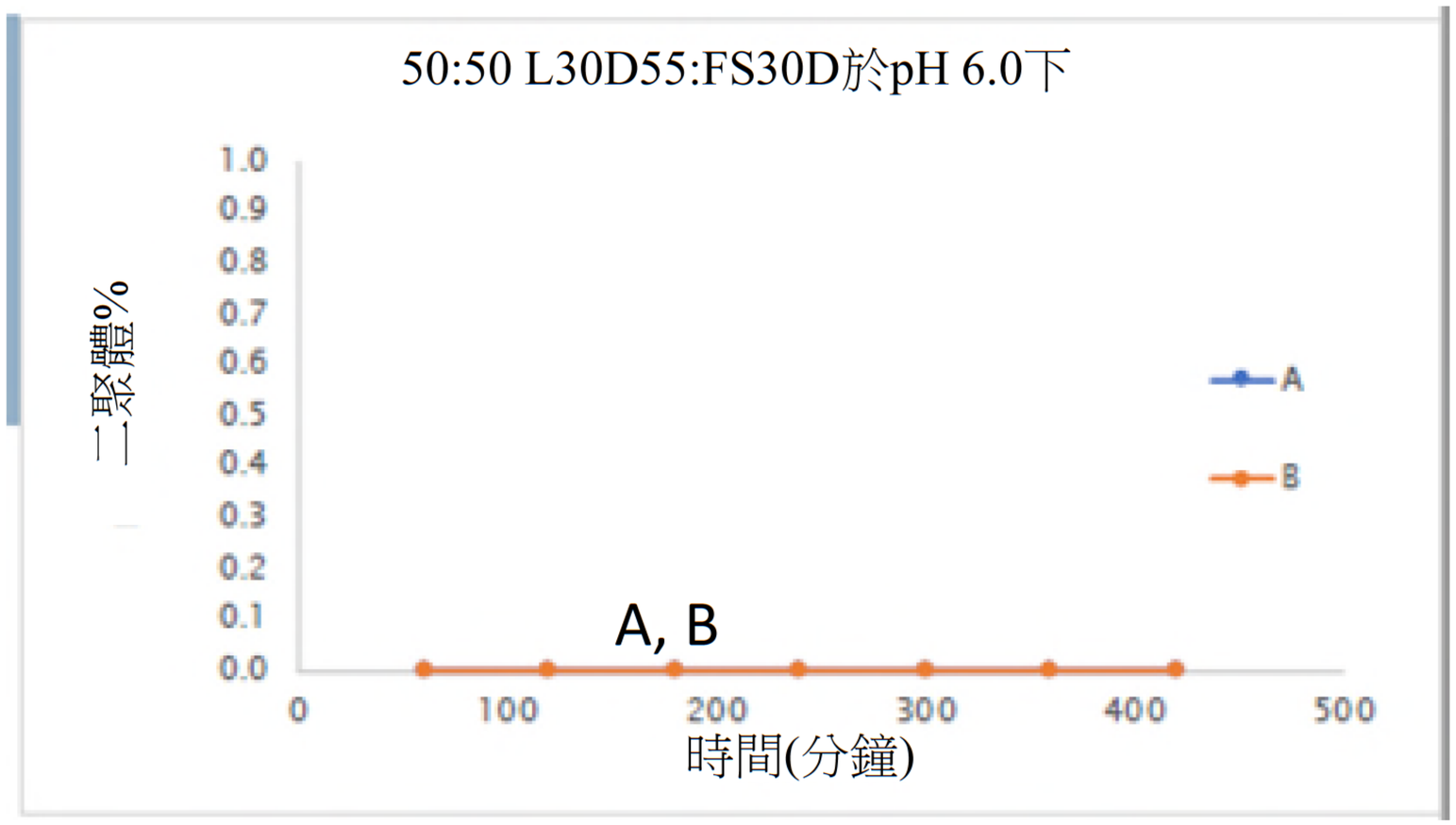
【圖13A】



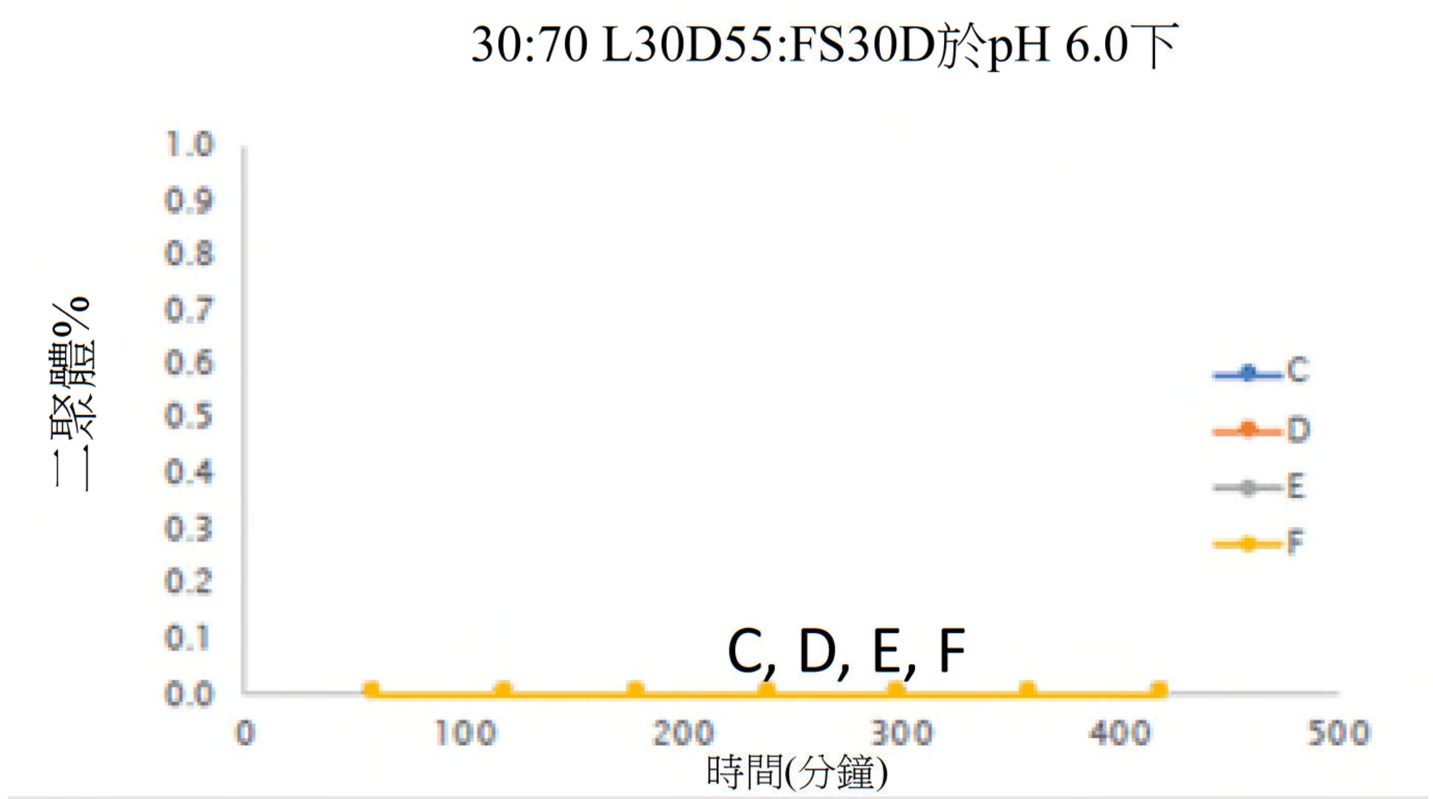
【圖13B】



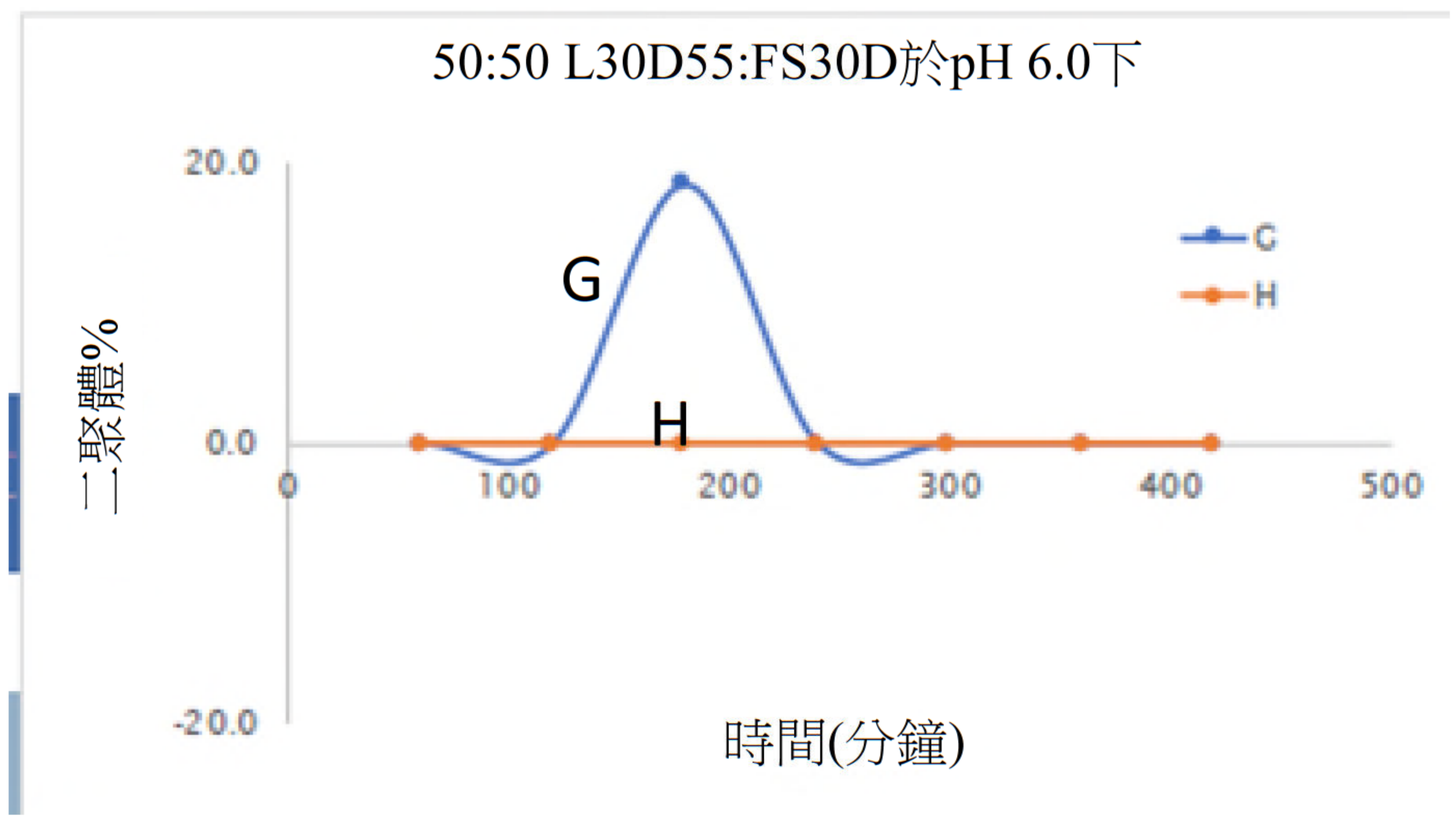
【圖13C】



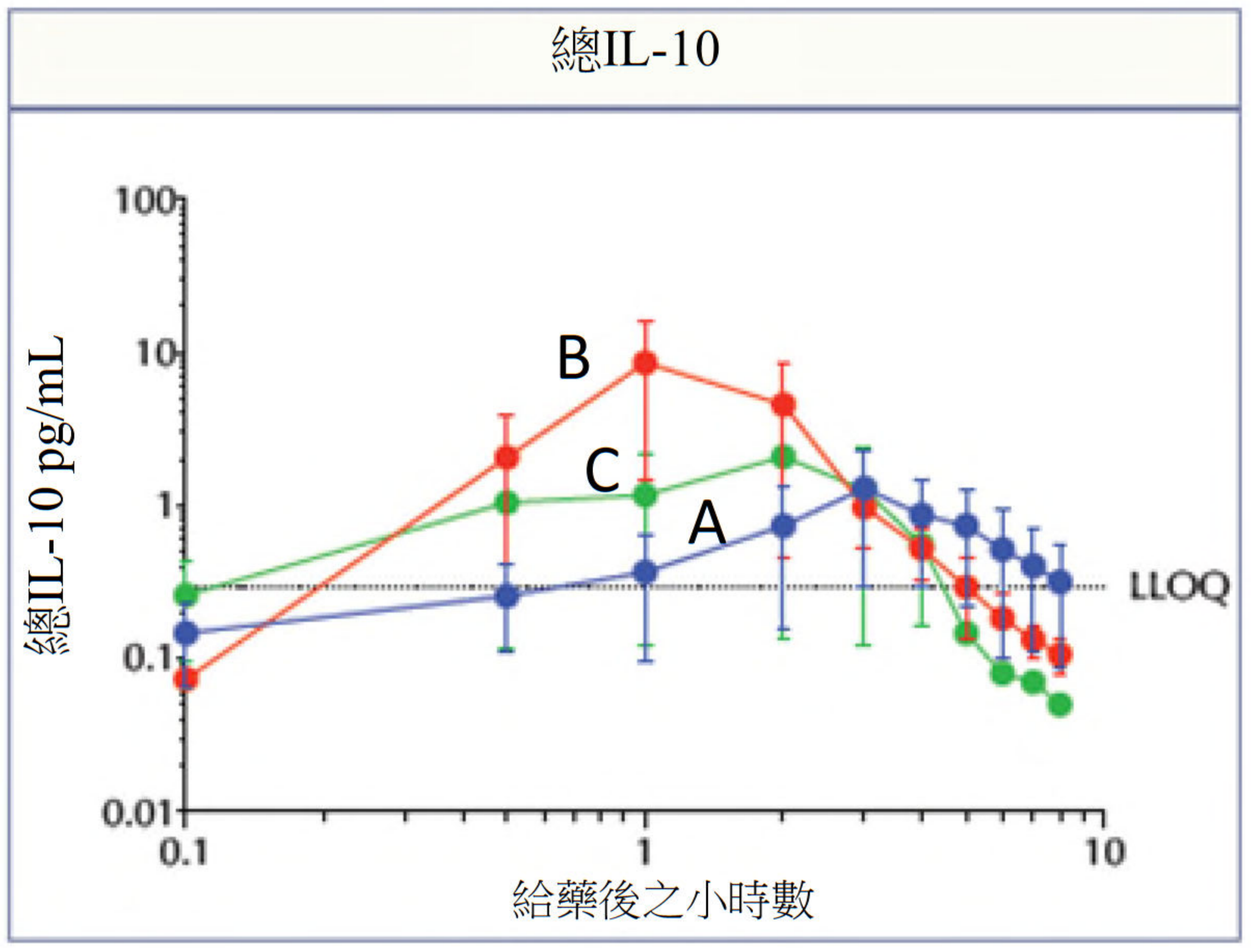
【圖14A】



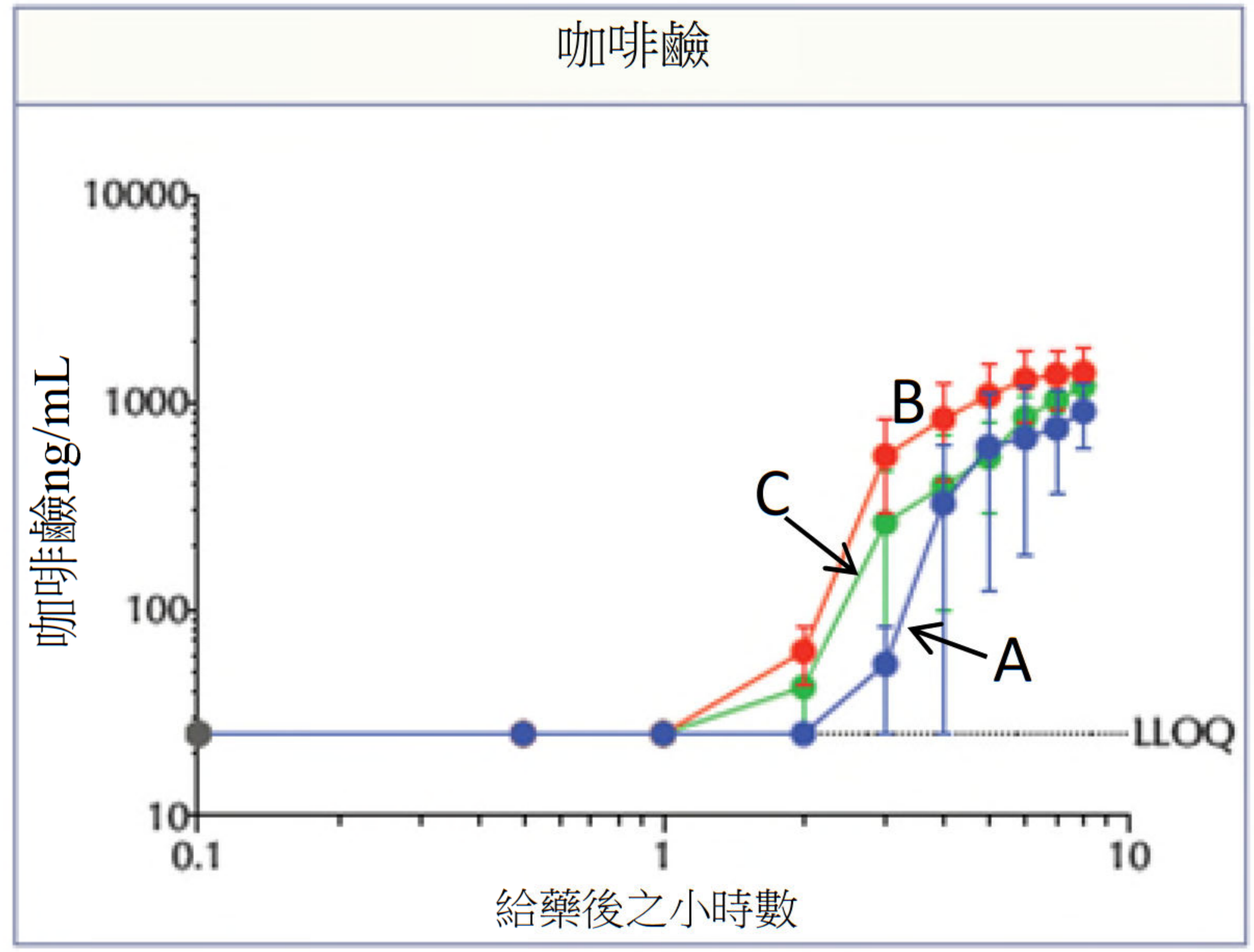
【圖14B】



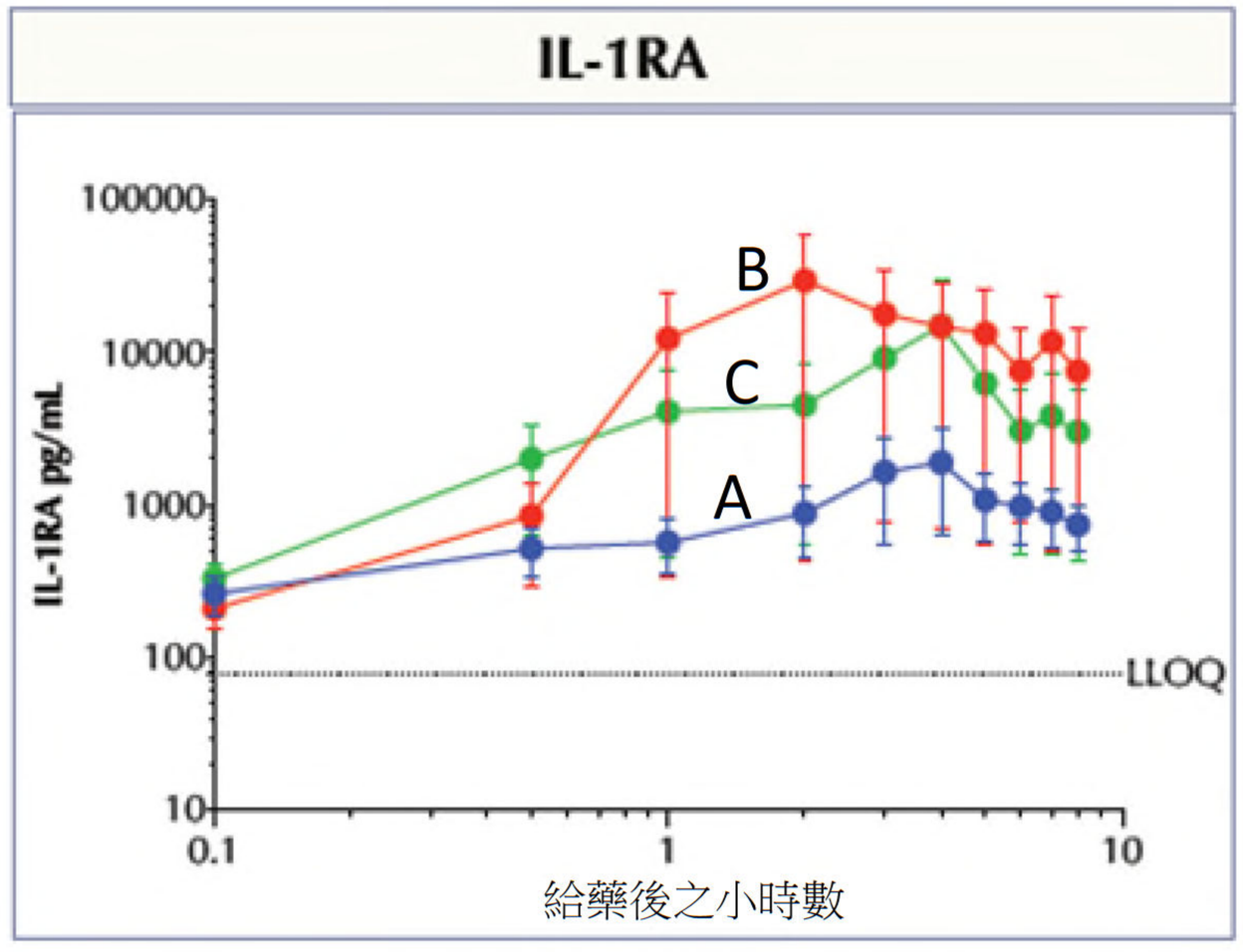
【圖14C】



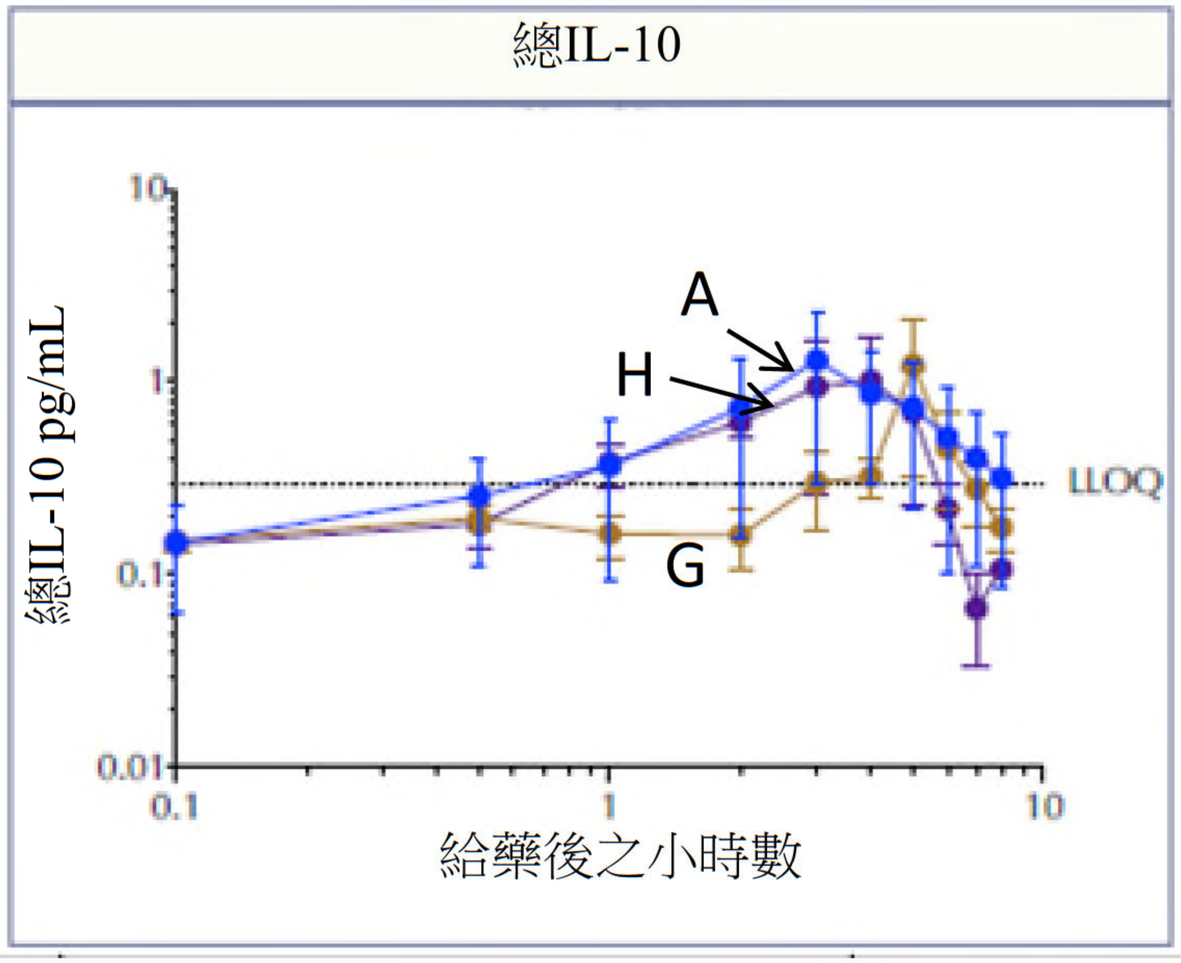
【圖15A】



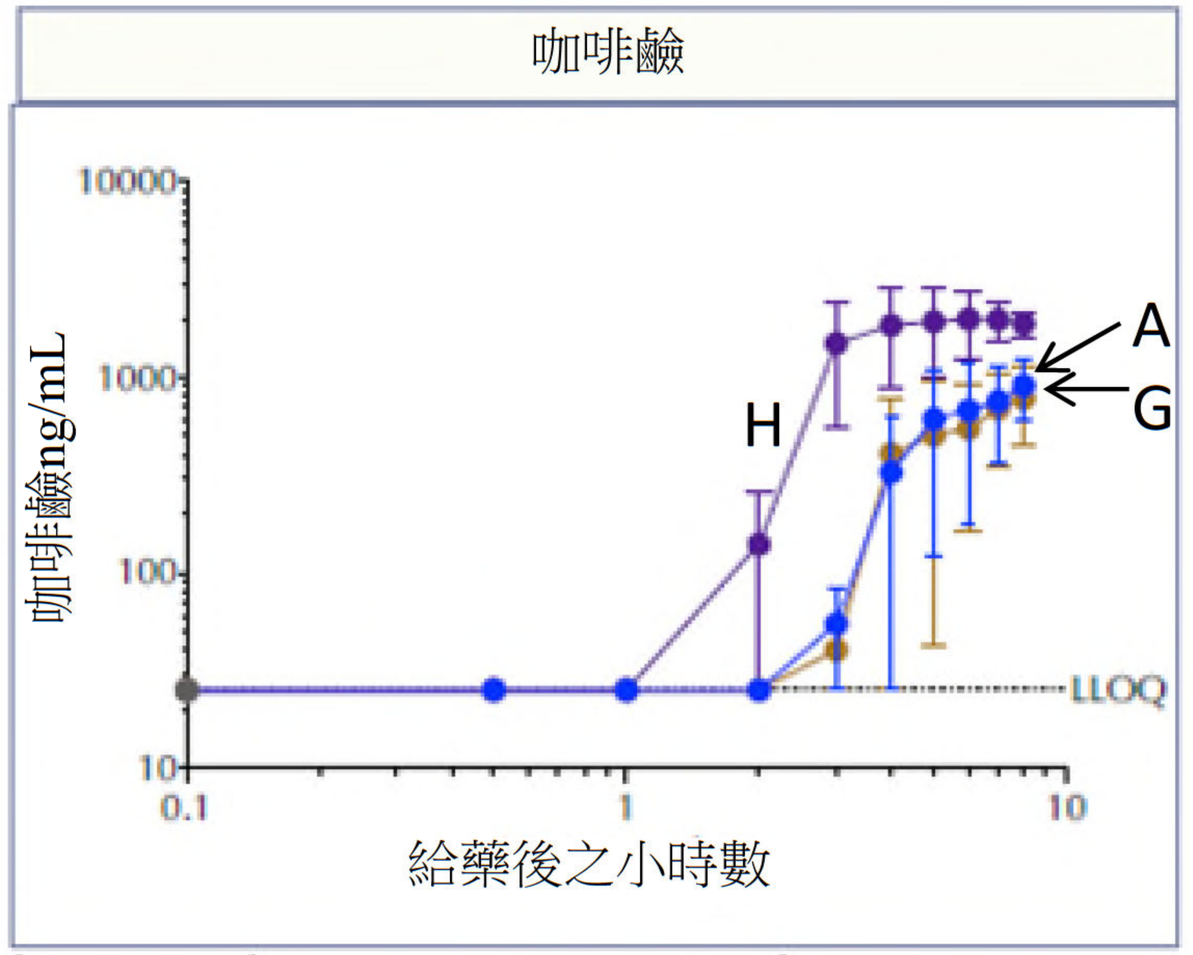
【圖15B】



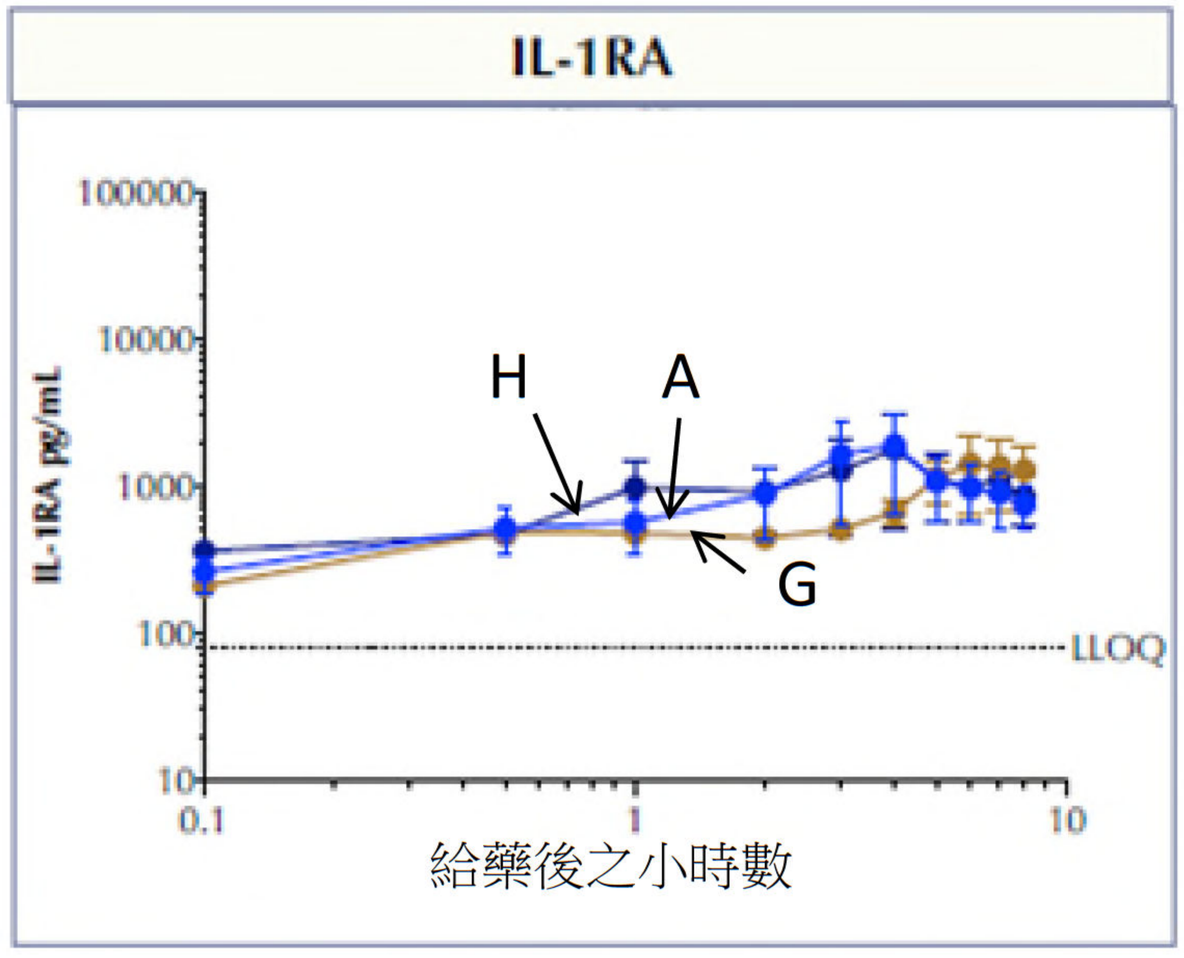
【圖15C】



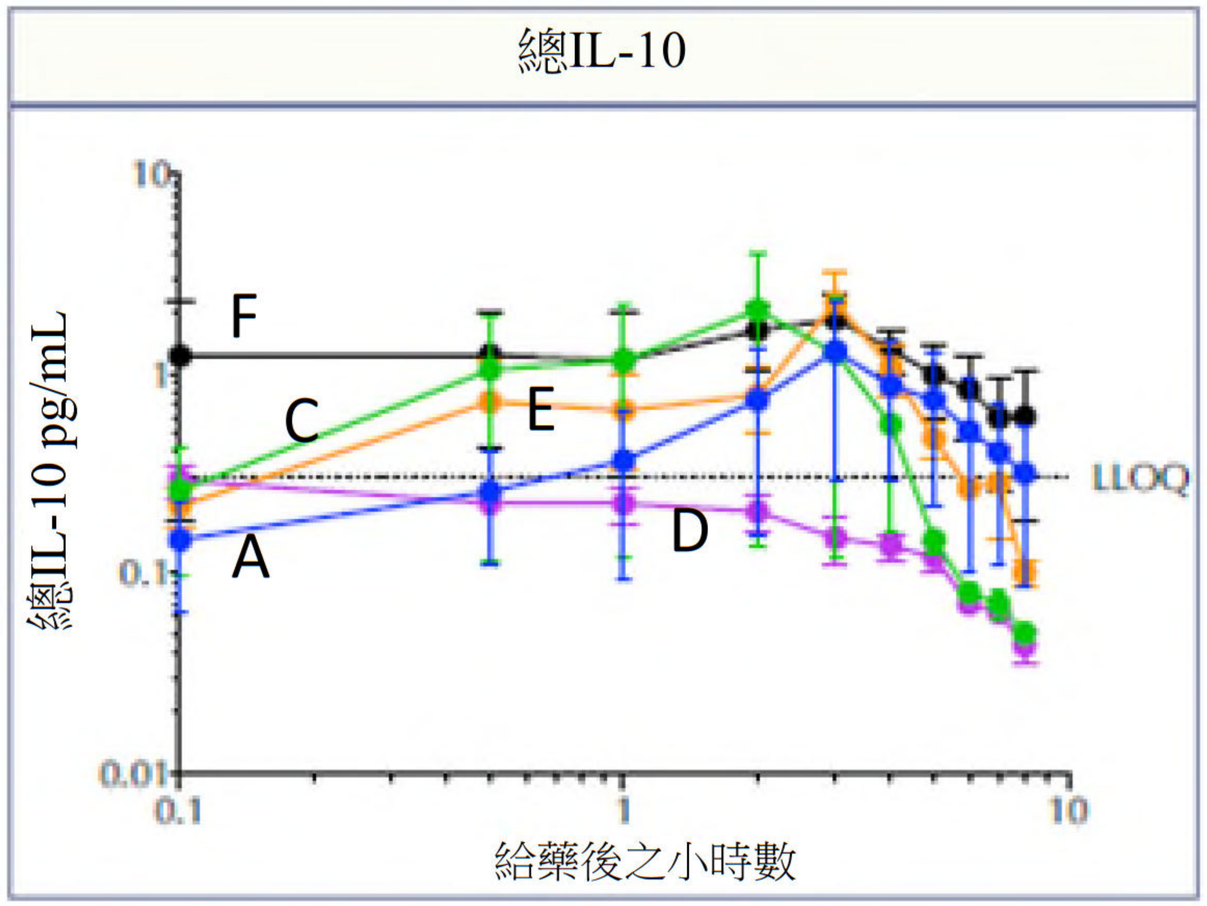
【圖16A】



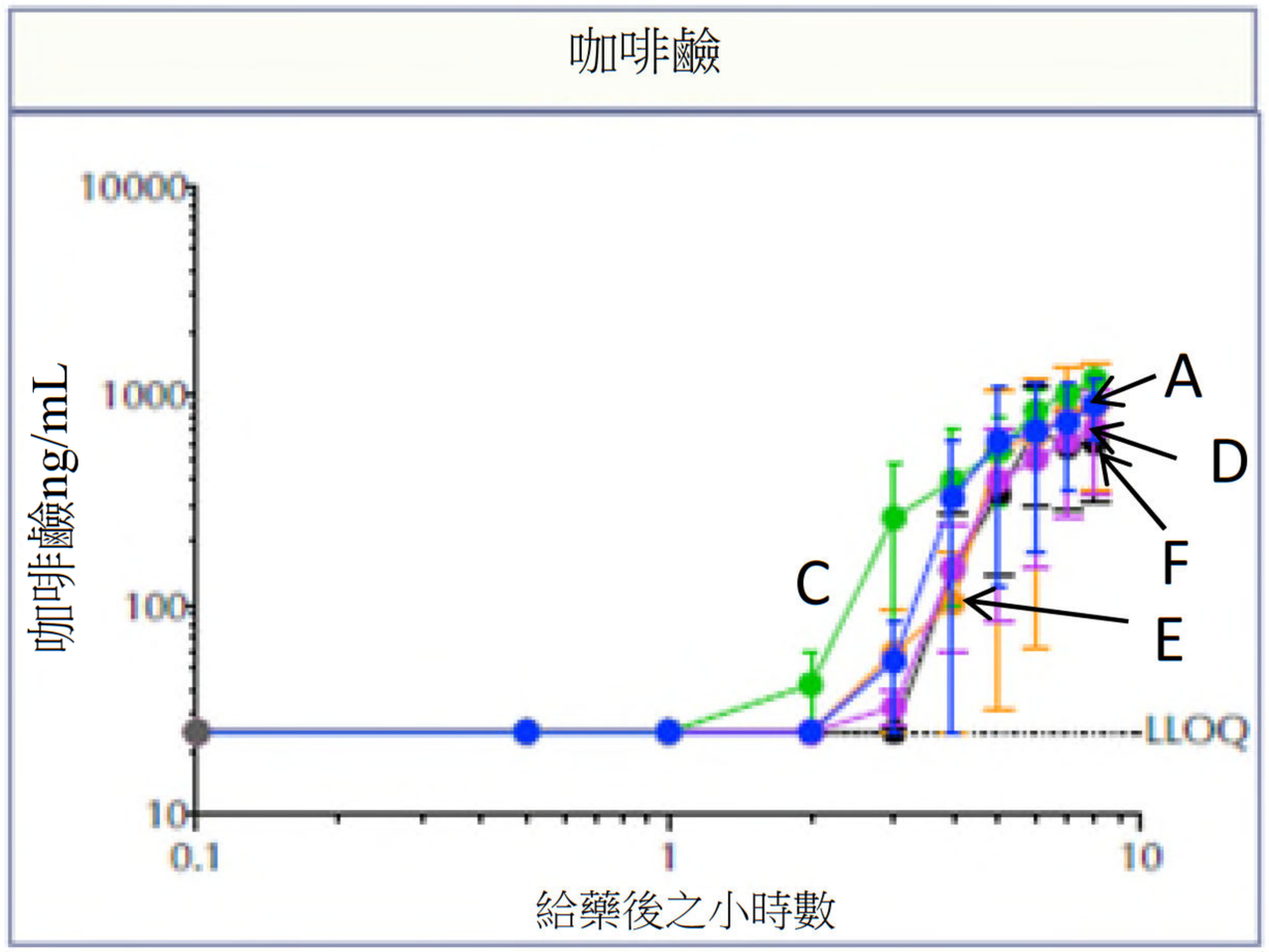
【圖16B】



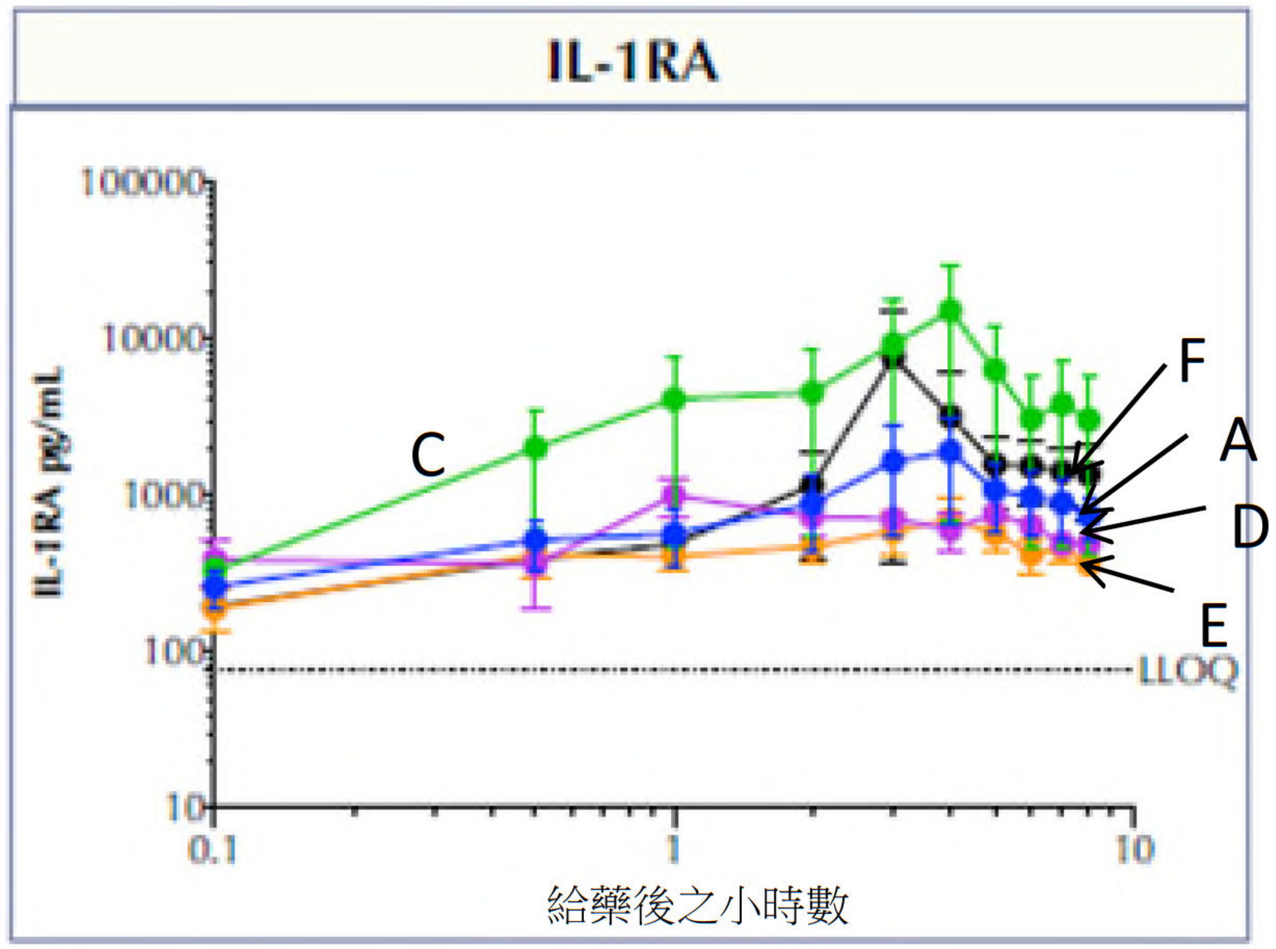
【圖16C】



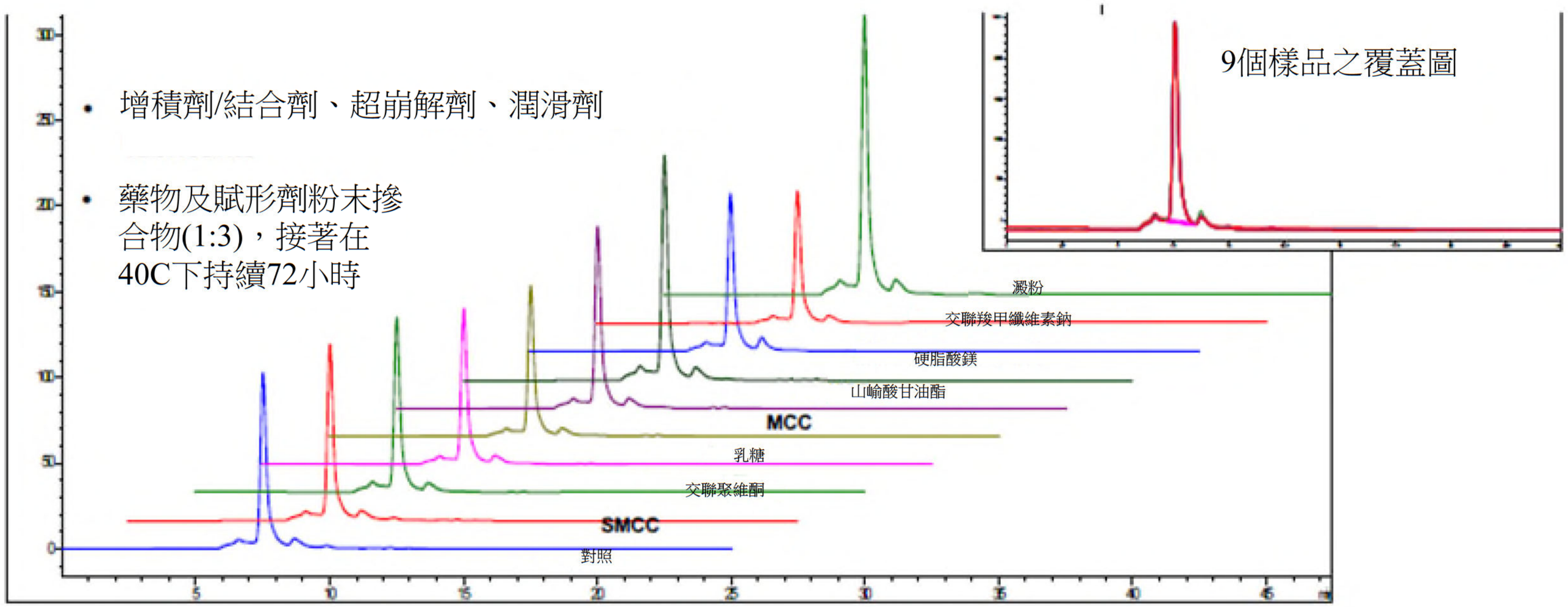
【圖17A】



【圖17B】

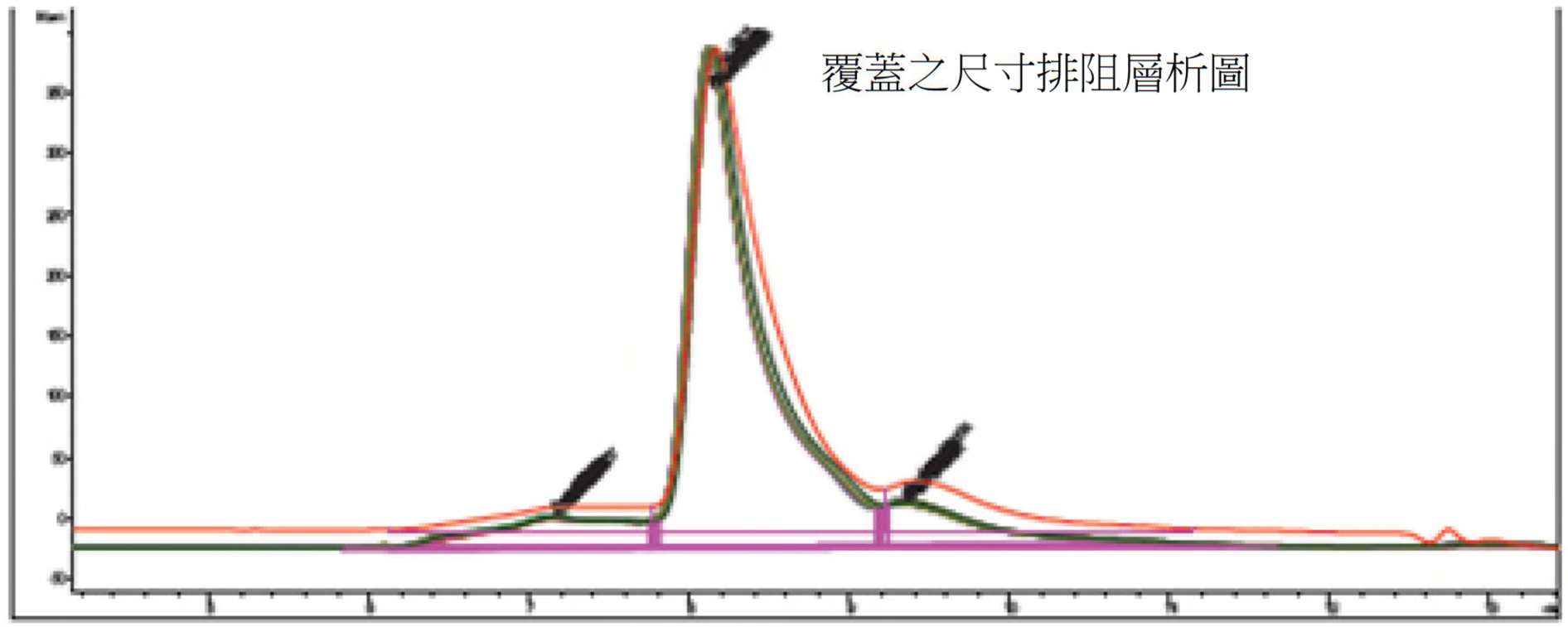


【圖17C】



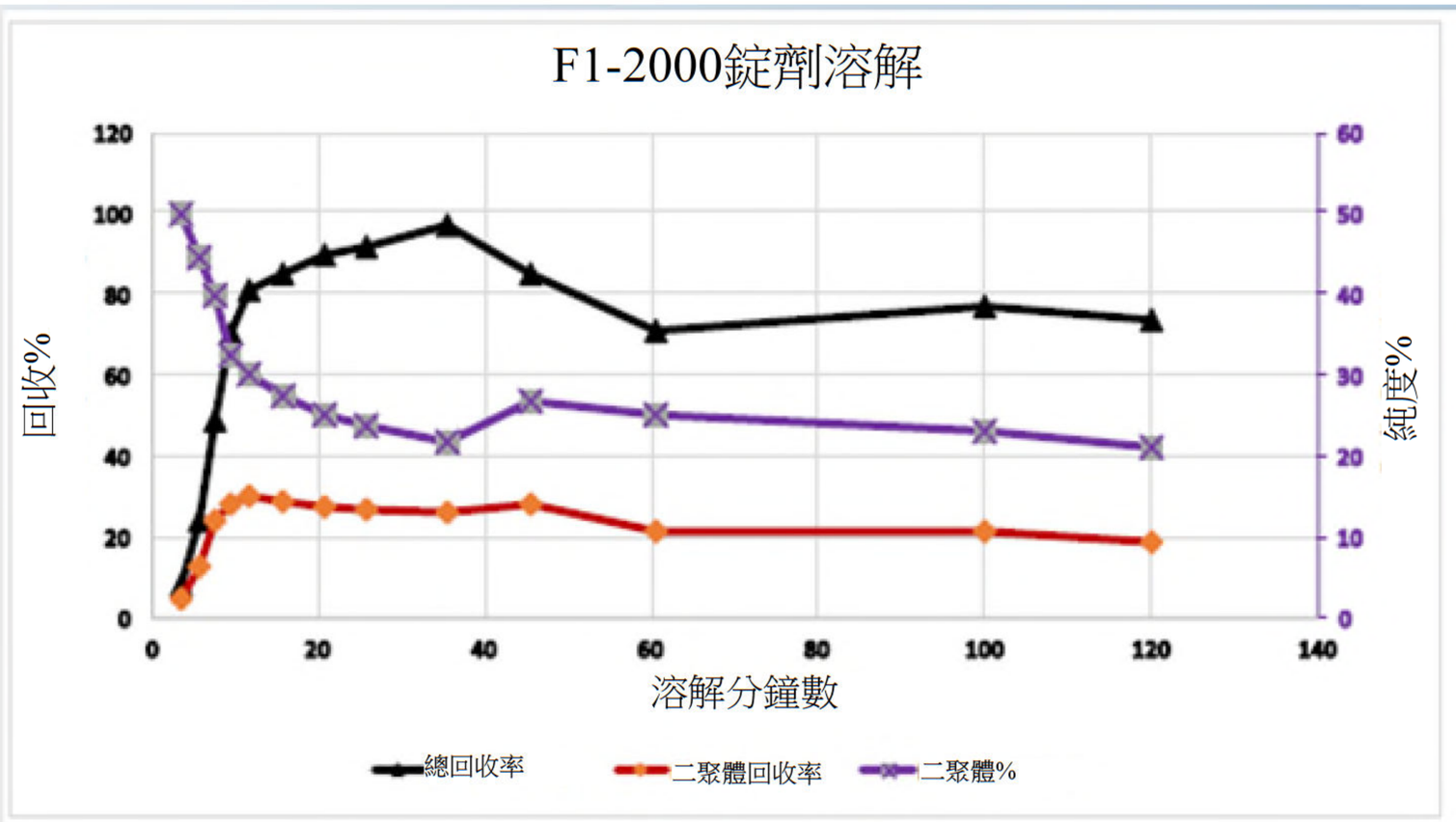
• 增積劑/結合劑、超崩解劑、潤滑劑
• 藥物及賦形劑粉末摻合物(1:3)，接著在40C下持續72小時
9個樣品之覆蓋圖
澱粉
交聯羧甲纖維素鈉
硬脂酸鎂
山崳酸甘油酯
MCC
乳糖
交聯聚維酮
SMCC
對照

【圖18】

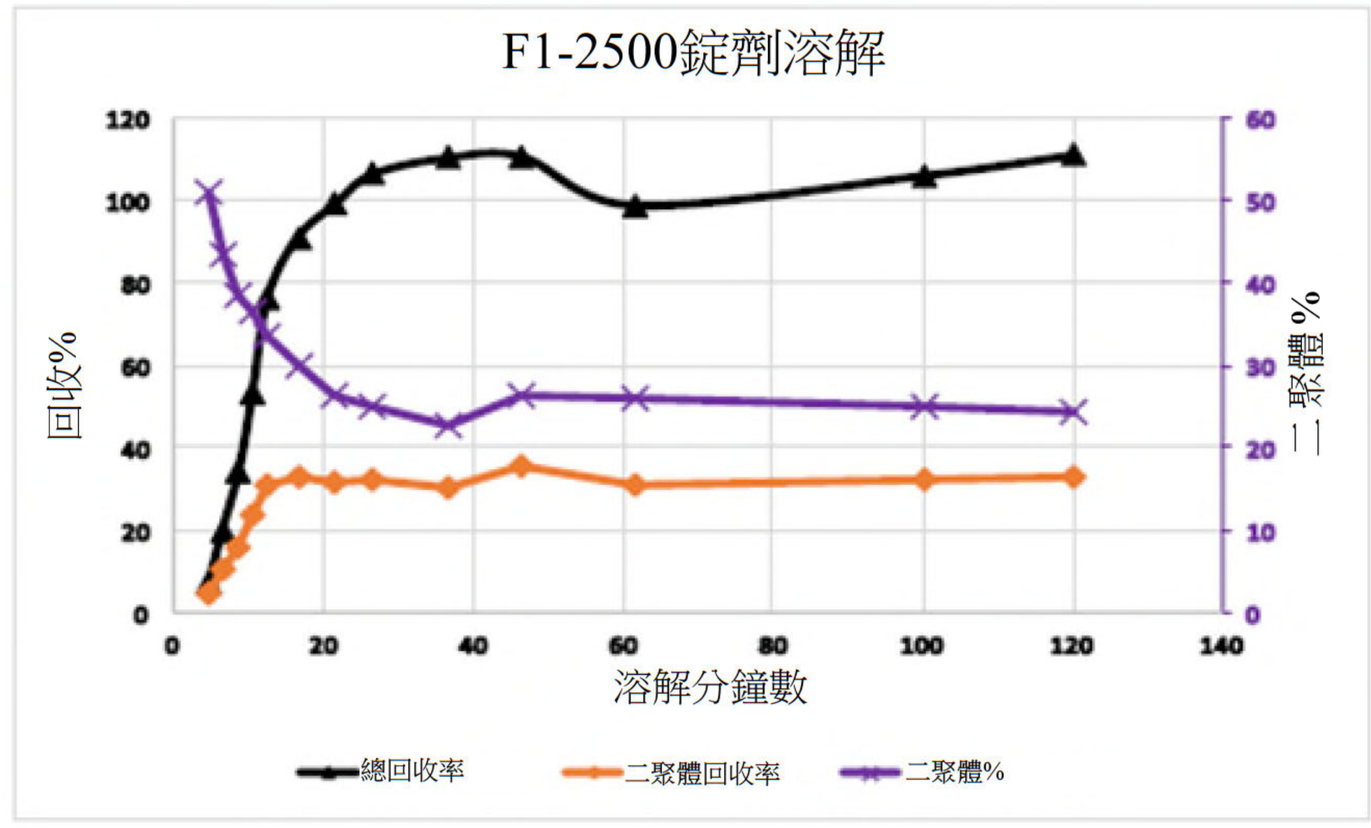


固體劑量壓縮	對照	預摻合	條帶低密度	條帶高密度	顆粒低密度	顆粒高密度	Cleo錠劑
F1配方	79.5	81.3	79.2	79.5	79.6	78.5	73.9
F2配方	79.5	78.9	78.4	79.2	79.5	78.5	69.4

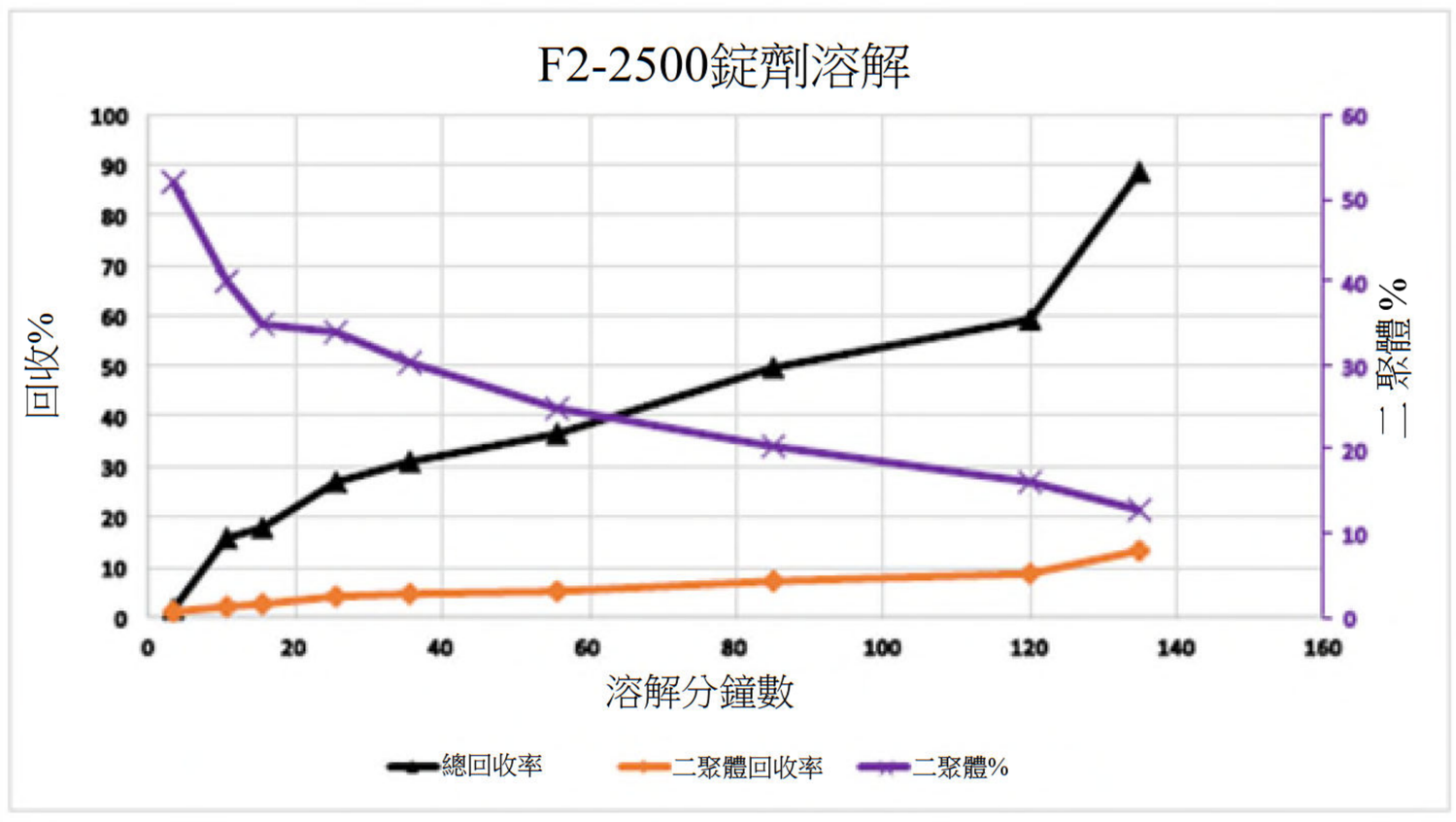
【圖19】



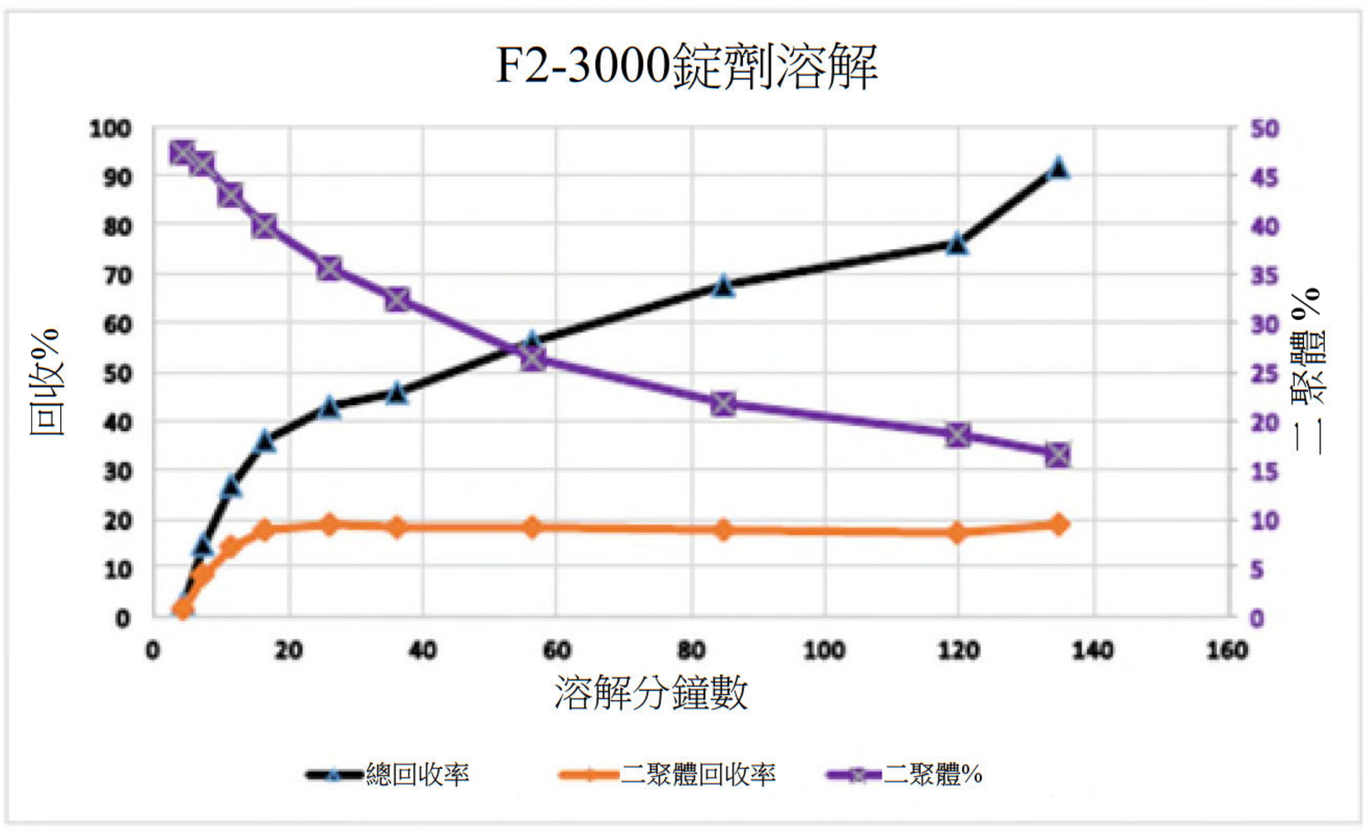
【圖20A】



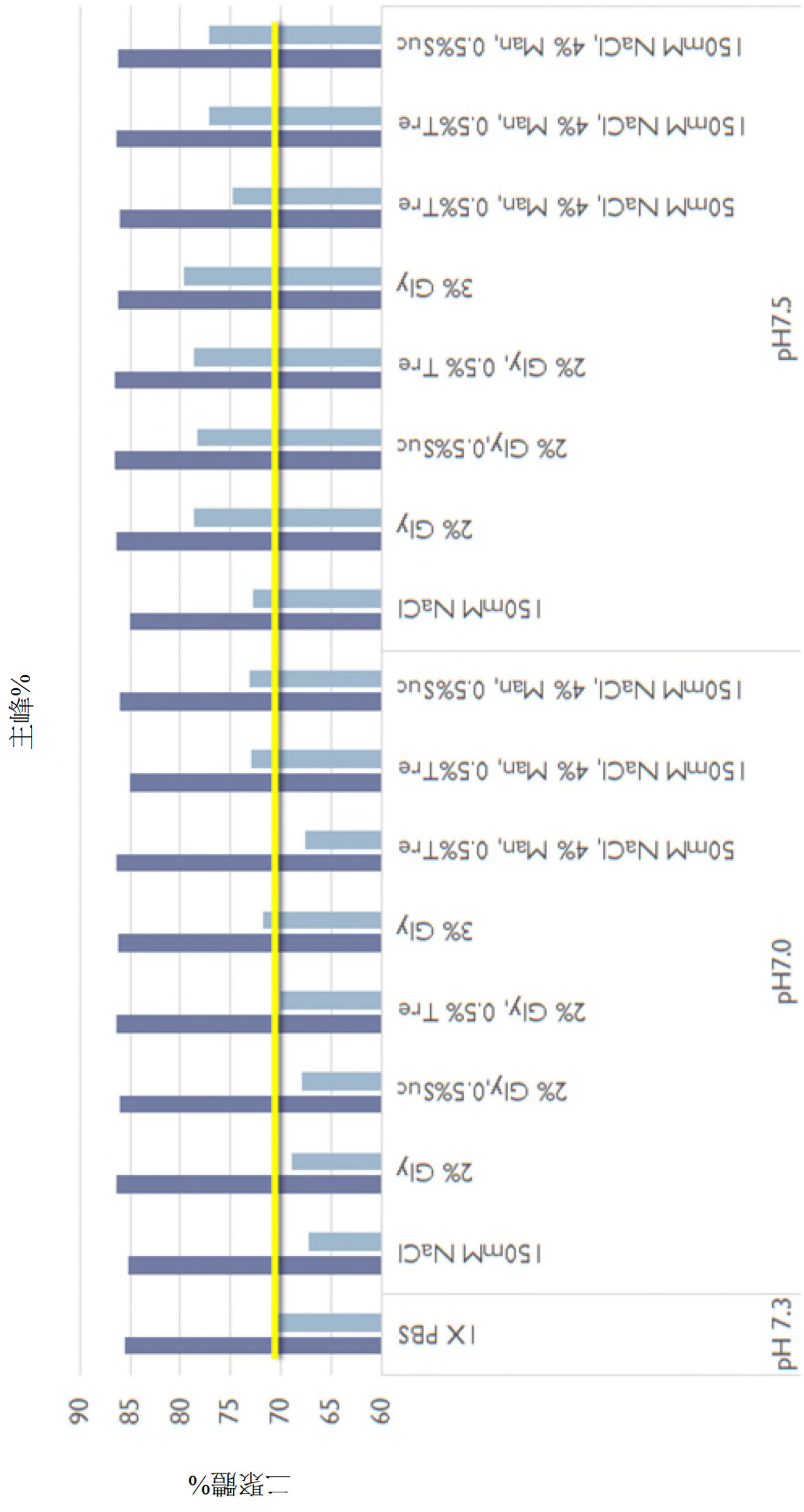
【圖20B】



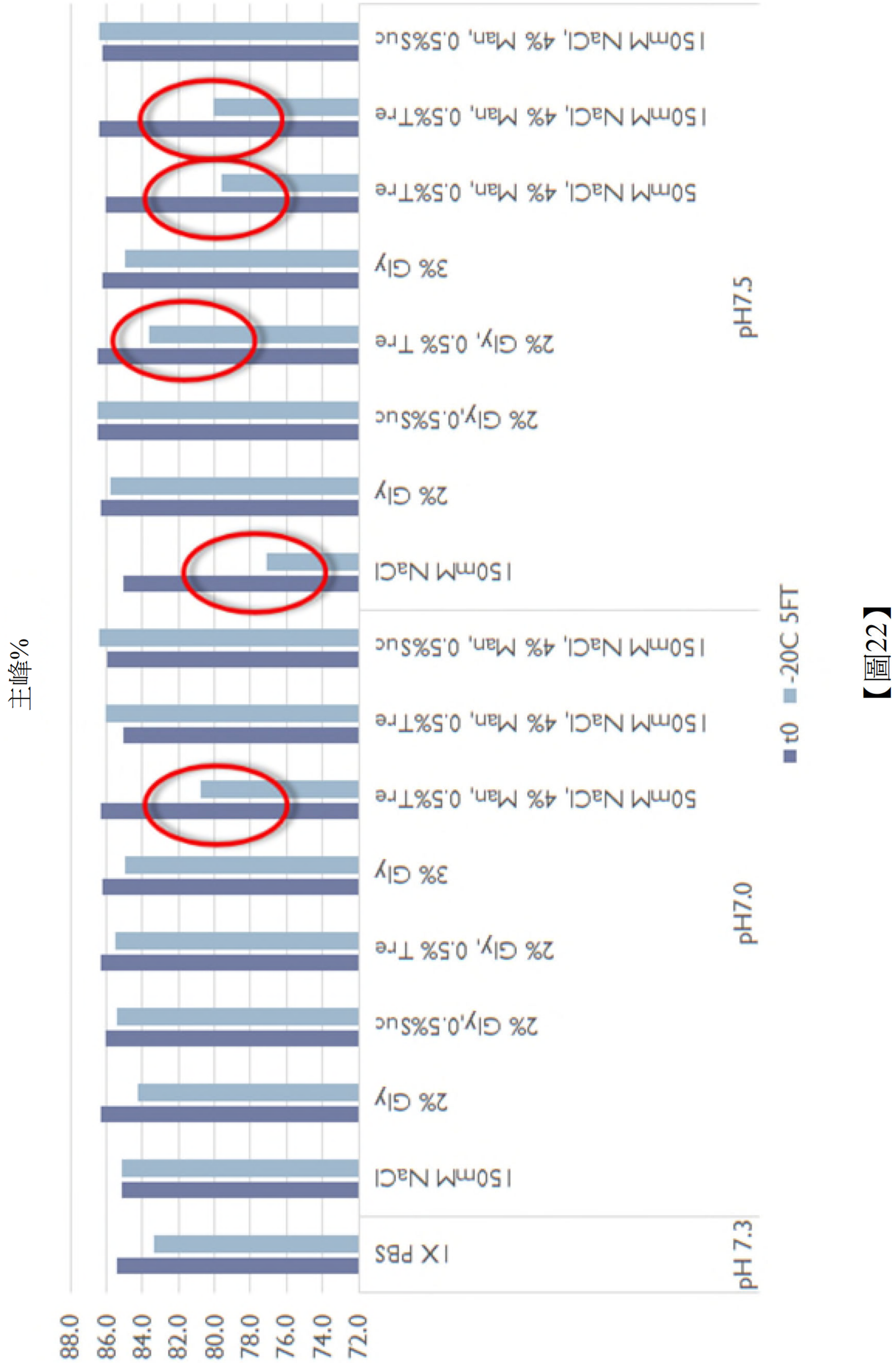
【圖20C】



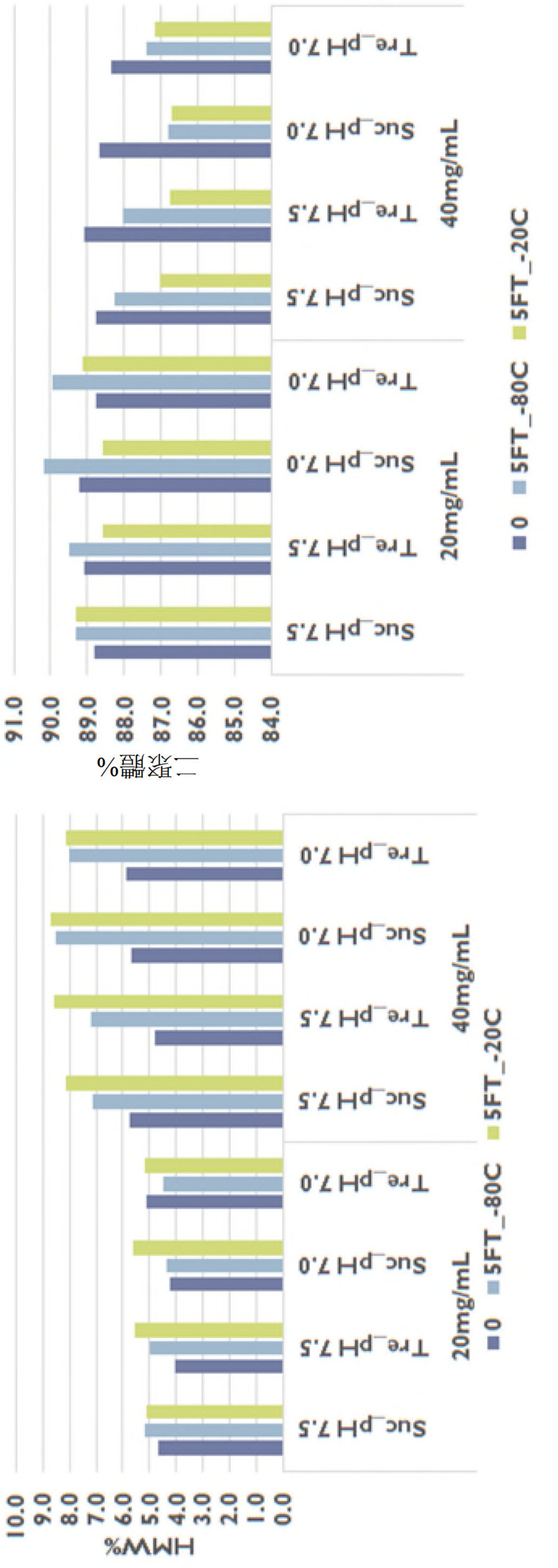
【圖20D】


主峰%
二聚體%
90
85
80
75
70
65
60
pH 7.3
1X PBS
150mM NaCl
50mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Suc
pH7.0
3% Gly
2% Gly, 0.5% Tre
2% Gly,0.5%Suc
2% Gly
pH7.5
3% Gly
2% Gly, 0.5% Tre
2% Gly,0.5%Suc
2% Gly
t0
25C，3天

【圖21】


pH 7.3
1X PBS
150mM NaCl
pH7.0
50mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
3% Gly
2% Gly, 0.5% Tre
2% Gly,0.5%Suc
2% Gly
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
pH7.5
50mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
2% Gly
150mM NaCl
2% Gly,0.5%Suc
3% Gly
2% Gly, 0.5% Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Suc
-20C 5FT
t0
88.0
86.0
84.0
82.0
80.0
78.0
76.0
74.0
72.0
峰%
Hz

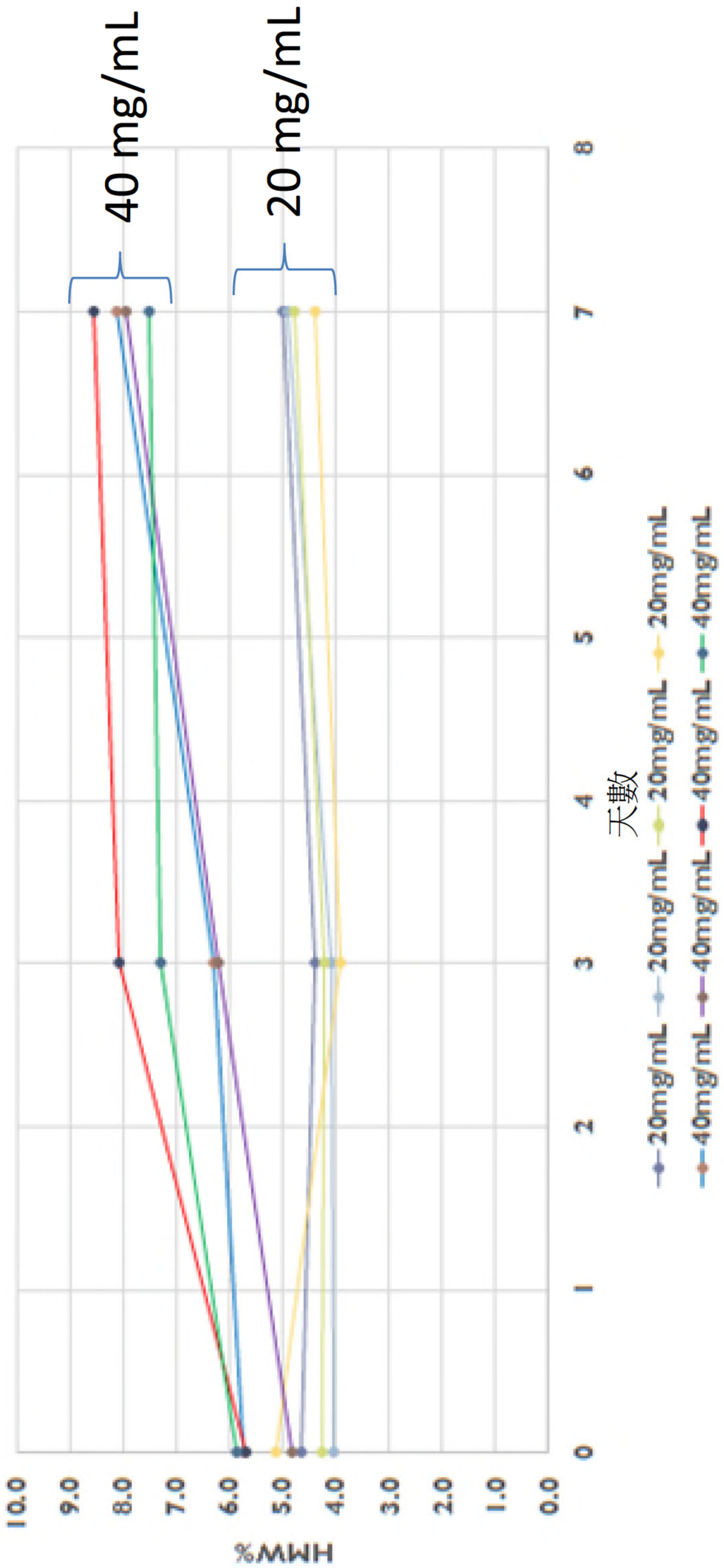
【圖22】


HMW%
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
Suc_pH 7.5
Tre_pH 7.5
Suc_pH 7.0
Tre_pH 7.0
20mg/mL
Suc_pH 7.5
Tre_pH 7.5
Suc_pH 7.0
Tre_pH 7.0
40mg/mL
0
5FT_-80C
5FT_-20C

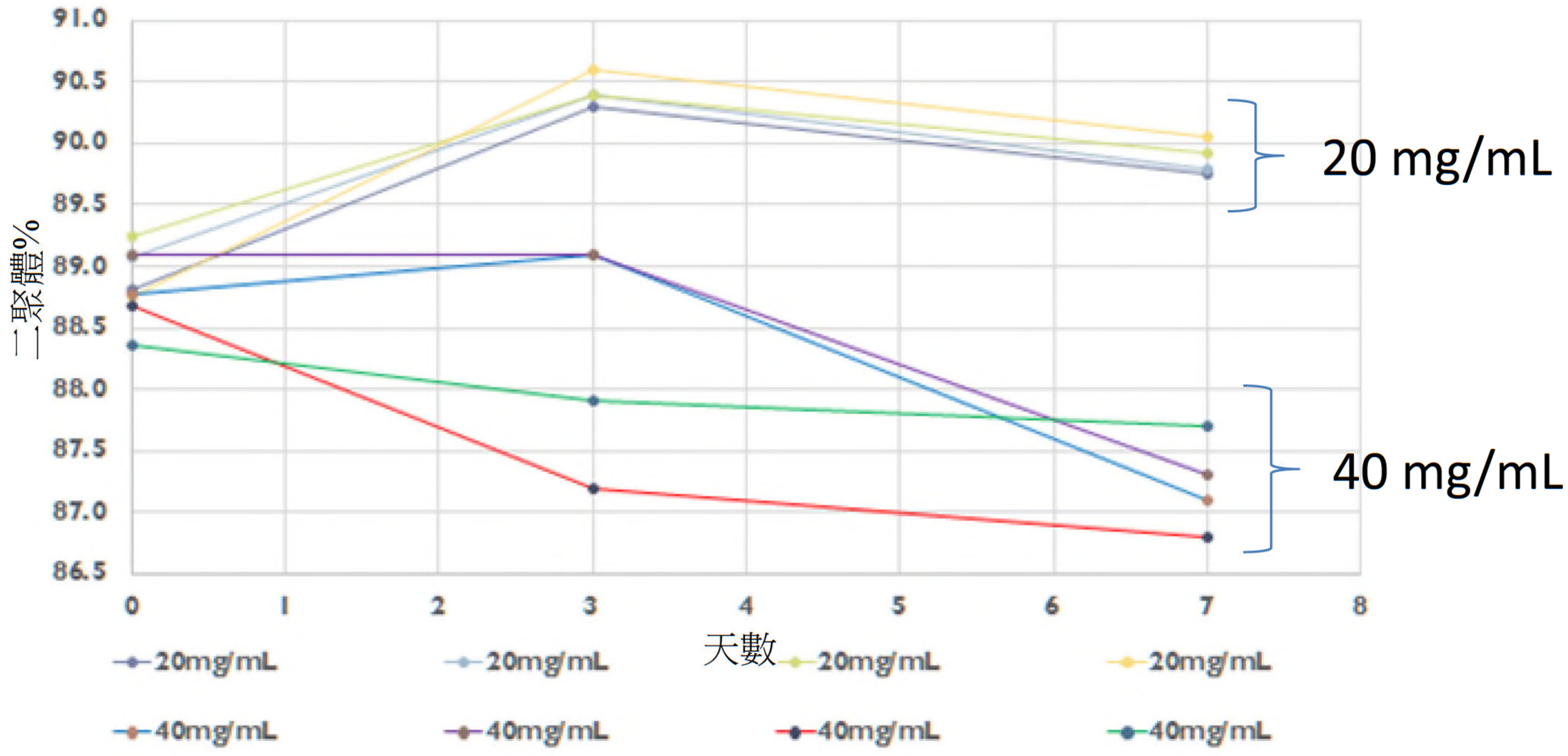
【圖23A】

二聚體%
91.0
90.0
89.0
88.0
87.0
86.0
85.0
84.0
Suc_pH 7.5
Tre_pH 7.5
Suc_pH 7.0
Tre_pH 7.0
20mg/mL
Suc_pH 7.5
Tre_pH 7.5
Suc_pH 7.0
Tre_pH 7.0
40mg/mL
0
5FT_-80C
5FT_-20C

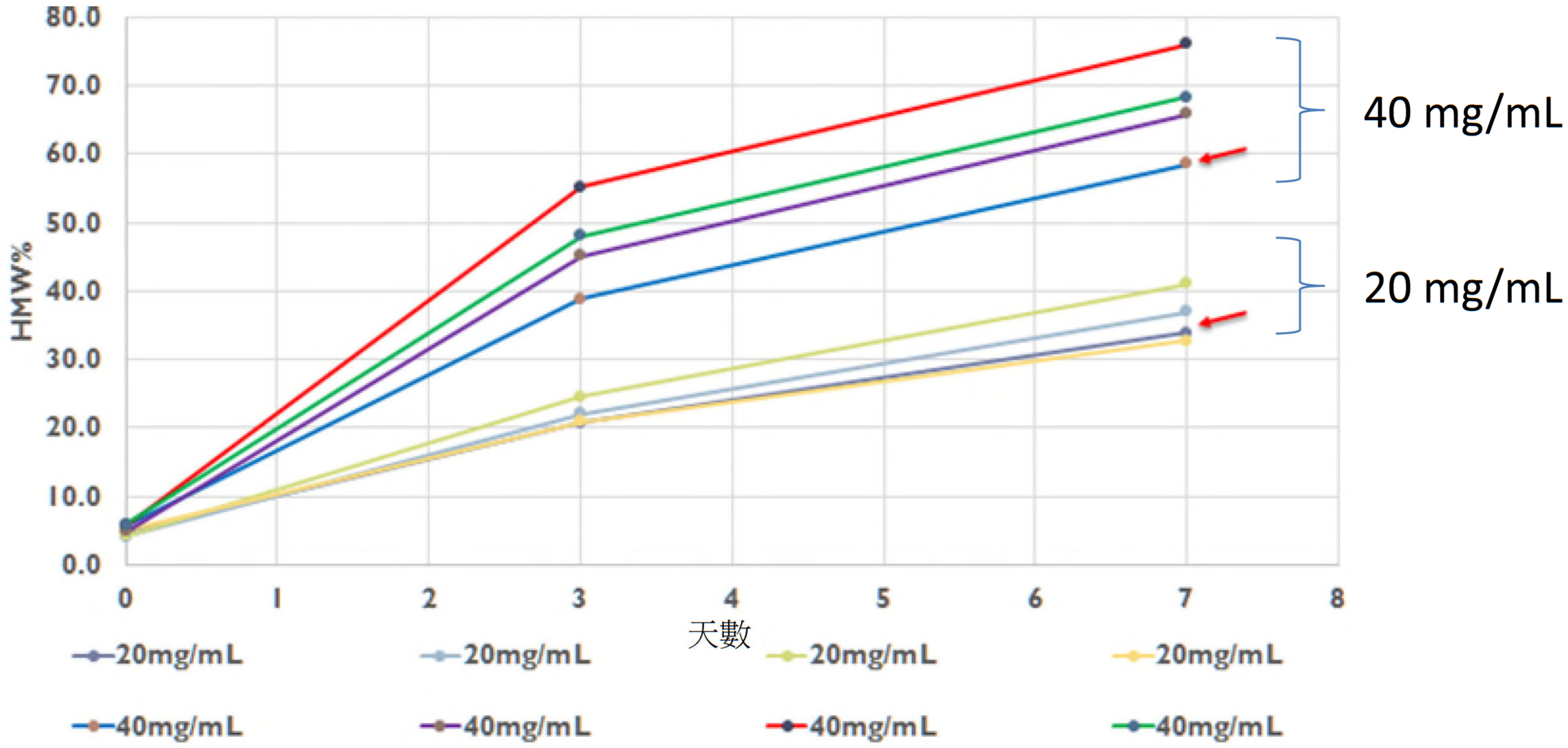
【圖23B】


40 mg/mL
20 mg/mL
8
7
6
5
4
天數
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
3
2
1
0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
%MWH

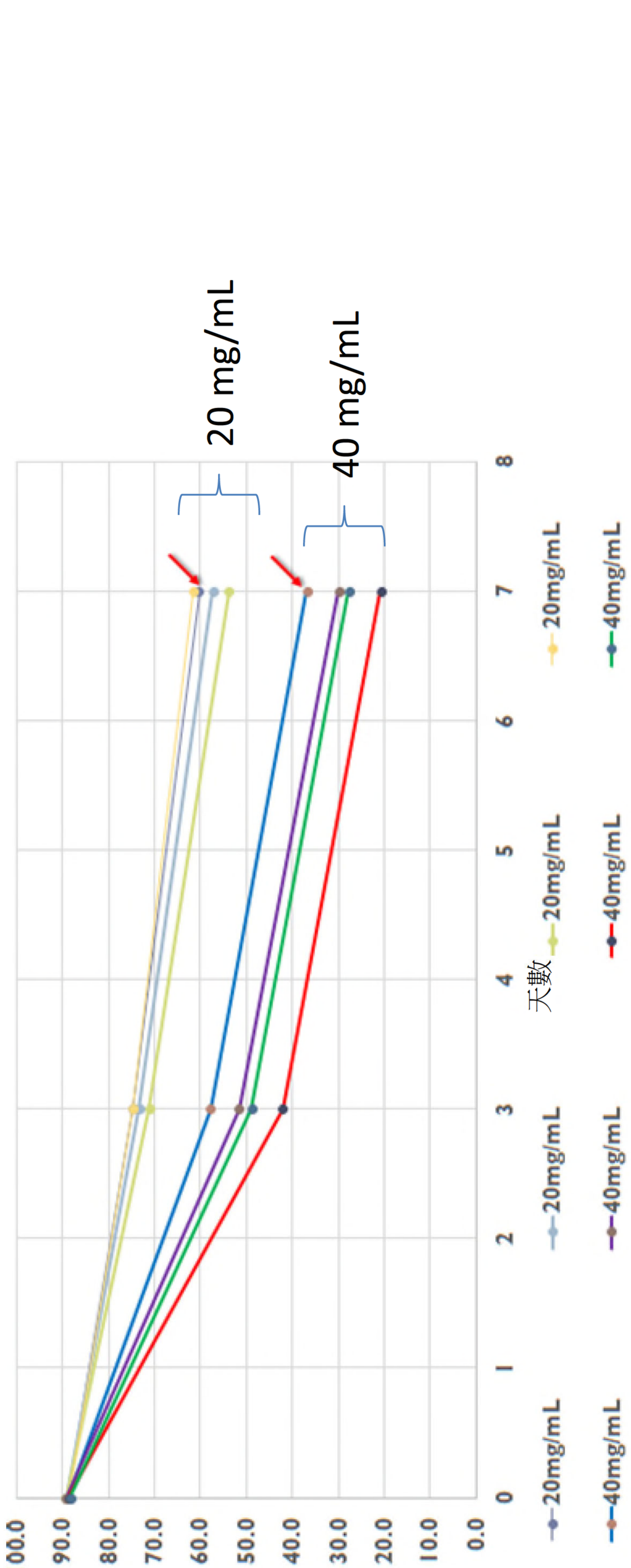
【圖24A】


91.0
90.5
90.0
89.5
89.0
88.5
88.0
87.5
87.0
86.5
二聚體%
0
1
2
3
4
5
6
7
8
天數
20 mg/mL
40 mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
40mg/mL

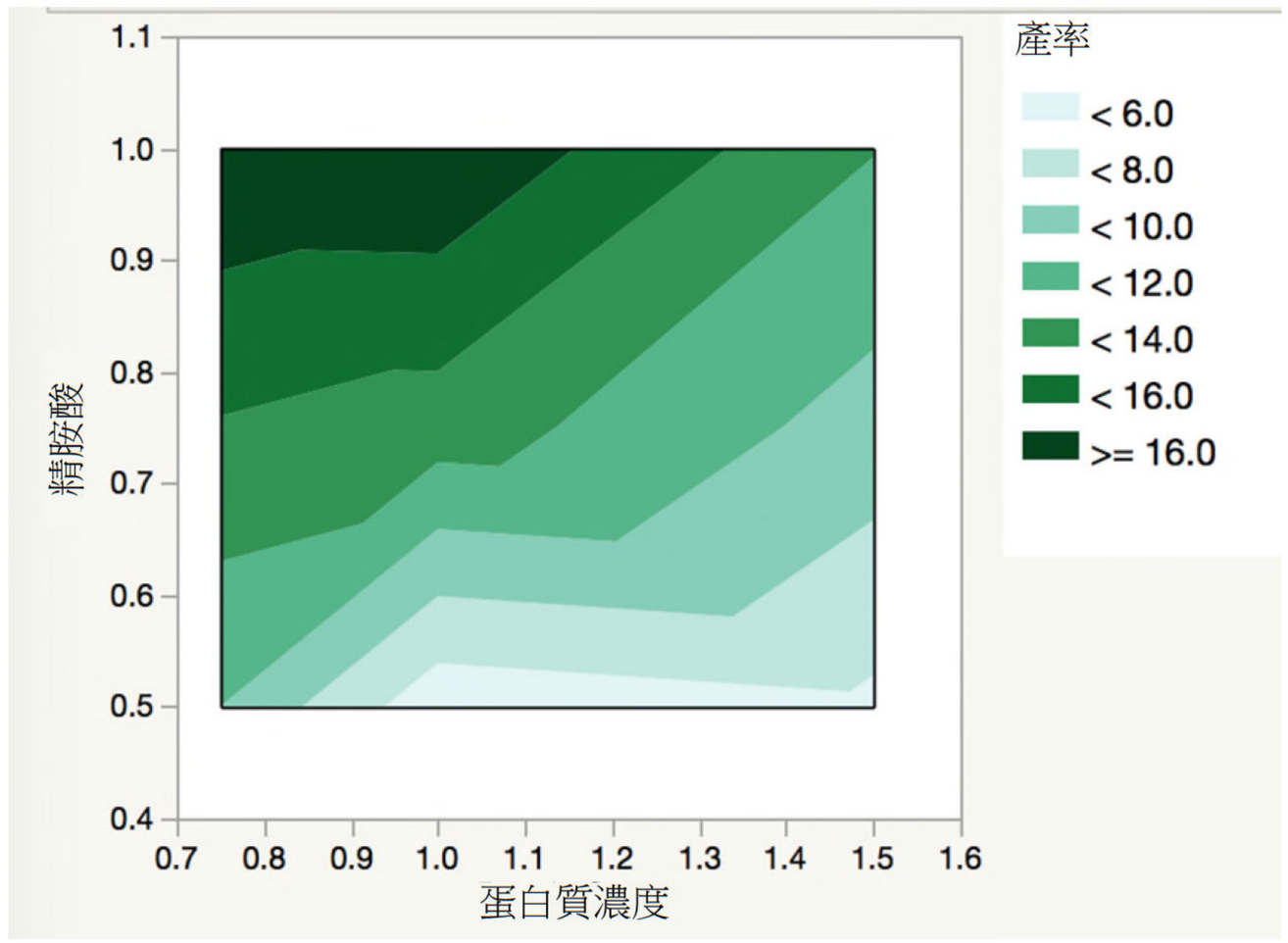
【圖24B】


80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
HMW%
0
1
2
3
4
5
6
7
8
天數
40 mg/mL
20 mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
40mg/mL

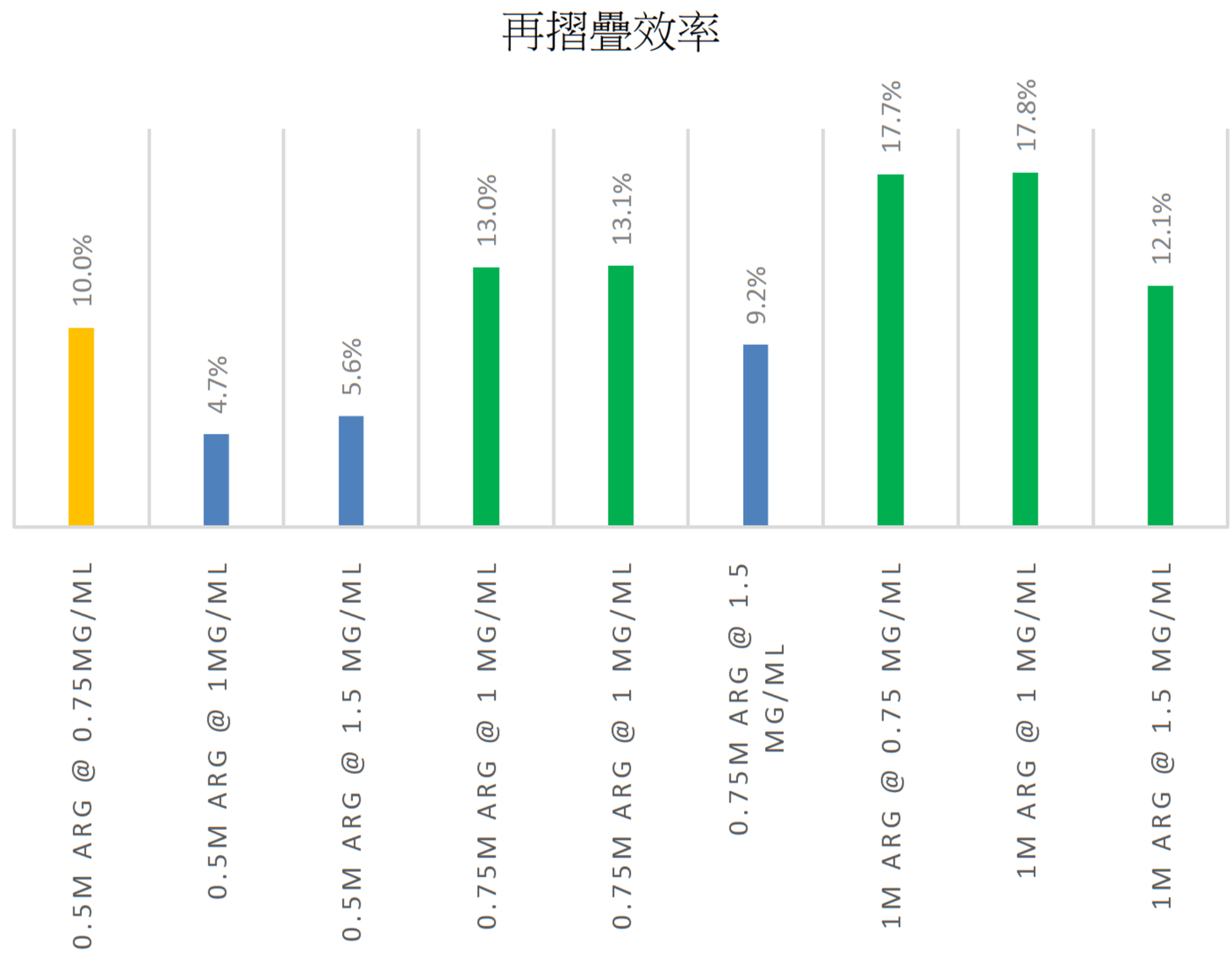
【圖24C】


20 mg/mL
40 mg/mL
100.0
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
二聚體%
0
1
2
3
4
5
6
7
8
天數
20mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
40mg/mL

【圖24D】

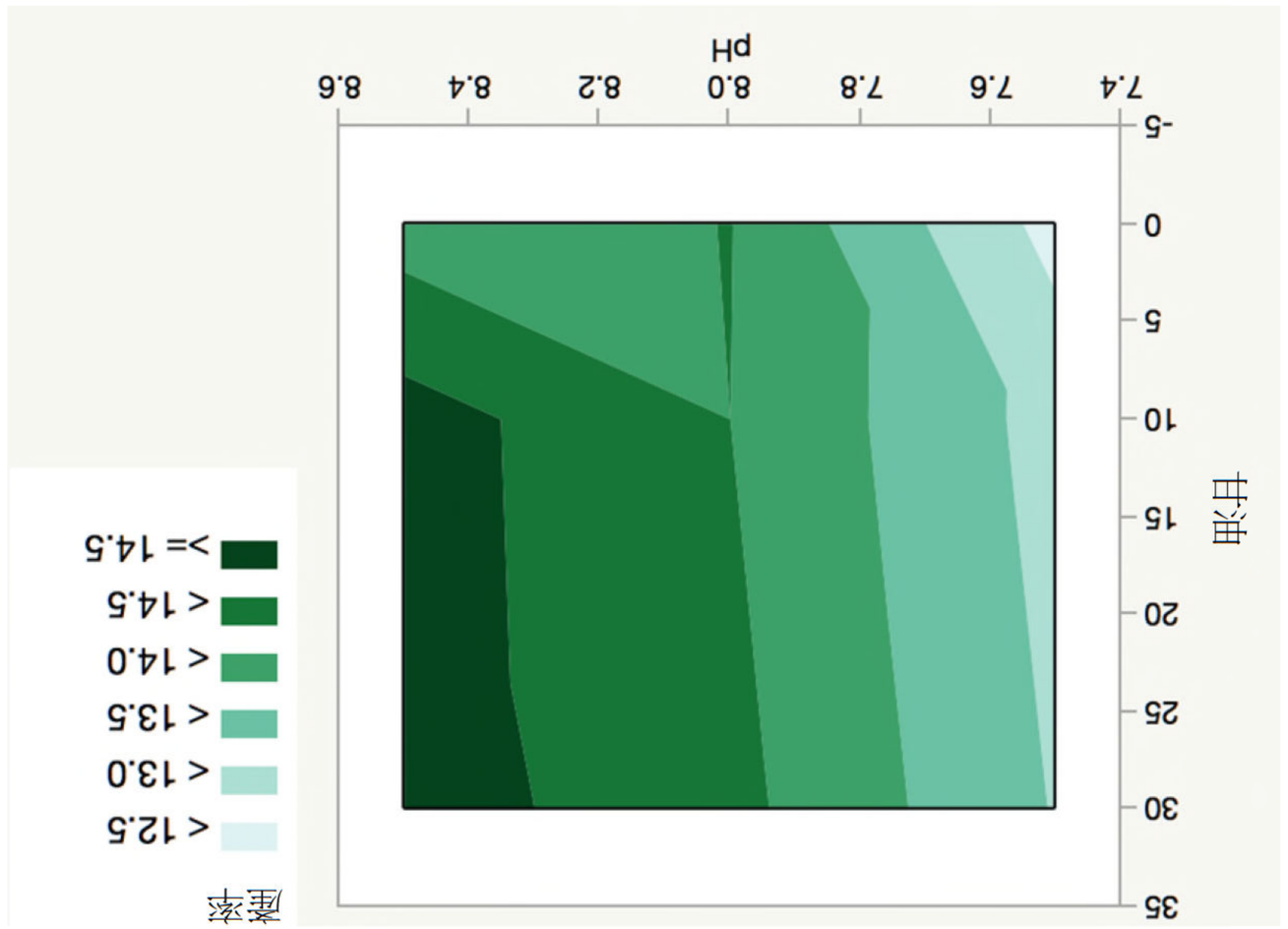

精胺酸
蛋白質濃度
產率
< 6.0
< 8.0
< 10.0
< 12.0
< 14.0
< 16.0
>= 16.0
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.7
0.8
0.9
1.0
1.1
1.2
1.3
1.4
1.5
1.6

【圖25A】

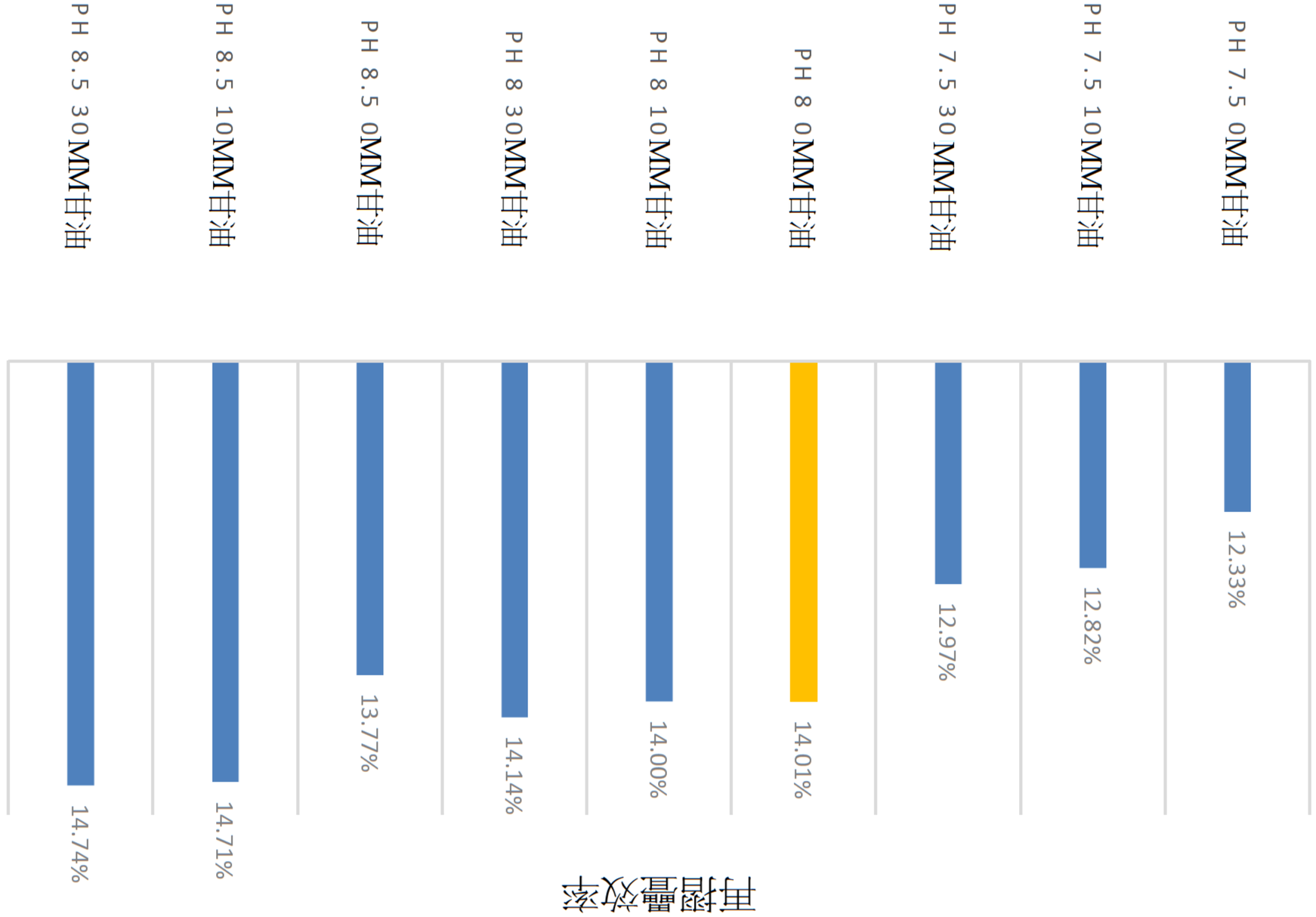

再摺疊效率
10.0%
4.7%
5.6%
13.0%
13.1%
9.2%
17.7%
17.8%
12.1%
0.5M ARG @ 0.75MG/ML
0.5M ARG @ 1MG/ML
0.5M ARG @ 1.5 MG/ML
0.75M ARG @ 1 MG/ML
0.75M ARG @ 1 MG/ML
0.75M ARG @ 1.5 MG/ML
1M ARG @ 0.75 MG/ML
1M ARG @ 1 MG/ML
1M ARG @ 1.5 MG/ML

【圖25B】

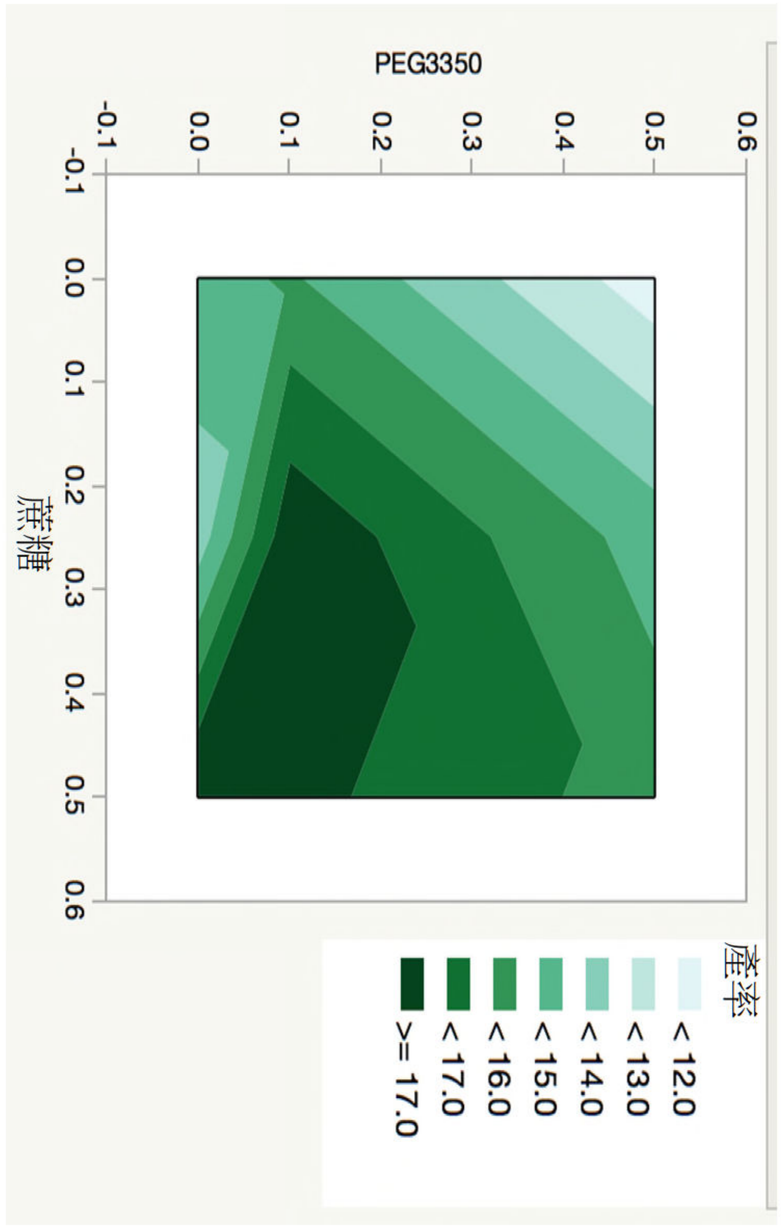
【圖26A】


pH
7.4
7.6
7.8
8.0
8.2
8.4
8.6
甘油
-5
0
5
10
15
20
25
30
35
產率
< 12.5
< 13.0
< 13.5
< 14.0
< 14.5
>= 14.5

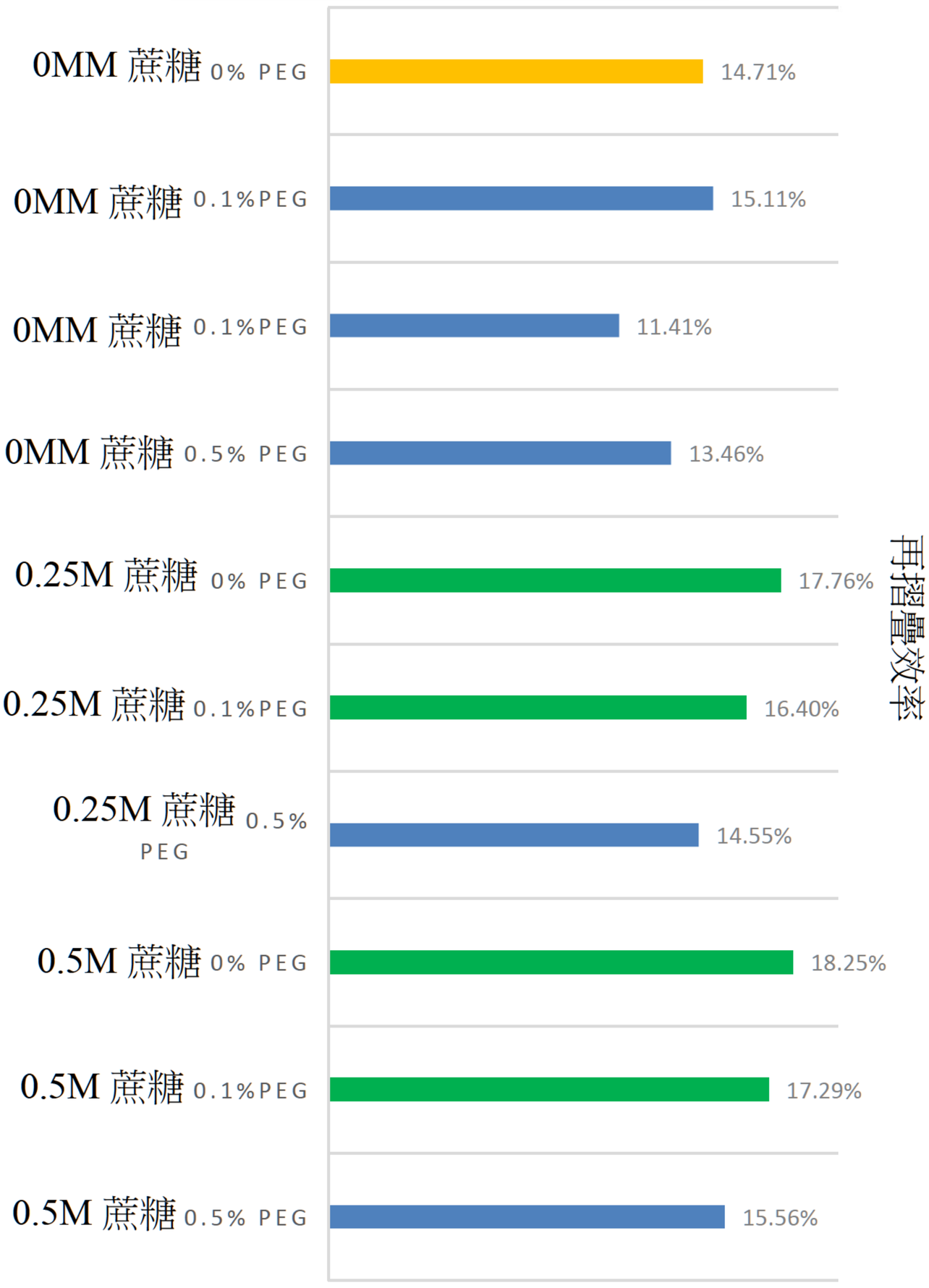
【圖26B】

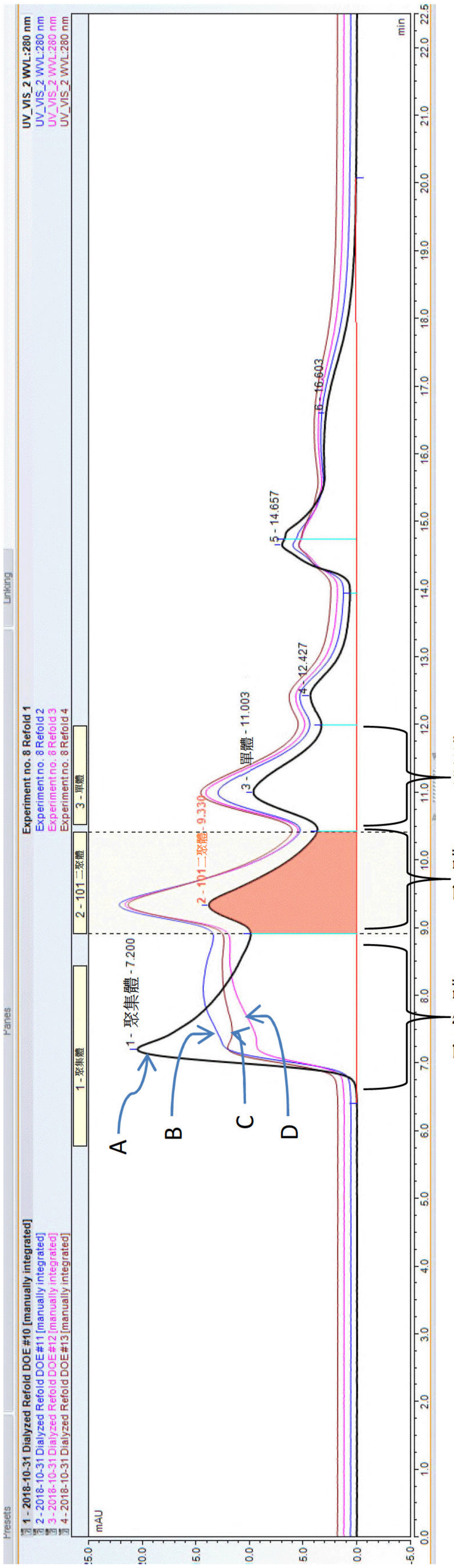

再摺疊效率
PH 7.5 0MM甘油
PH 7.5 10MM甘油
PH 7.5 30MM甘油
PH 8 0MM甘油
PH 8 10MM甘油
PH 8 30MM甘油
PH 8.5 0MM甘油
PH 8.5 10MM甘油
PH 8.5 30MM甘油
12.33%
12.82%
12.97%
14.01%
14.00%
14.14%
13.77%
14.71%
14.74%

【圖27A】

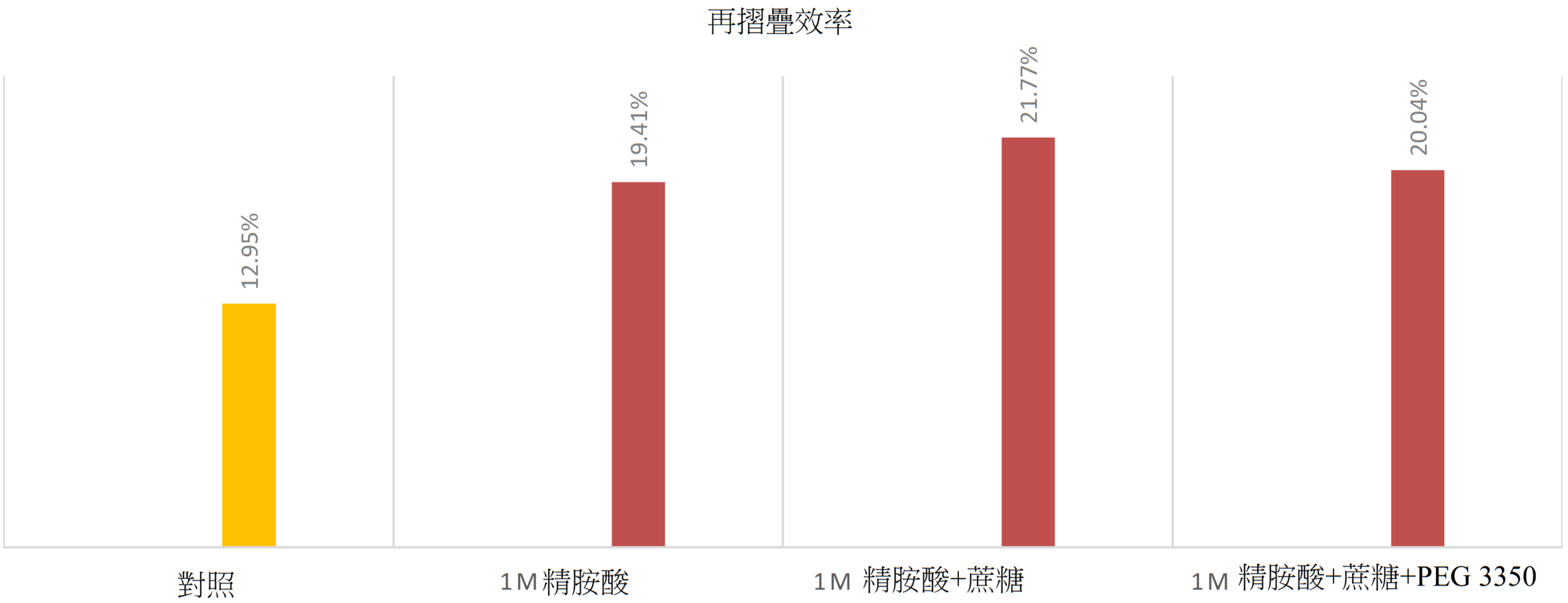

PEG3350
蔗糖
產率
-0.1
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
>= 17.0
< 17.0
< 16.0
< 15.0
< 14.0
< 13.0
< 12.0

【圖27B】

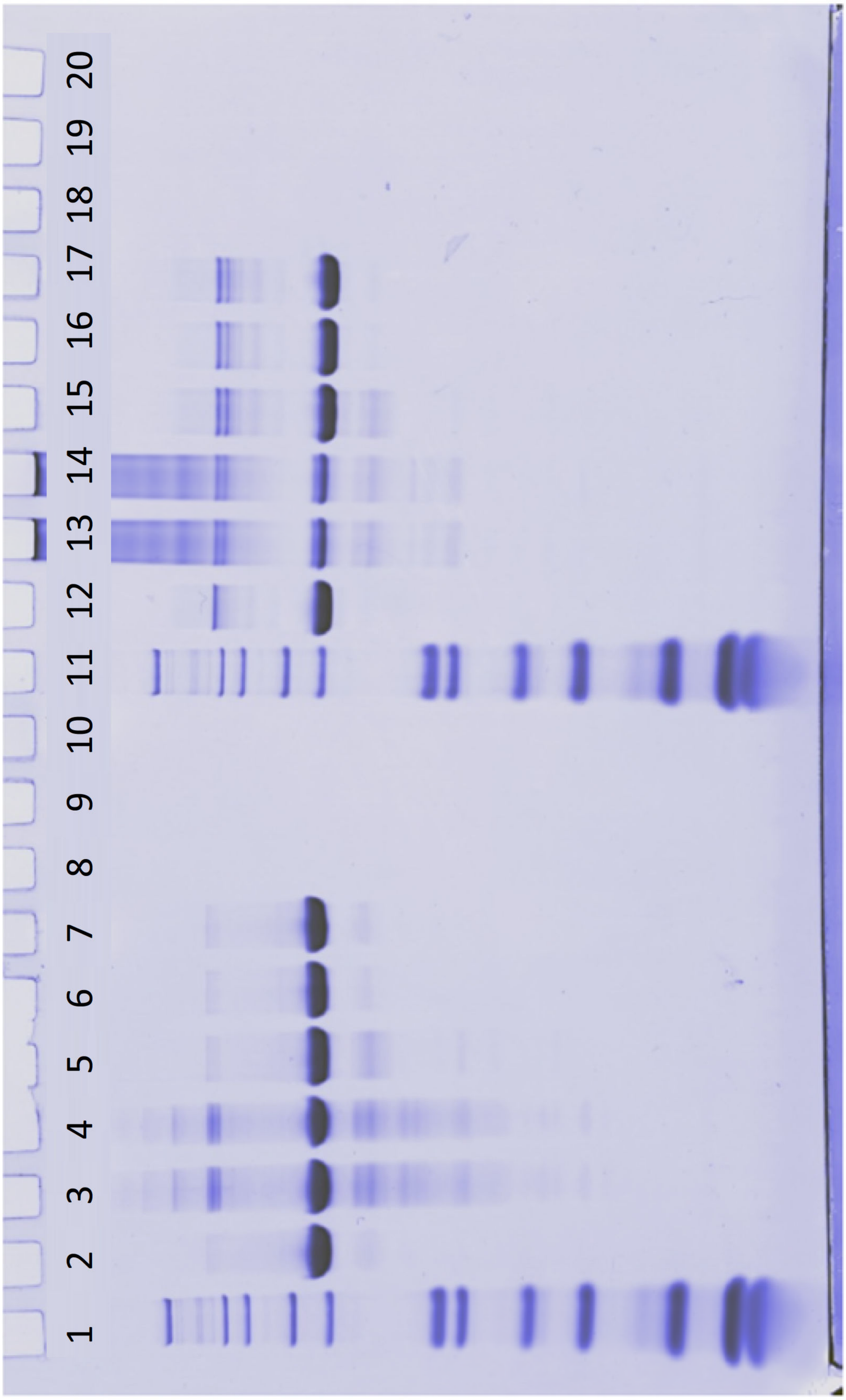

0MM 蔗糖 0% PEG
14.71%
0MM 蔗糖 0.1%PEG
15.11%
0MM 蔗糖 0.1%PEG
11.41%
0MM 蔗糖 0.5% PEG
13.46%
0.25M 蔗糖 0% PEG
17.76%
0.25M 蔗糖 0.1%PEG
16.40%
0.25M 蔗糖 0.5% PEG
14.55%
0.5M 蔗糖 0% PEG
18.25%
0.5M 蔗糖 0.1%PEG
17.29%
0.5M 蔗糖 0.5% PEG
15.56%
再摺疊效率


UV_VIS_2 WVL:280 nm
UV_VIS_2 WVL:280 nm
UV_VIS_2 WVL:280 nm
UV_VIS_2 WVL:280 nm
min
22.5
22.0
21.0
20.0
19.0
18.0
17.0
16.0
15.0
14.0
13.0
12.0
11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
6 - 16.603
5 - 14.657
4 - 12.427
3 - 11.003
2 - 101 二聚體 - 9.330
1 - 聚集體 - 7.200
A
B
C
D
聚集體
二聚體
單體
Experiment no. 8 Refold 1
Experiment no. 8 Refold 2
Experiment no. 8 Refold 3
Experiment no. 8 Refold 4
1 - 聚集體
2 - 101 二聚體
3 - 單體
Panes
1 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #10 [manually integrated]
2 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #11 [manually integrated]
3 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #12 [manually integrated]
4 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #13 [manually integrated]
Presets
mAU
-5.0
0.0
5.0
10.0
15.0

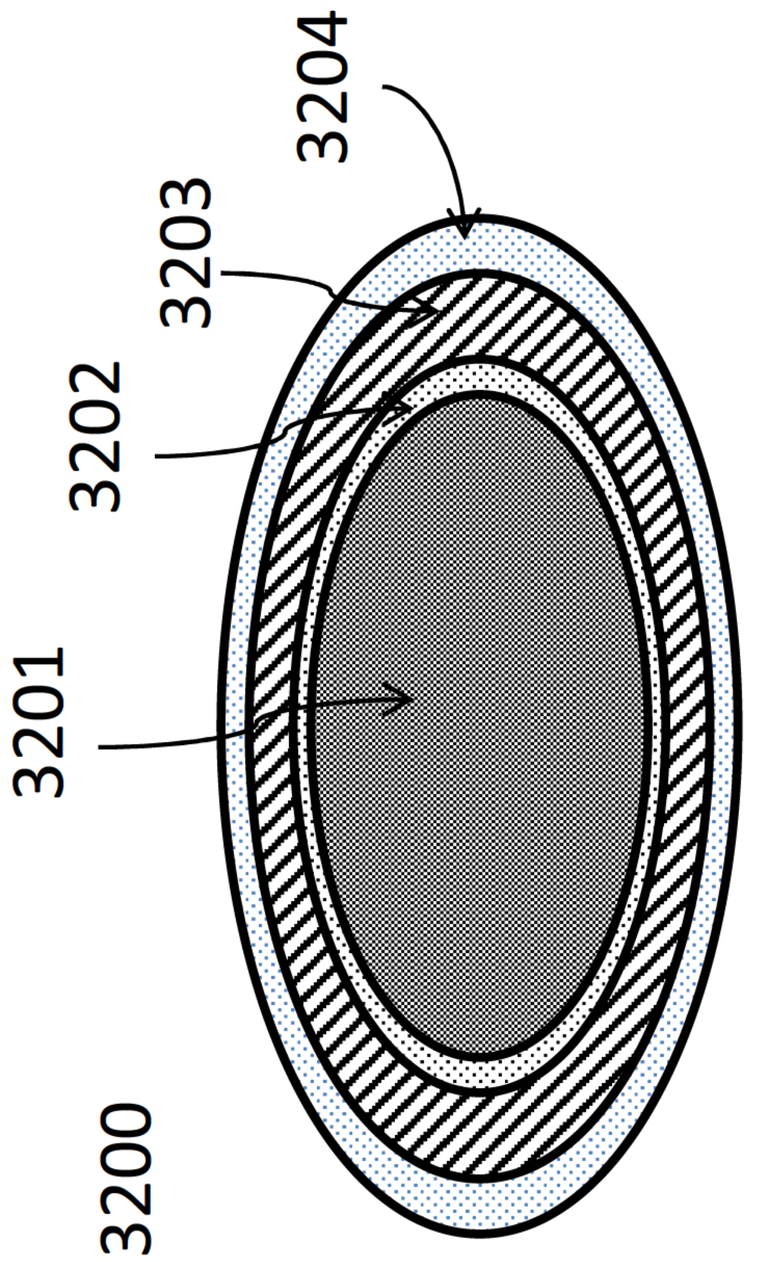
【圖28】



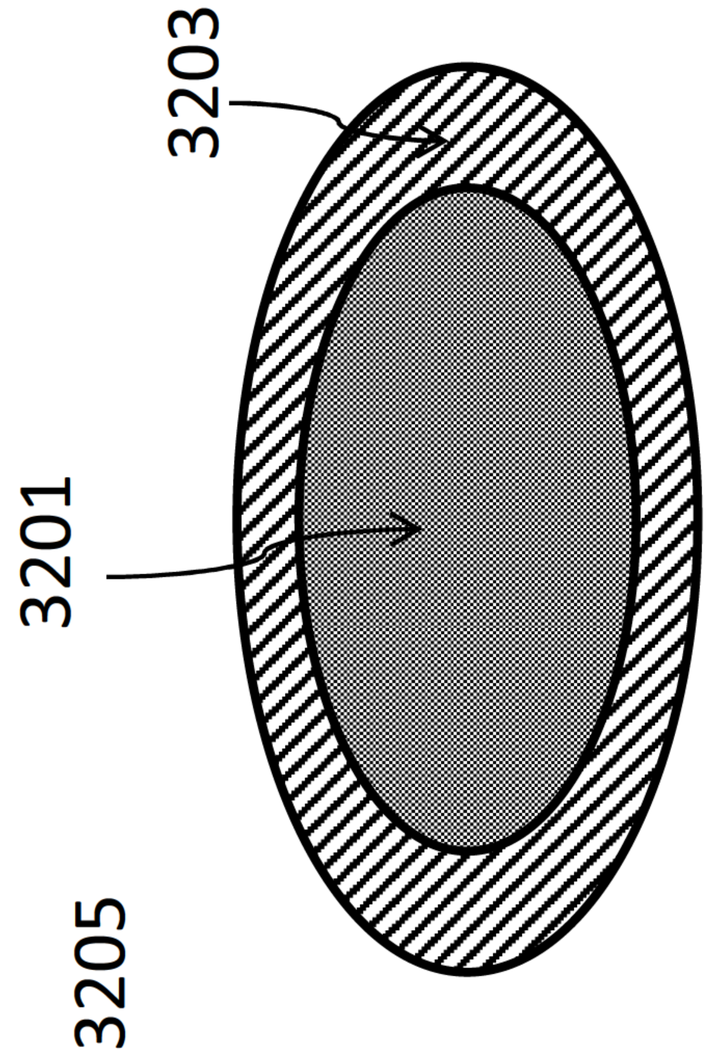
【圖29】


通道
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
200 kDa
116.3 kDa
97.4 kDa
66.3 kDa
55.4 kDa
36.5 kDa

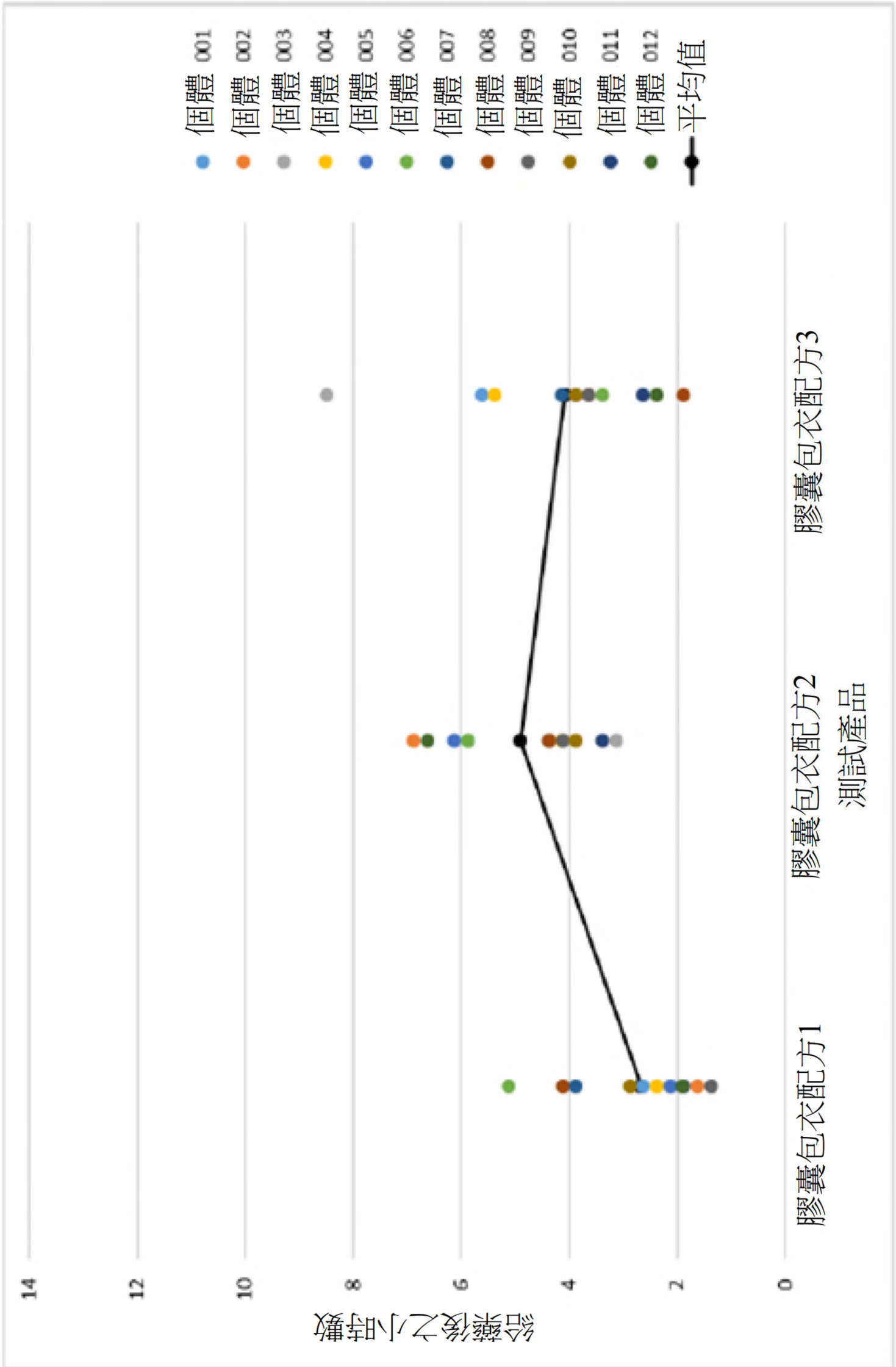
【圖30】



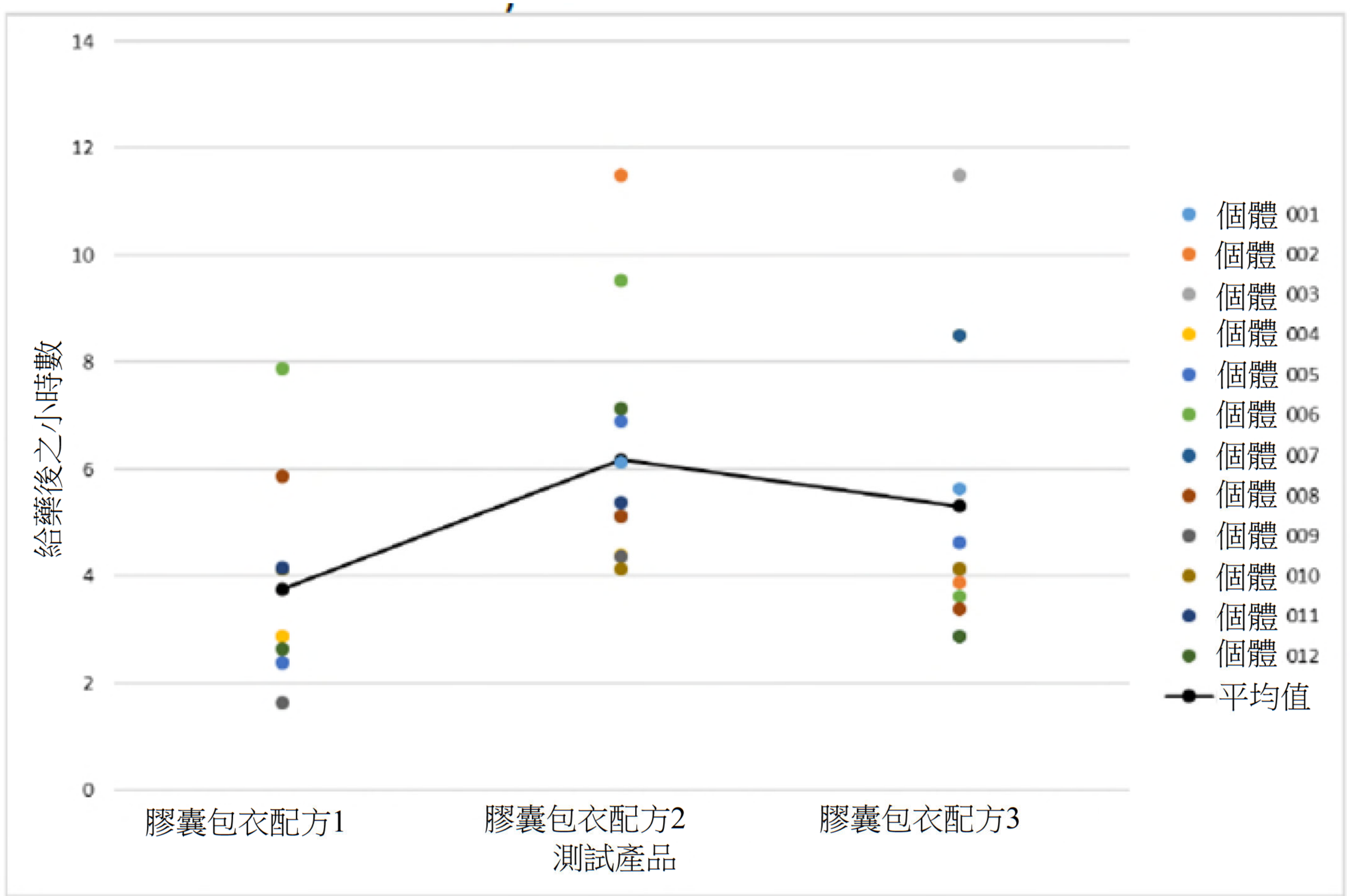
【圖31A】



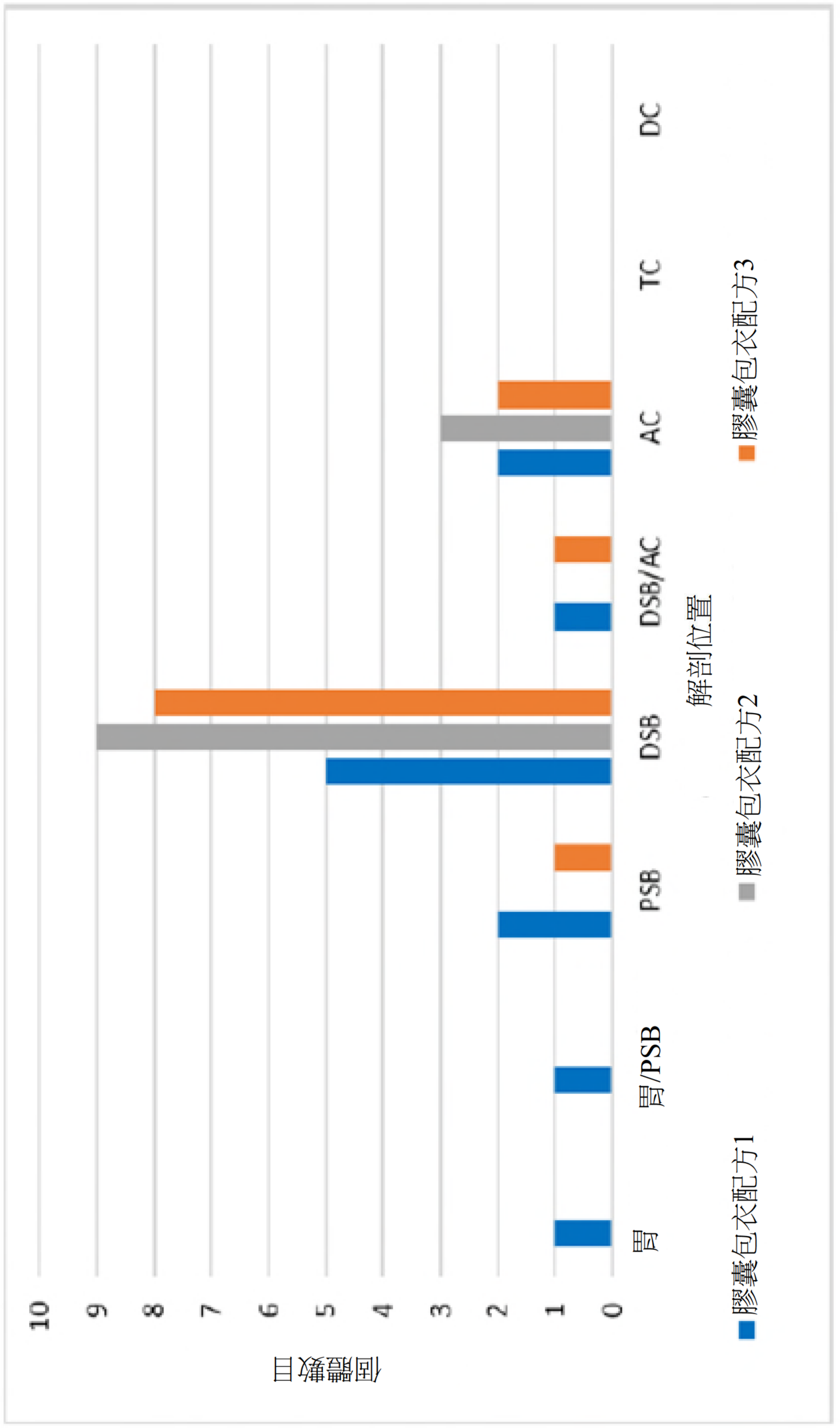
【圖31B】


個體 001
個體 002
個體 003
個體 004
個體 005
個體 006
個體 007
個體 008
個體 009
個體 010
個體 011
個體 012
平均值
膠囊包衣配方1
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方3
測試產品
給藥後之小時數
0
2
4
6
8
10
12
14

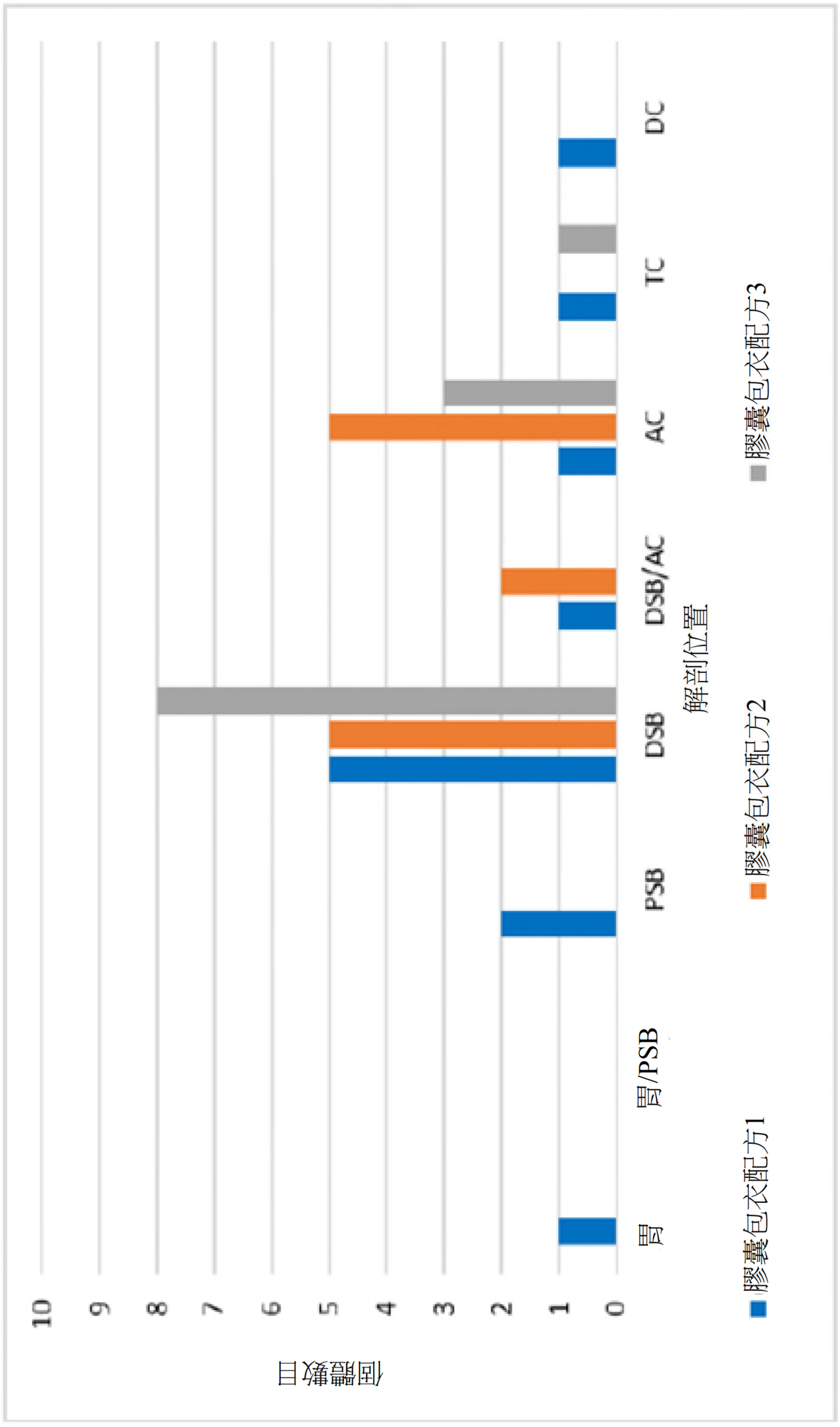
【圖32A】


給藥後之小時數
14
12
10
8
6
4
2
0
膠囊包衣配方1
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方3
測試產品
個體 001
個體 002
個體 003
個體 004
個體 005
個體 006
個體 007
個體 008
個體 009
個體 010
個體 011
個體 012
平均值

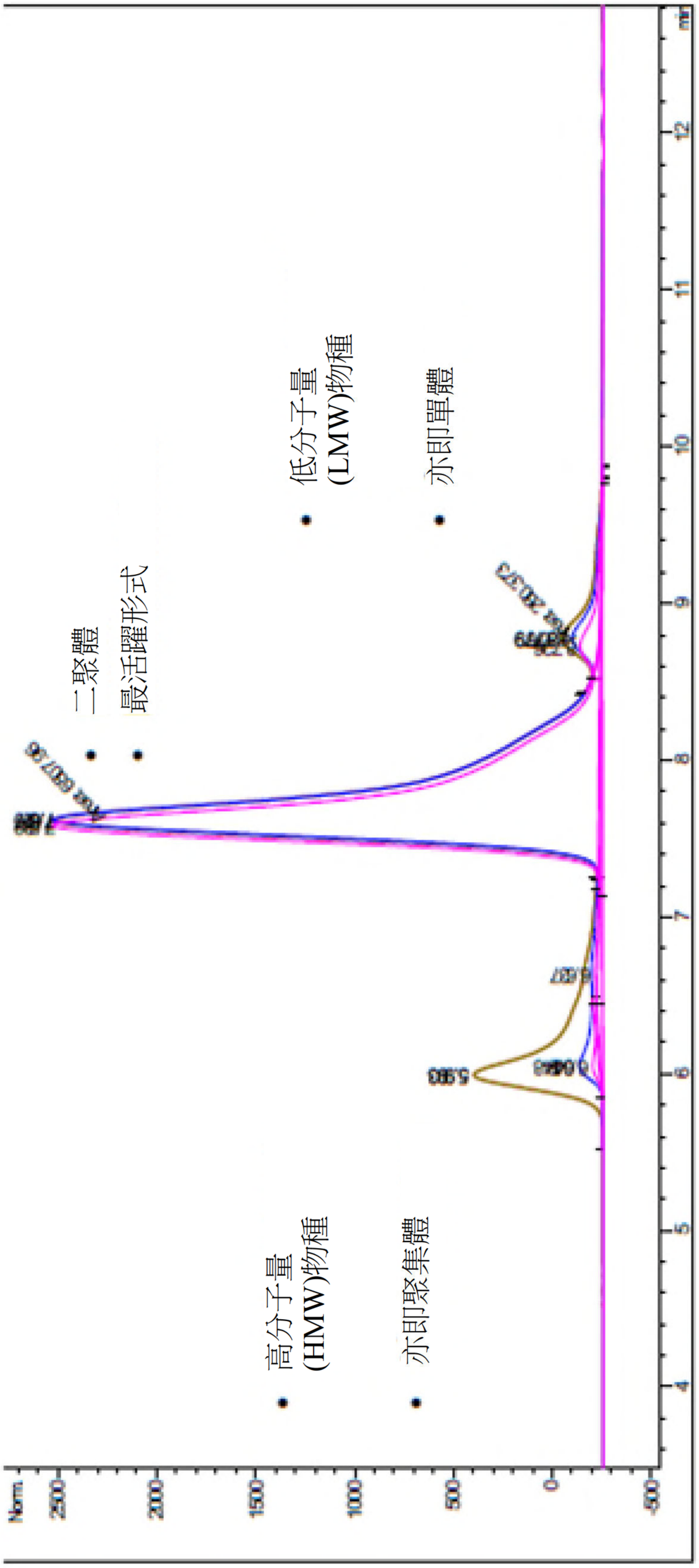
【圖32B】


DC
TC
AC
DSB/AC
DSB
PSB
胃/PSB
膠囊包衣配方3
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方1
解剖位置
胃
個體數目
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

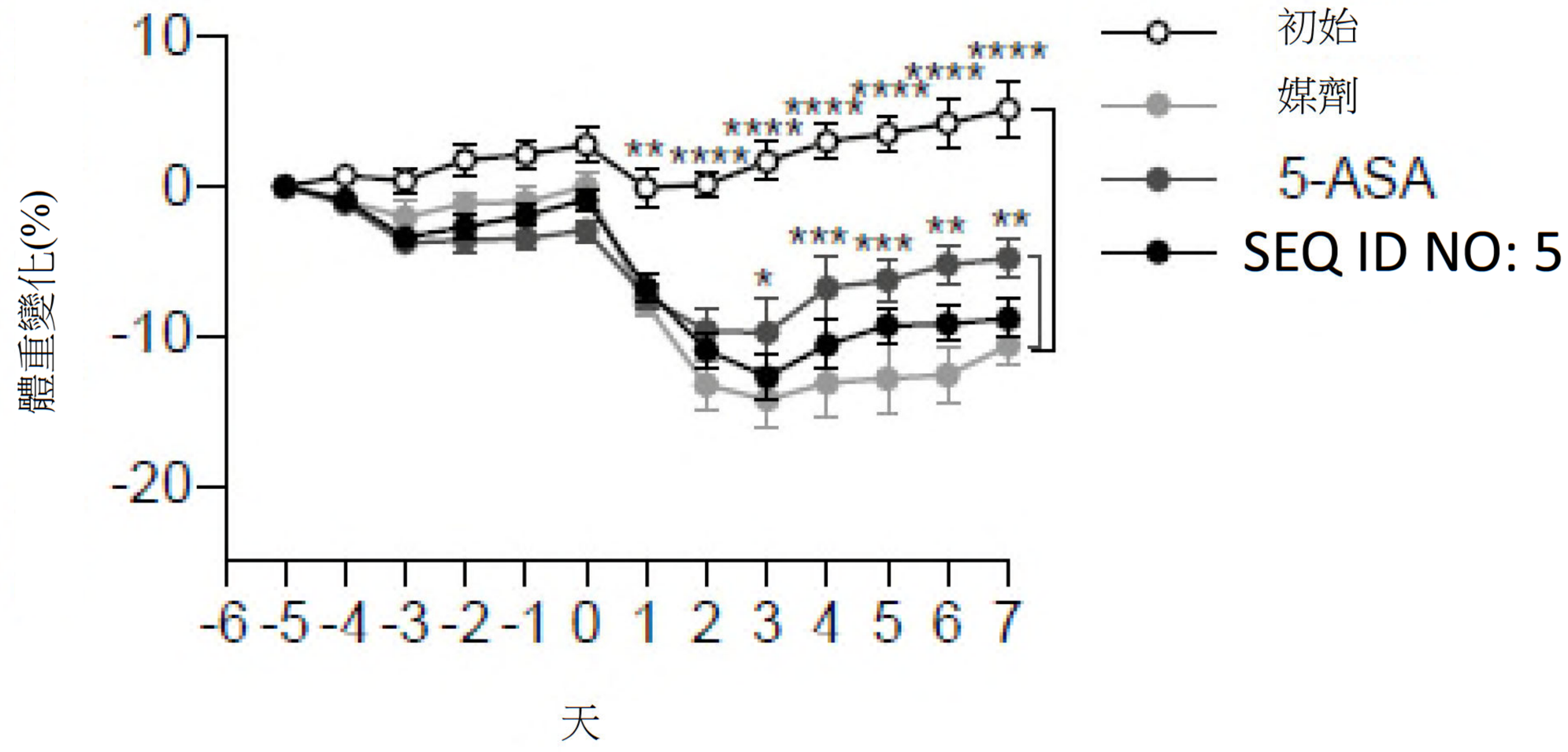
【圖33A】


膠囊包衣配方1
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方3
胃/PSB
DSB
PSB
DSB/AC
AC
TC
DC
解剖位置
個體數目
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

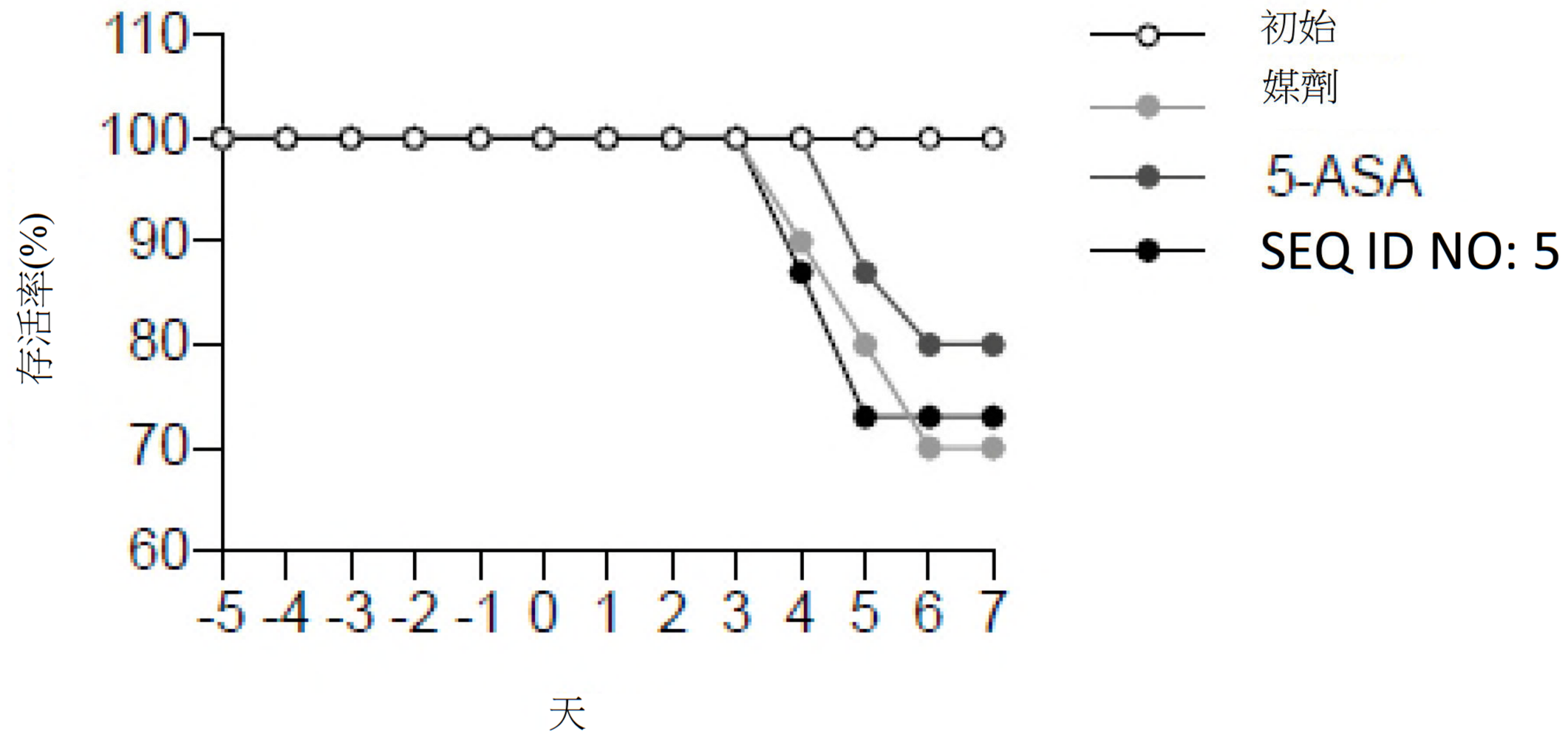
【圖3B】



【圖34】

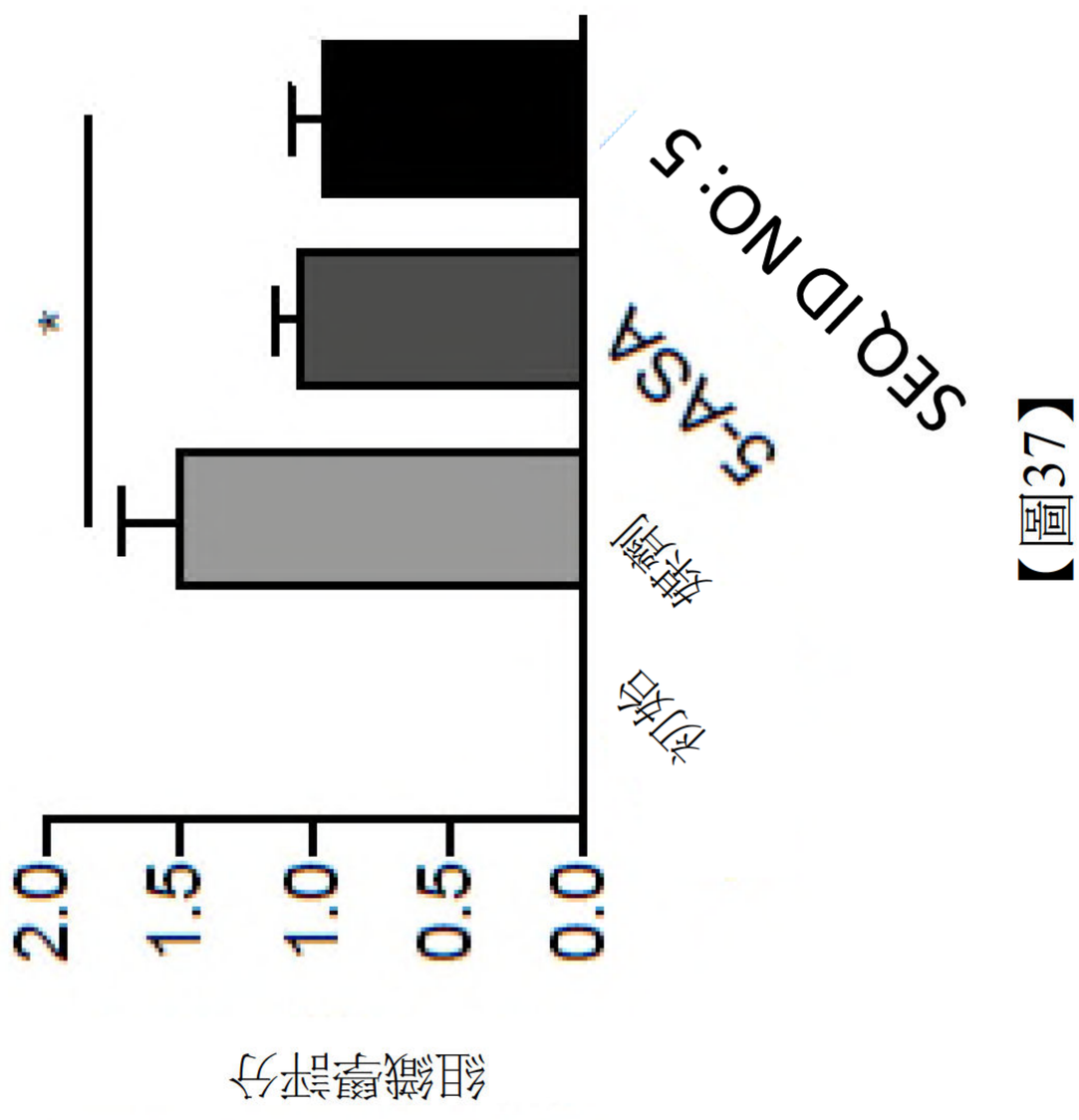


【圖35】

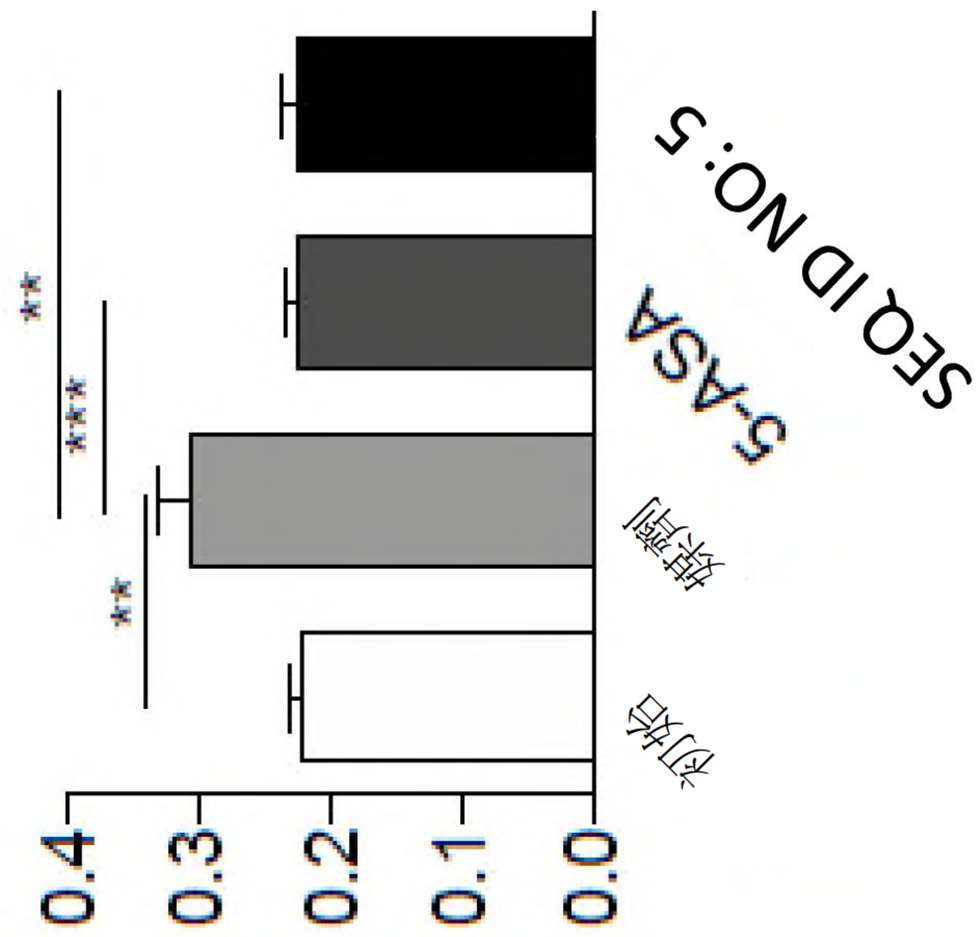


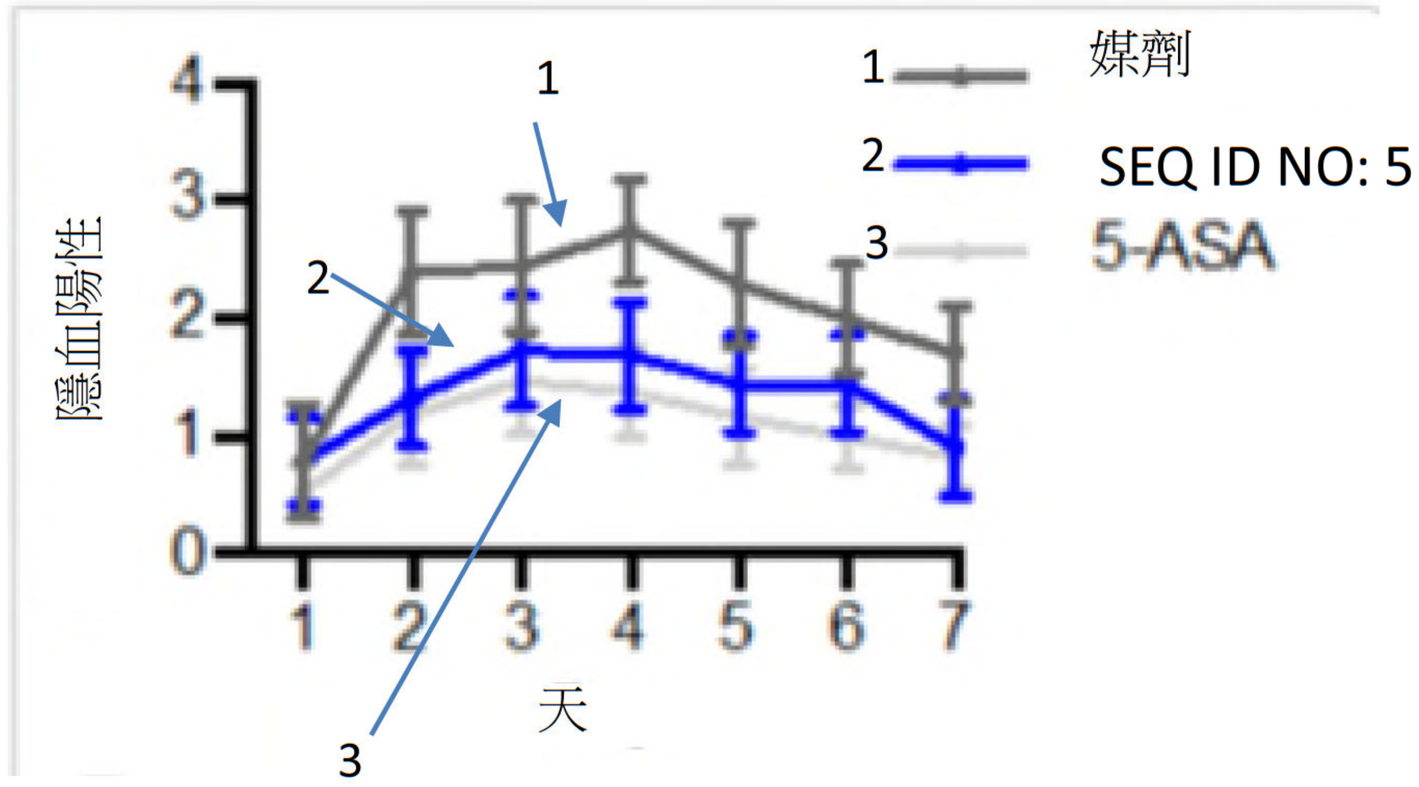
【圖36】

【圖37】

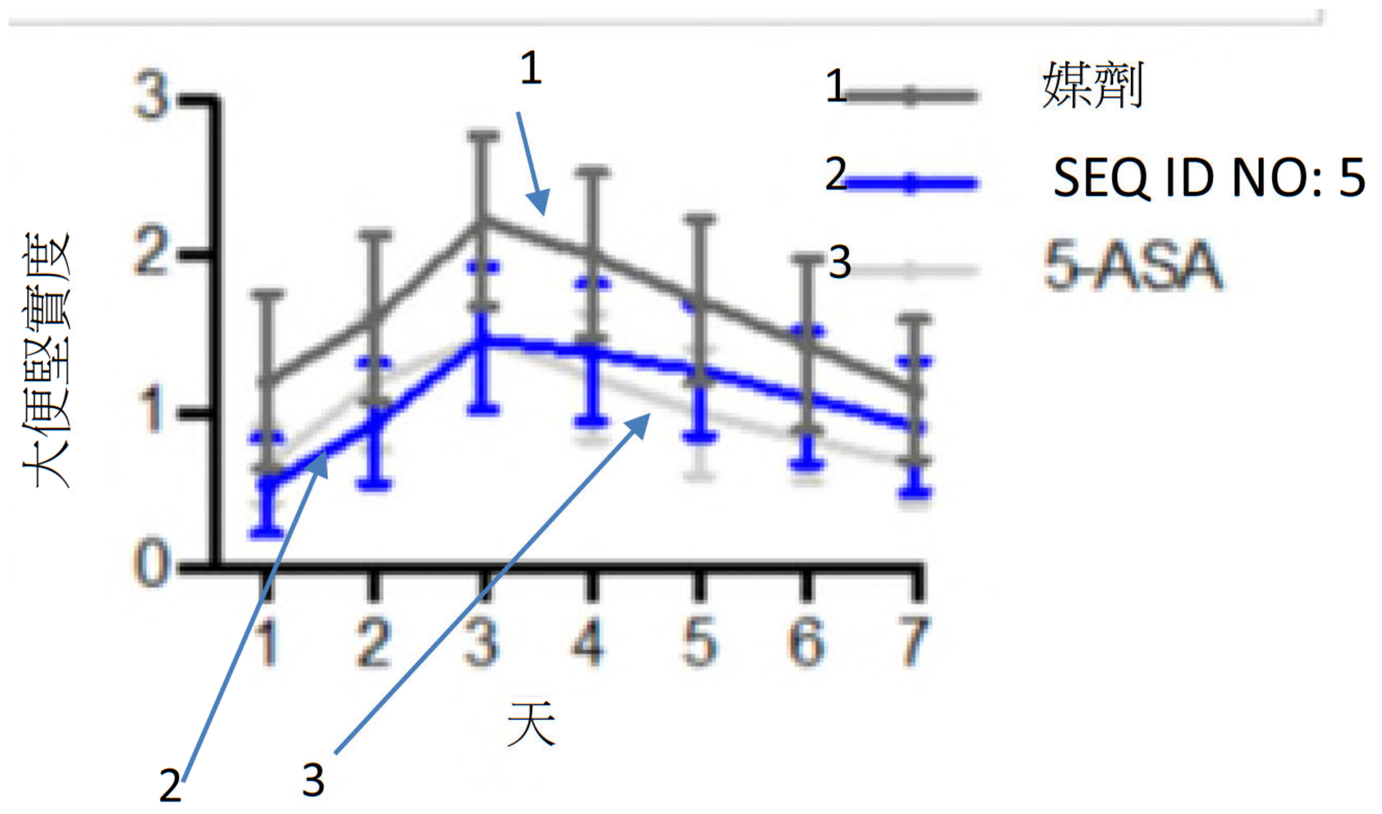


【圖38A】

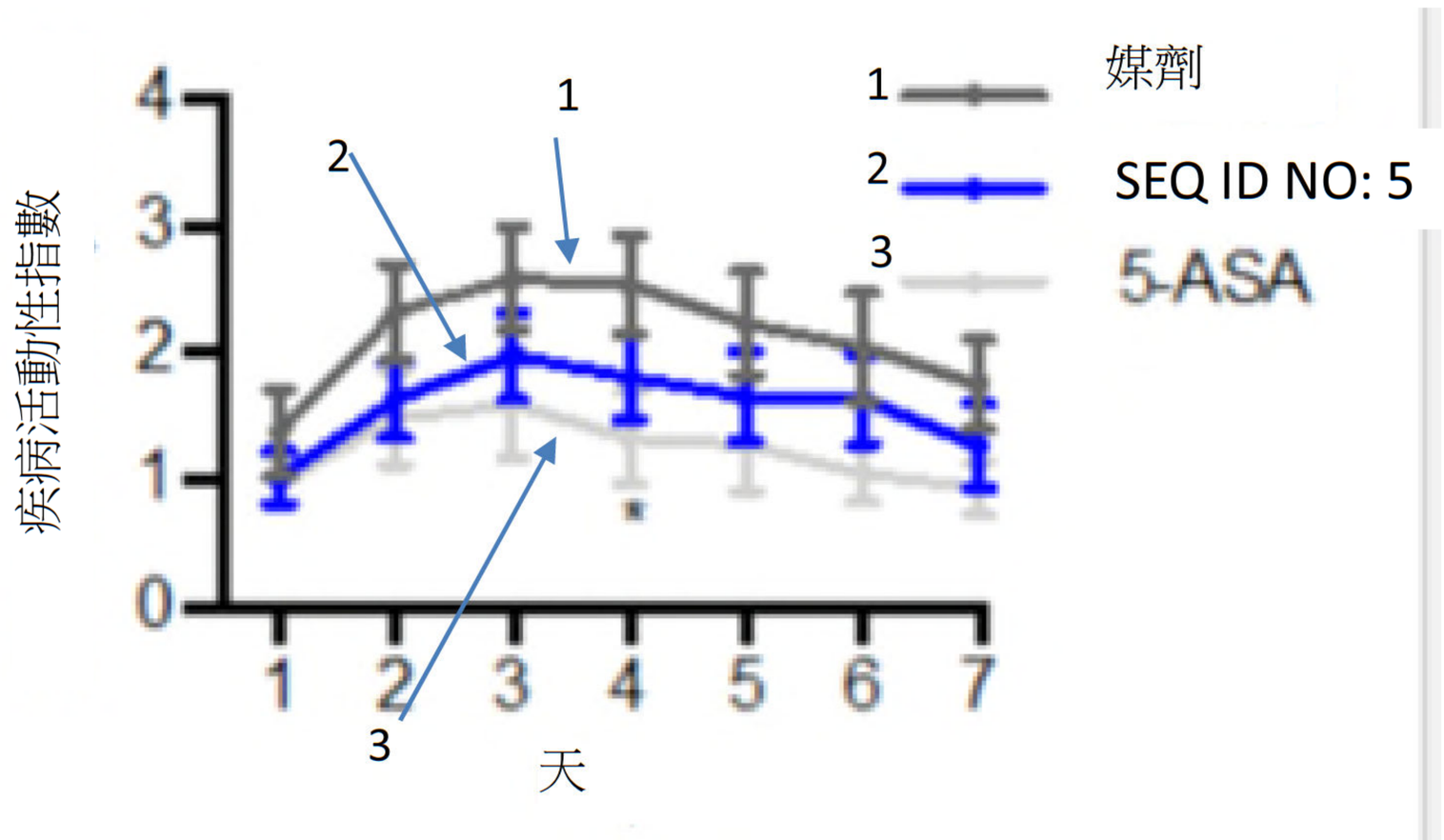




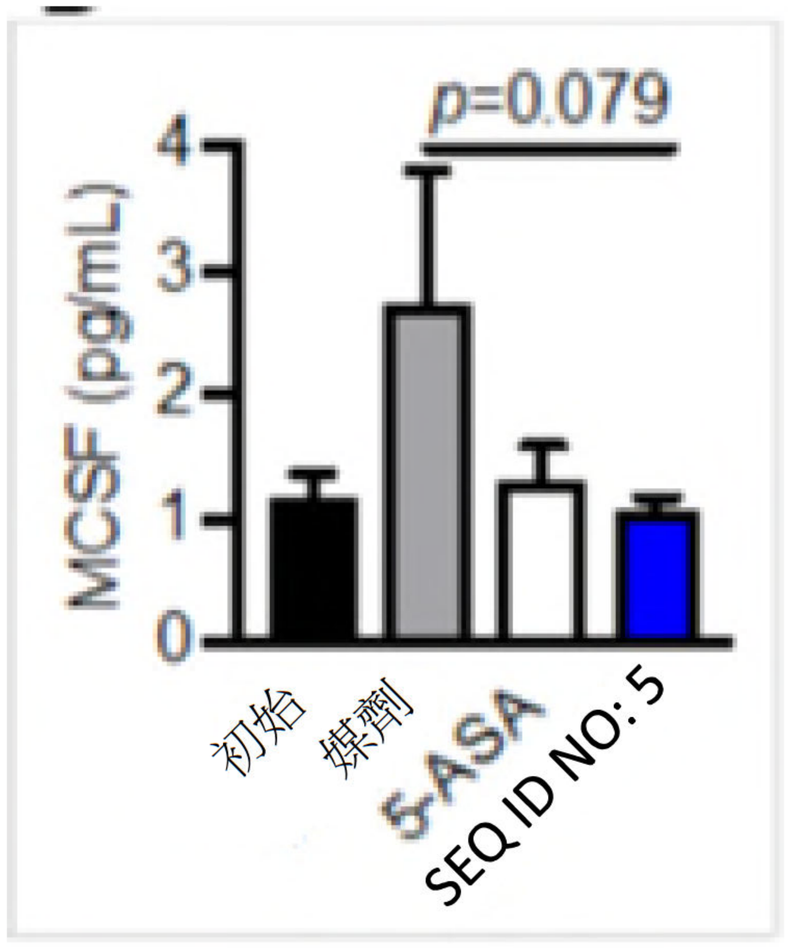
【圖38B】



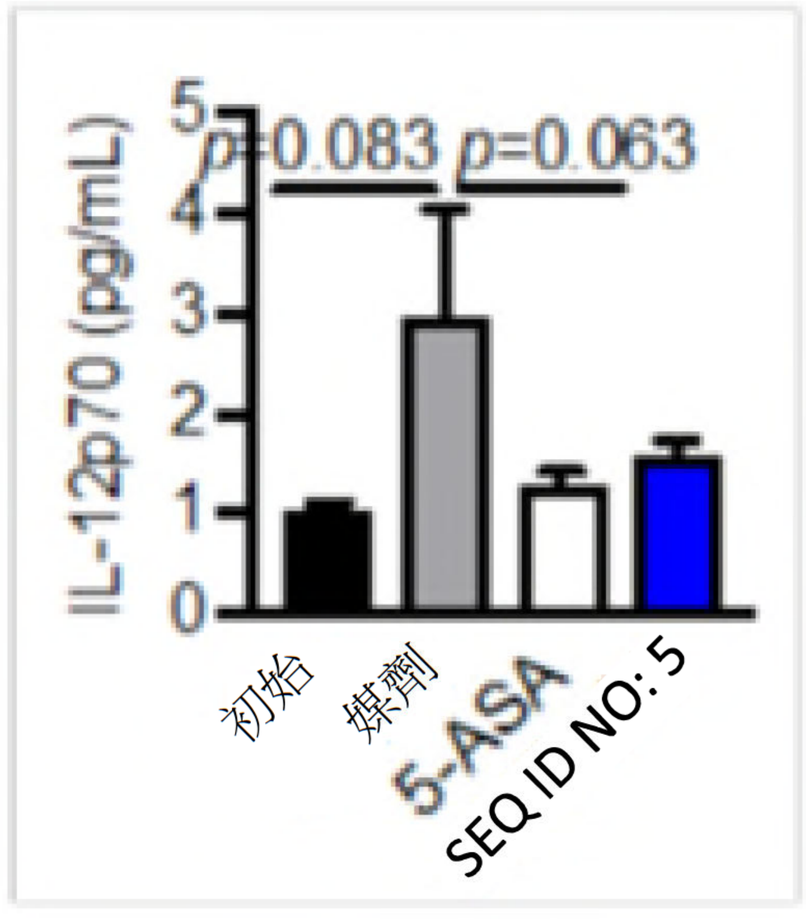
【圖38C】



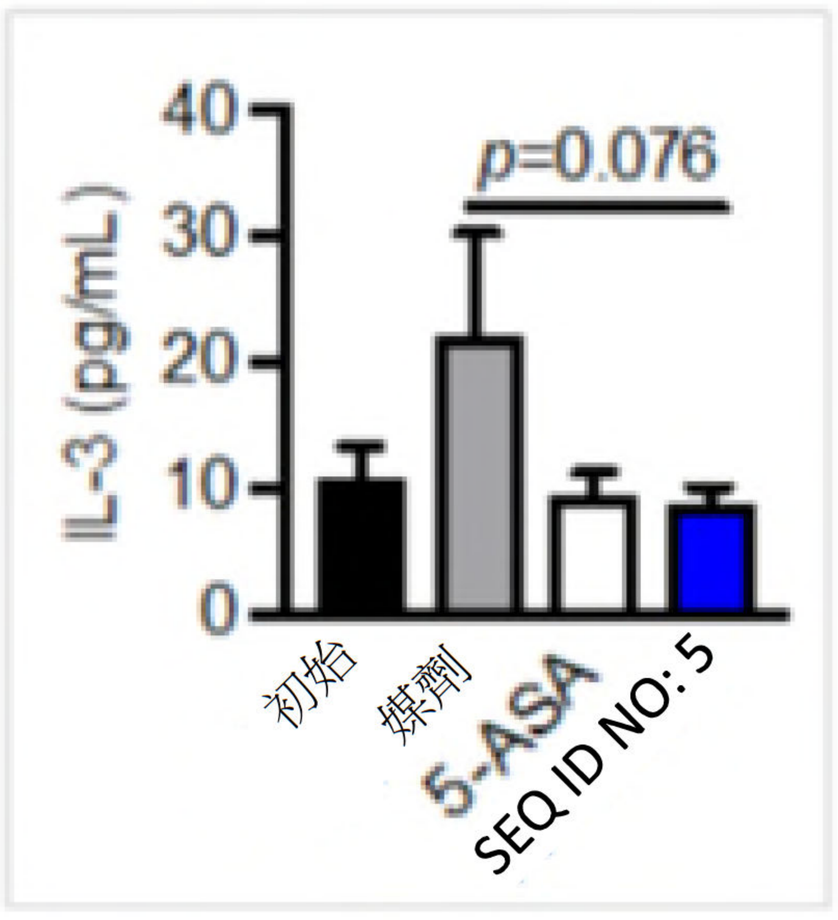
【圖38D】



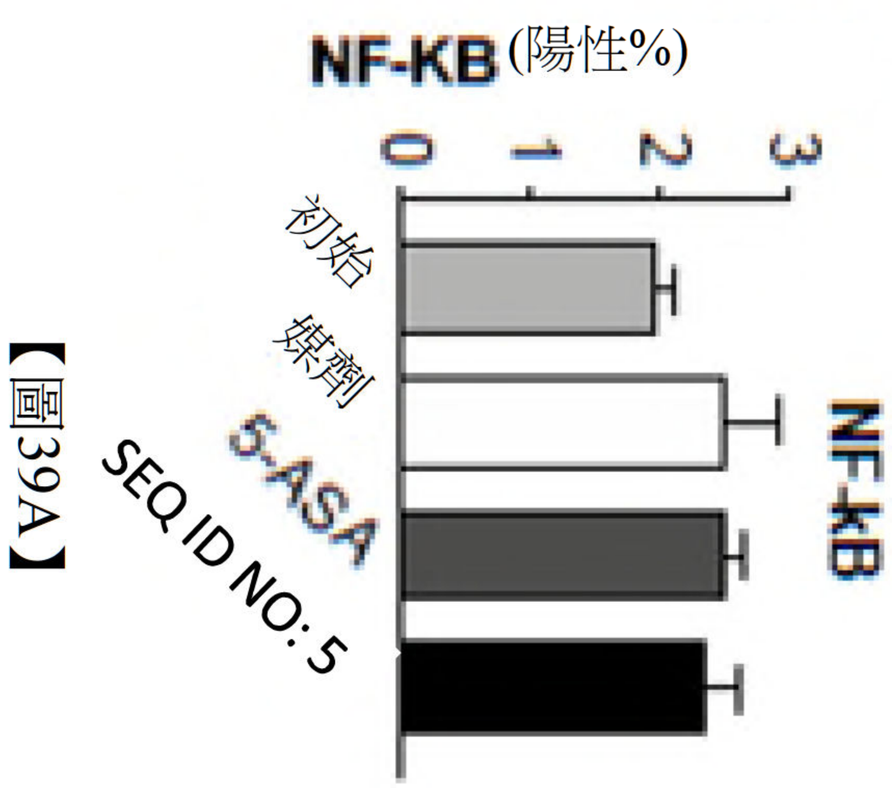
【圖38E】



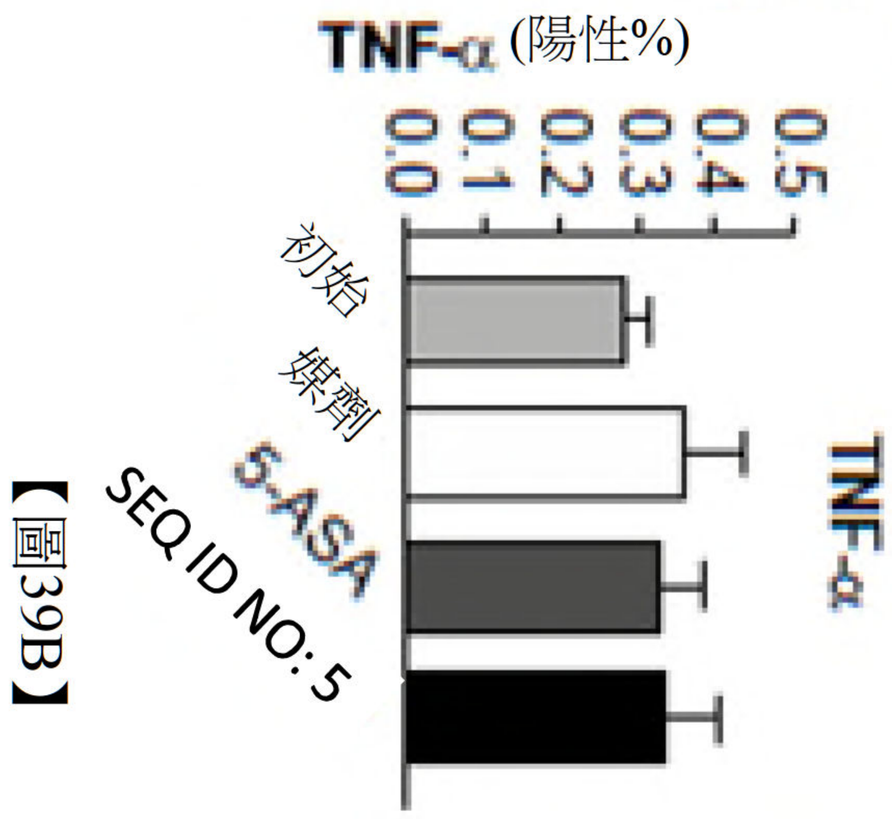
【圖38F】



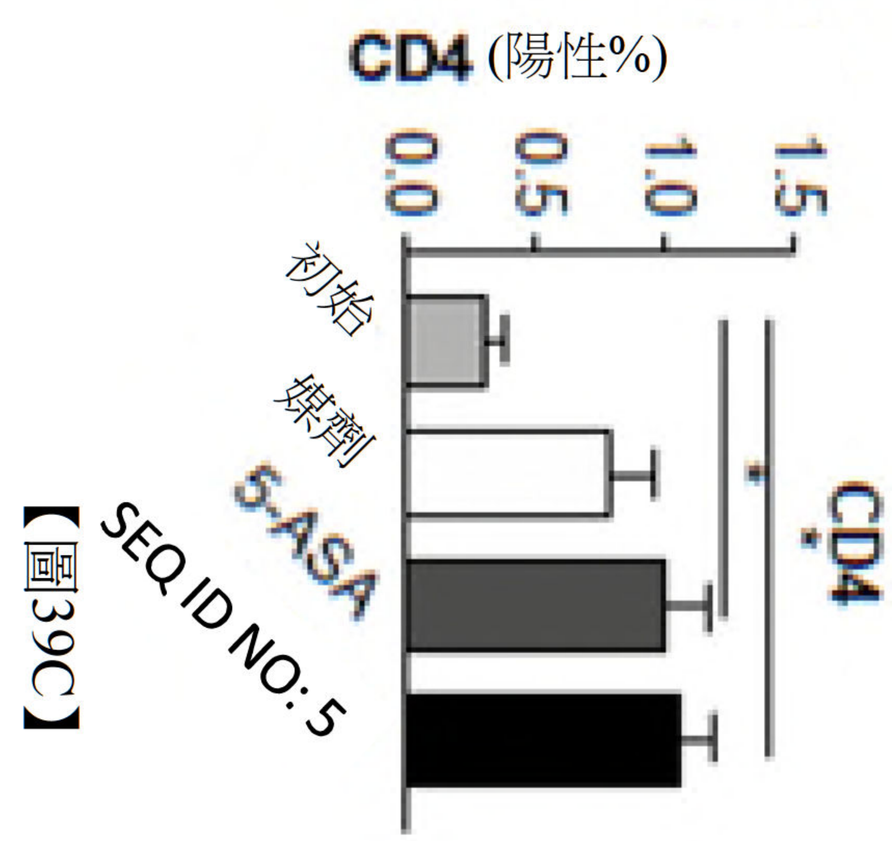
【圖38G】



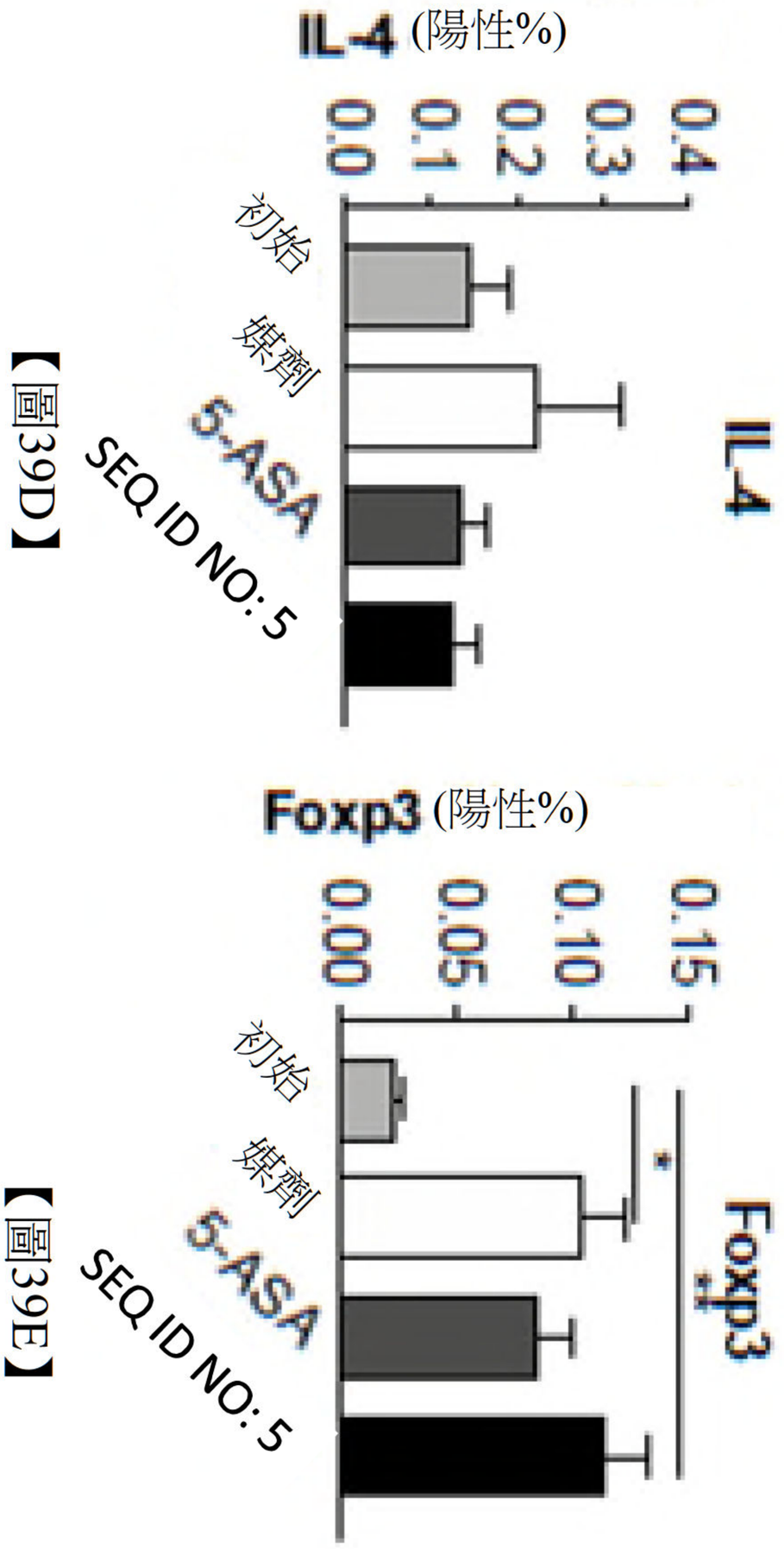
【圖39A】



【圖39B】

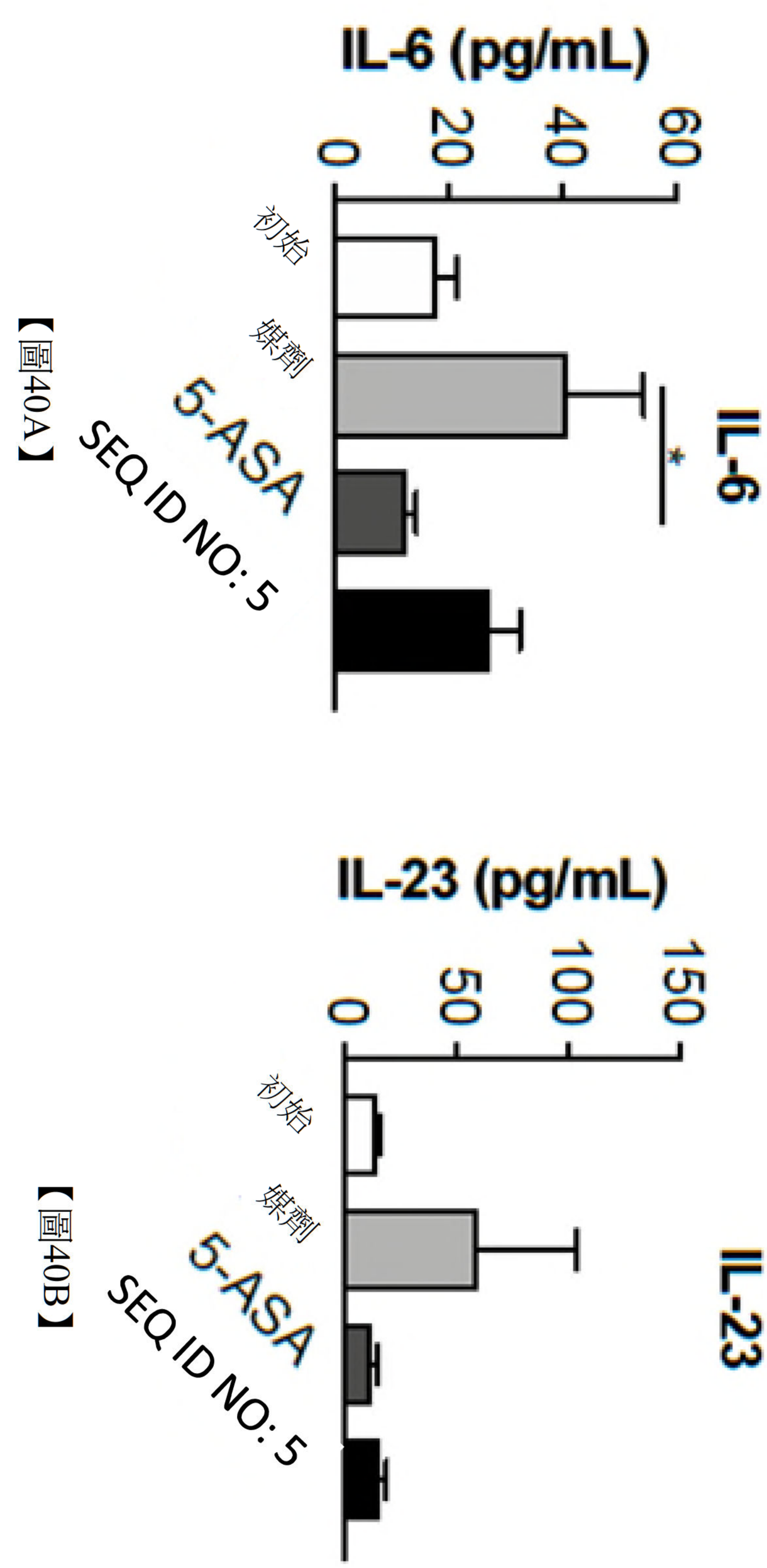


【圖39C】



【圖39D】

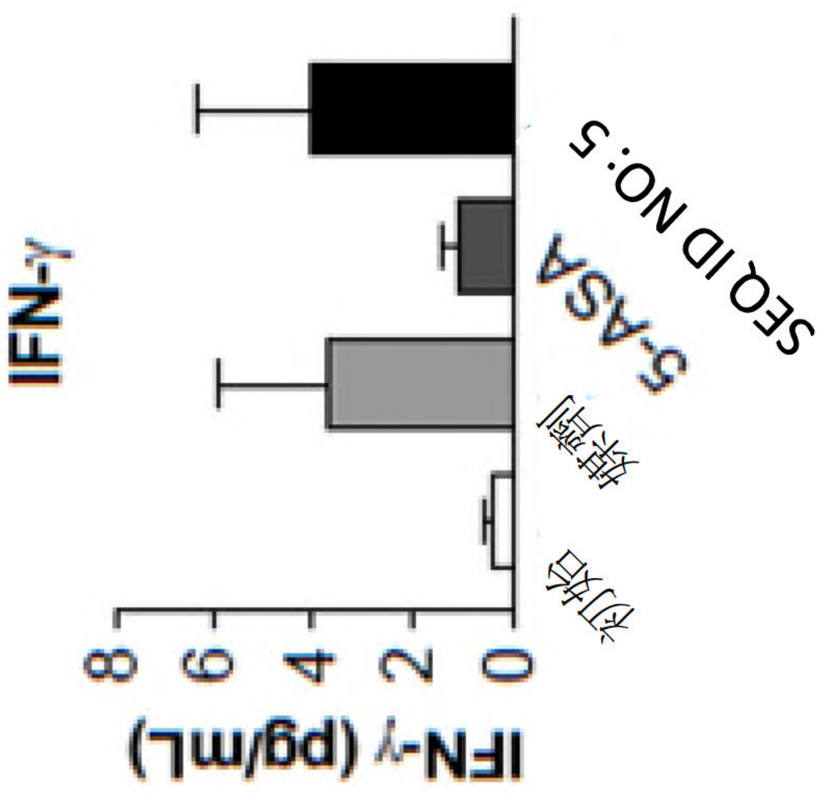
【圖39E】


IL-6 (pg/mL)
0
20
40
60
IL-6
*
初始
媒劑
5-ASA
SEQ ID NO: 5

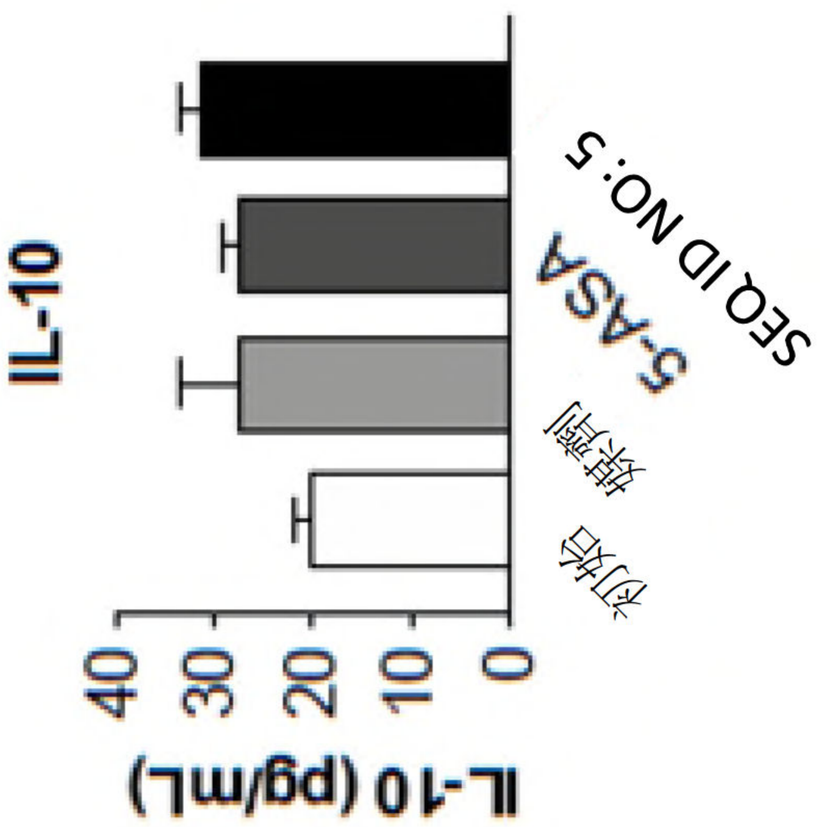
【圖40A】

IL-23 (pg/mL)
0
50
100
150
IL-23
初始
媒劑
5-ASA
SEQ ID NO: 5

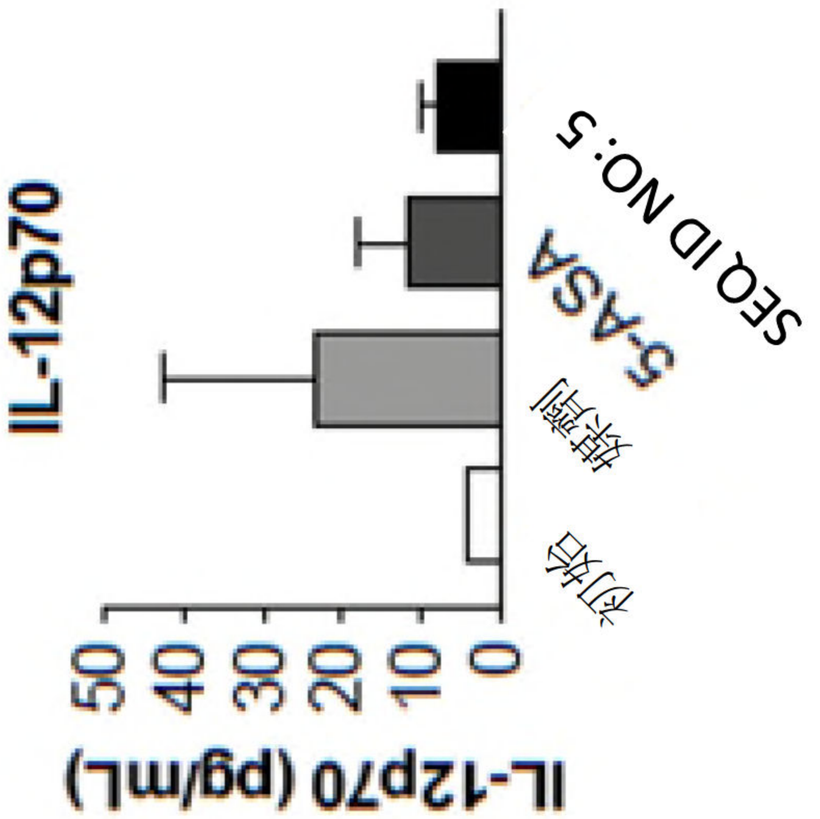
【圖40B】



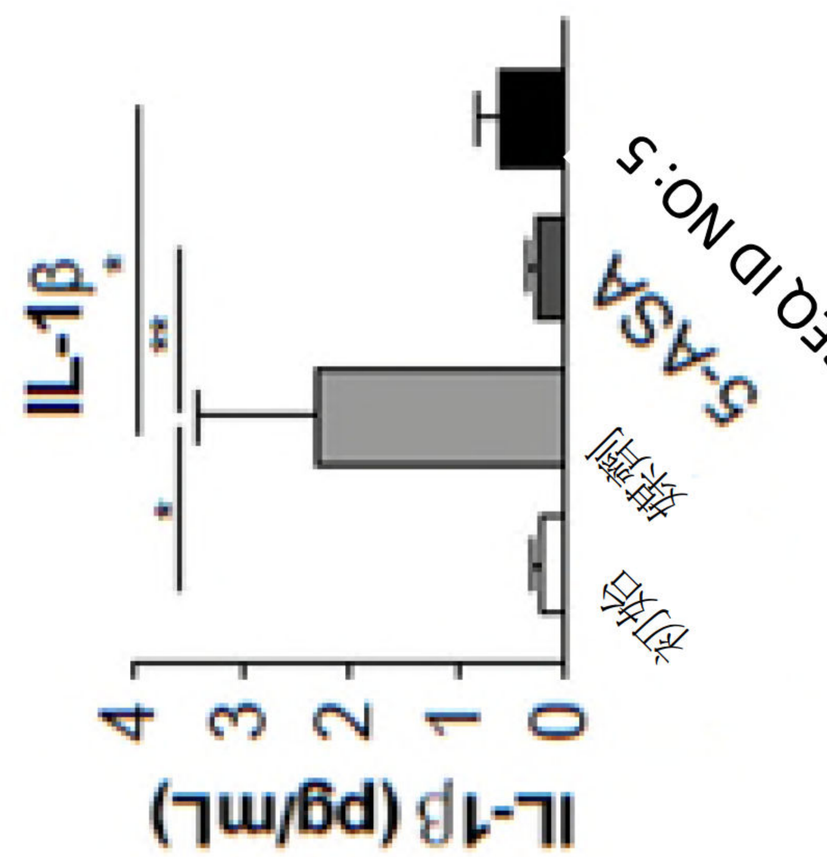
【圖41A】



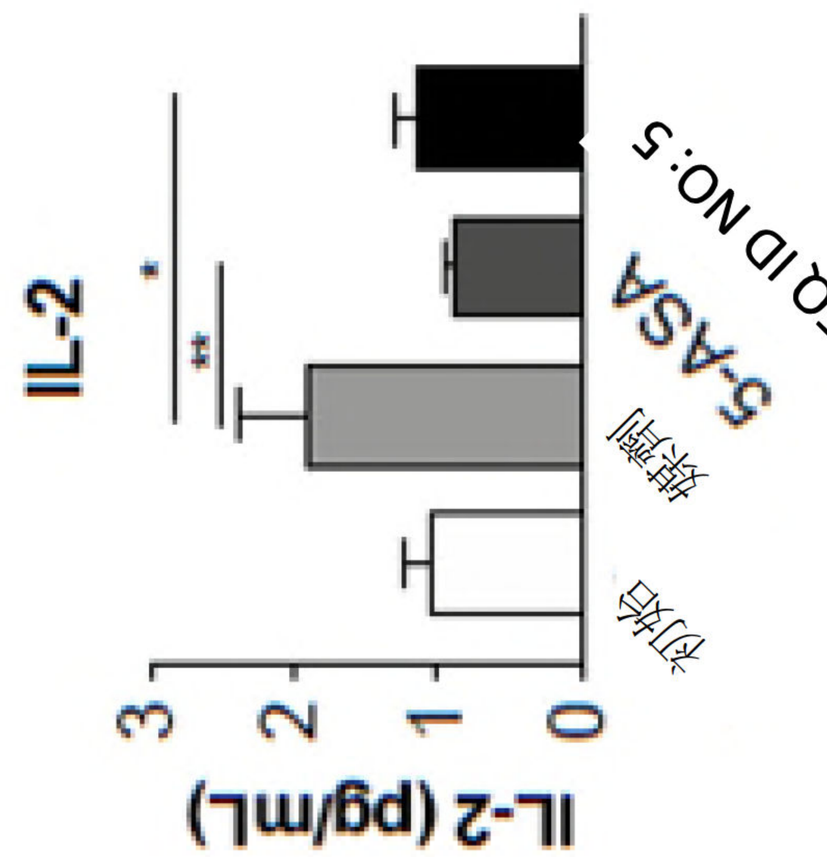
【圖41B】



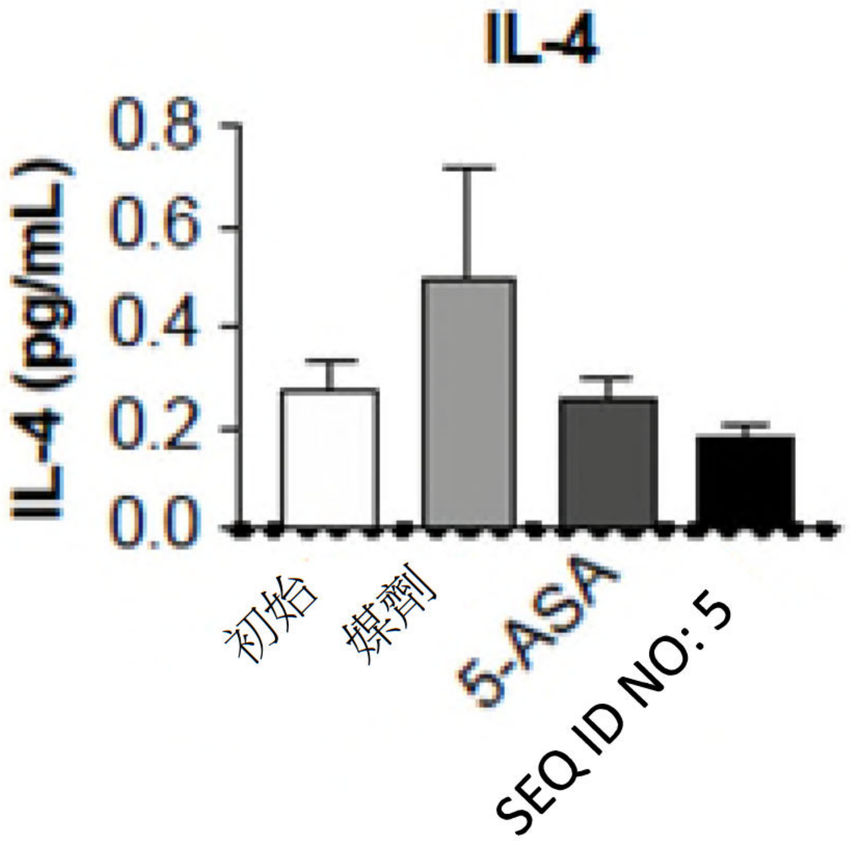
【圖41C】



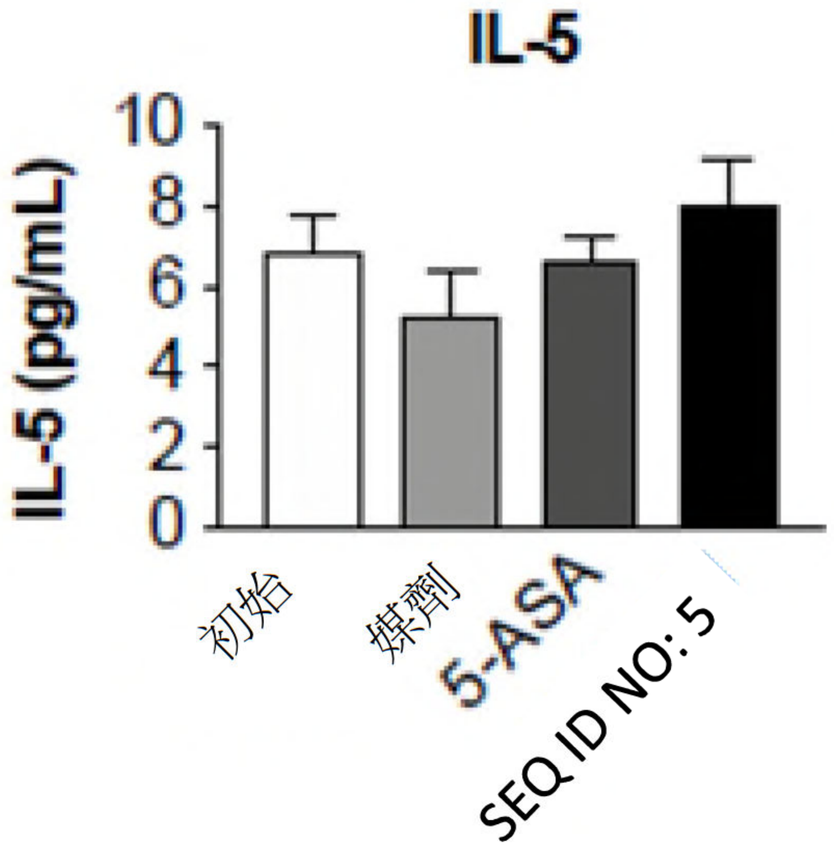
【圖41D】



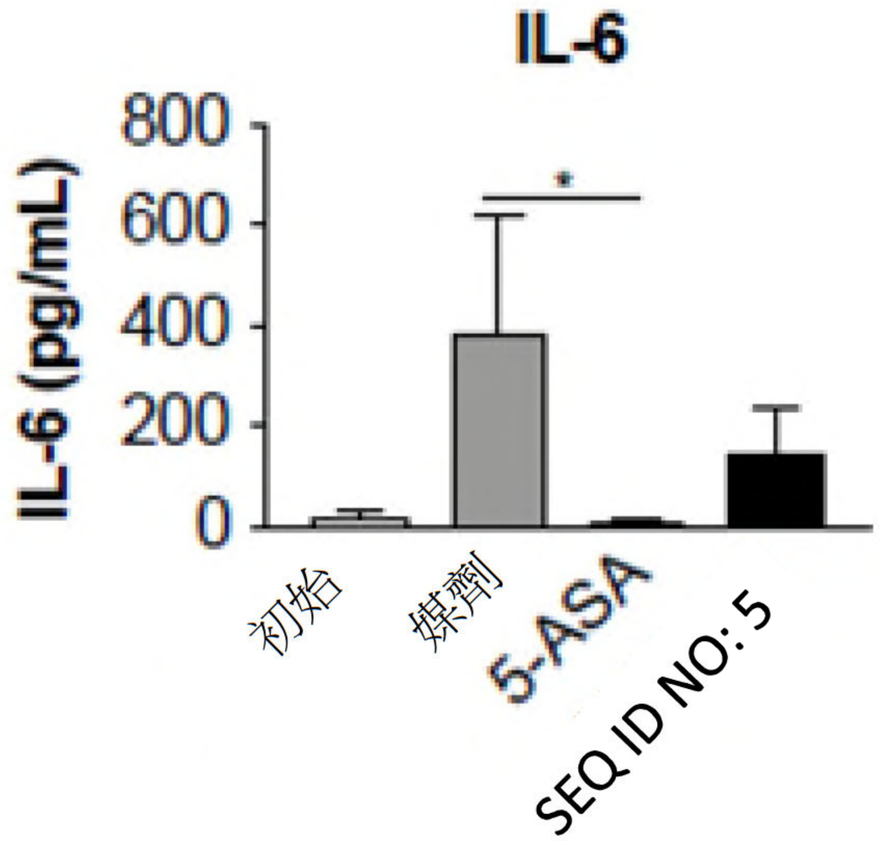
【圖41E】



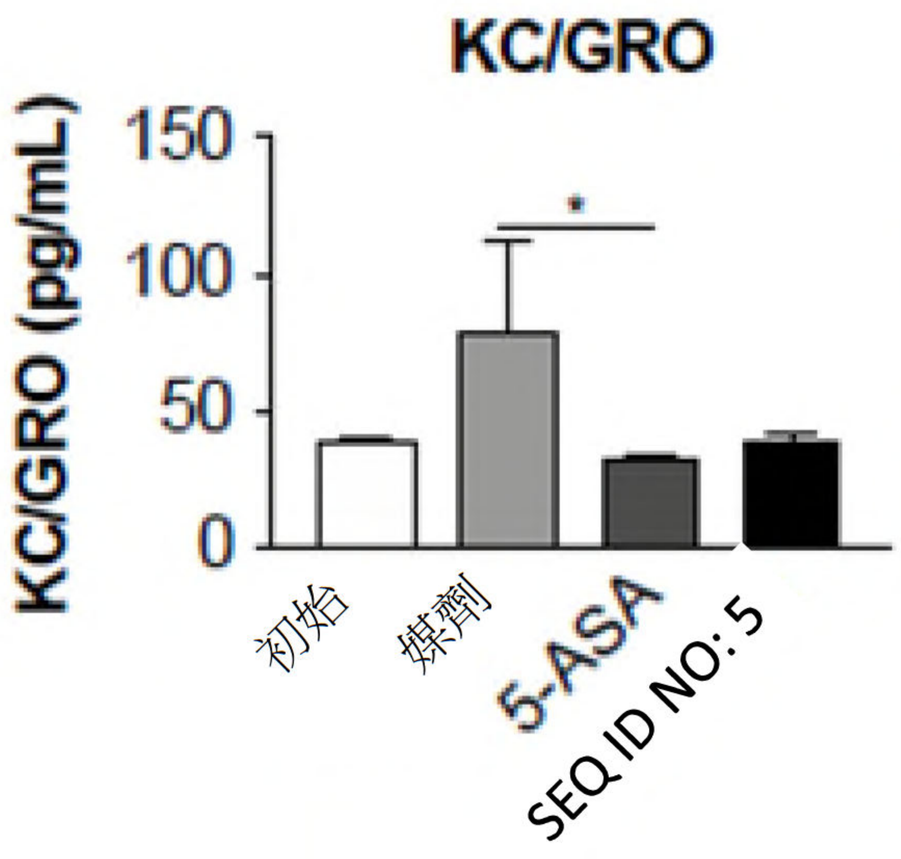
【圖41F】



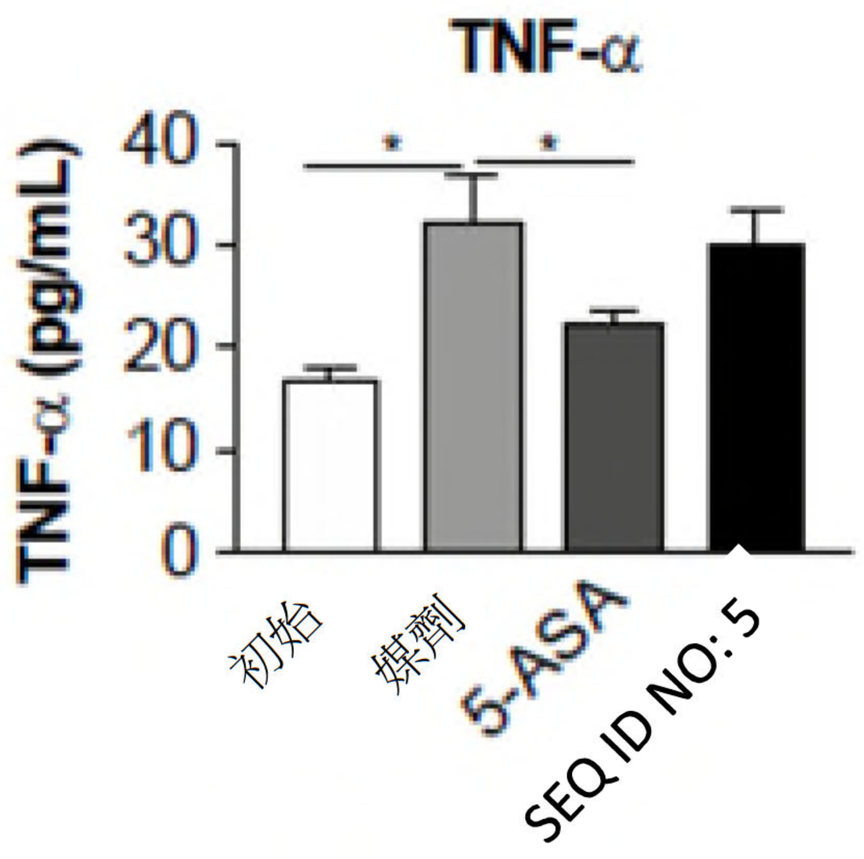
【圖41G】



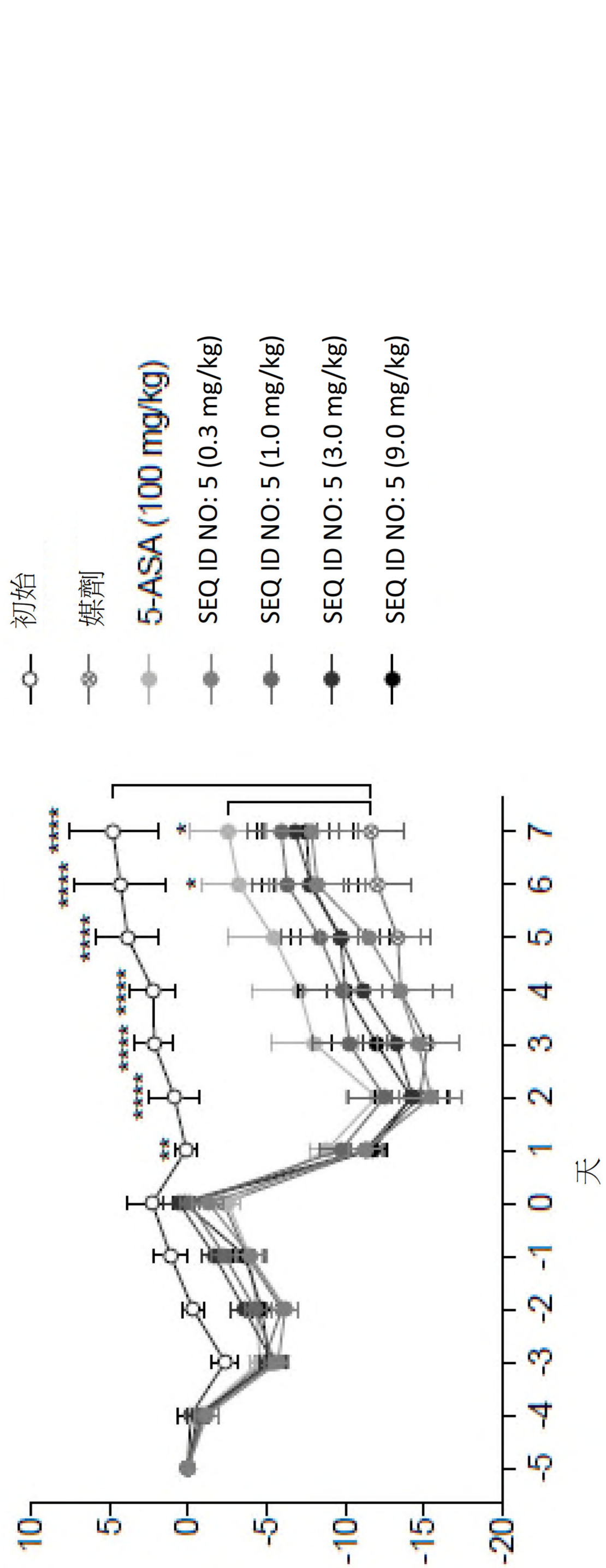
【圖41H】



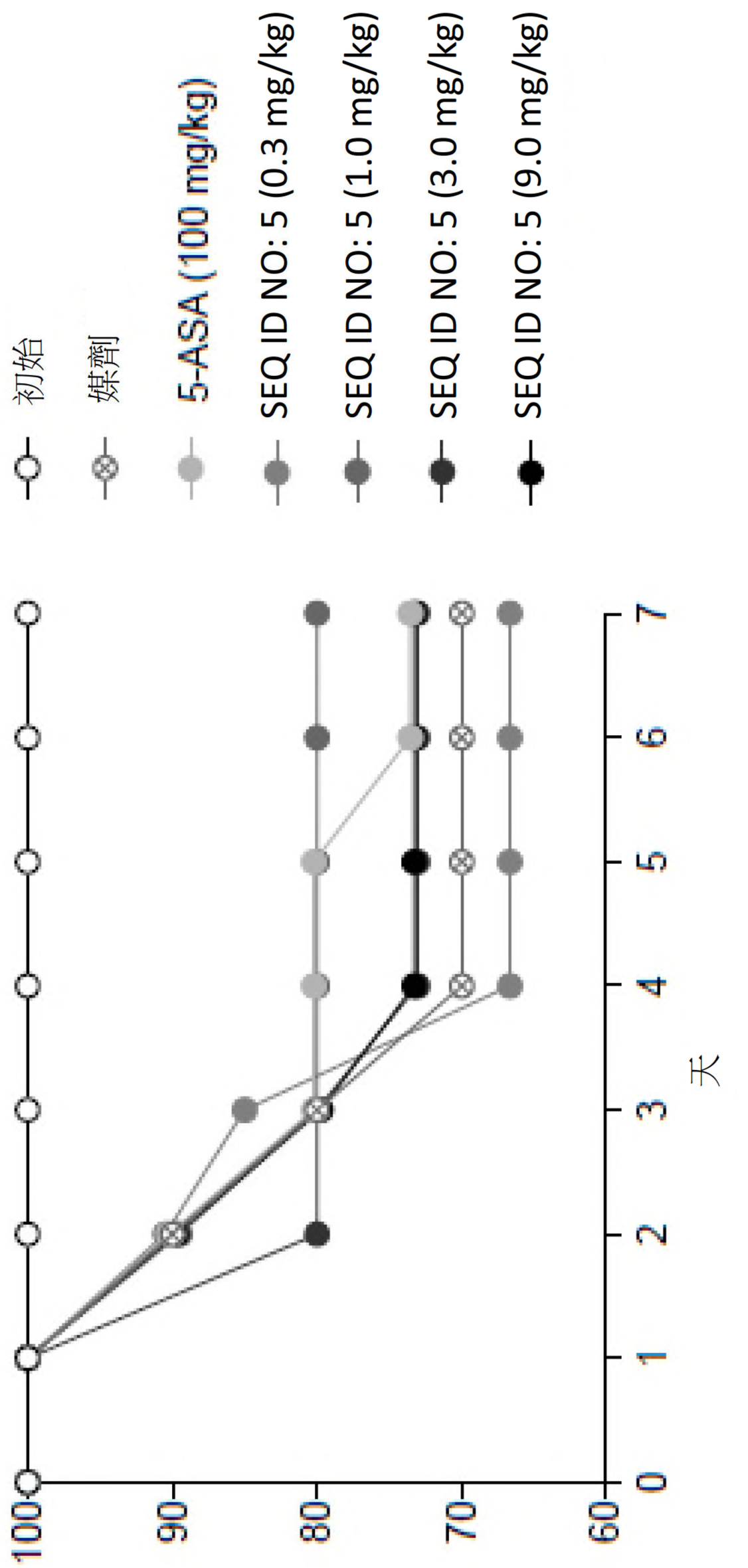
【圖41I】



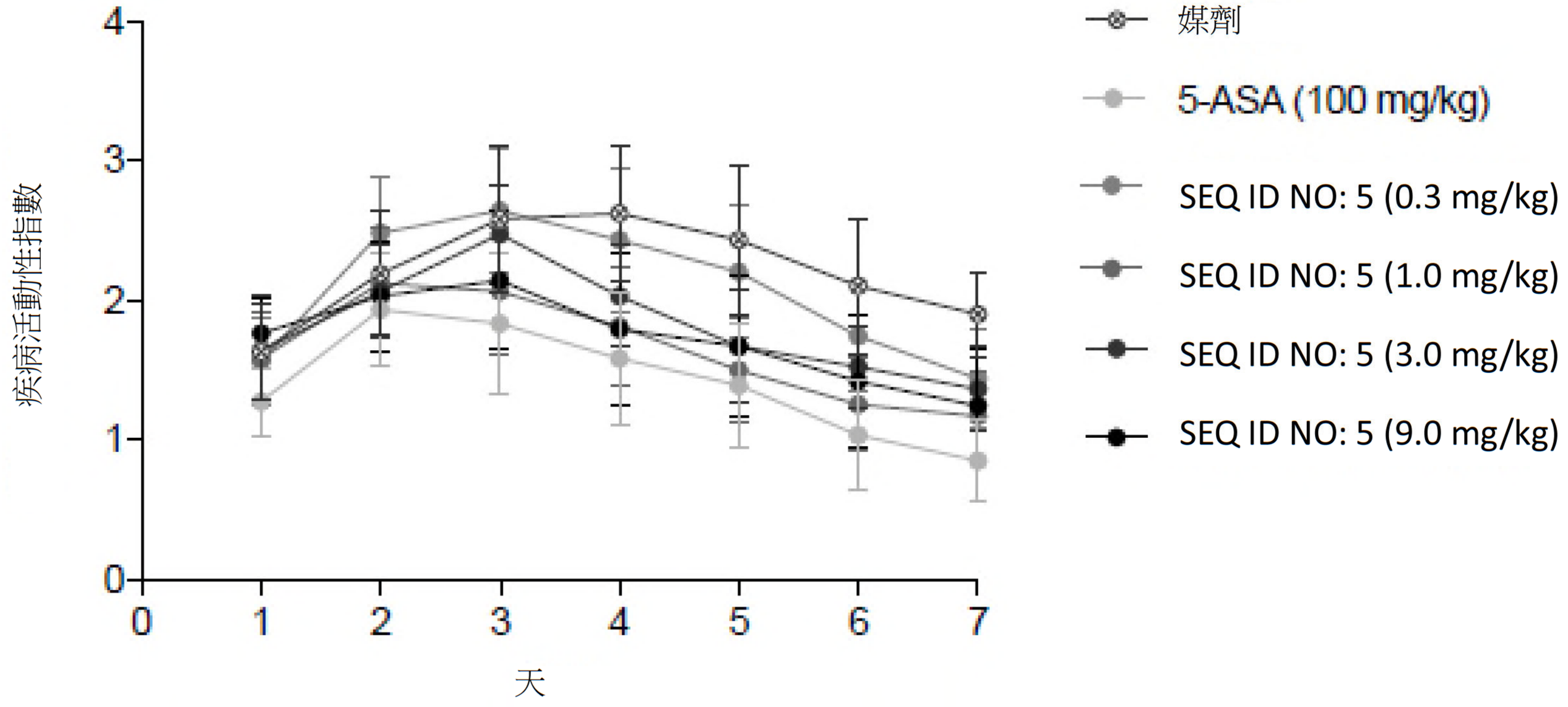
【圖41J】


初始
媒劑
5-ASA (1
SEQ ID NO
SEQ ID NO
SEQ ID NO
SEQ ID NO
00 mg/kg)
: 5 (0.3 mg/kg)
: 5 (1.0 mg/kg)
: 5 (3.0 mg/kg)
: 5 (9.0 mg/kg)
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
天
10
5
0
-5
-10
-15
-20
體重變化(%)

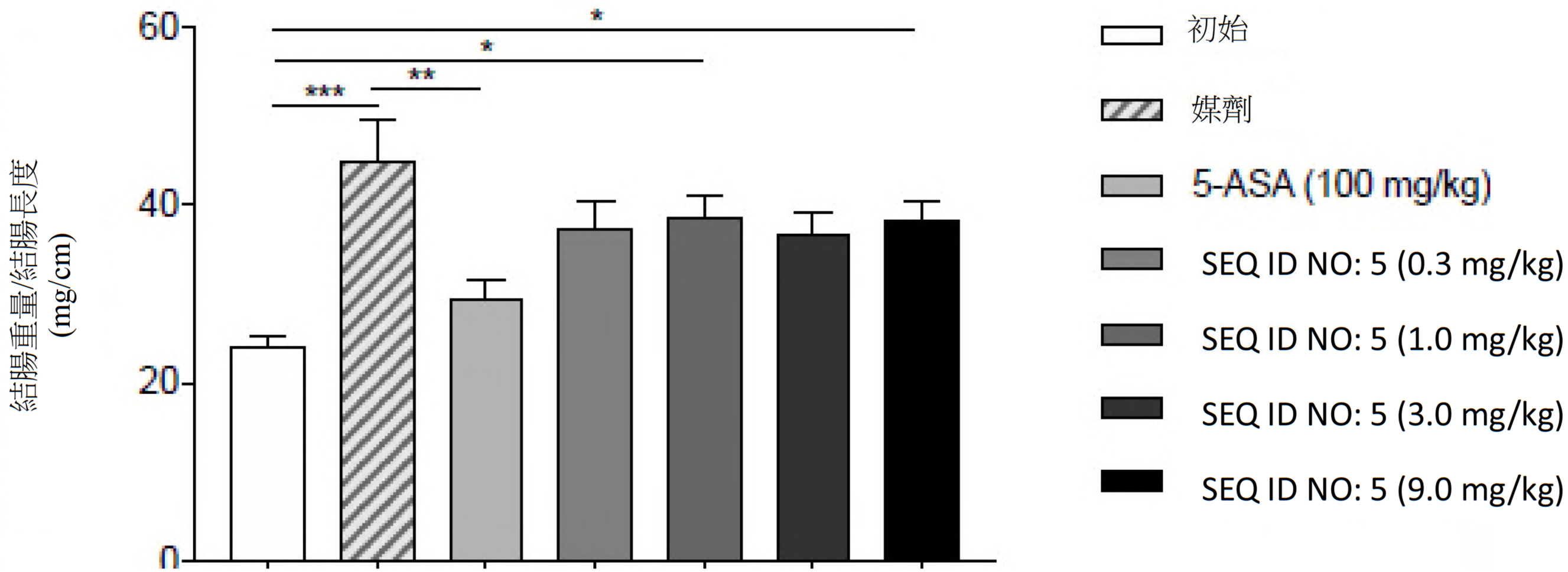
【圖42】


初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)
0
1
2
3
4
5
6
7
天
100
90
80
70
60
存活率(%)

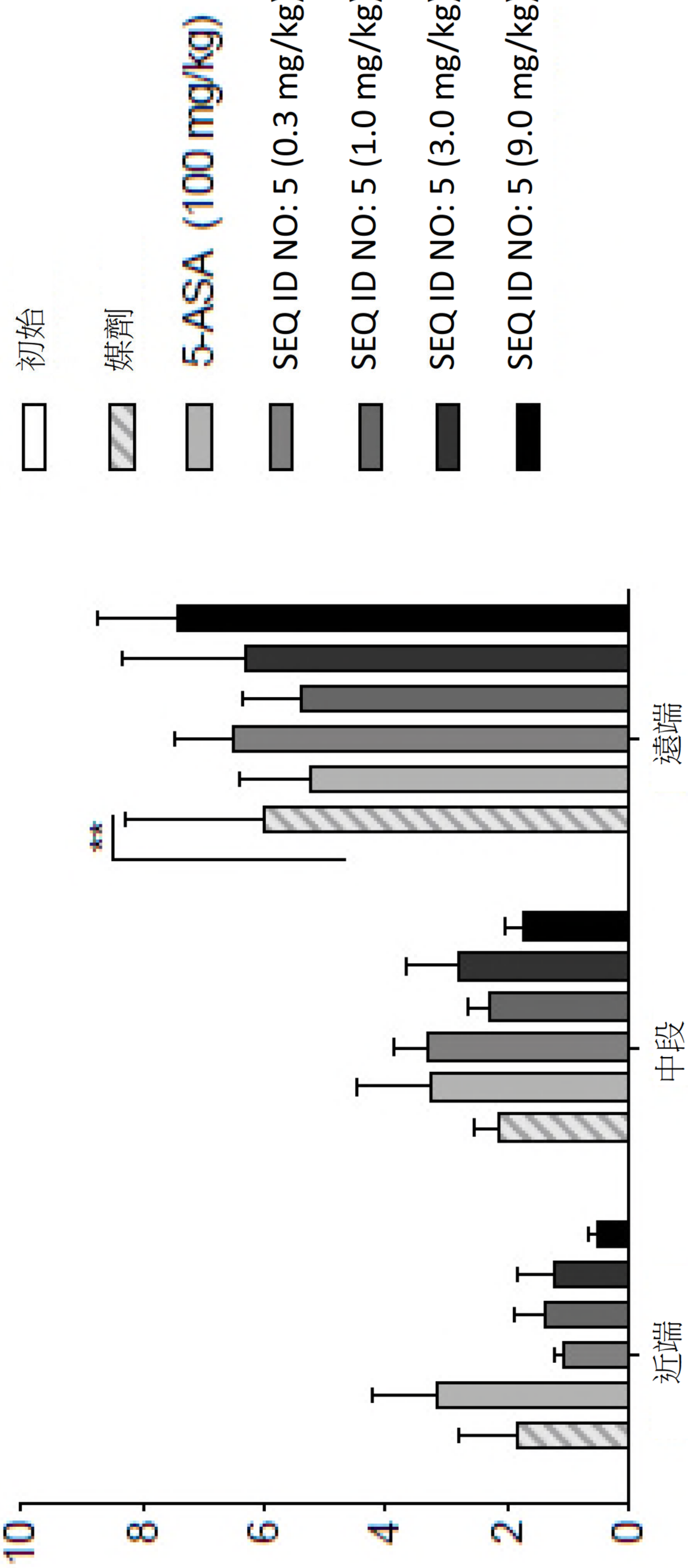
【圖43】


疾病活動性指數
天
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)

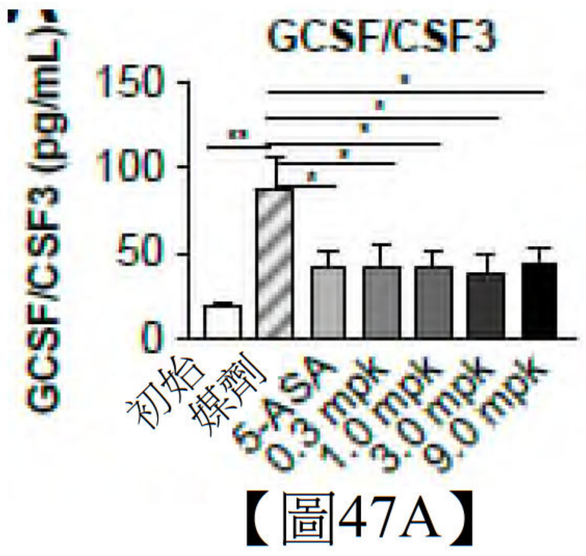
【圖44】


結腸重量/結腸長度
(mg/cm)
60
40
20
0
*
*
**
***
初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)

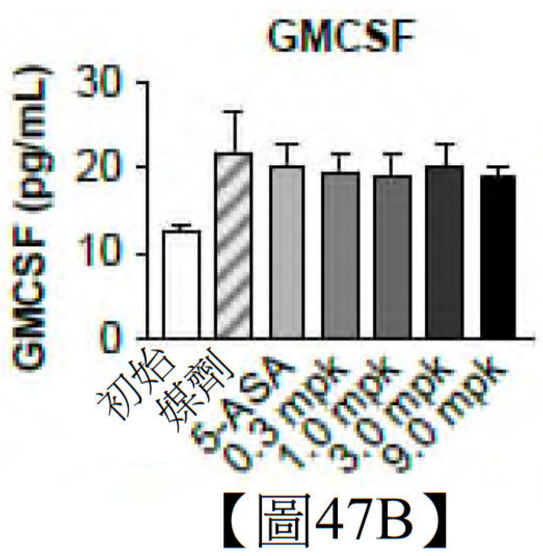
【圖45】


初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)
**
遠端
中段
近端
10
8
6
4
2
0
組織學評分

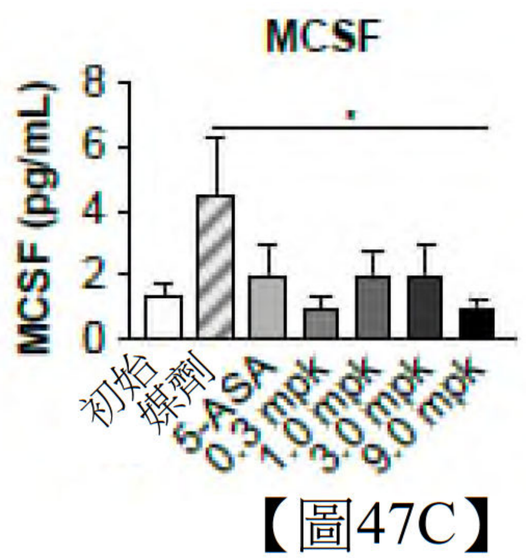
【圖46】



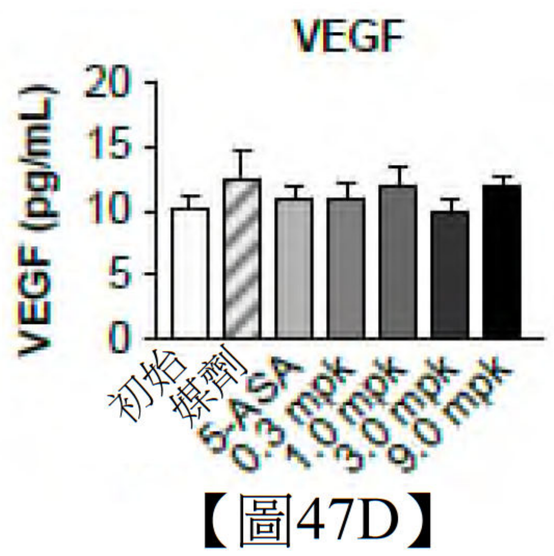
【圖47A】



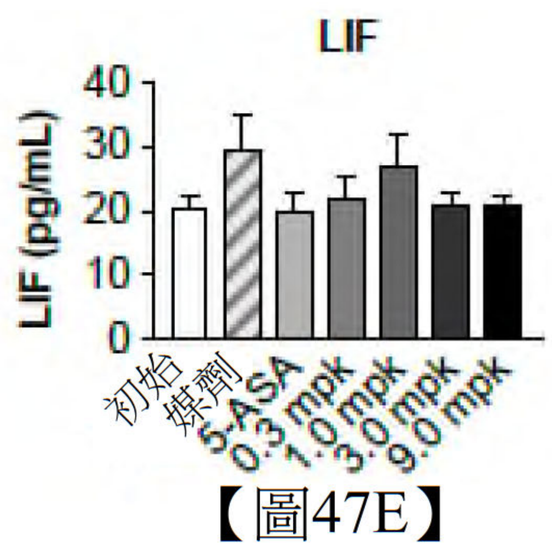
【圖47B】



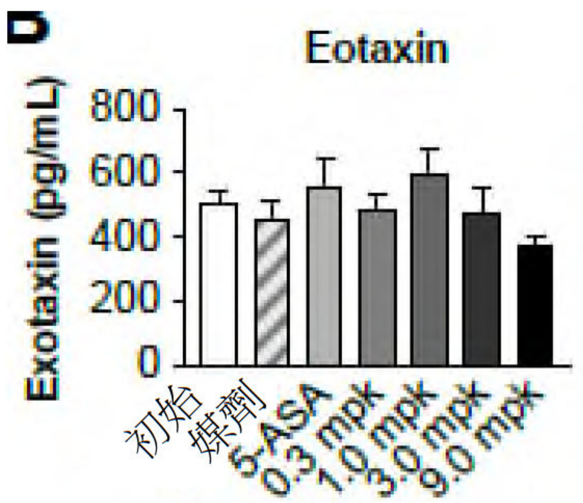
【圖47C】



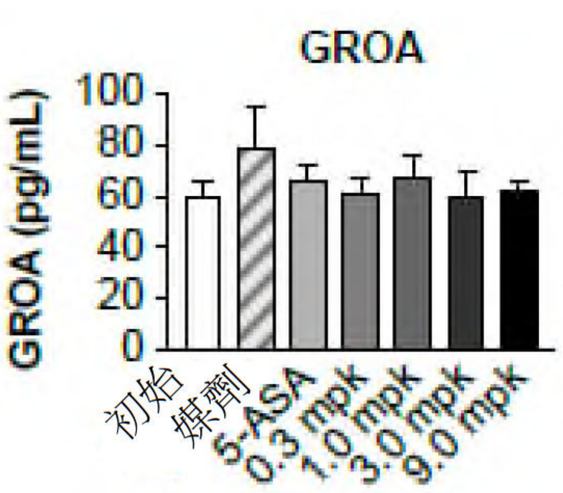
【圖47D】



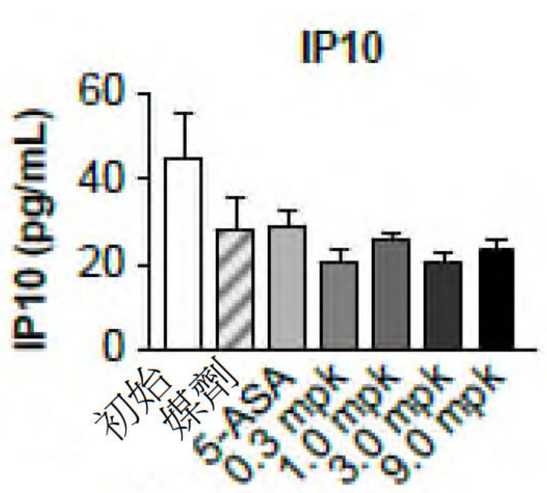
【圖47E】



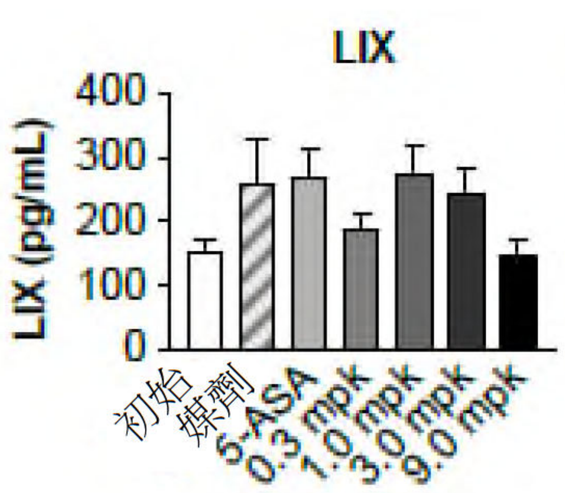
【圖47F】



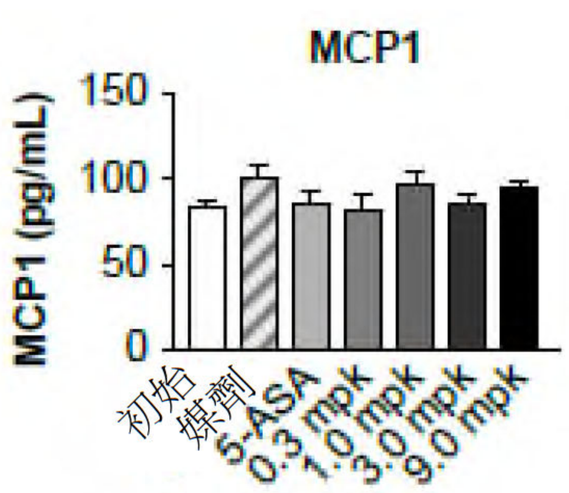
【圖47G】



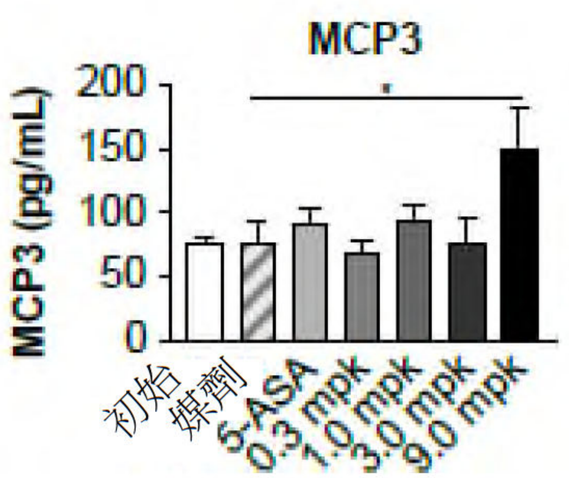
【圖47H】



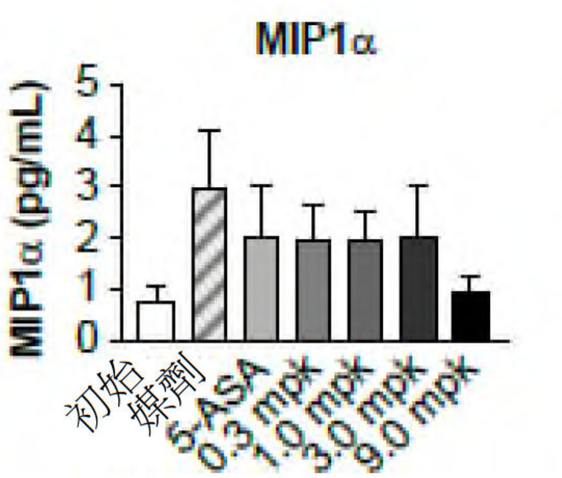
【圖47I】



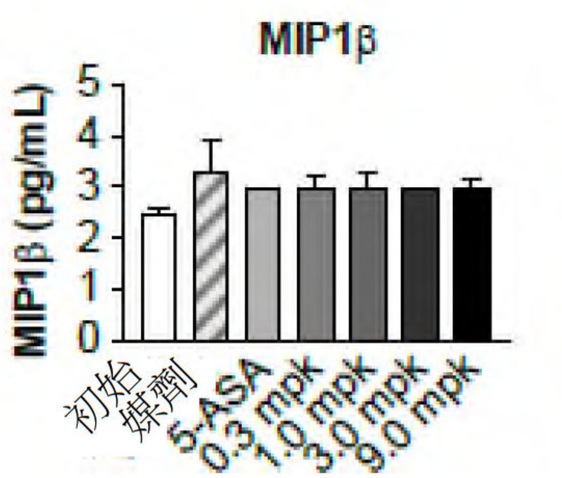
【圖47J】



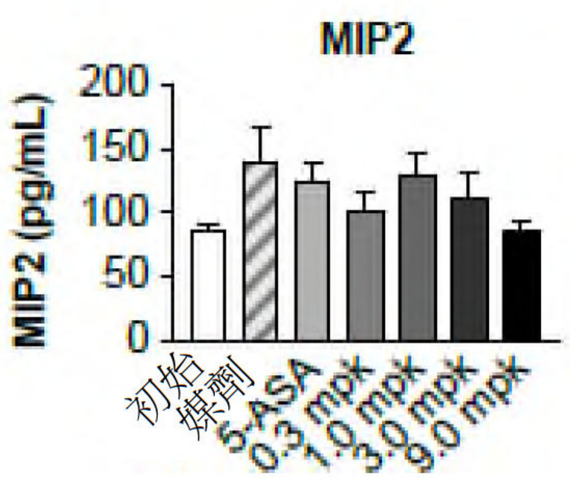
【圖47K】



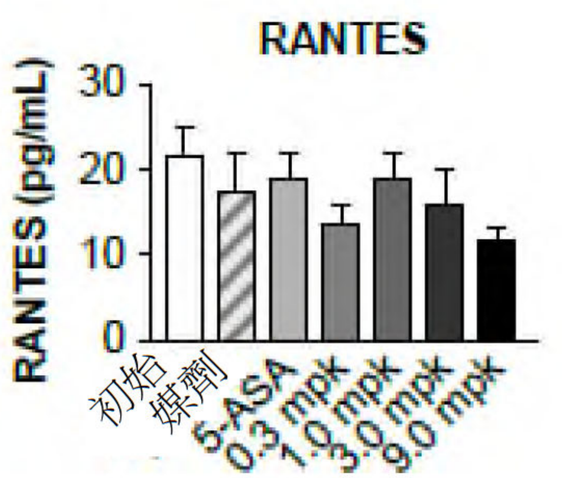
【圖47L】



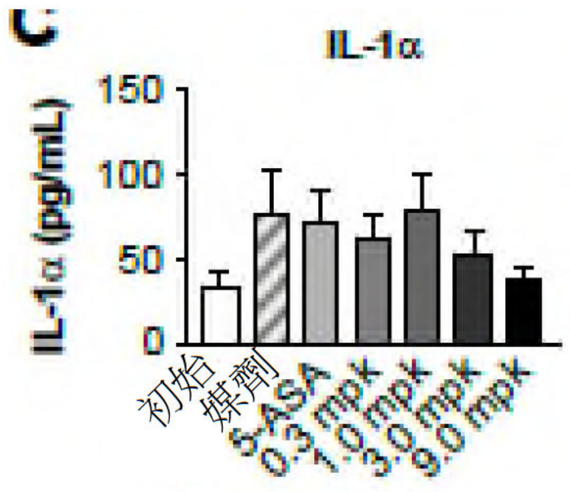
【圖47M】



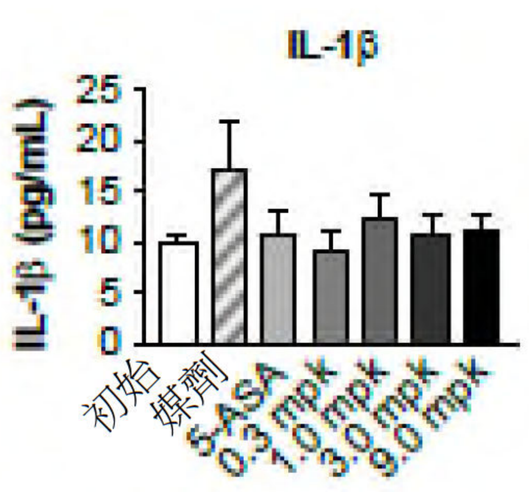
【圖47N】



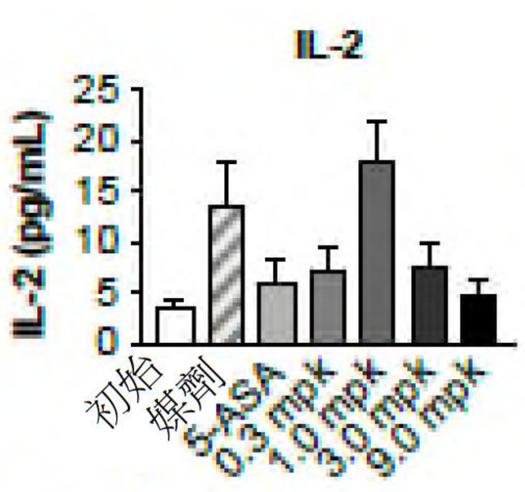
【圖47O】



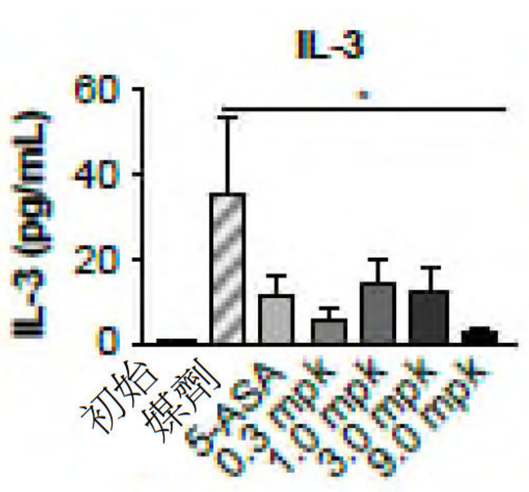
【圖47P】



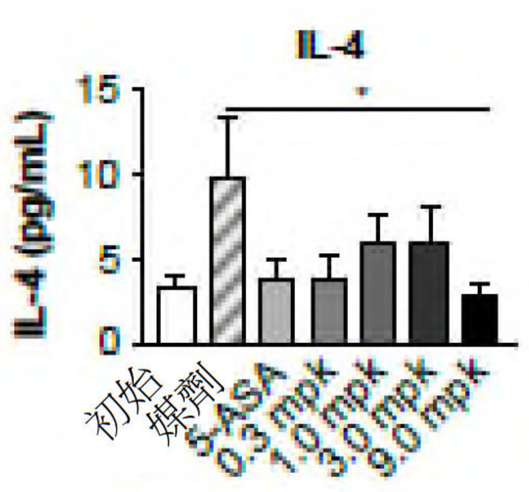
【圖47Q】



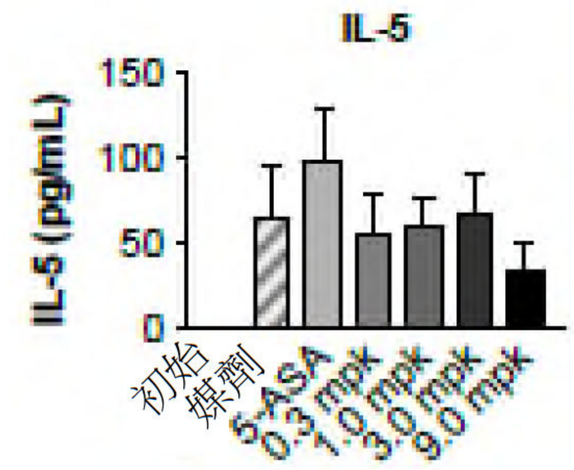
【圖47R】



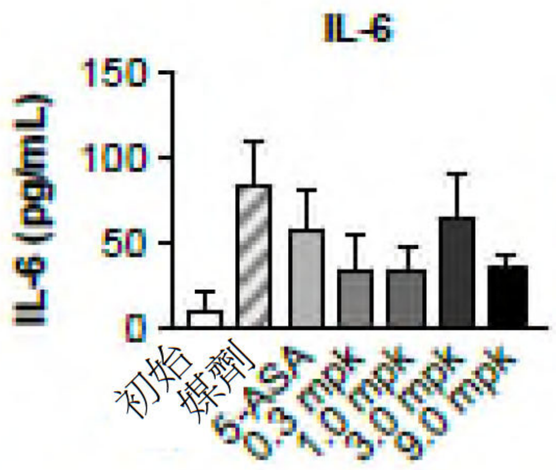
【圖47S】



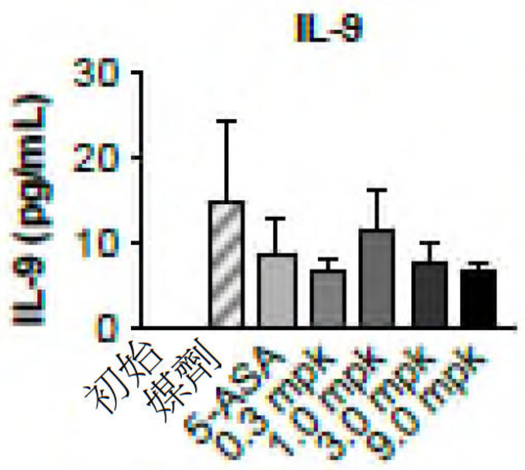
【圖47T】



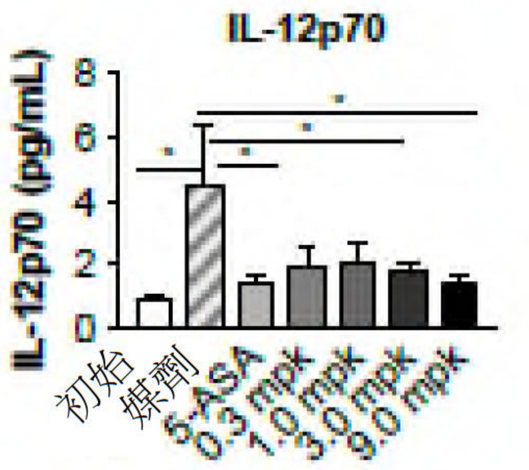
【圖47U】



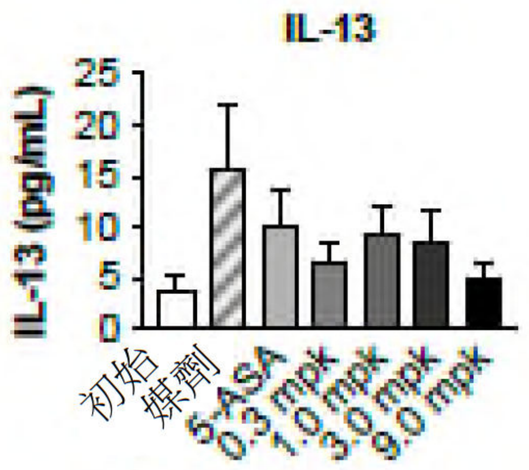
【圖47V】



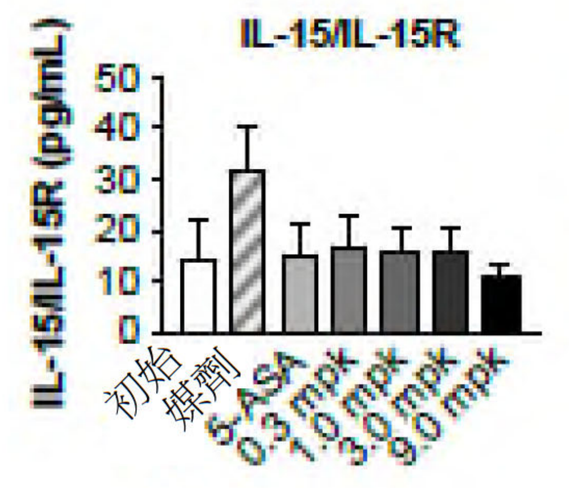
【圖47W】



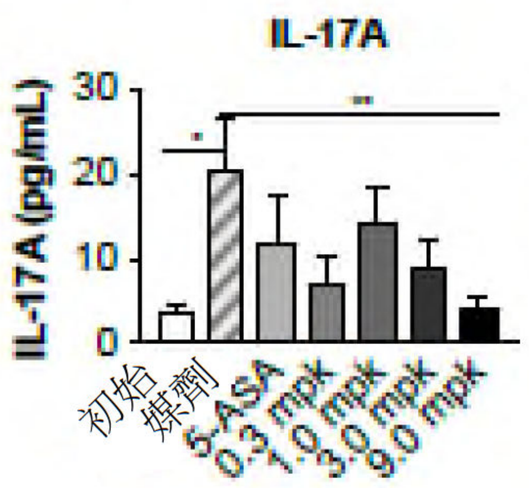
【圖47X】



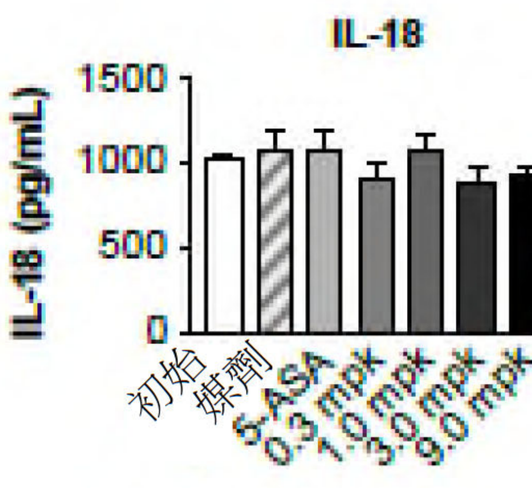
【圖47Y】



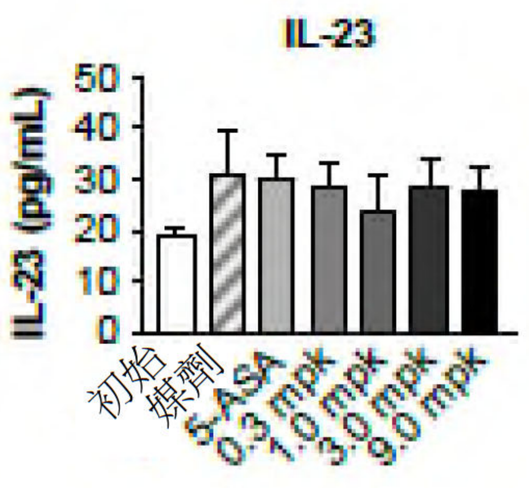
【圖47Z】



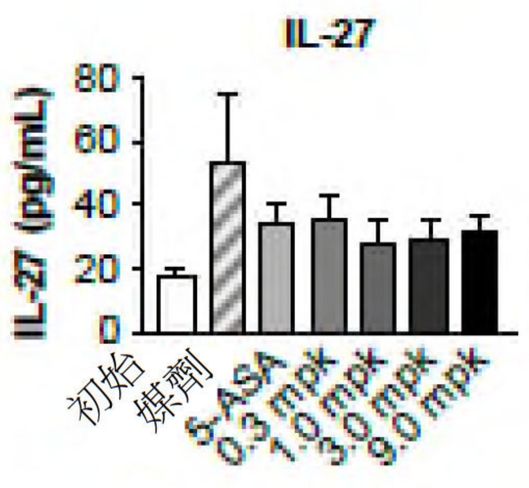
【圖47AA】



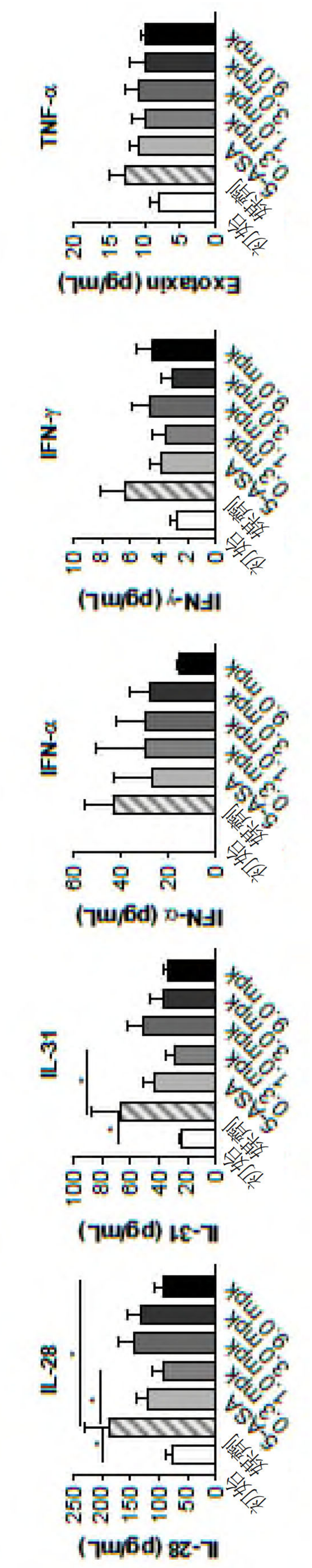
【圖47BB】



【圖47CC】



【圖47DD】



【圖47II】

【圖47HH】

【圖47GG】

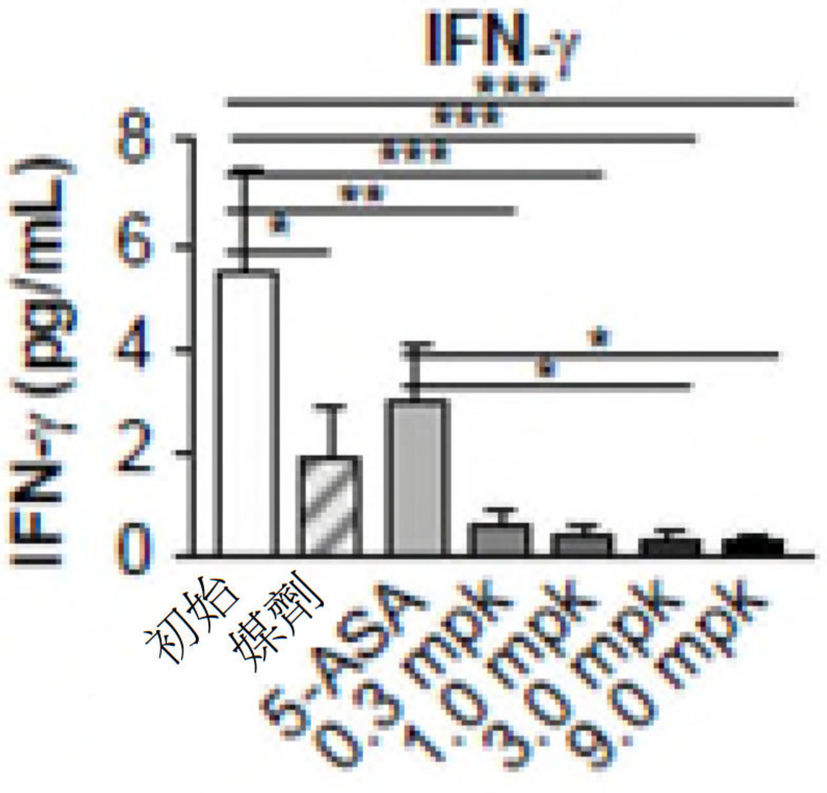
【圖47LL】

【圖47FF】

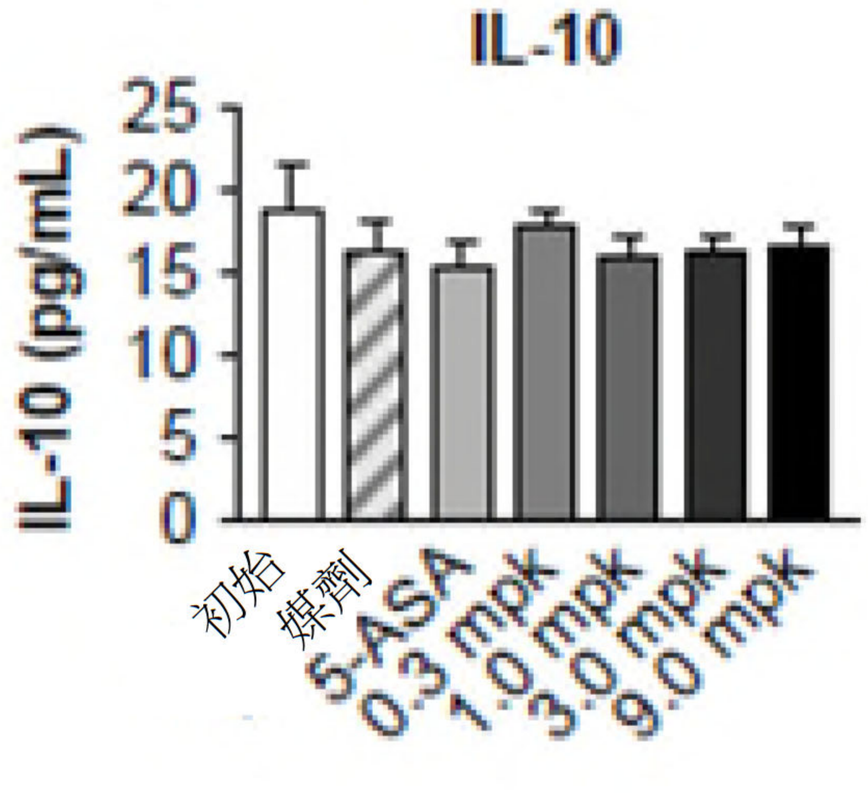
【圖47KK】

【圖47EE】

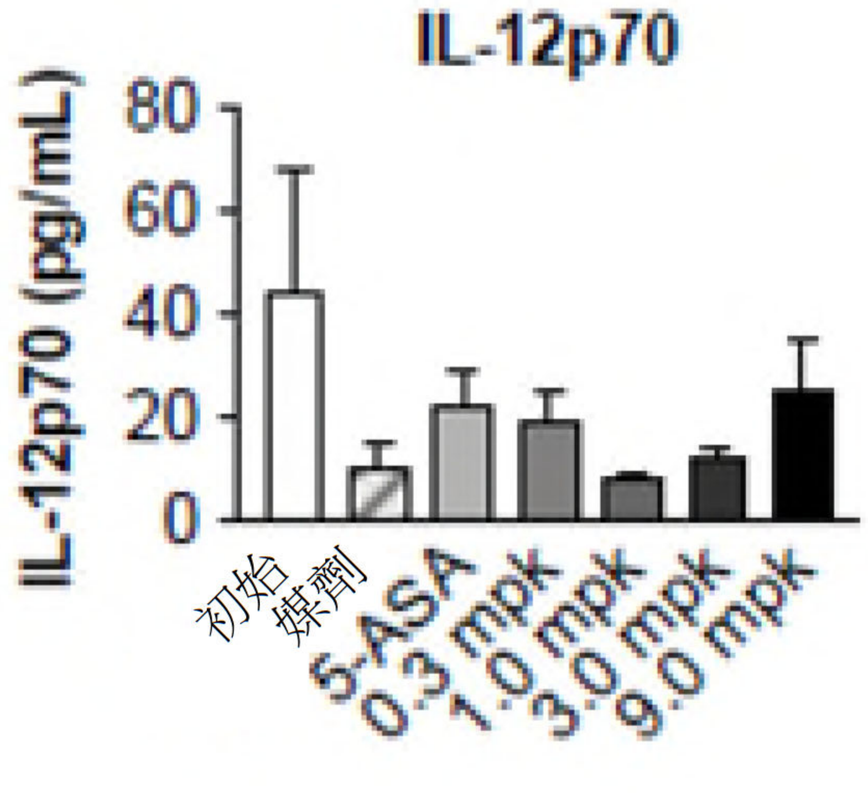
【圖47JJ】



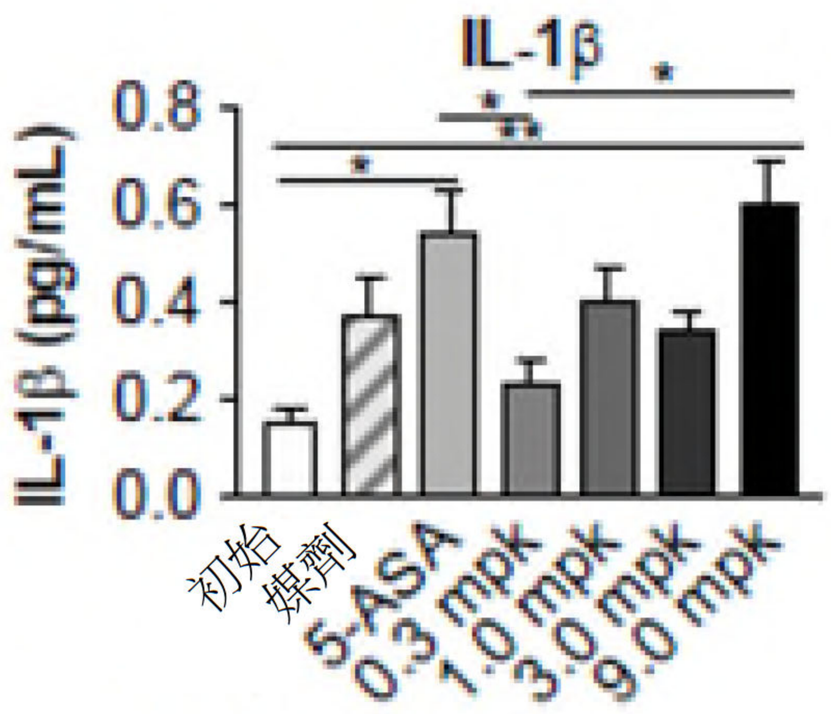
【圖48A】



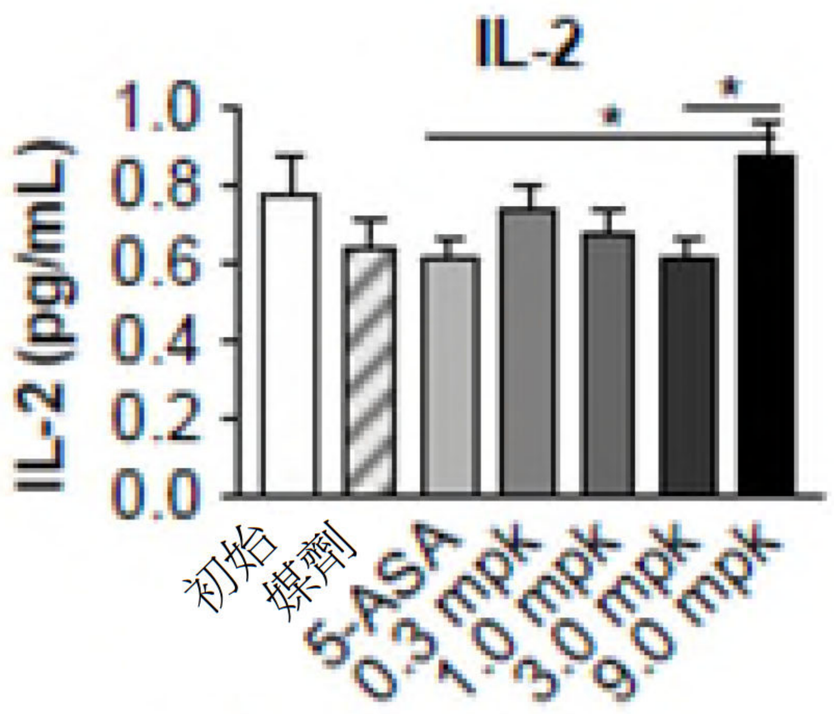
【圖48B】



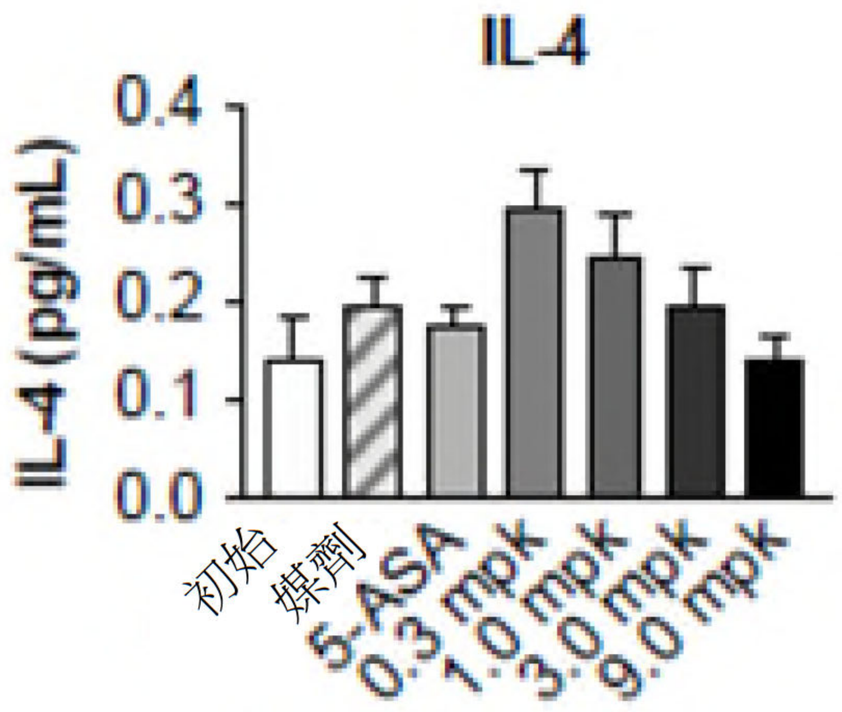
【圖48C】



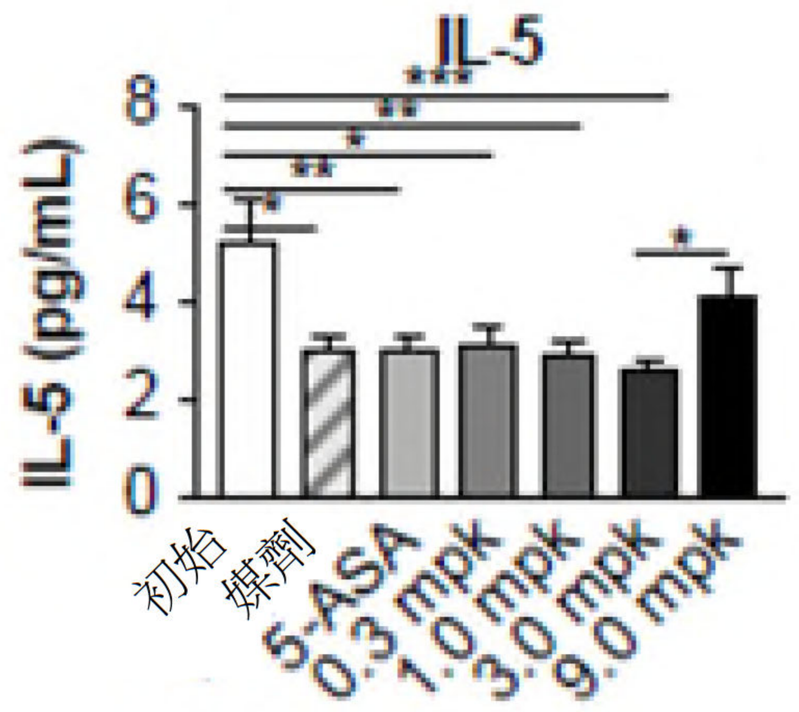
【圖48D】



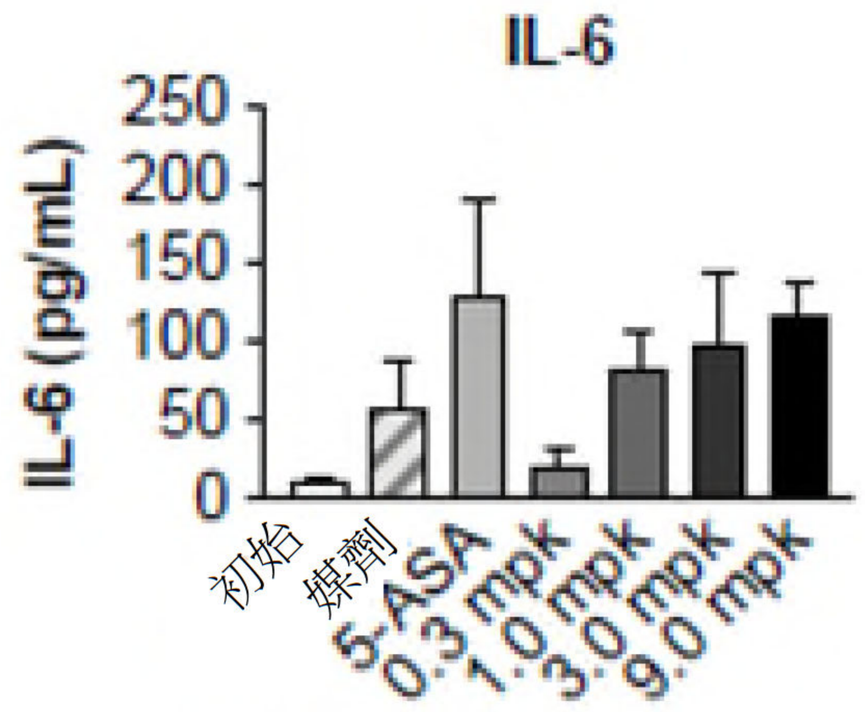
【圖48E】



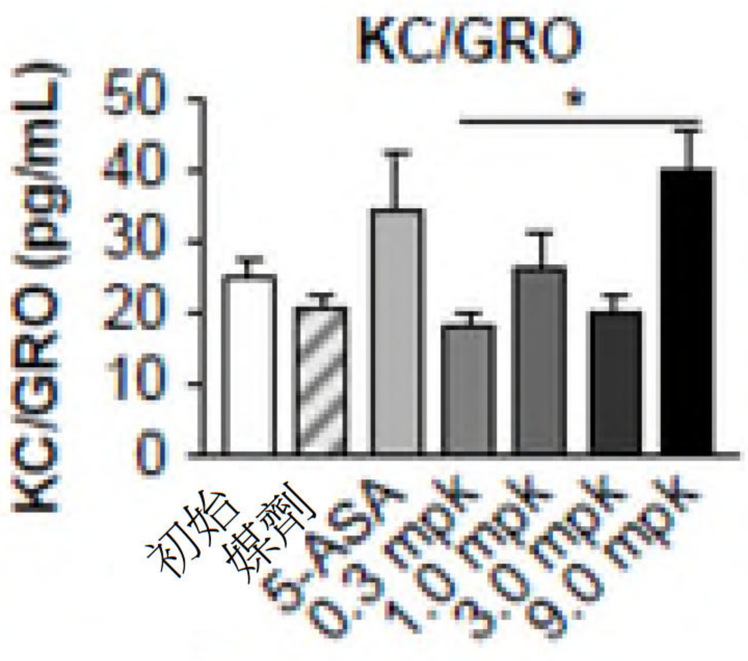
【圖48F】



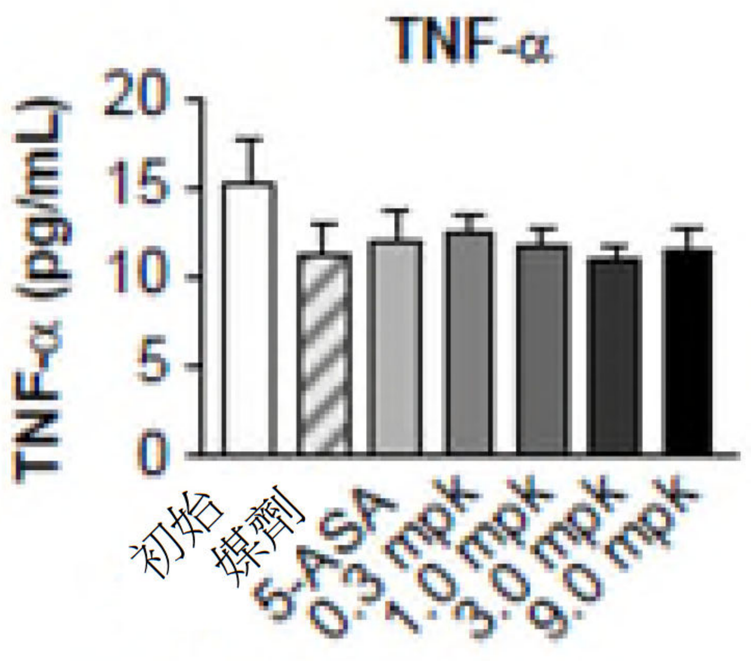
【圖48G】



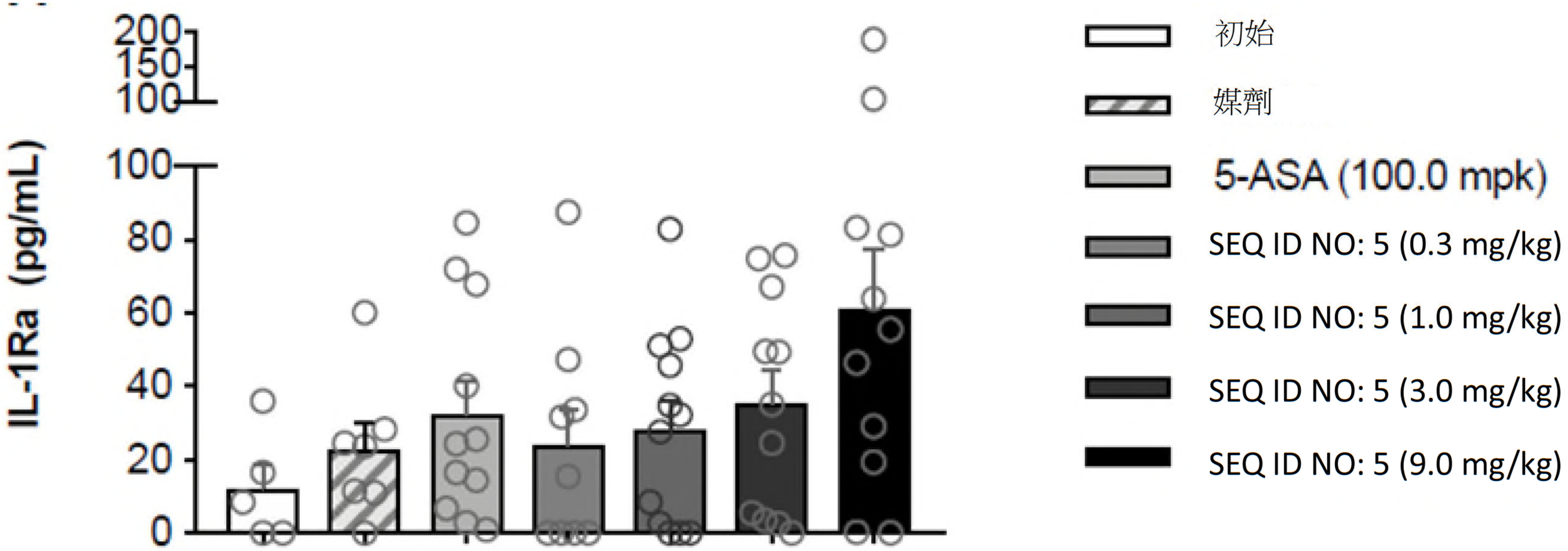
【圖48H】



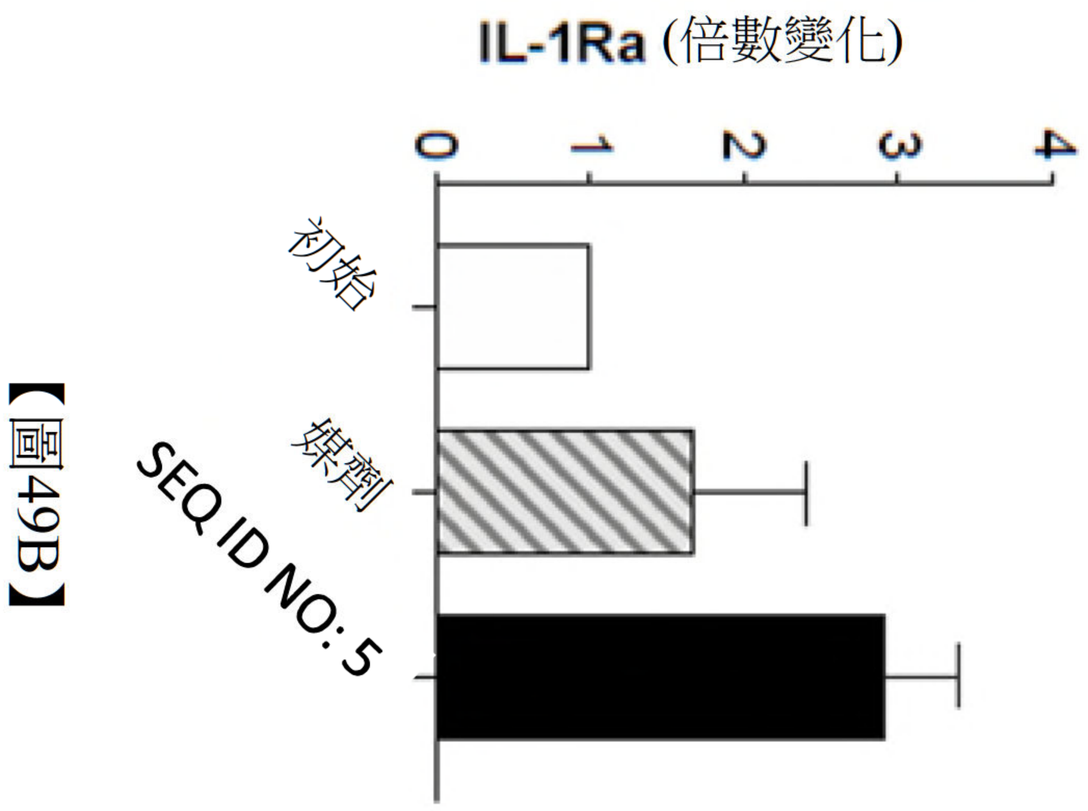
【圖48I】



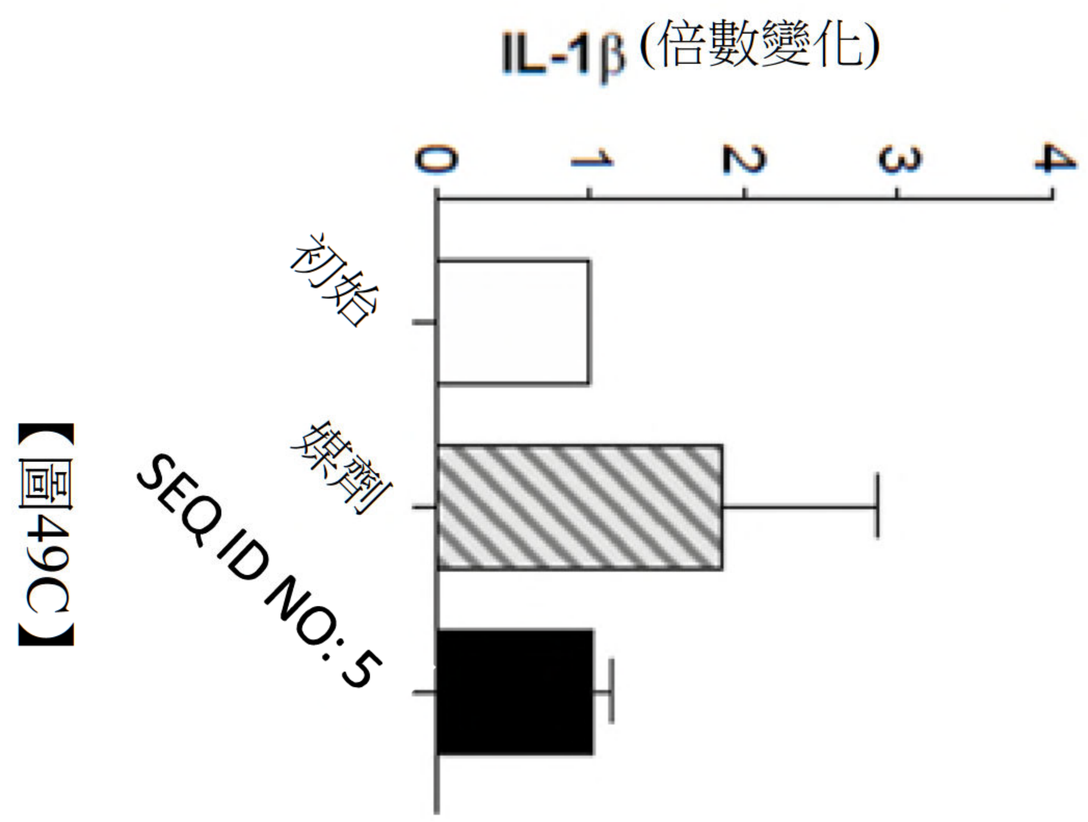
【圖48J】


IL-1Ra (pg/mL)
200
150
100
100
80
60
40
20
0
初始
媒劑
5-ASA (100.0 mpk)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)

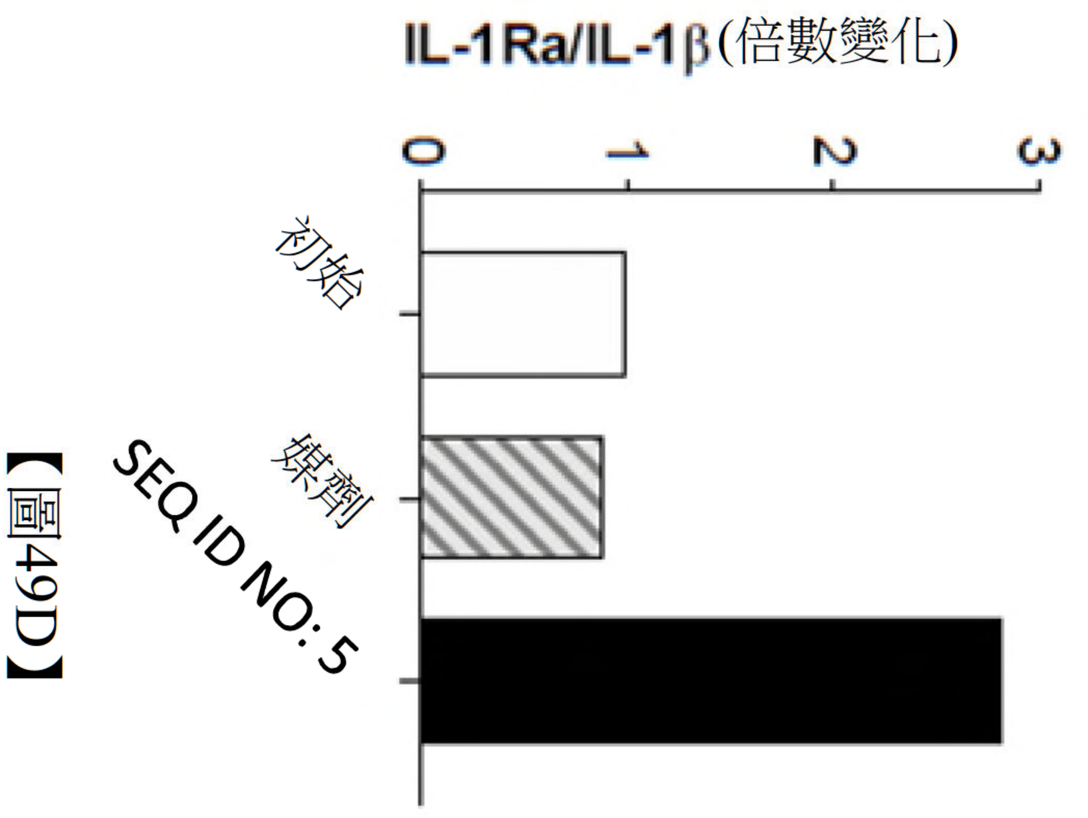
【圖49A】



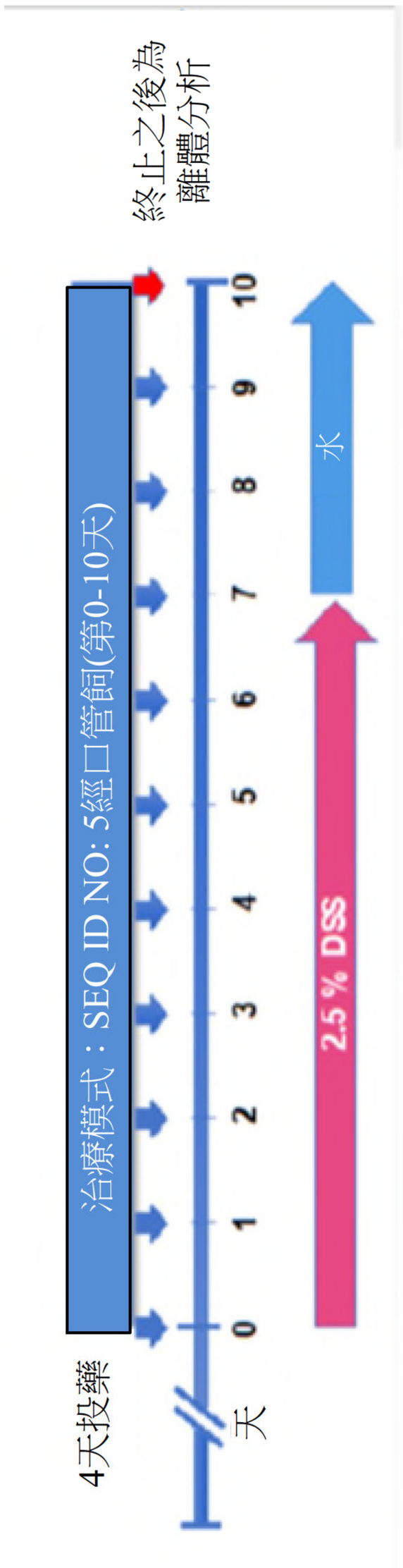
【圖49B】



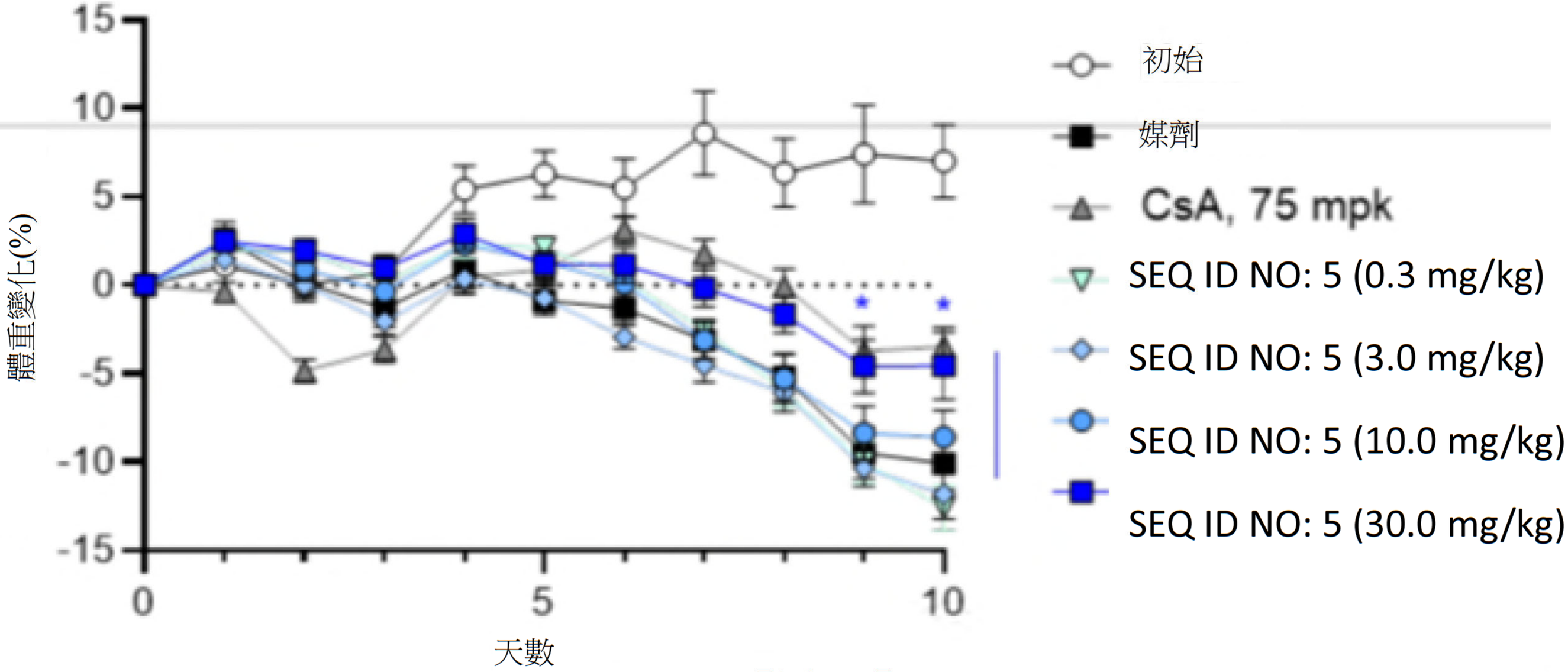
【圖49C】



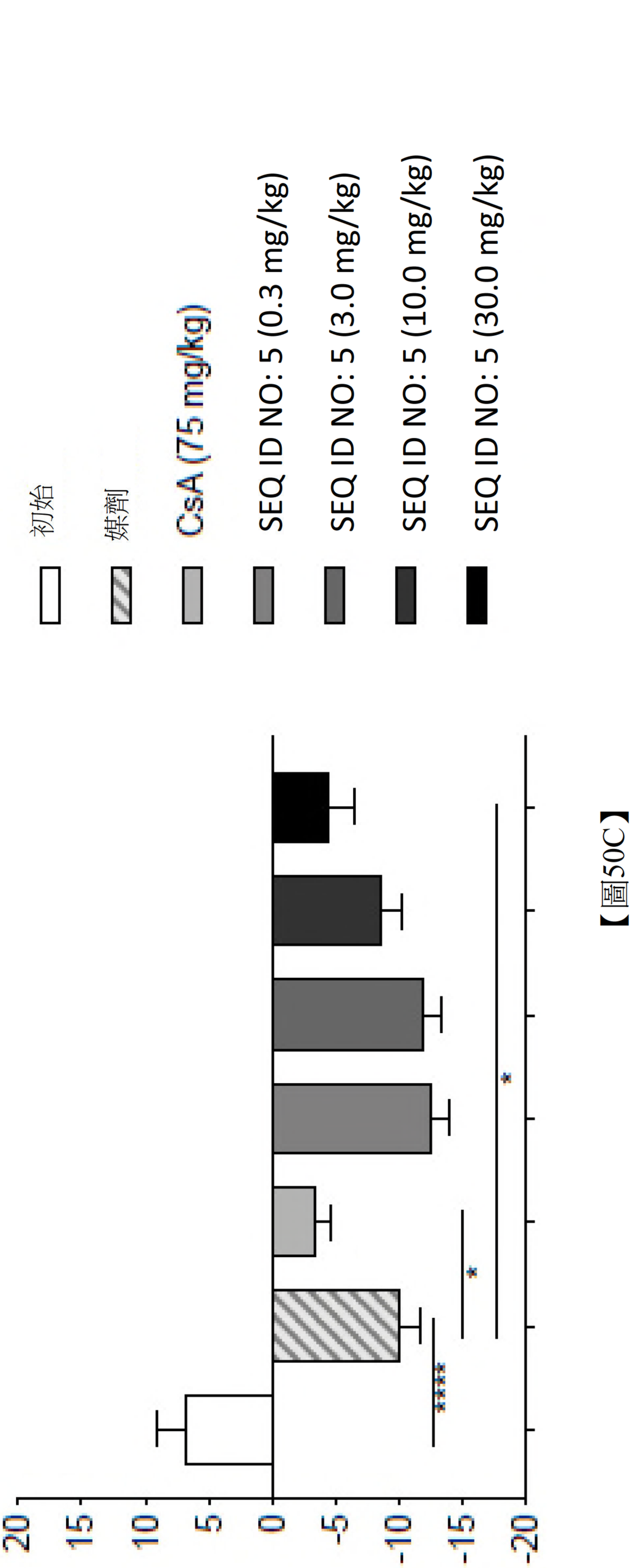
【圖49D】


治療模式：SEQ ID NO: 5經口管飼(第0-10天)
4天投藥
天
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
2.5 % DSS
水
終止之後為
離體分析

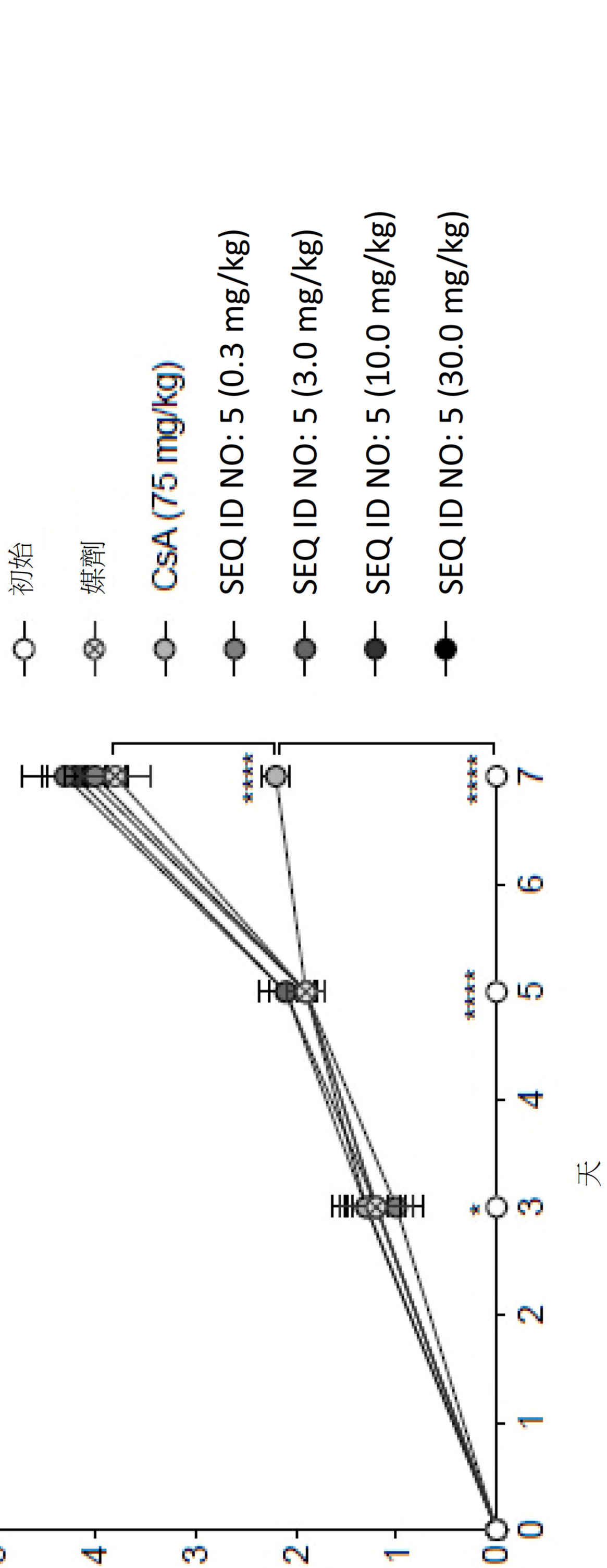
【圖50A】


15
10
5
0
-5
-10
-15
體重變化(%)
0
5
10
天數
初始
媒劑
CsA, 75 mpk
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)

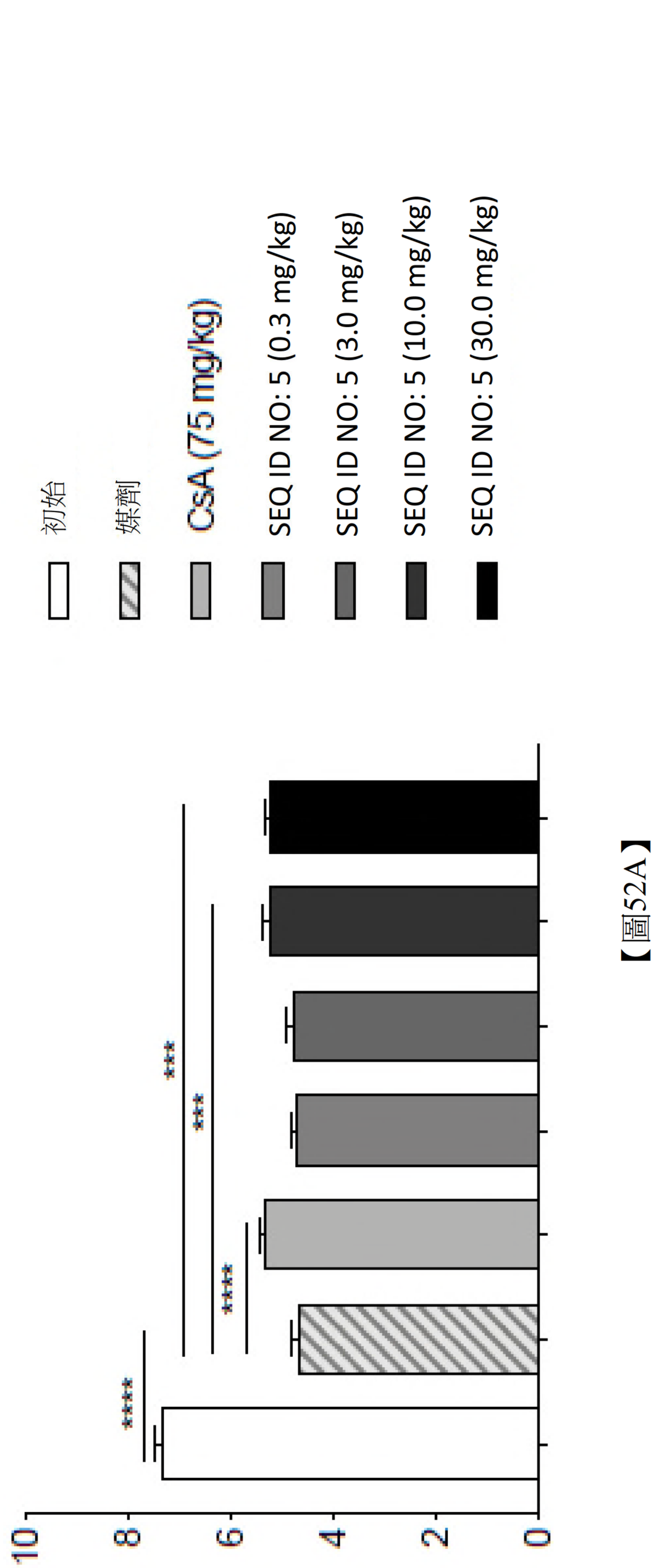
【圖50B】


初始
媒劑
CsA
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)
20
15
10
5
0
5
10
15
20
體重變化(%)

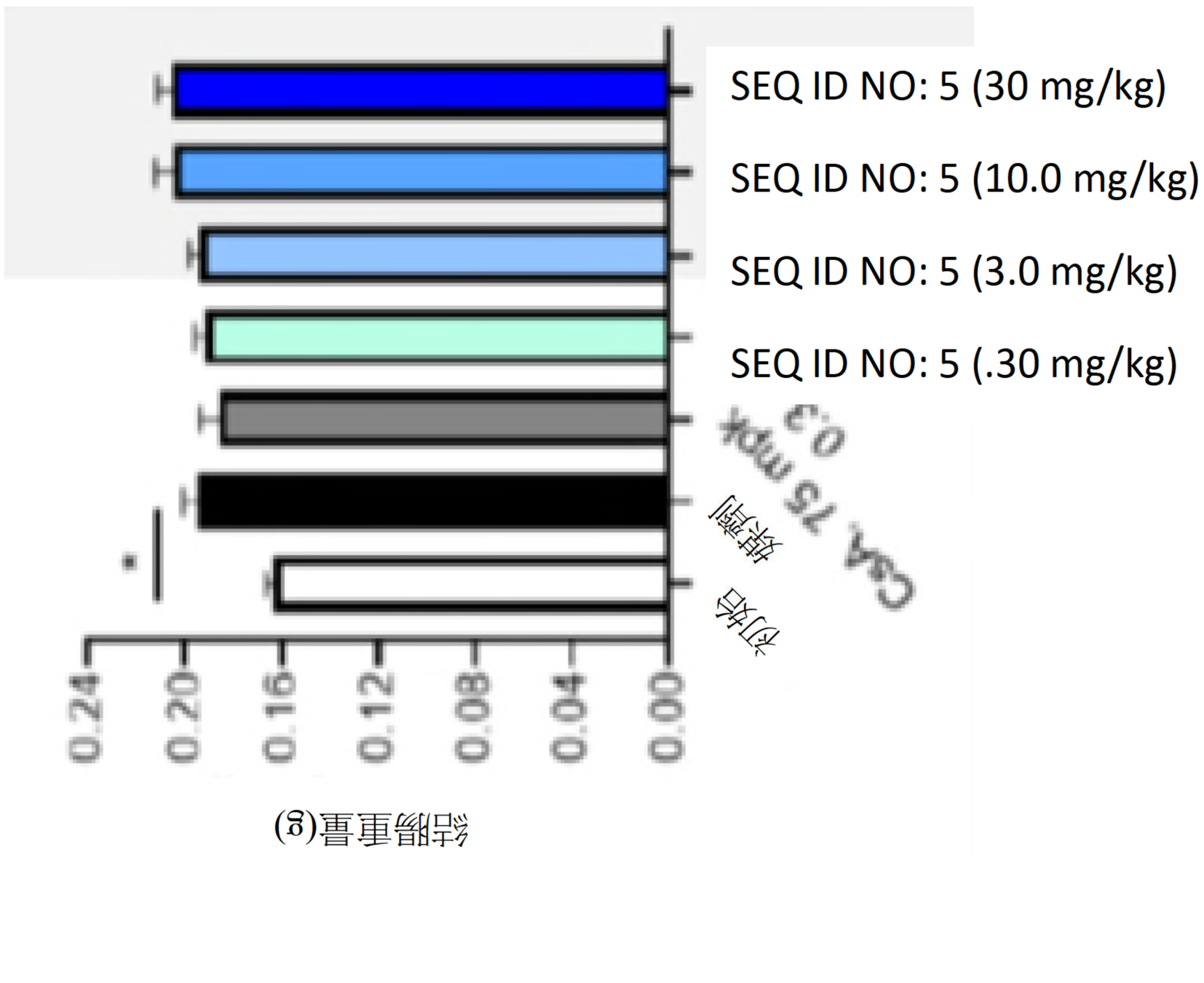
【圖50C】


初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)
****
****
****
*
0
1
2
3
4
5
6
7
天
0
1
2
3
4
5
加總DAI

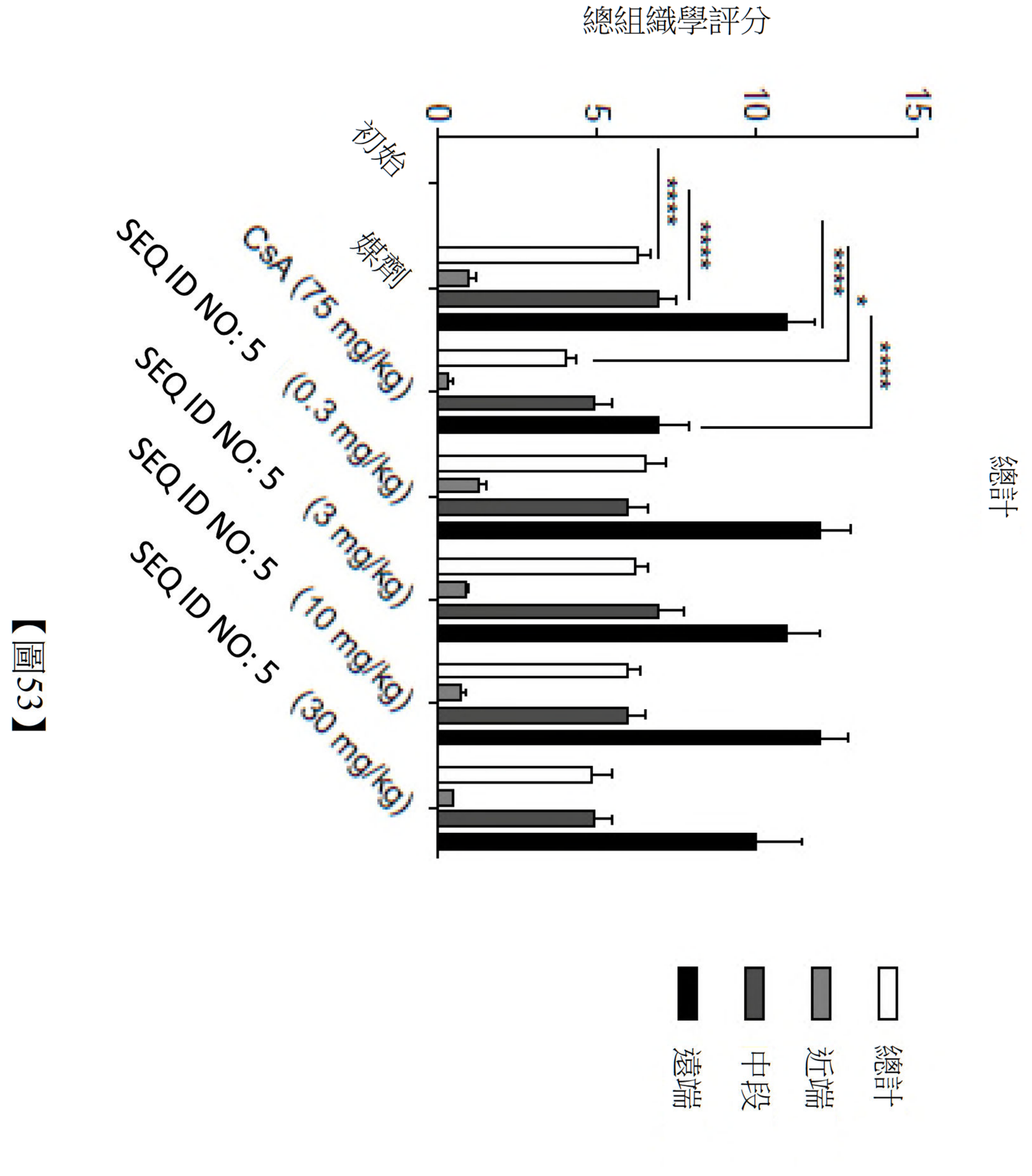
【圖51】


初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)
****
****
****
****
0
2
4
6
8
10
結腸長度(cm)

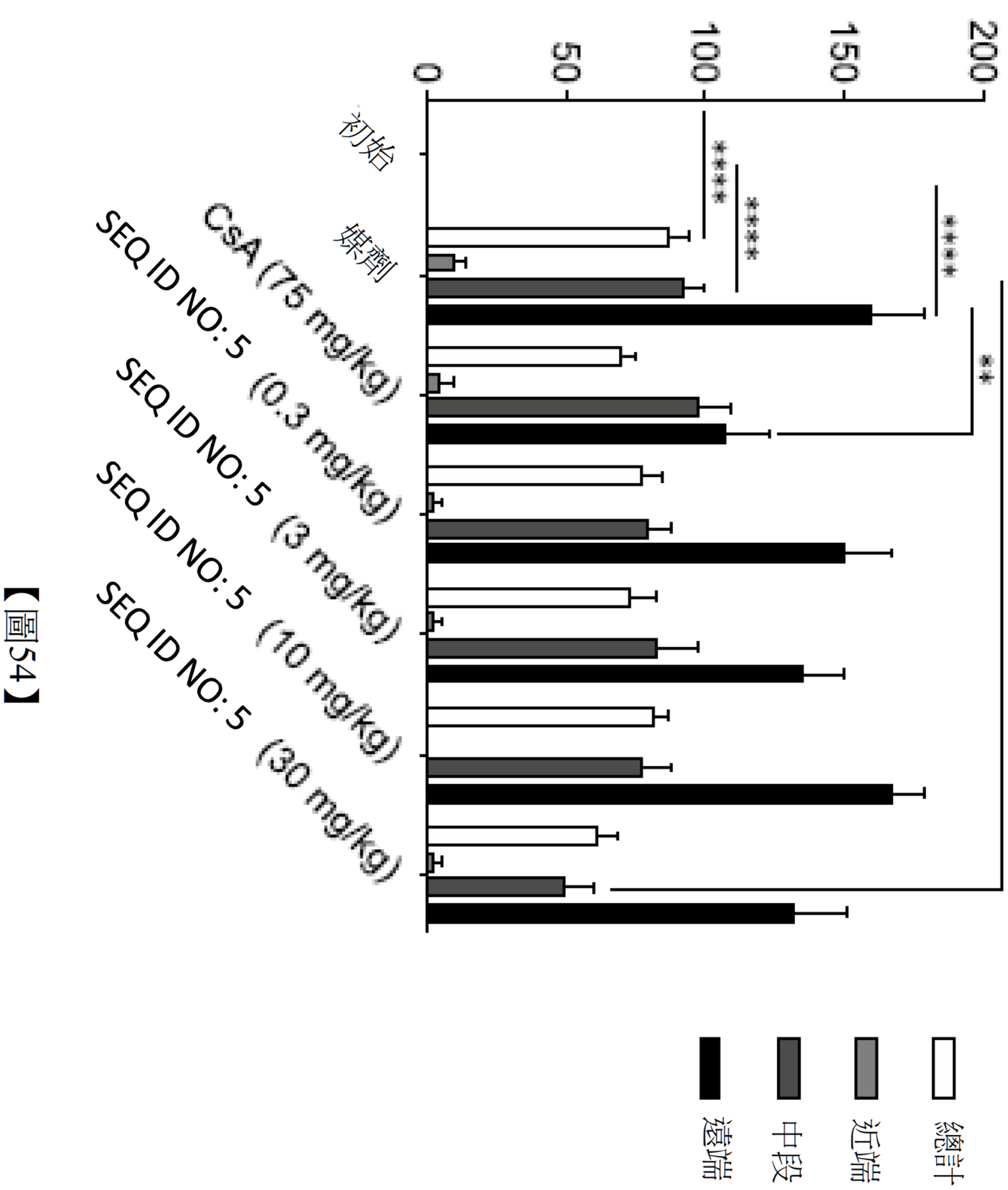
【圖52A】


SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (.30 mg/kg)
Cyc 75 mpk 0.3
媒劑
對照
0.24
0.20
0.16
0.12
0.08
0.04
0.00
結腸重量(g)

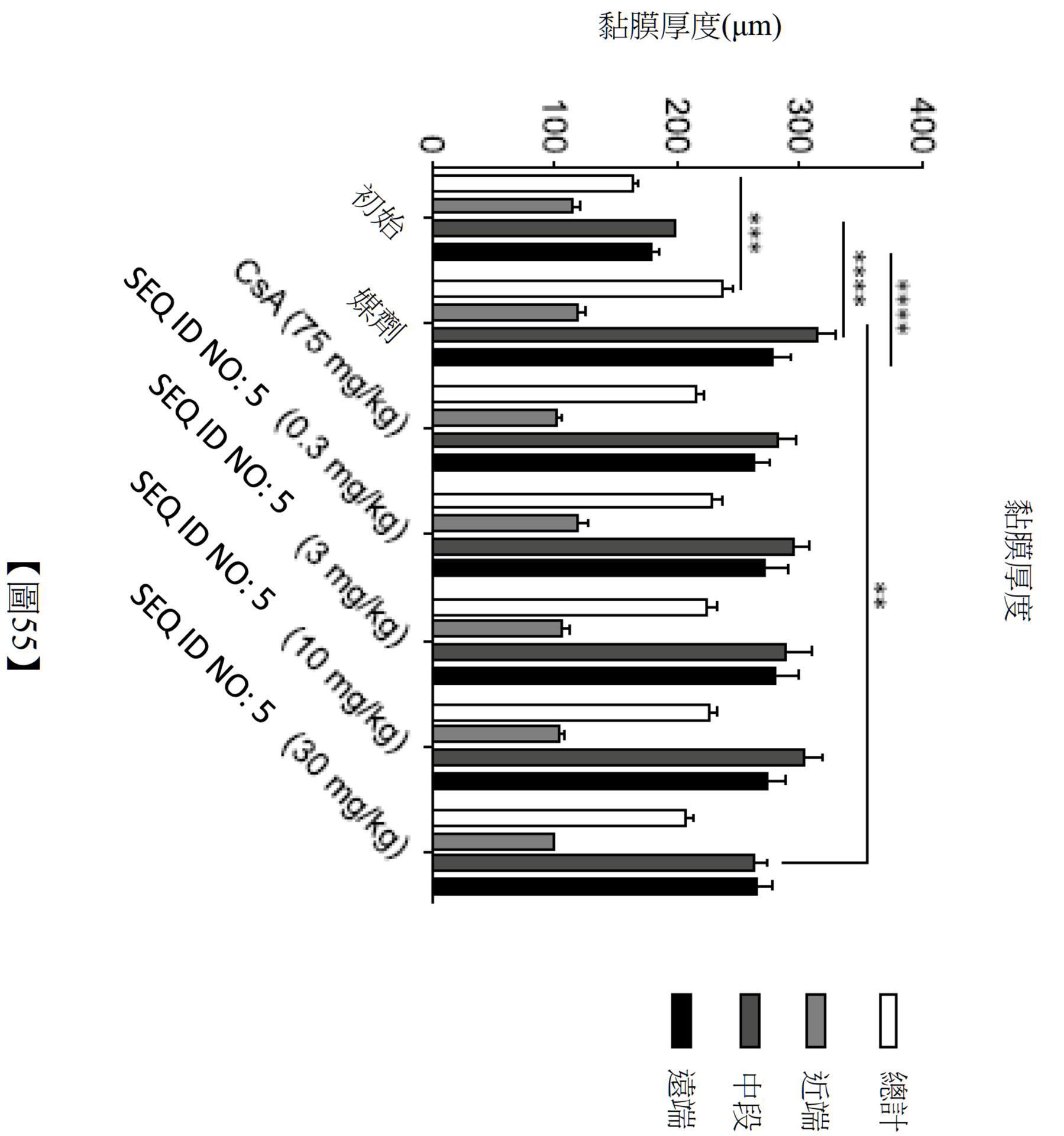
【圖52B】


總組織學評分
15
10
5
0
初始
蜱劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
****
****
****
*
****
總計
近端
中段
遠端

【圖53】

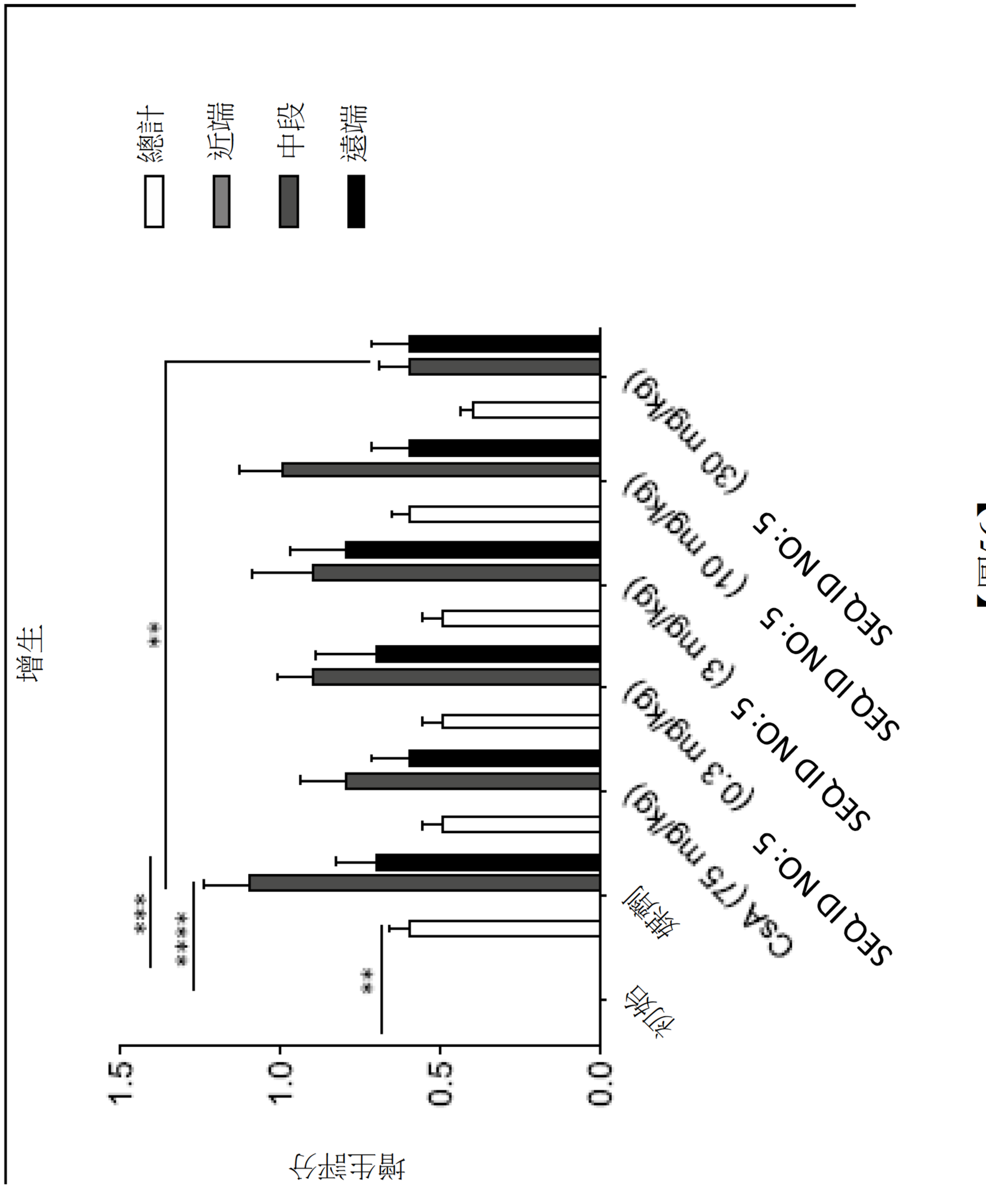

水腫
200
150
100
50
0
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
****
****
****
**
*
總計
近端
中段
遠端

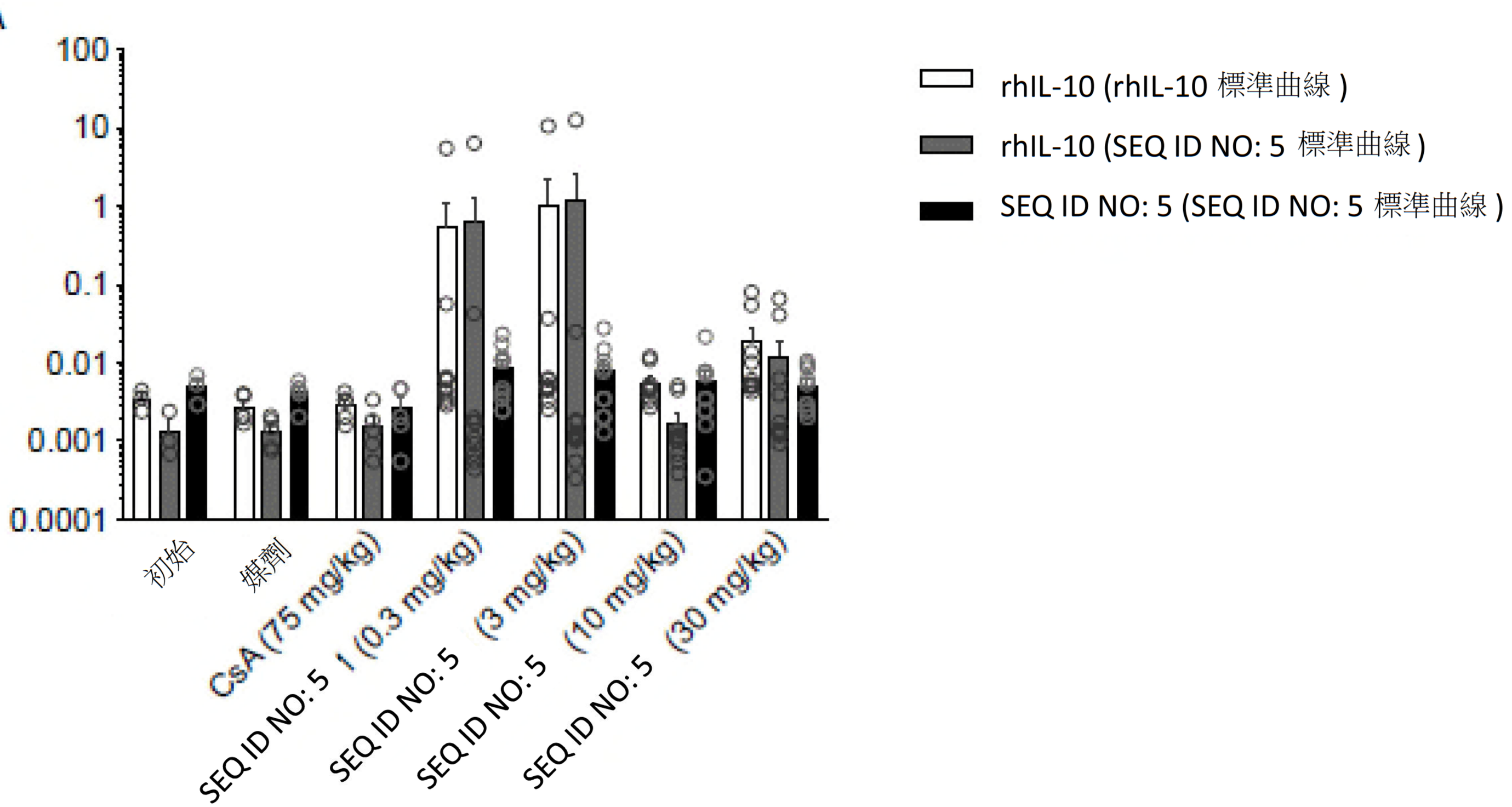
【圖54】


黏膜厚度(μm)
400
300
200
100
0
****
****
***
**
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
總計
近端
中段
遠端

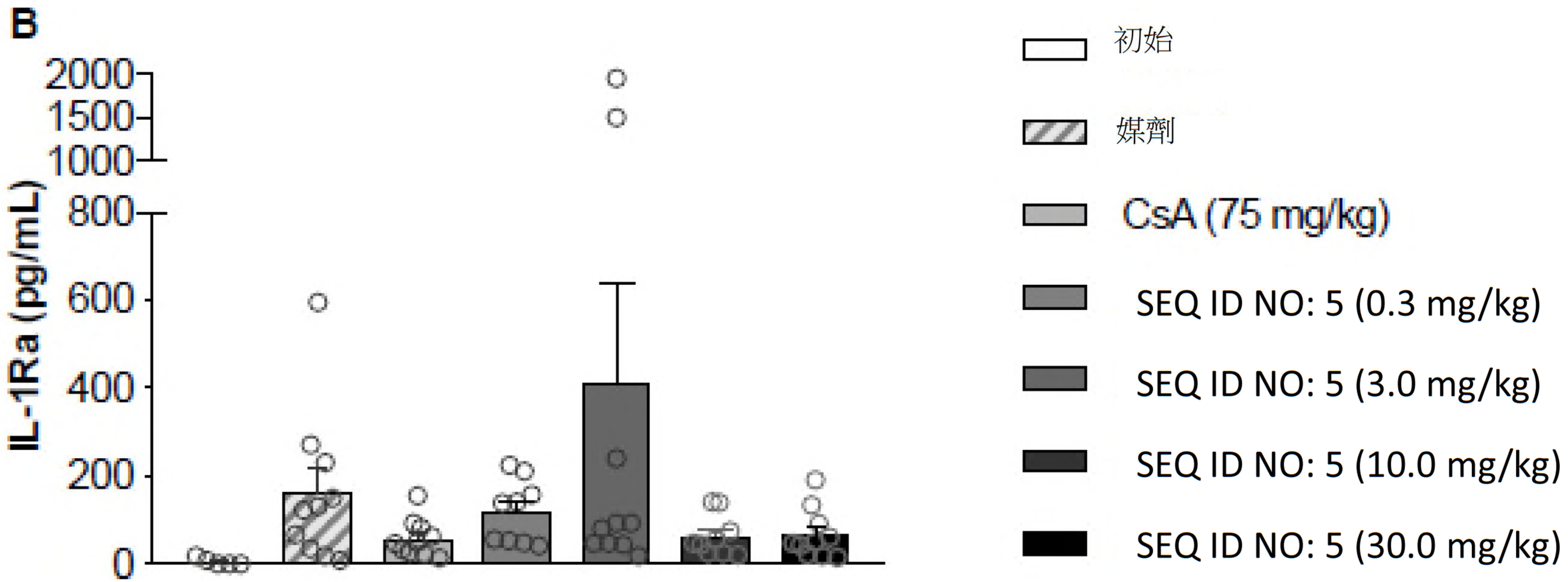
【圖55】

【圖56】

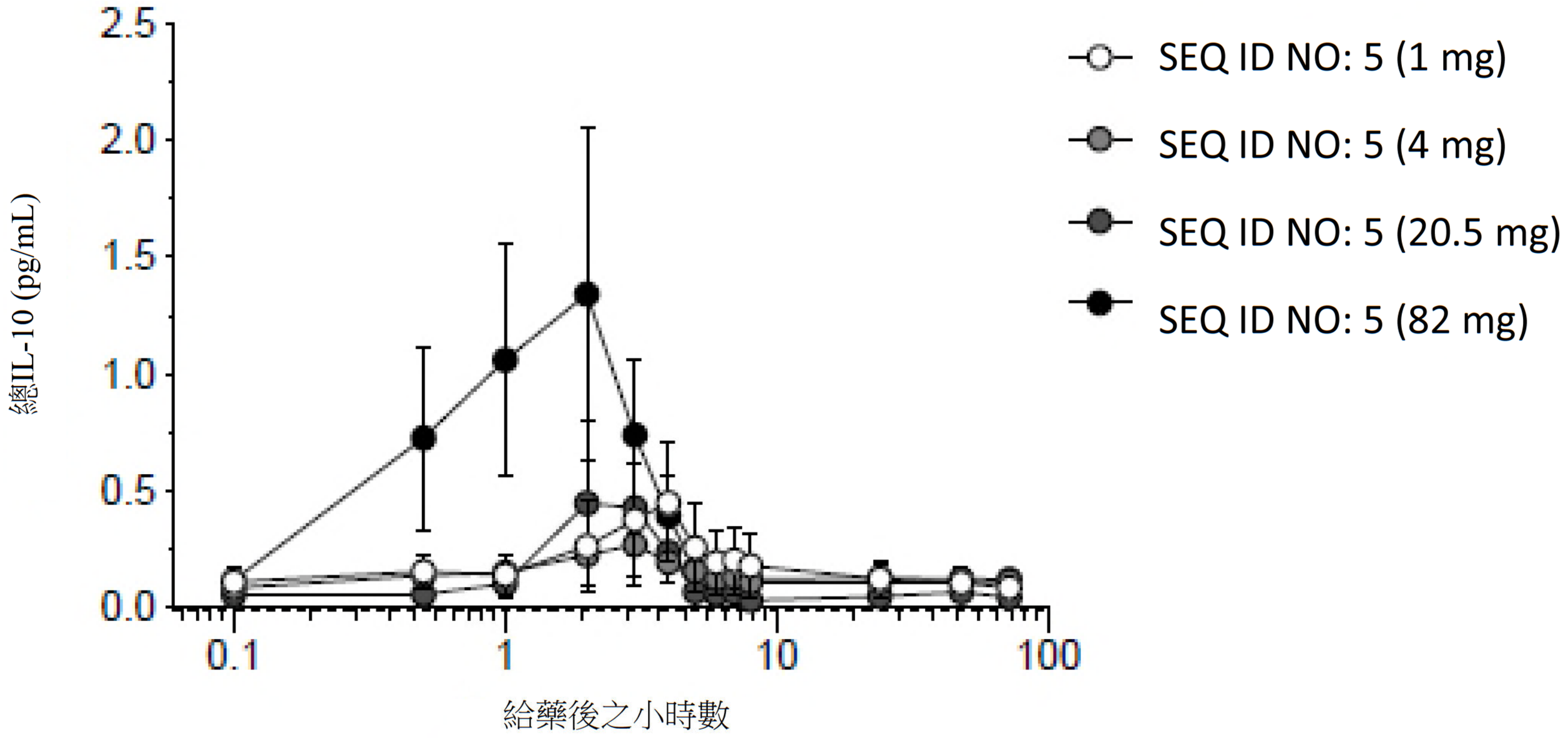

總計
近端
中段
遠端
增生評分
1.5
1.0
0.5
0.0
**
****
****
**
對照組
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)


A
暴露(pM)
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 1 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
rhIL-10 (rhIL-10 標準曲線)
rhIL-10 (SEQ ID NO: 5 標準曲線)
SEQ ID NO: 5 (SEQ ID NO: 5 標準曲線)

【圖57A】

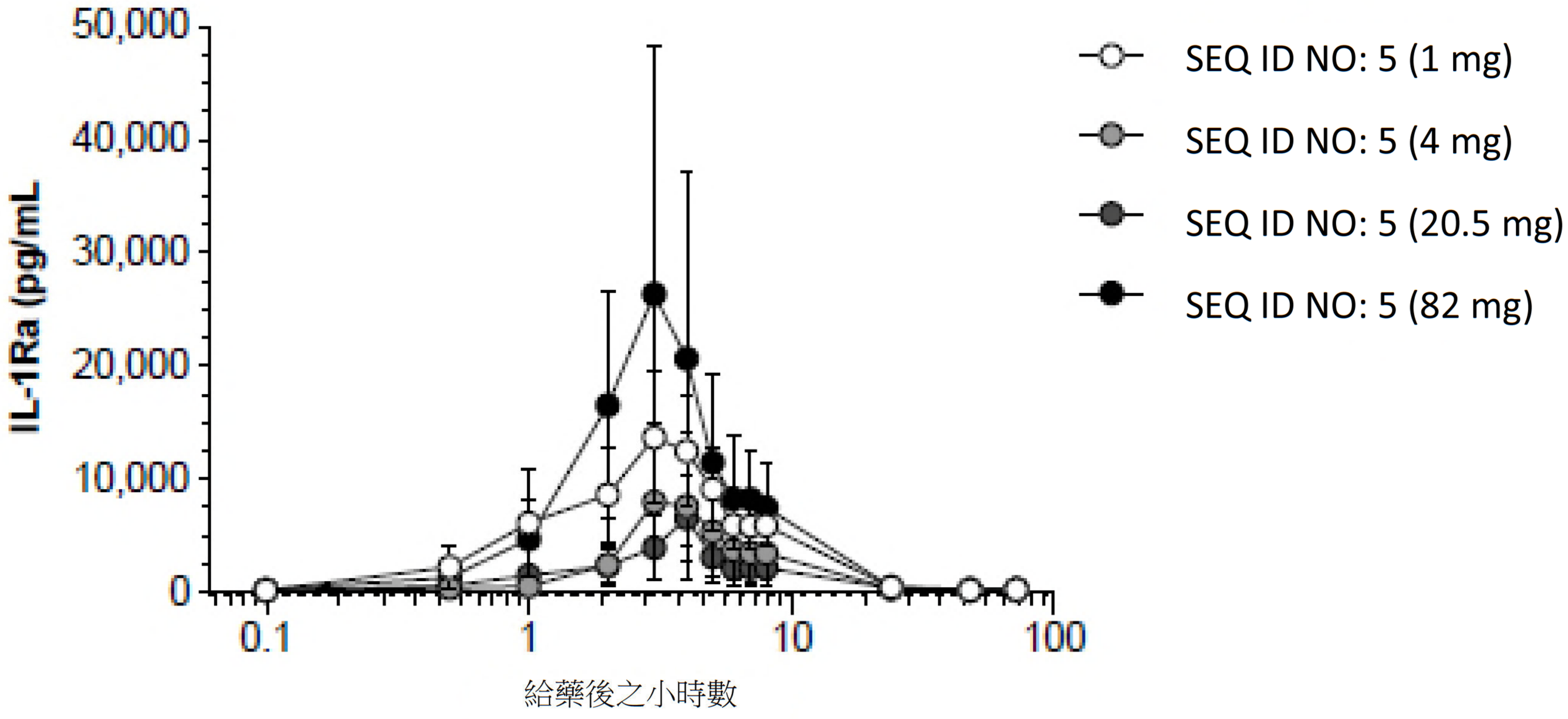

B
IL-1Ra (pg/mL)
2000
1500
1000
800
600
400
200
0
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)

【圖57B】

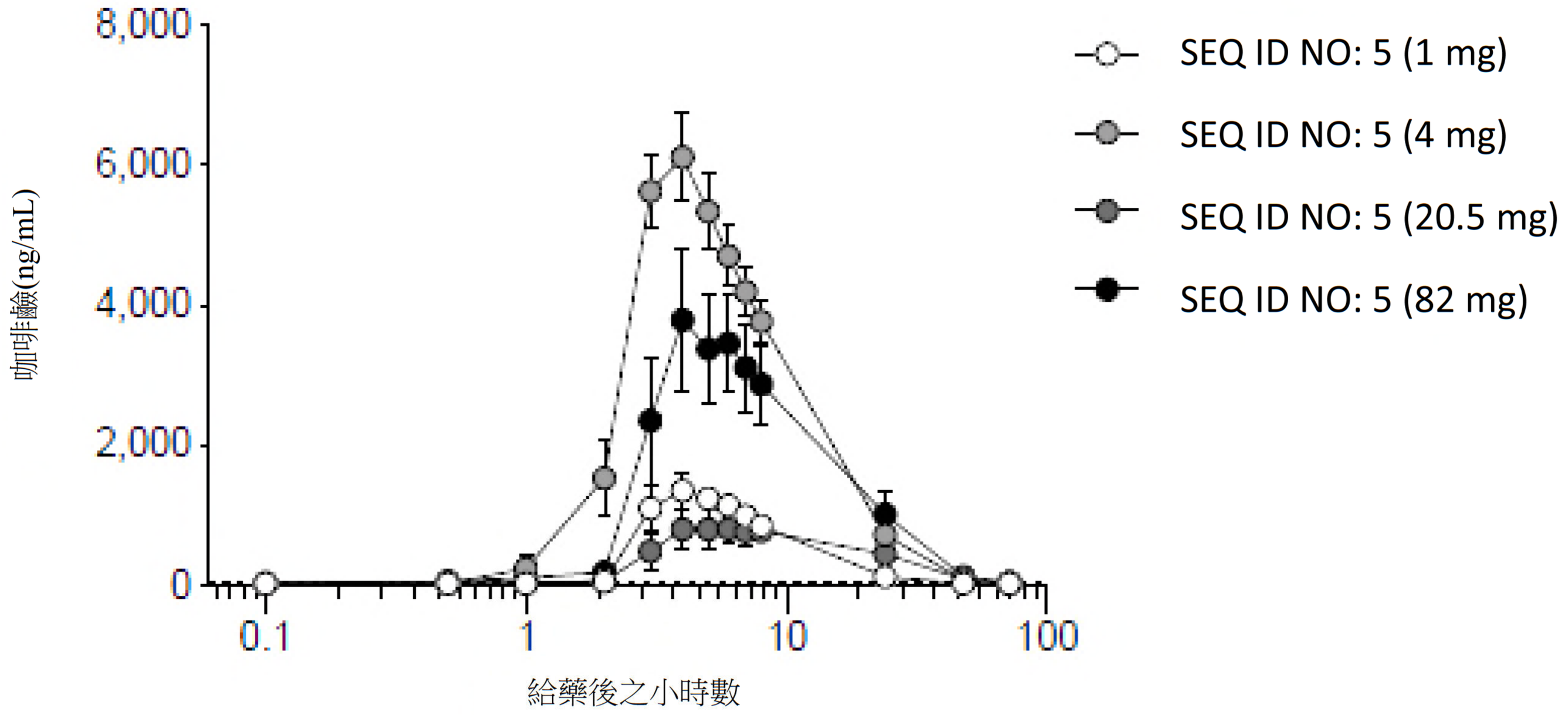


【圖58】

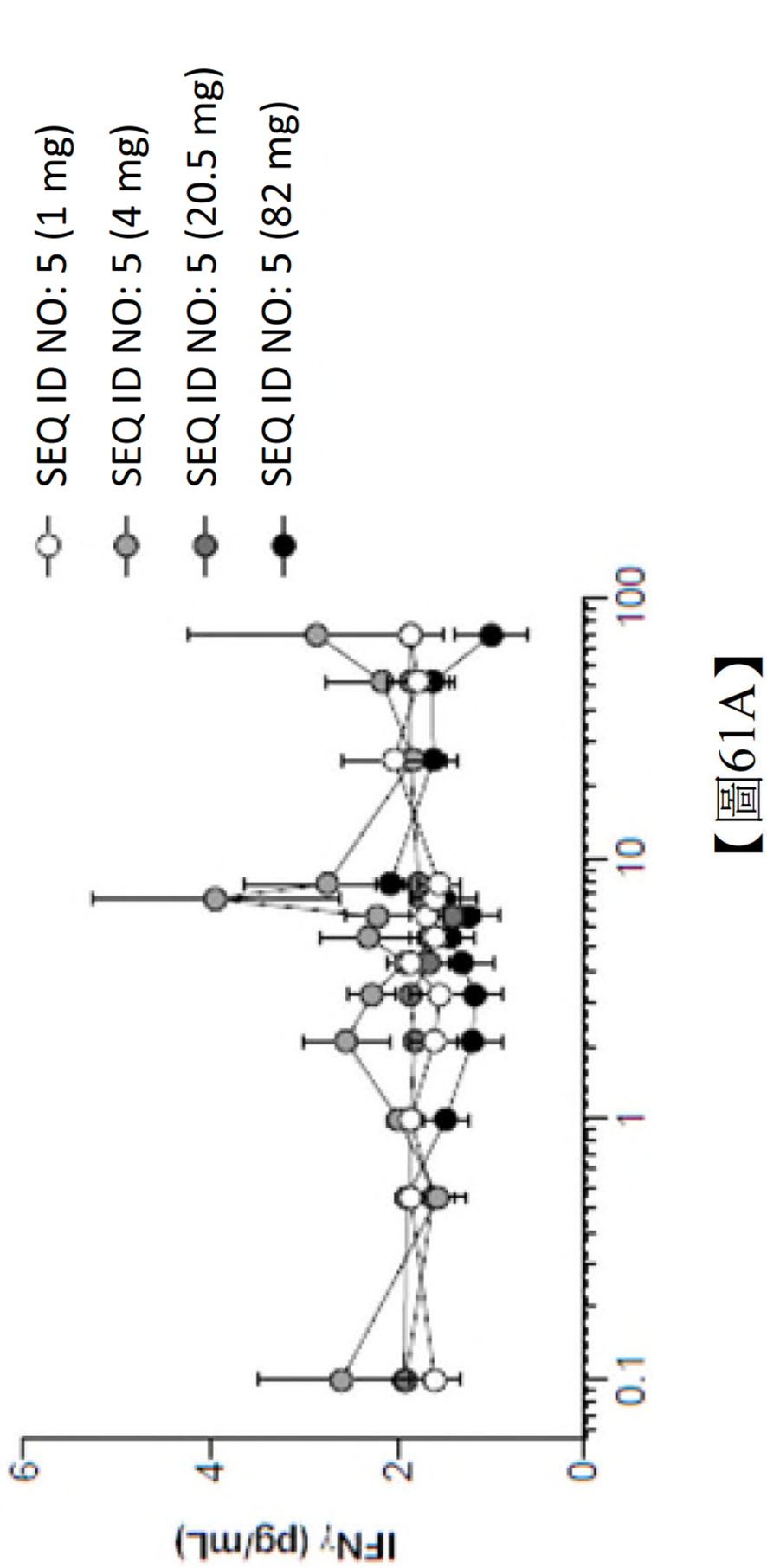
20212052


IL-1Ra (pg/mL
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0.1
1
10
100
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)

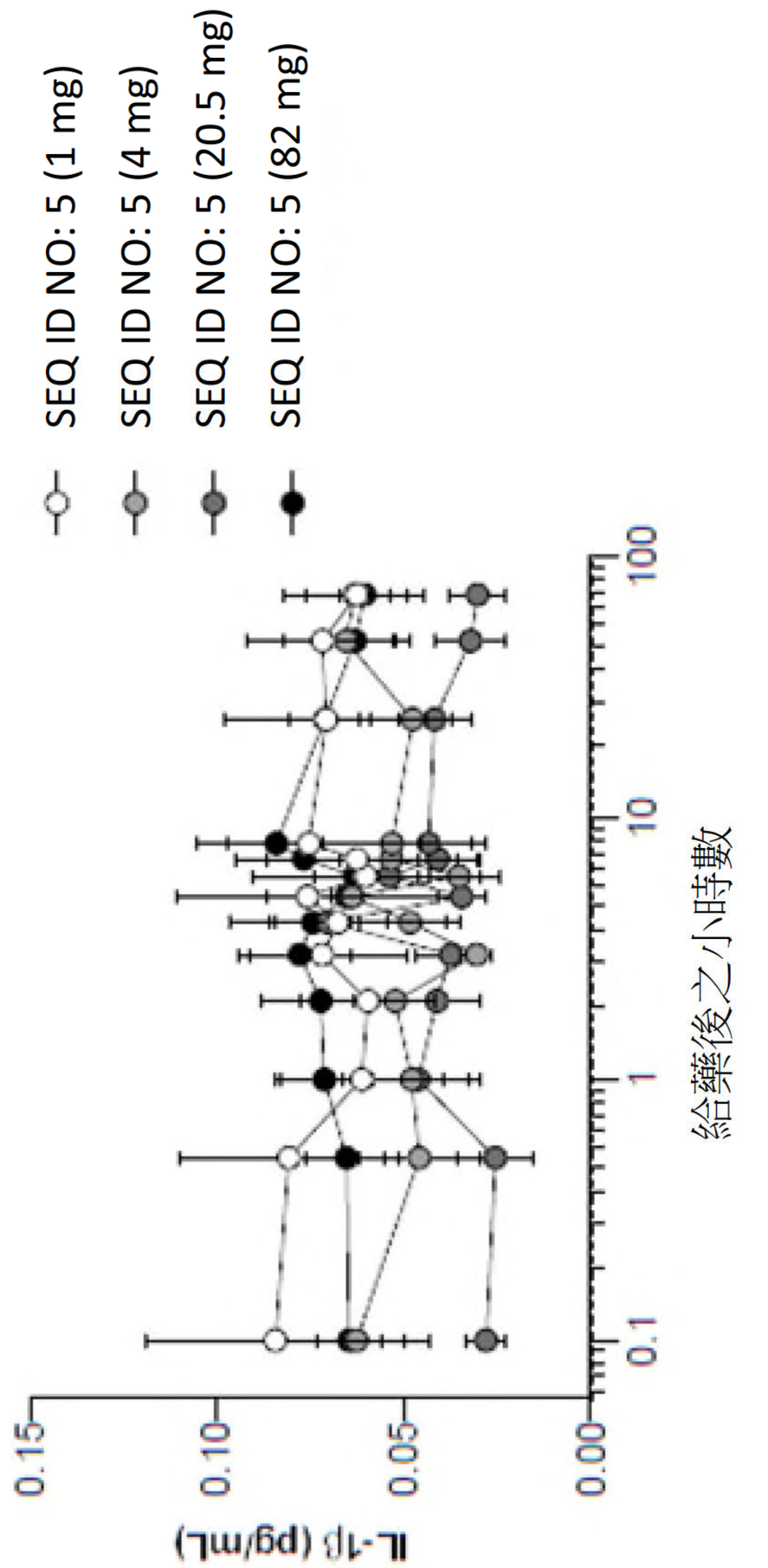
【圖59】


8,000
6,000
4,000
2,000
0
咖啡鹼(ng/mL)
0.1
1
10
100
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)

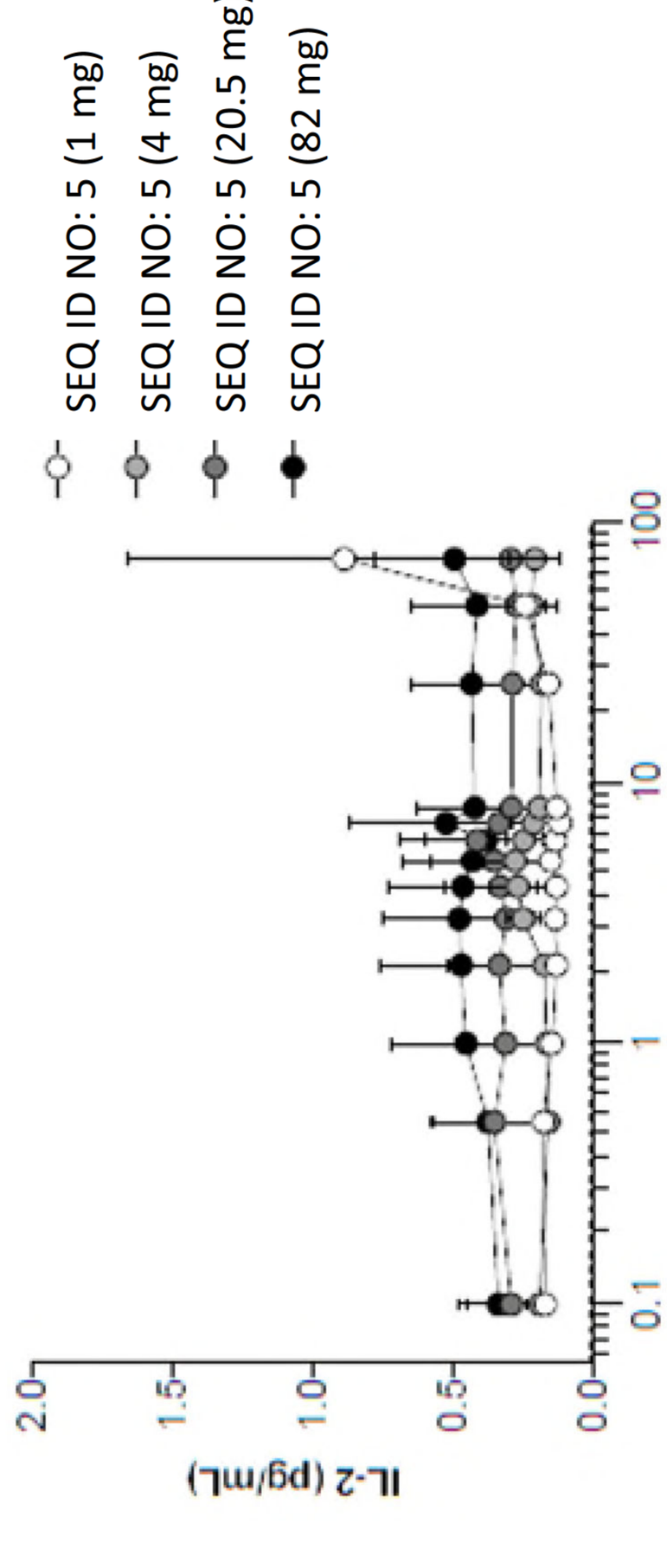
【圖60】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IFNγ (pg/mL)
0
2
4
6
0.1
1
10
100

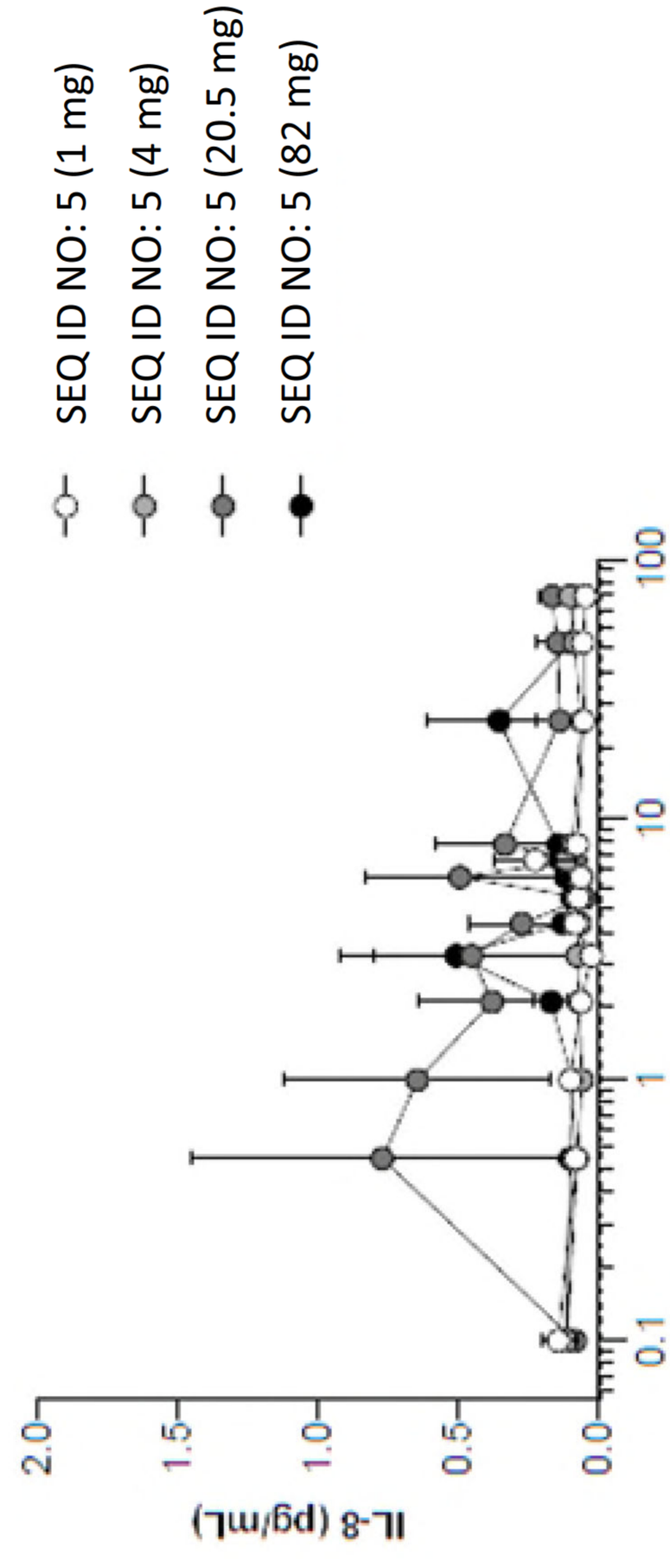
【圖61A】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-1β (pg/mL)
0.00
0.05
0.10
0.15
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

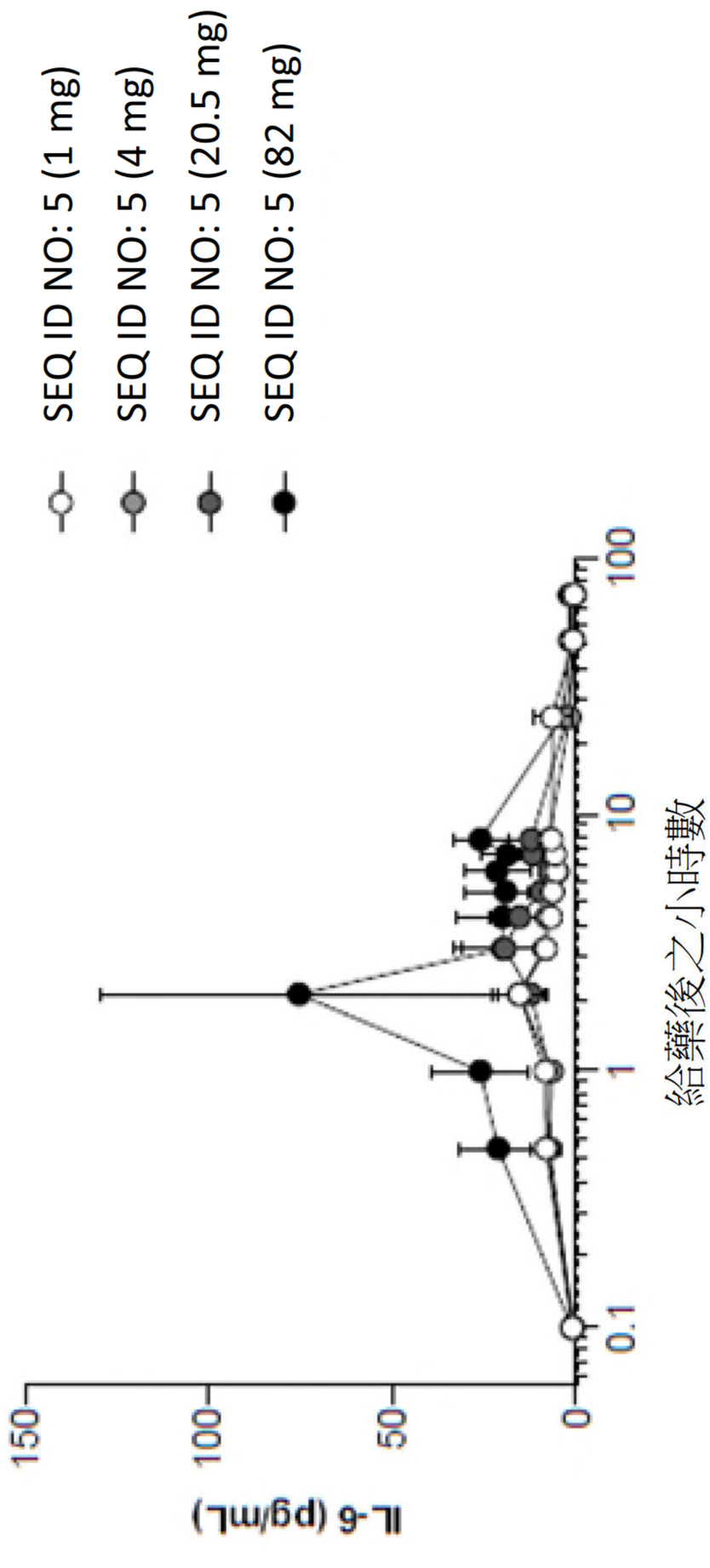
【圖61B】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-2 (pg/mL)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

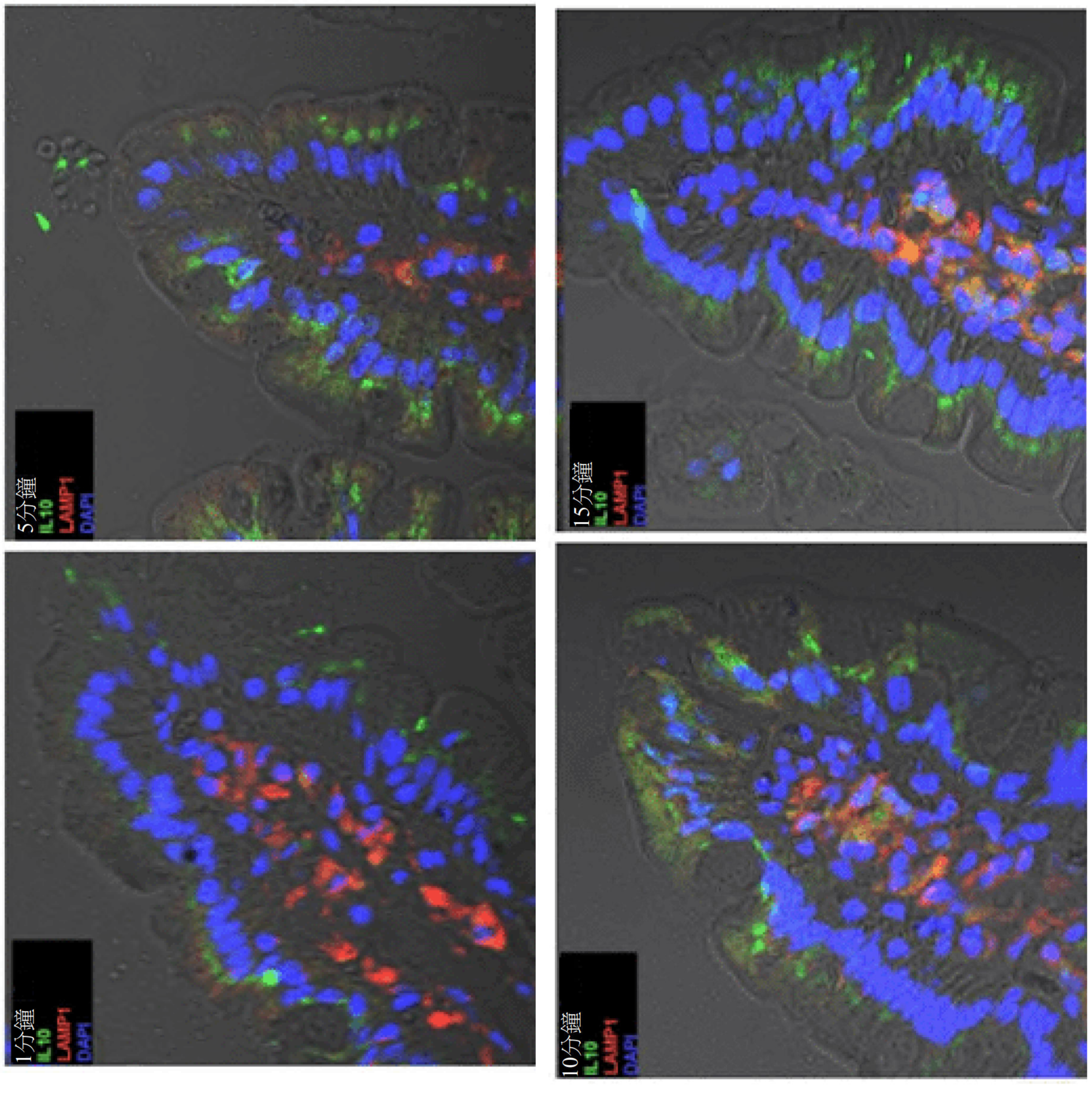
【圖61C】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-8 (pg/mL)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

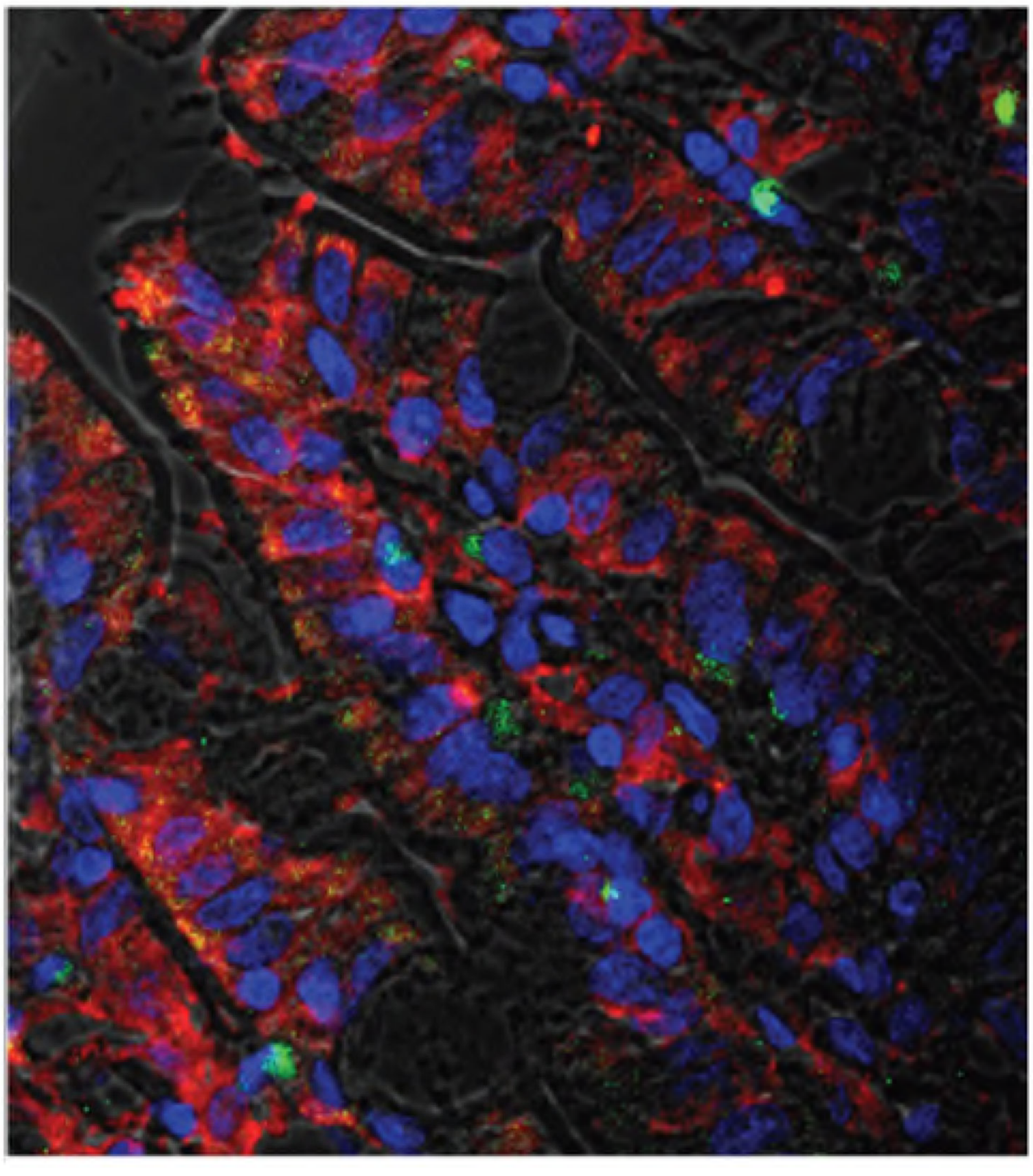
【圖61D】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 m
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-6 (pg/mL)
0
50
100
150
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

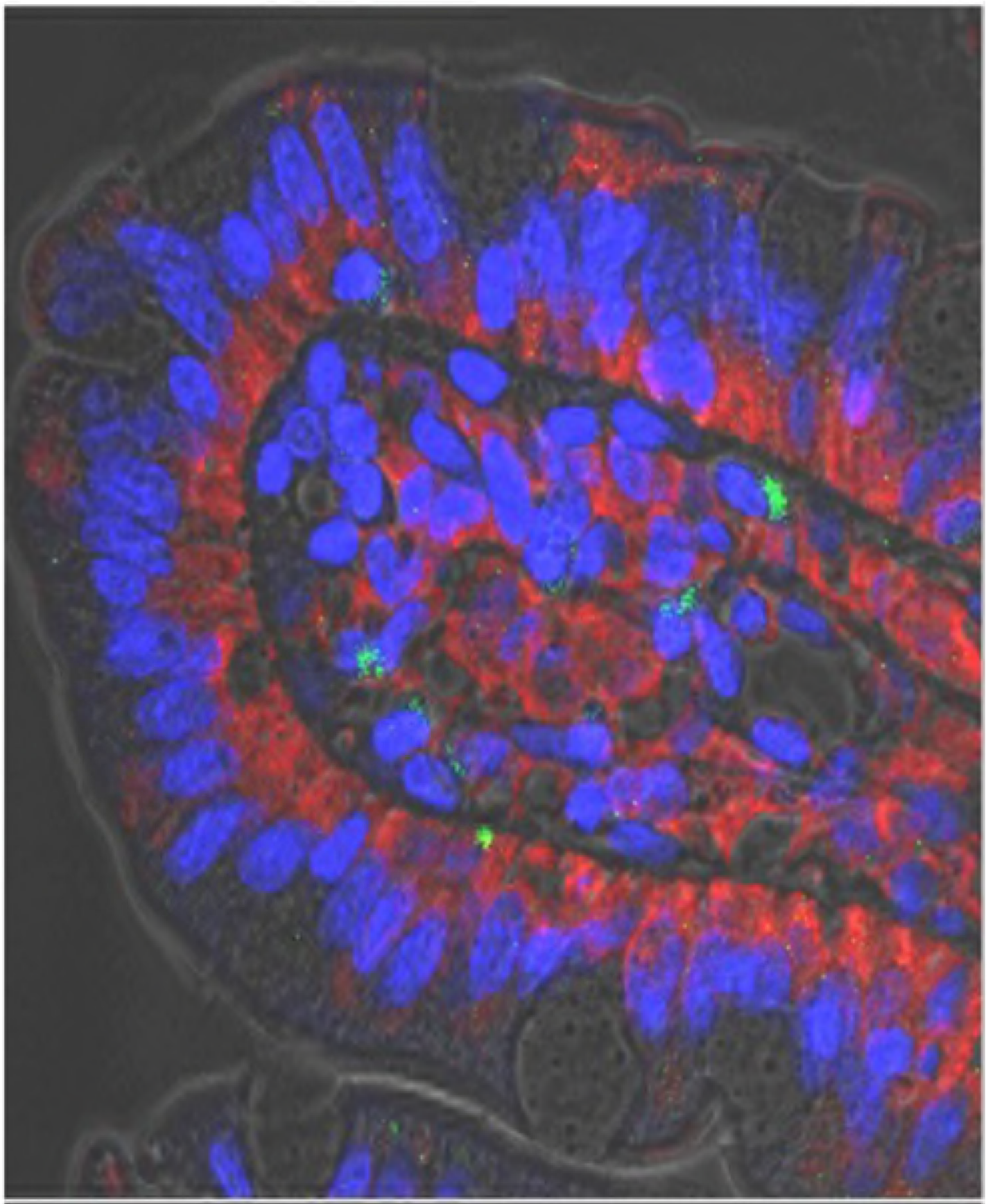
【圖61E】


5分鐘
IL10
LAMP1
DAPI
15分鐘
IL10
LAMP1
DAPI
1分鐘
IL10
LAMP1
DAPI
10分鐘
IL10
LAMP1
DAPI

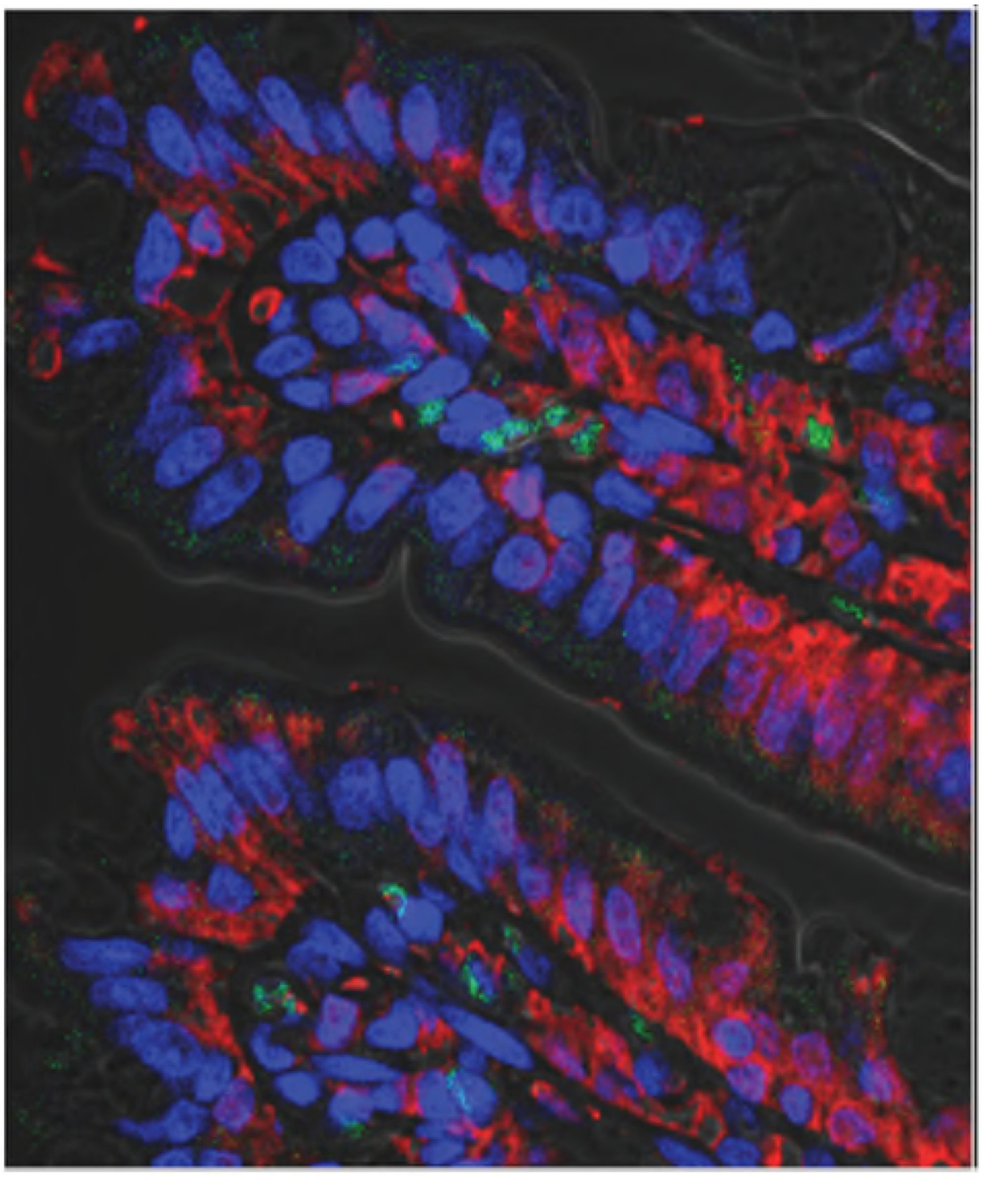
【圖62】



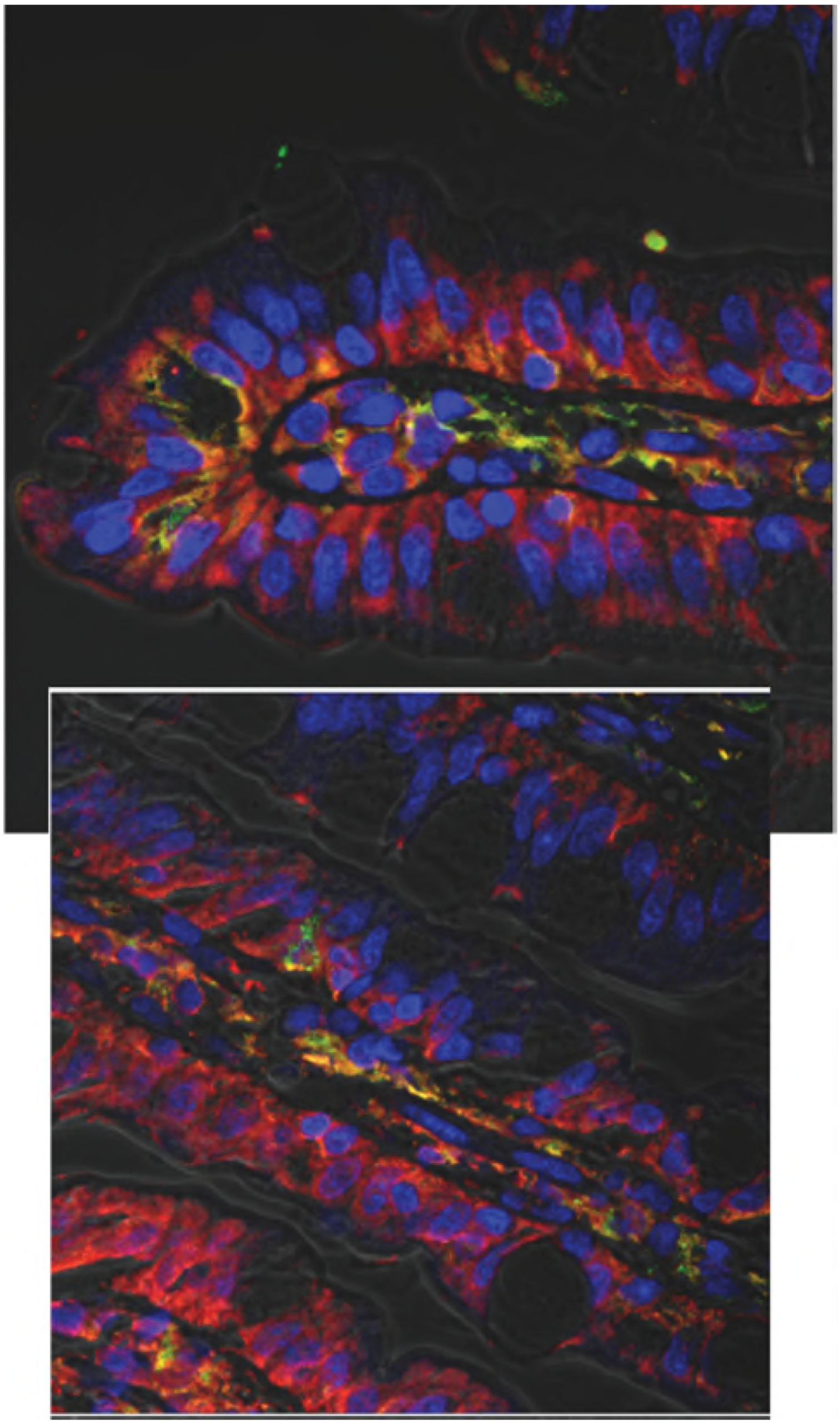
【圖63】



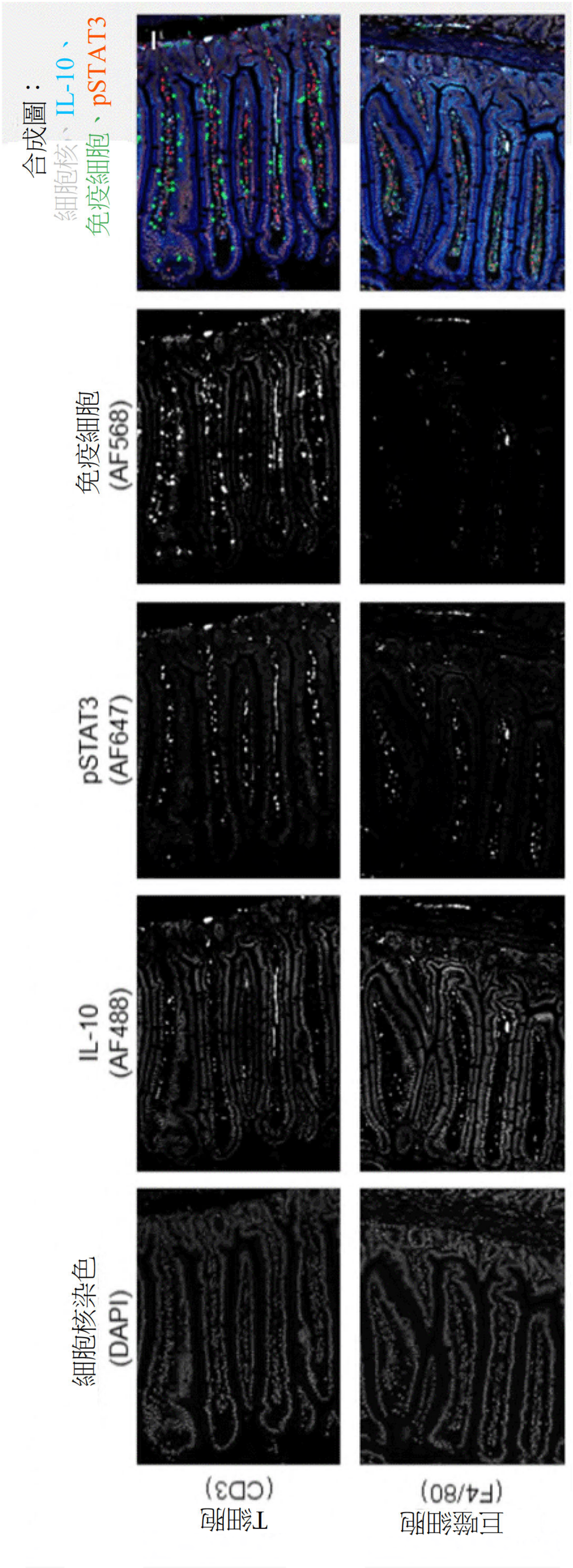
【圖64】



【圖65】

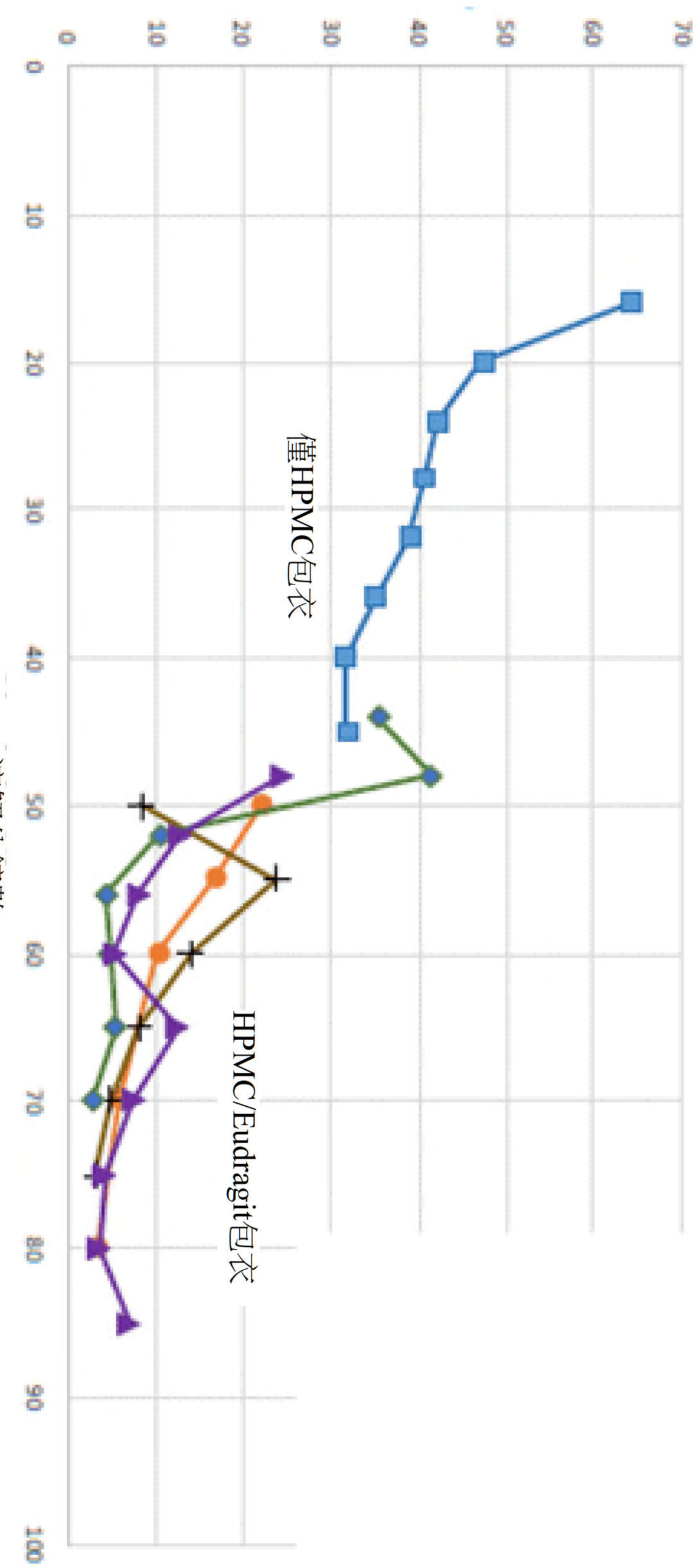


【圖99】

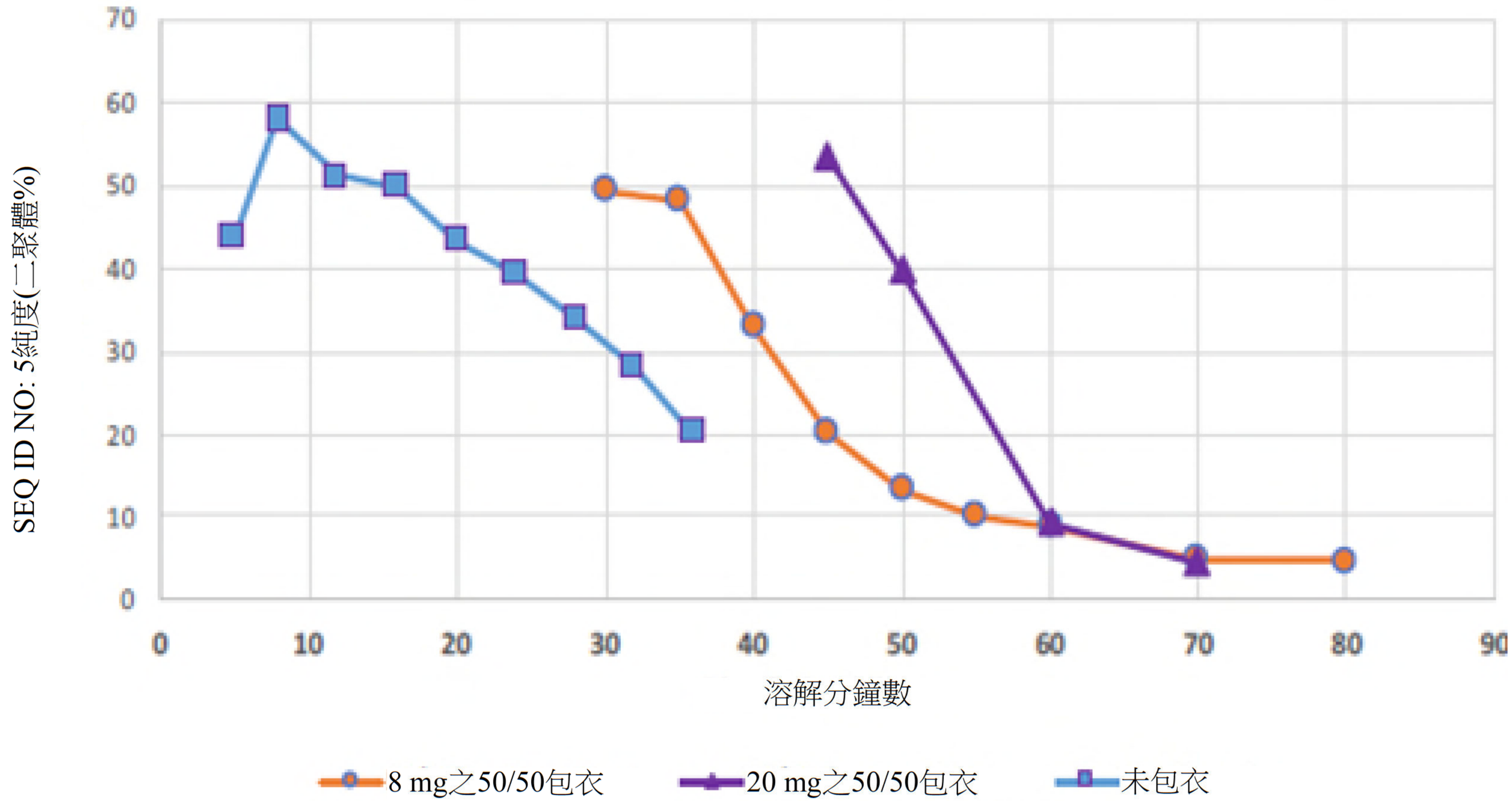

合成圖：
細胞核、IL-10、
免疫細胞、pSTAT3
免疫細胞
(AF568)
pSTAT3
(AF647)
IL-10
(AF488)
細胞核染色
(DAPI)
T細胞
(CD3)
巨噬細胞
(F4/80)

【圖67】

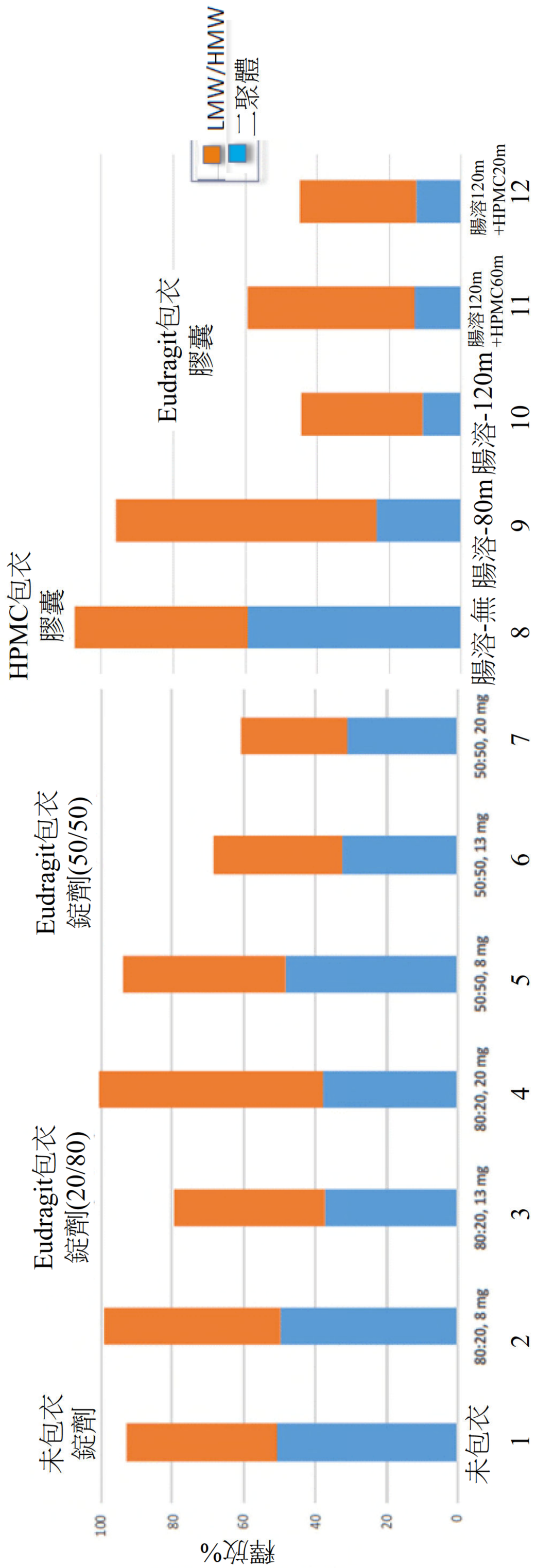
SEQ ID NO: 5純度(二聚體%)



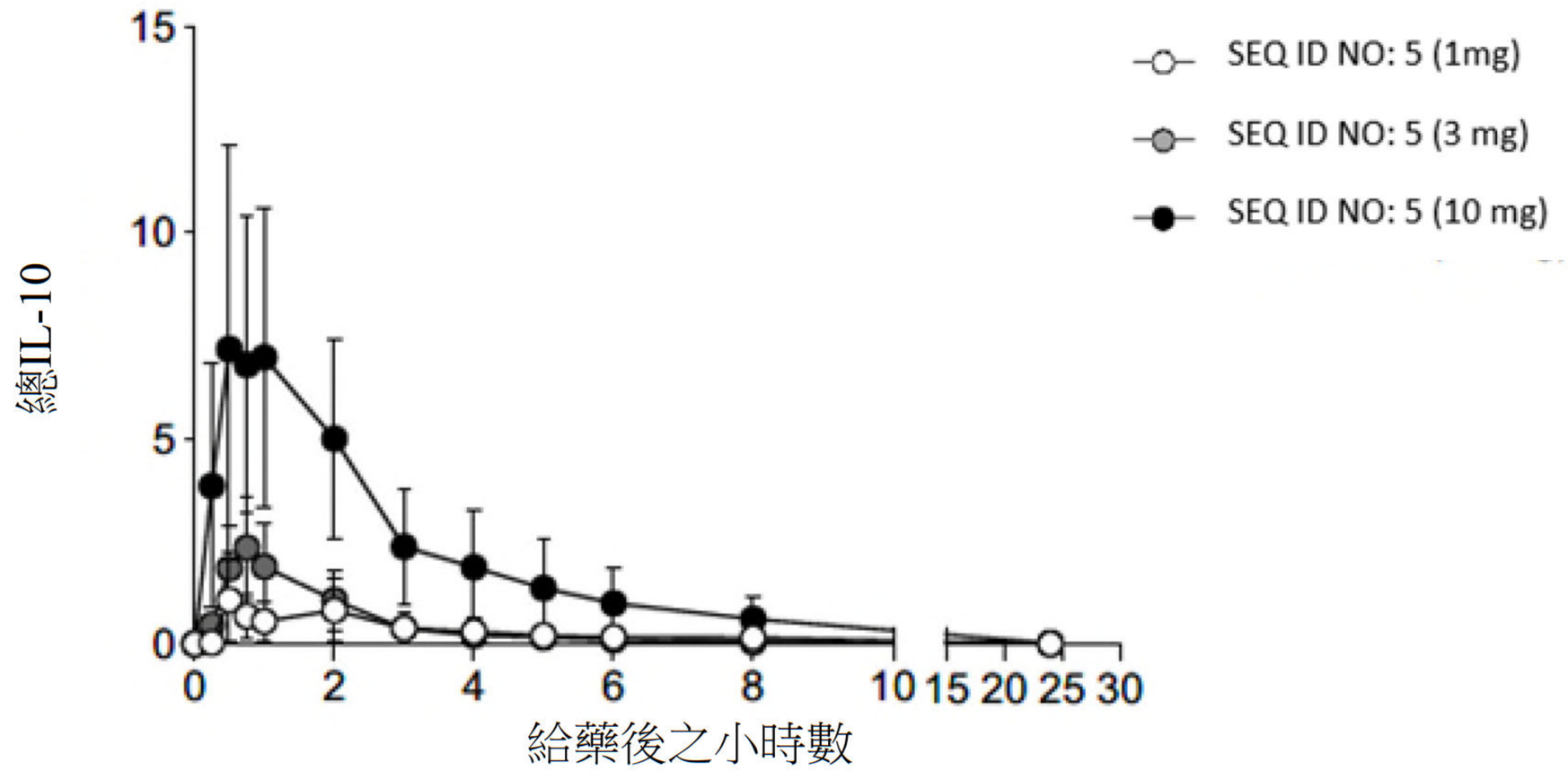
【圖68】


SEQ ID NO: 5純度(二聚體%)
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
溶解分鐘數
8 mg之50/50包衣
20 mg之50/50包衣
未包衣

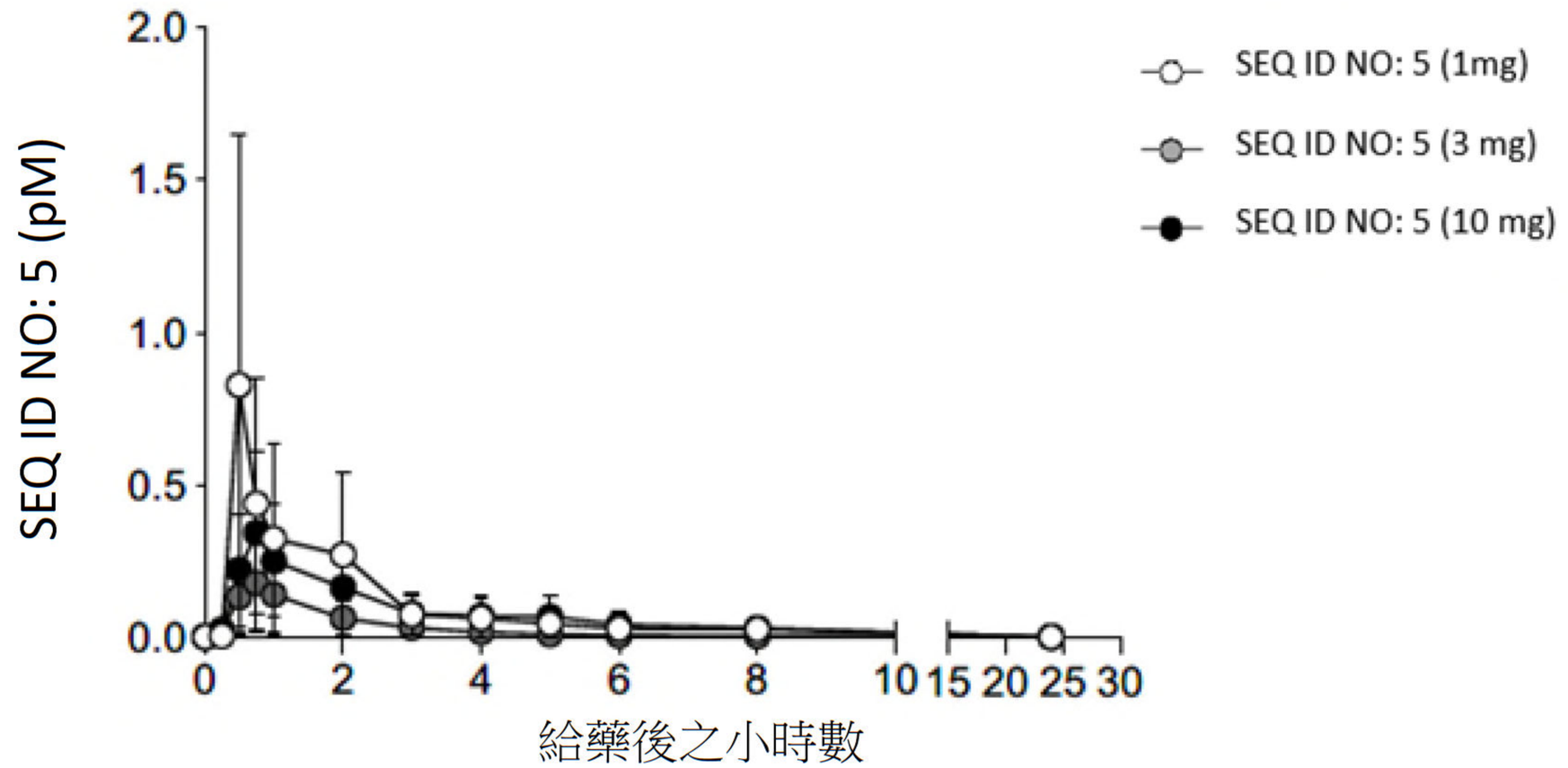
【圖69】


LMW/HMW
一聚體
腸溶120m
+HPMC20m
12
Eudragit包衣
膠囊
腸溶-無 腸溶-80m 腸溶-120m 腸溶120m
+HPMC60
11
HPMC包衣
膠囊
10
9
50:50, 20 mg
8
Eudragit包衣
錠劑(50/50)
7
6
50:50, 13 mg
50:50, 8 mg
5
Eudragit包衣
錠劑(20/80)
4
80:20, 20 mg
80:20, 13 mg
3
2
80:20, 8 mg
未包衣
1
未包衣
錠劑
0
20
40
60
80
100
釋放%

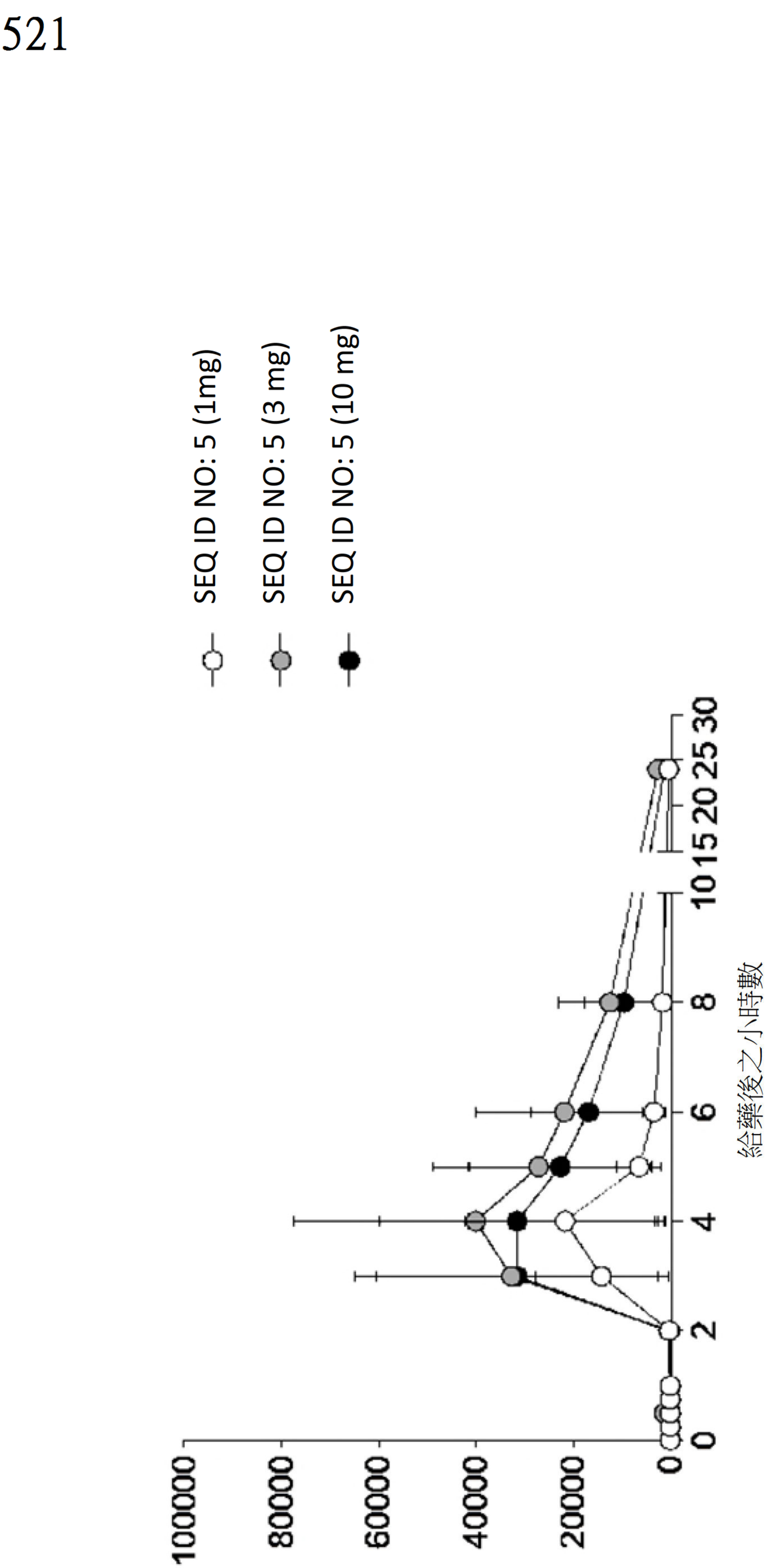
【圖7】


15
10
5
0
總IL-10
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)

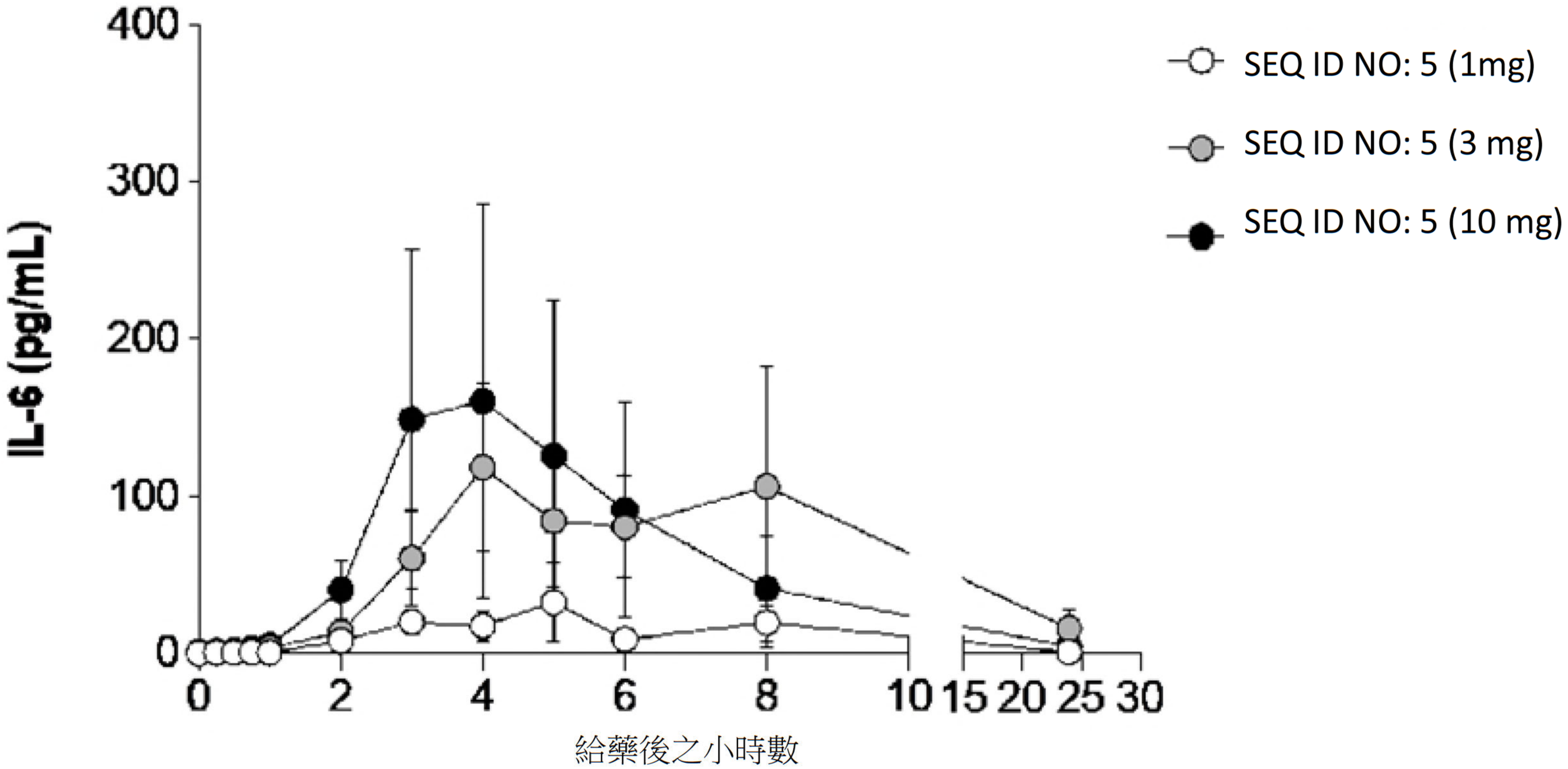
【圖71A】


2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
SEQ ID NO: 5 (pM)
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)

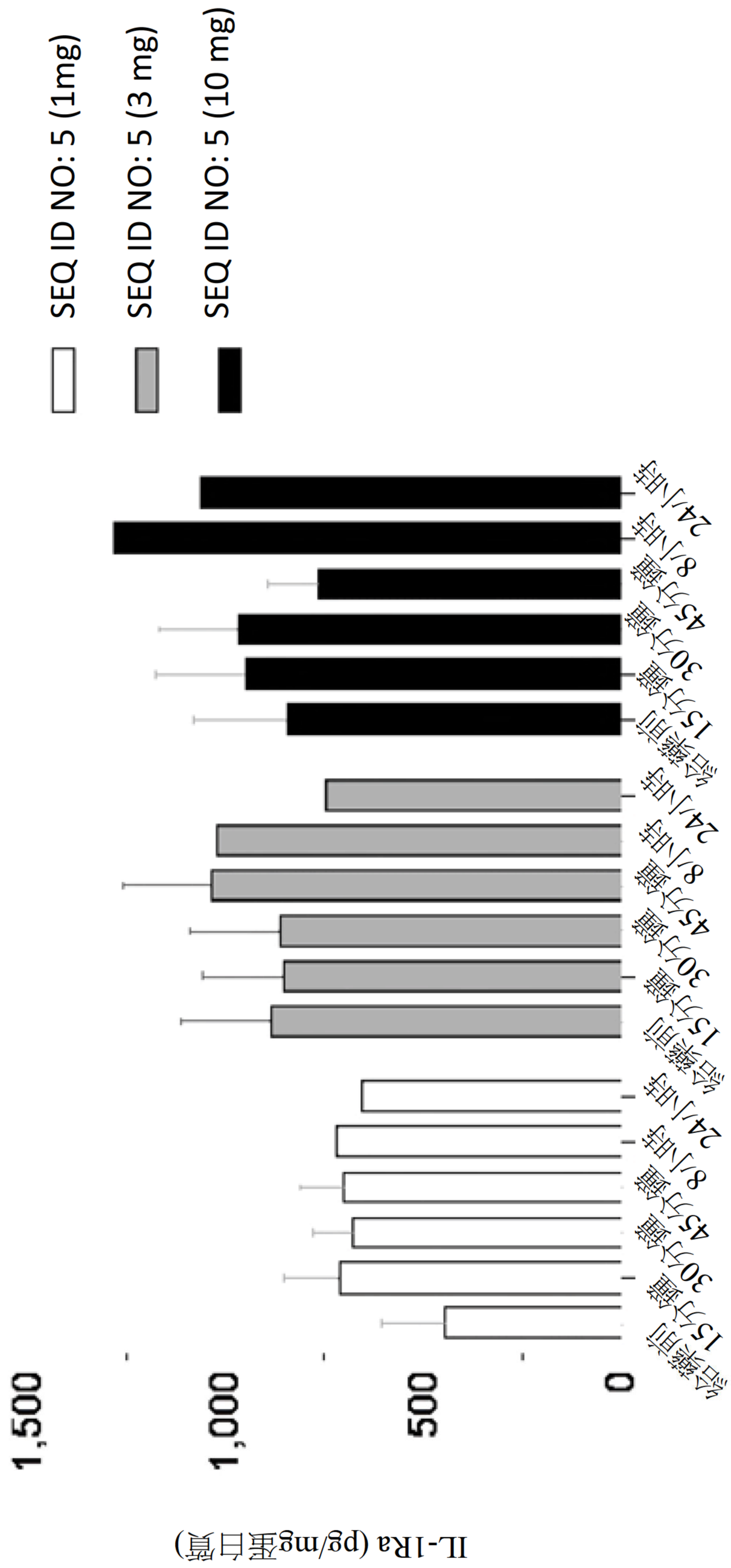
【圖71B】


SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)
10 15 20 25 30
給藥後之小時數
0 2 4 6 8
10000
8000
6000
4000
2000
IL-1Ra (pg/mL)

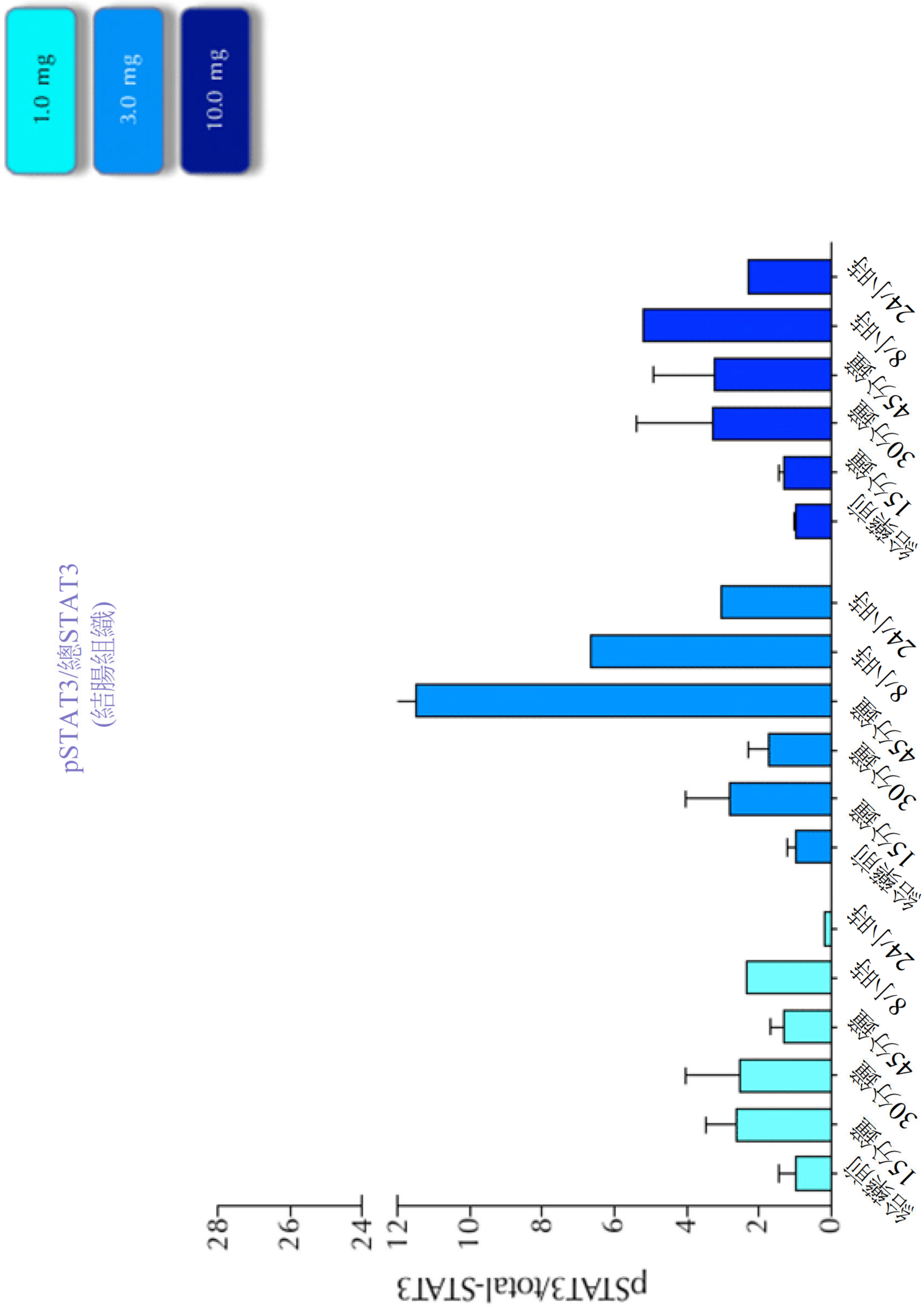
【圖71C】


IL-6 (pg/mL)
400
300
200
100
0
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)

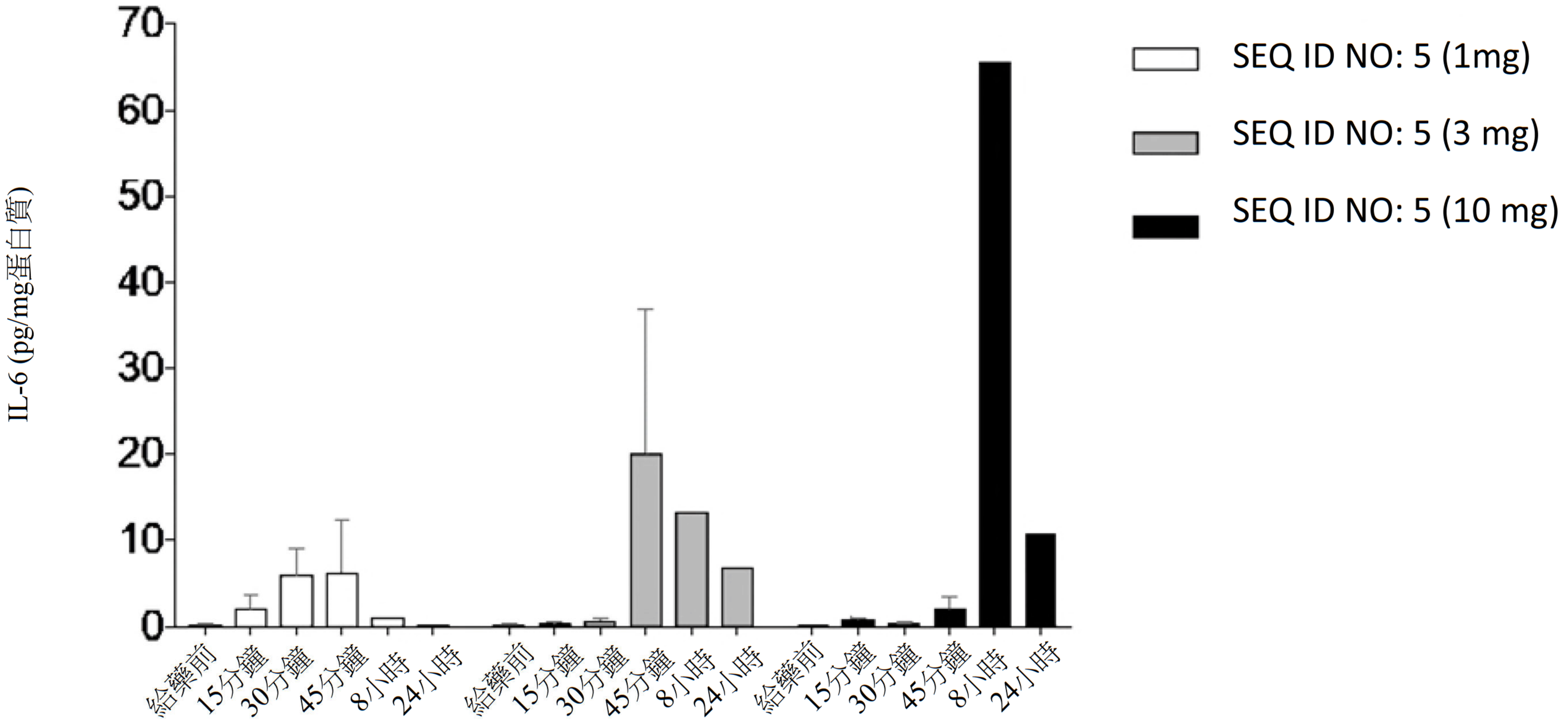
【圖72】


SEQ ID NO : 5 (1mg)
SEQ ID NO : 5 (3 mg)
SEQ ID NO : 5 (10 mg)
IL-1Ra (pg/mg蛋白質)
1,500
1,000
500
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時

【圖73】

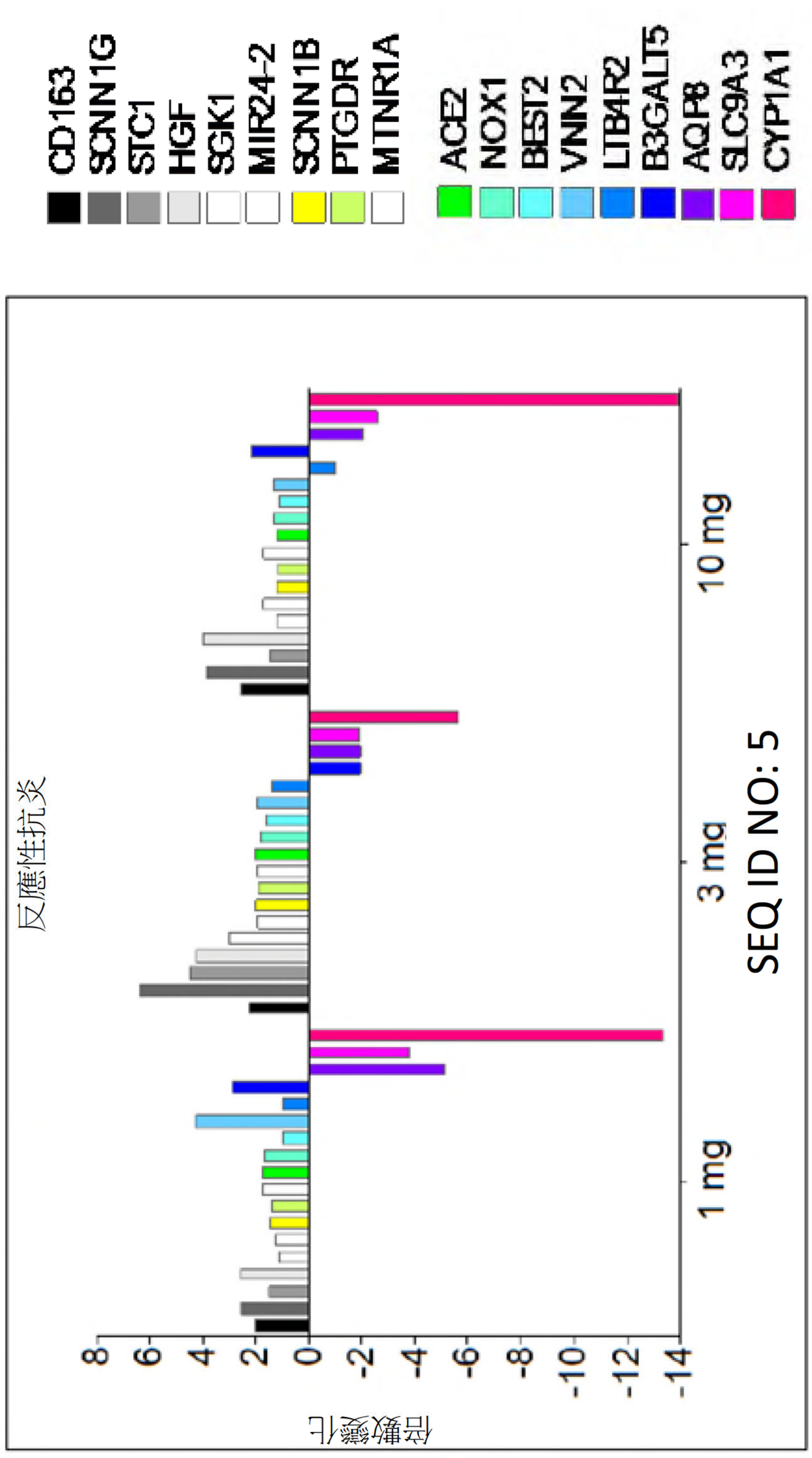

1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg
pSTAT3/總STAT3
(結腸組織)
pSTAT3/total-STAT3
0
2
4
6
8
10
12
24
26
28
24小時
8小時
45分鐘
30分鐘
15分鐘
給藥前

【圖74】

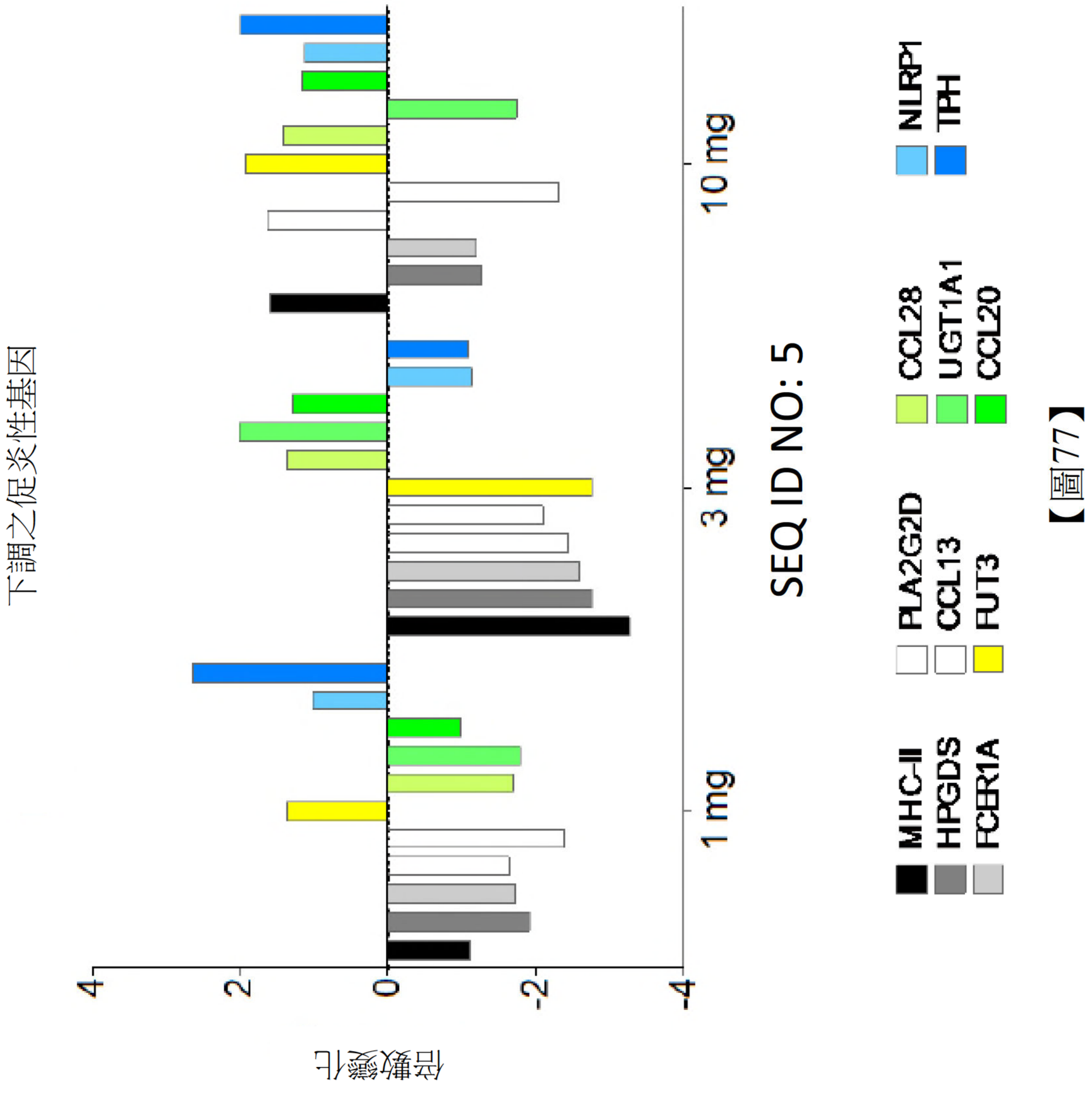

IL-6 (pg/mg蛋白質)
70
60
50
40
30
20
10
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)

【圖75】

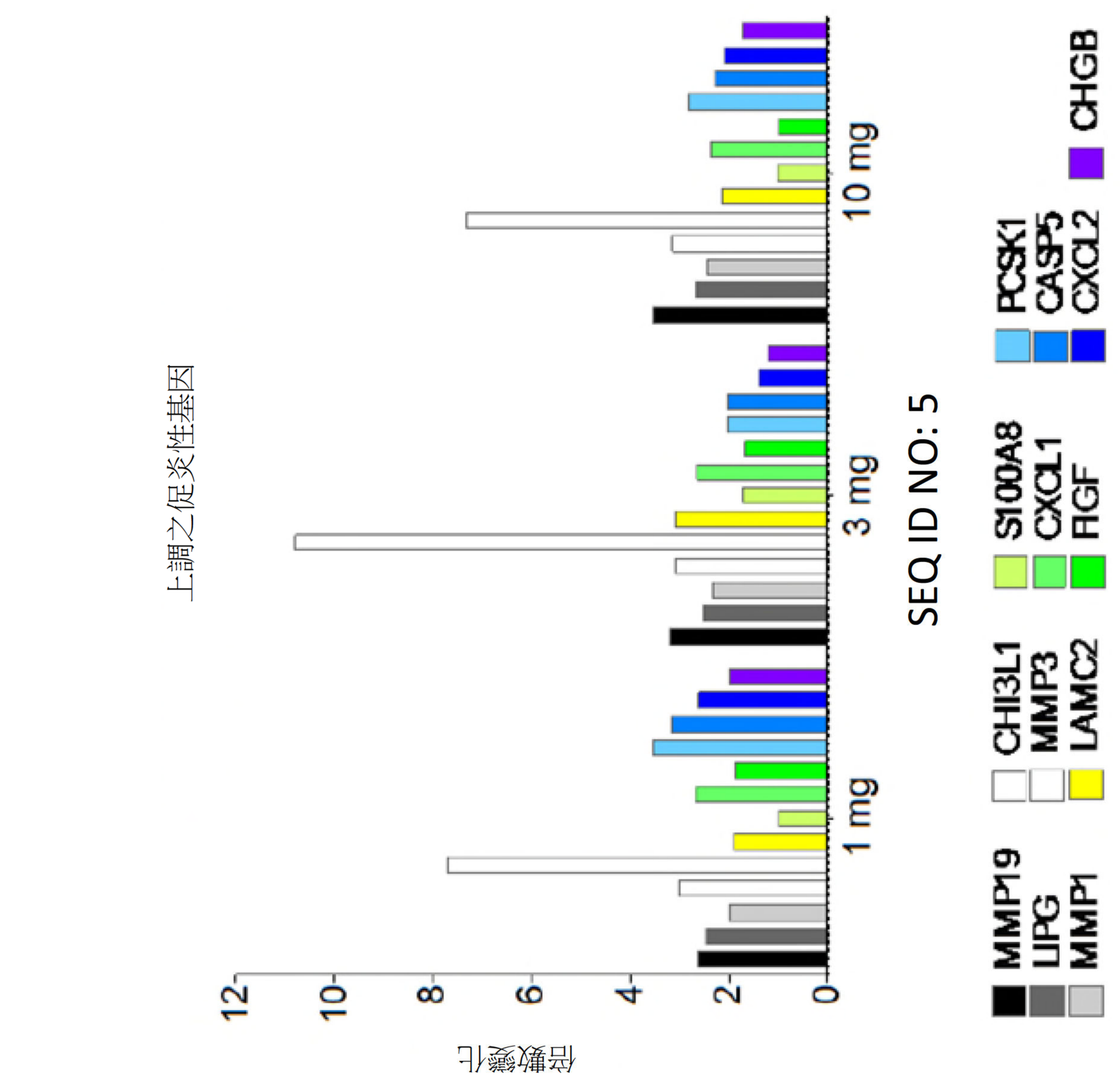
202120521



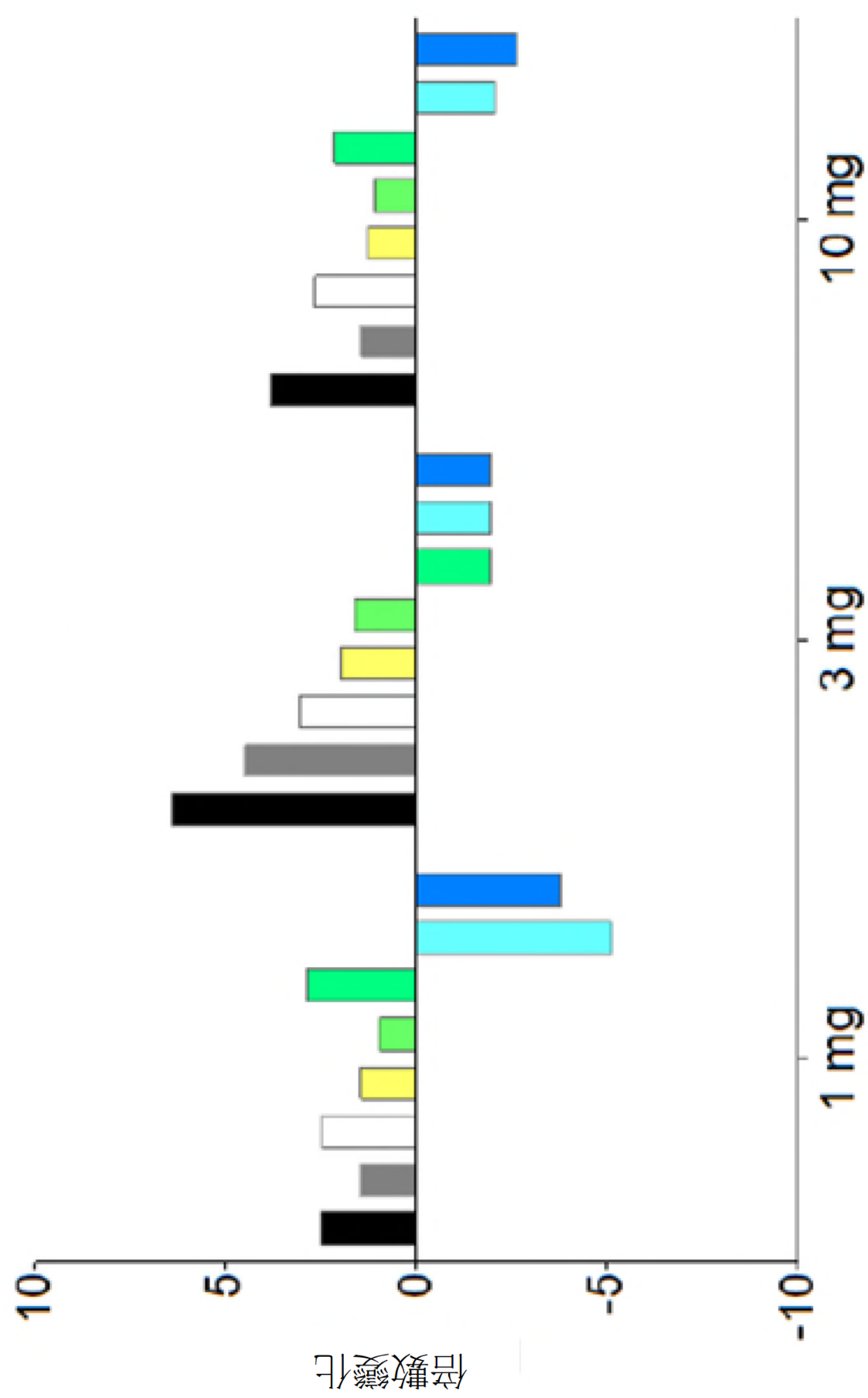
【圖76】


下調之促炎性基因
倍數變化
4
2
0
-2
-4
1 mg
3 mg
10 mg
SEQ ID NO: 5
MHC-II
HPGDS
FCER1A
PLA2G2D
CCL13
FUT3
CCL28
UGT1A1
CCL20
NLRP1
TPH

【圖77】

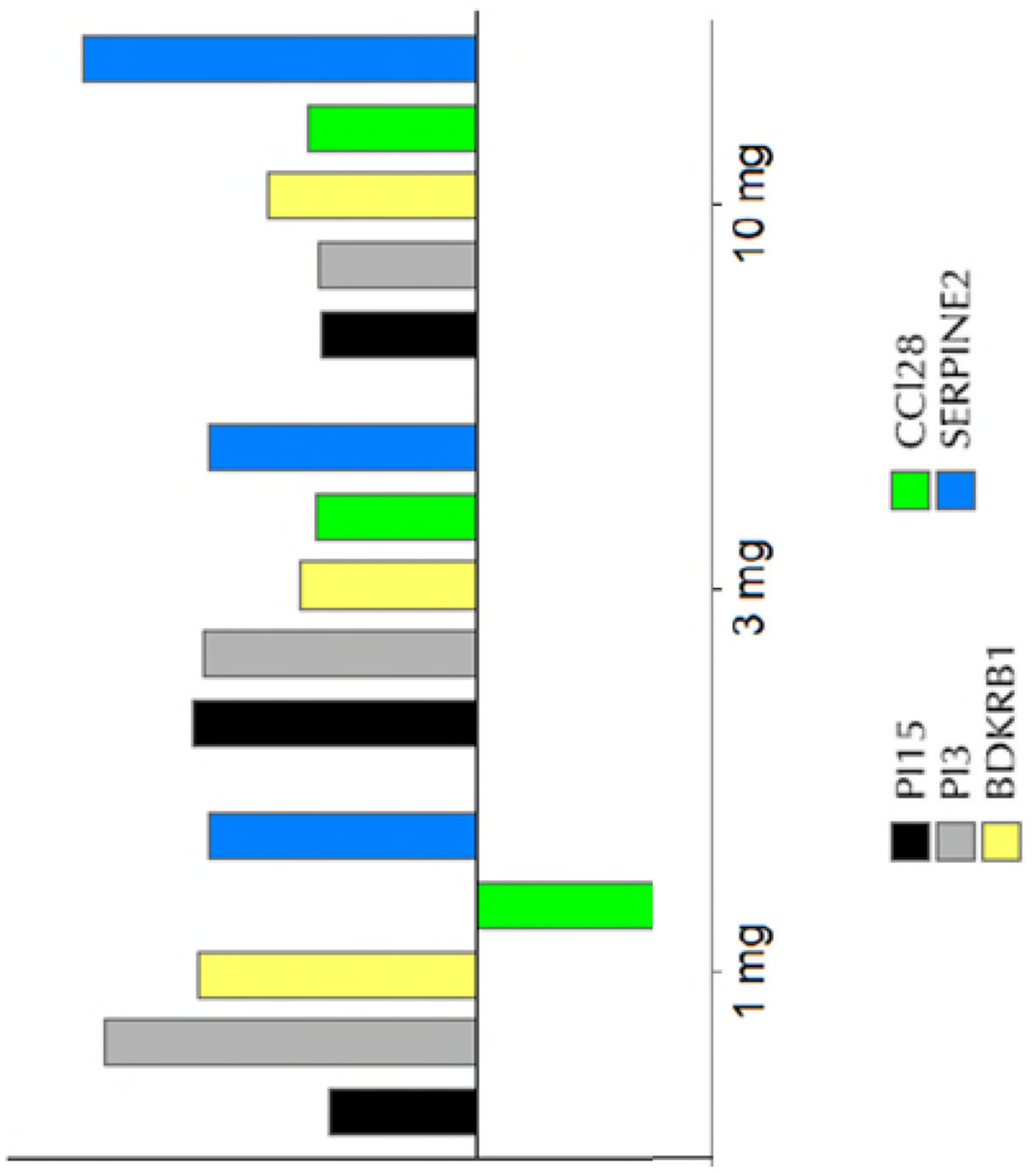

上調之促炎性基因
倍數變化
12
10
8
6
4
2
0
1 mg
3 mg
10 mg
SEQ ID NO: 5
MMP19
LIPG
MMP1
CHI3L1
MMP3
LAMC2
S100A8
CXCL1
RGF
PCSK1
CASP5
CXCL2
CHGB

【圖78】

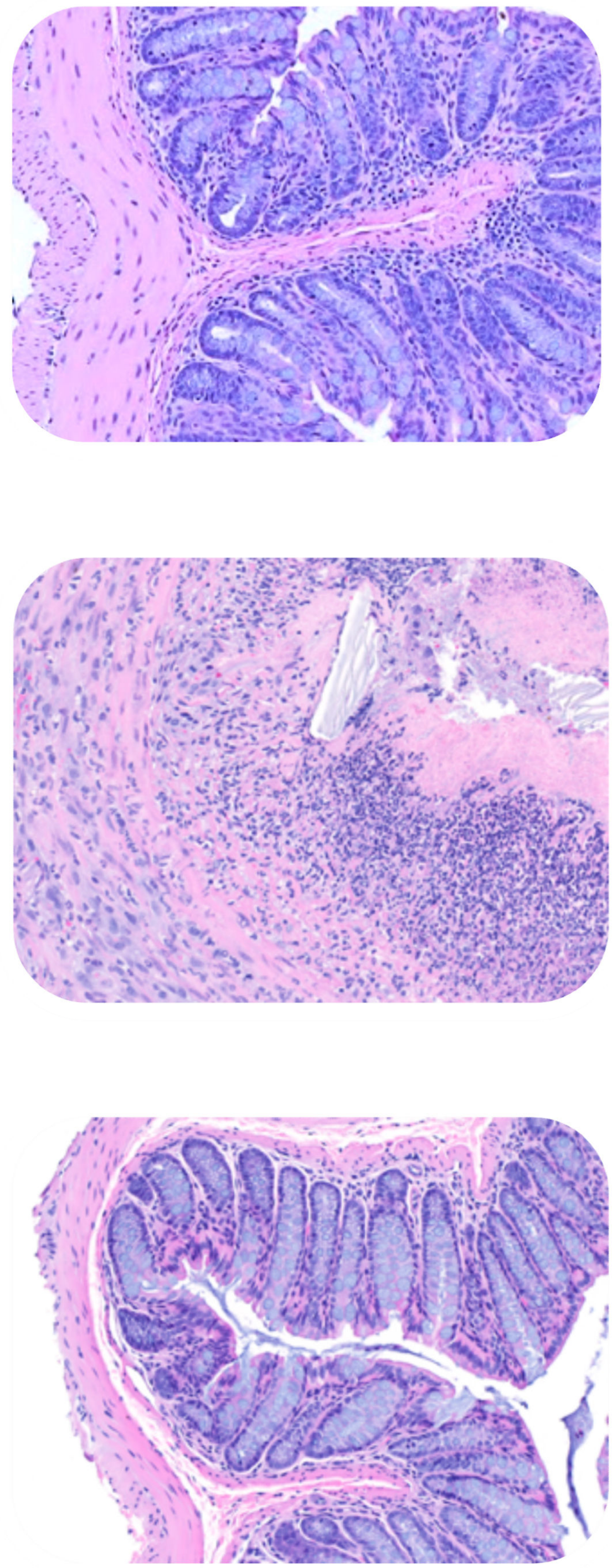

組織修復基因
倍數變化
10
5
0
-5
-10
3 mg
10 mg
1 mg
SEQ ID NO: 5
SCNN1B
BEST2
B3GALT5
AQP3
SLC9A3
SCNN1G
STC1
TIMP1

【圖79】

202120521



【圖80】



疾病：

初始

(無疾病)

【圖81A】

疾病：

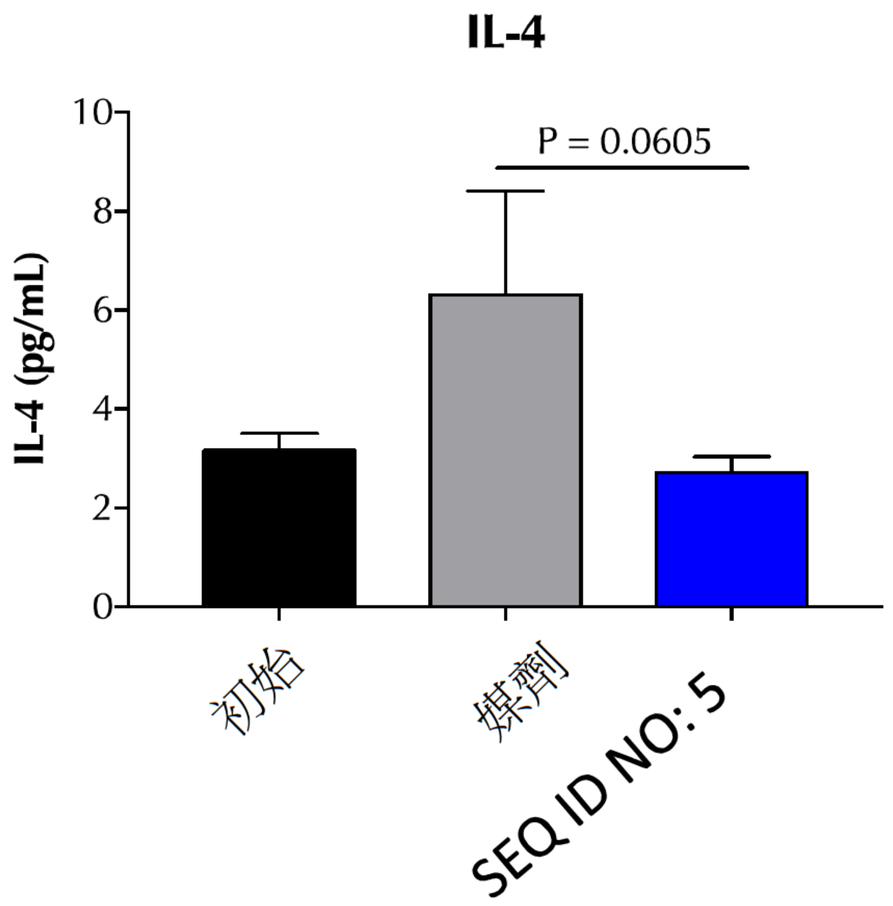
用媒劑/安慰劑治療

【圖81B】

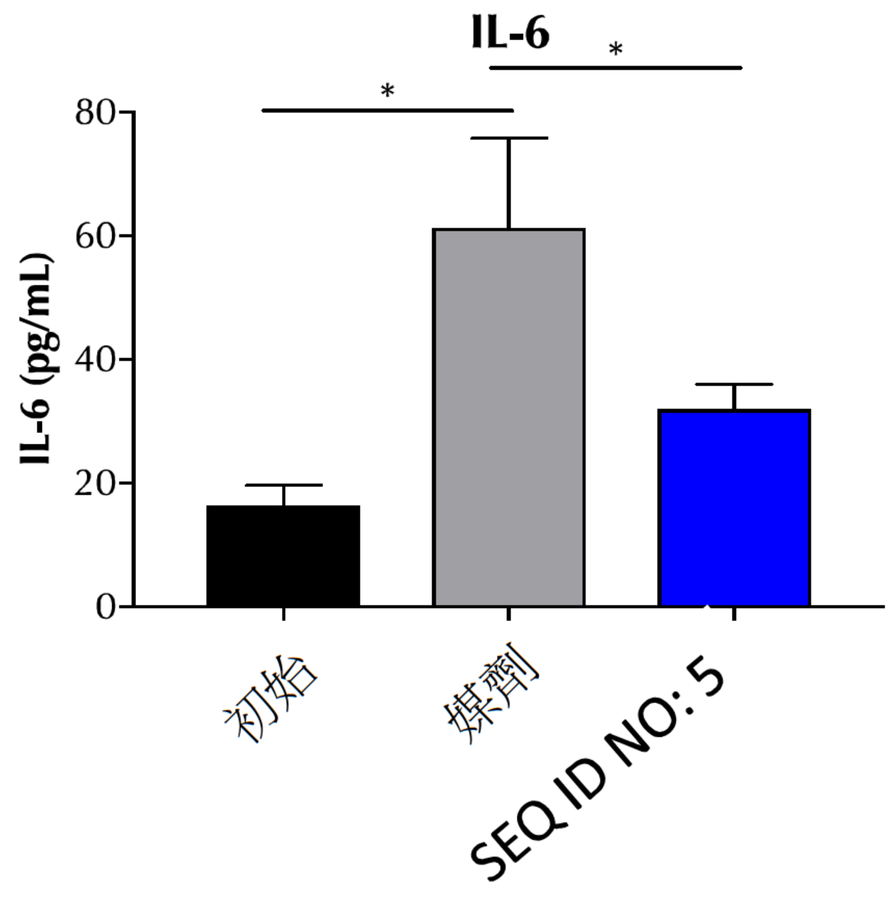
疾病：

用SEQ ID NO: 5治療

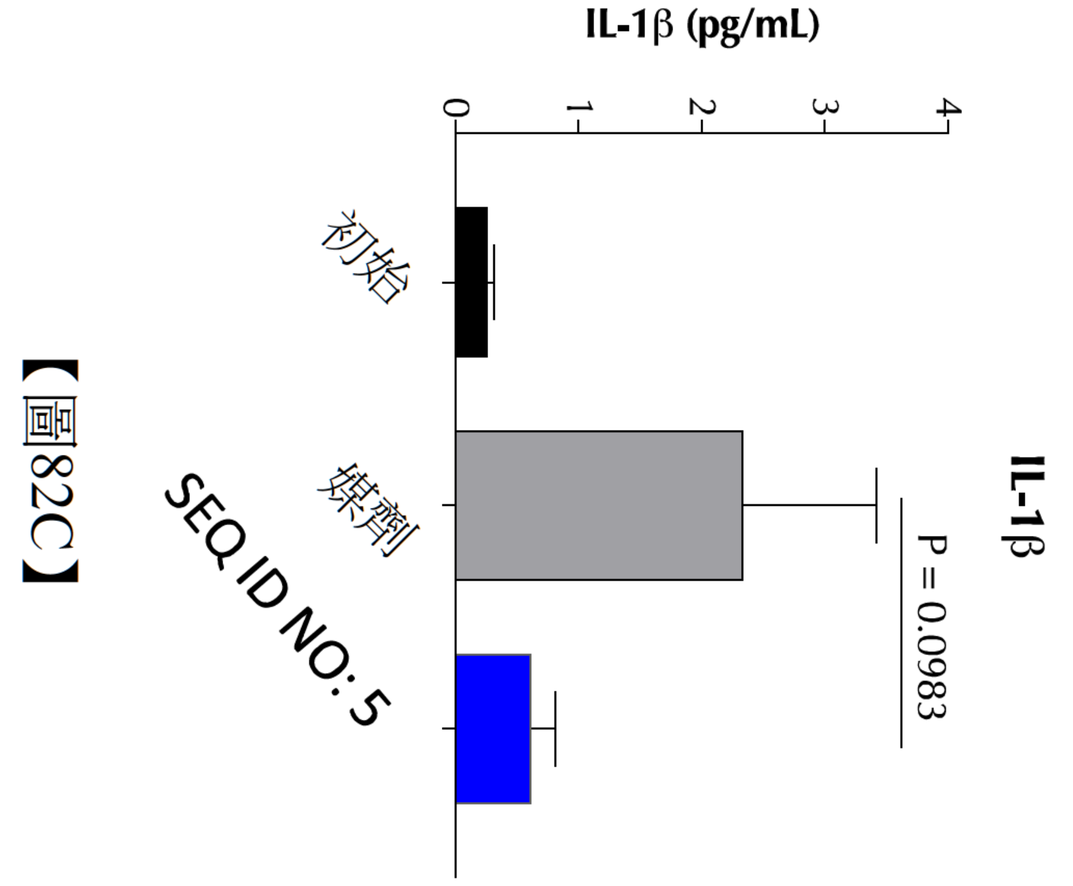
【圖81C】


IL-4
P = 0.0605
IL-4 (pg/mL)
10
8
6
4
2
0
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

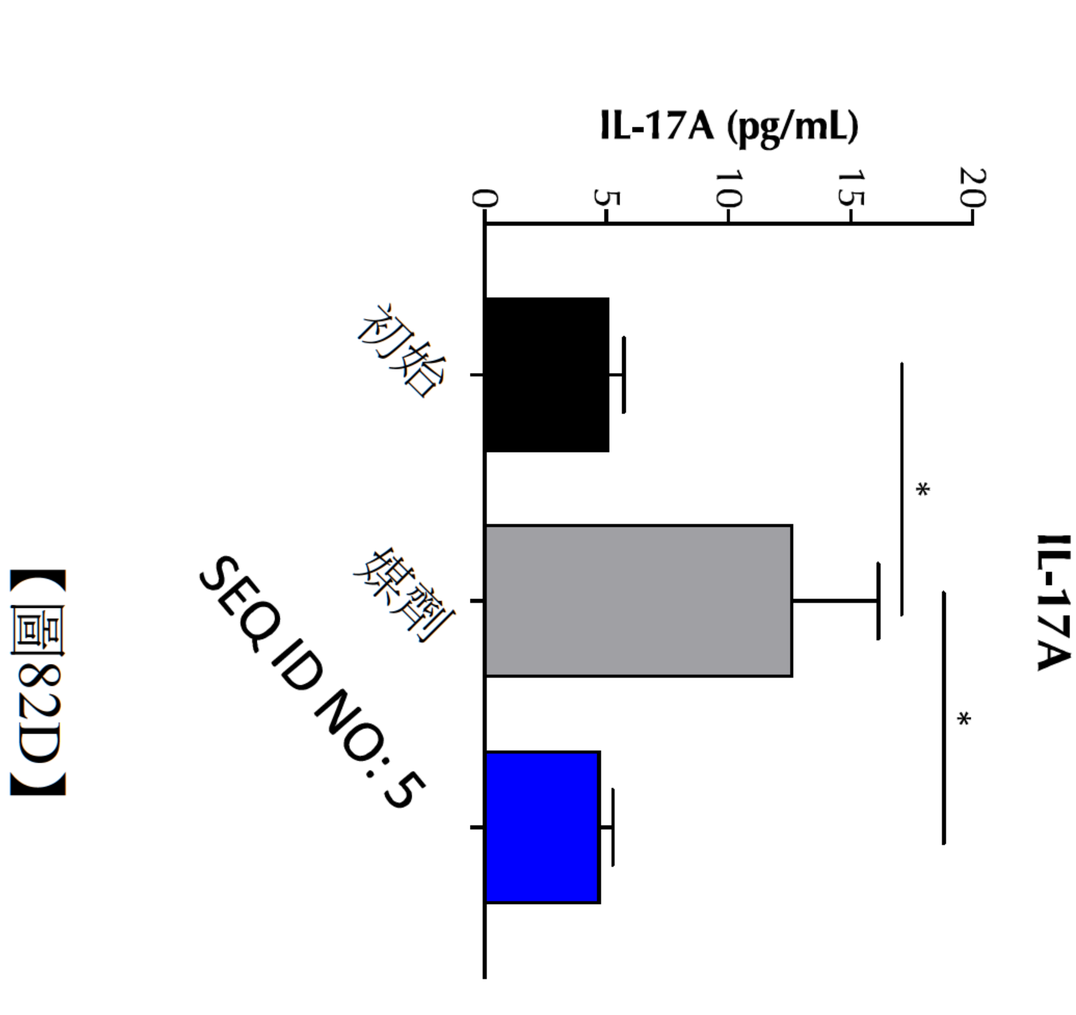
【圖82A】


IL-6
*
*
IL-6 (pg/mL)
80
60
40
20
0
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

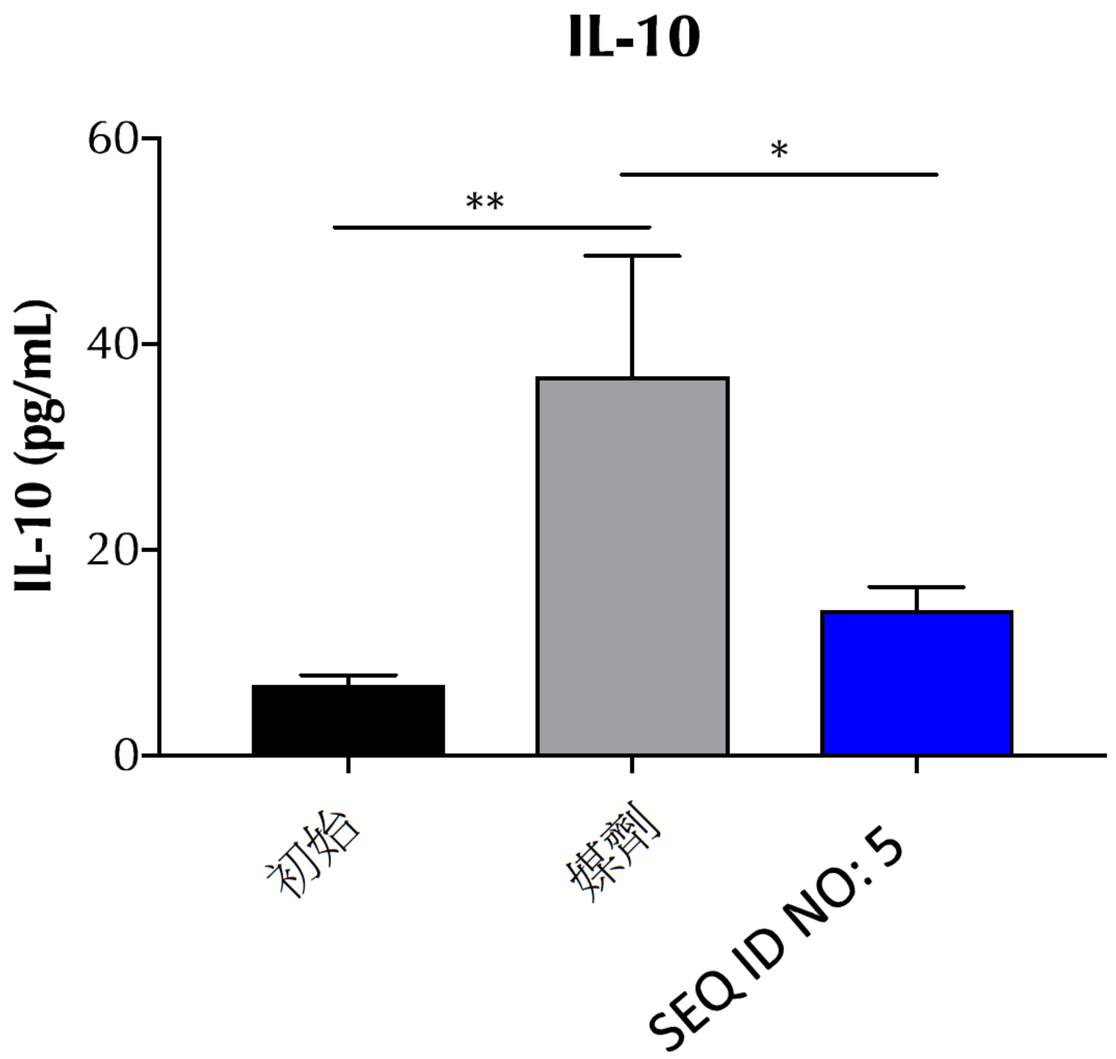
【圖82B】


IL-1β (pg/mL)
0
1
2
3
4
IL-1β
P = 0.0983
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

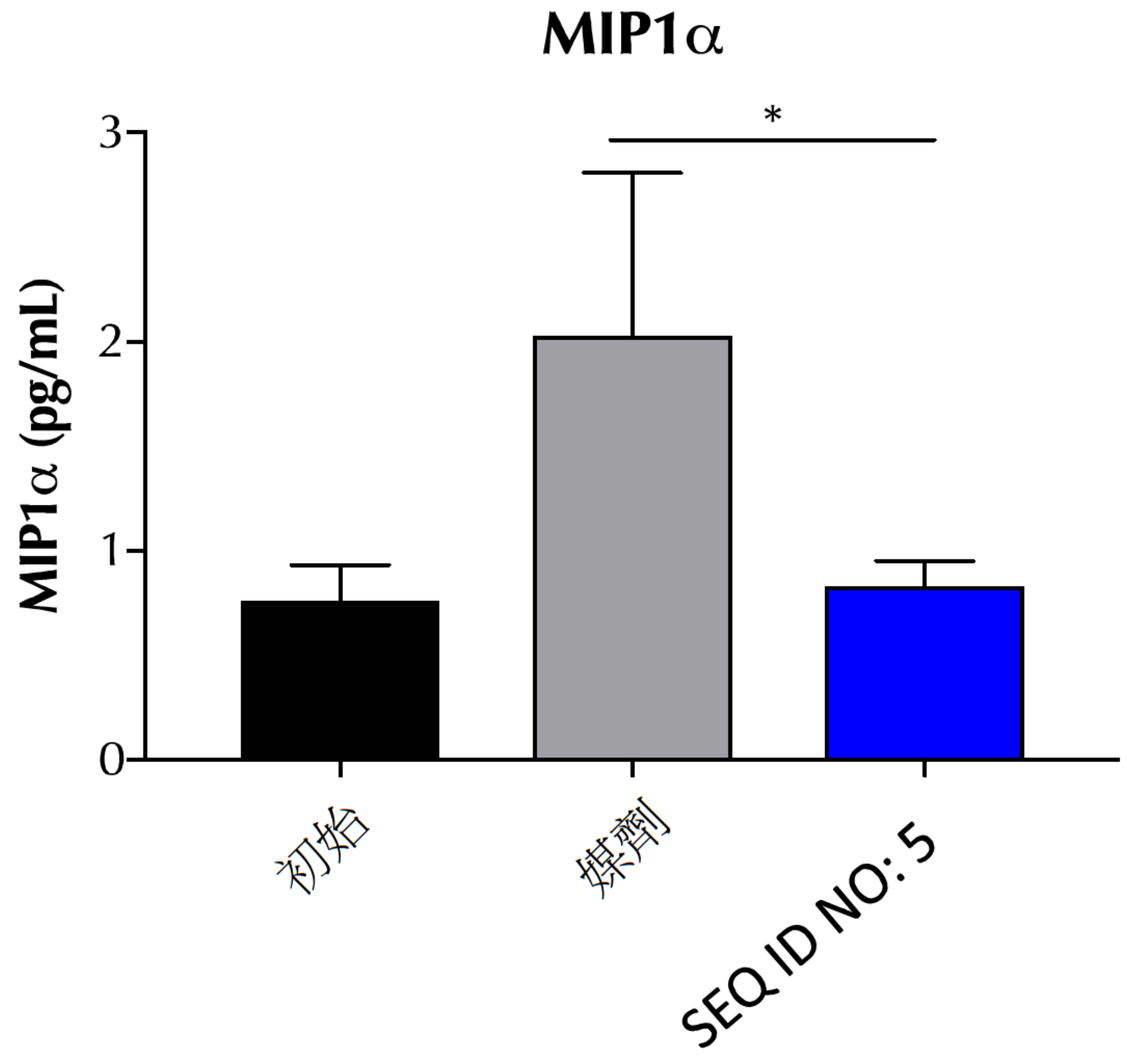
【圖82C】


IL-17A (pg/mL)
0
5
10
15
20
IL-17A
*
*
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

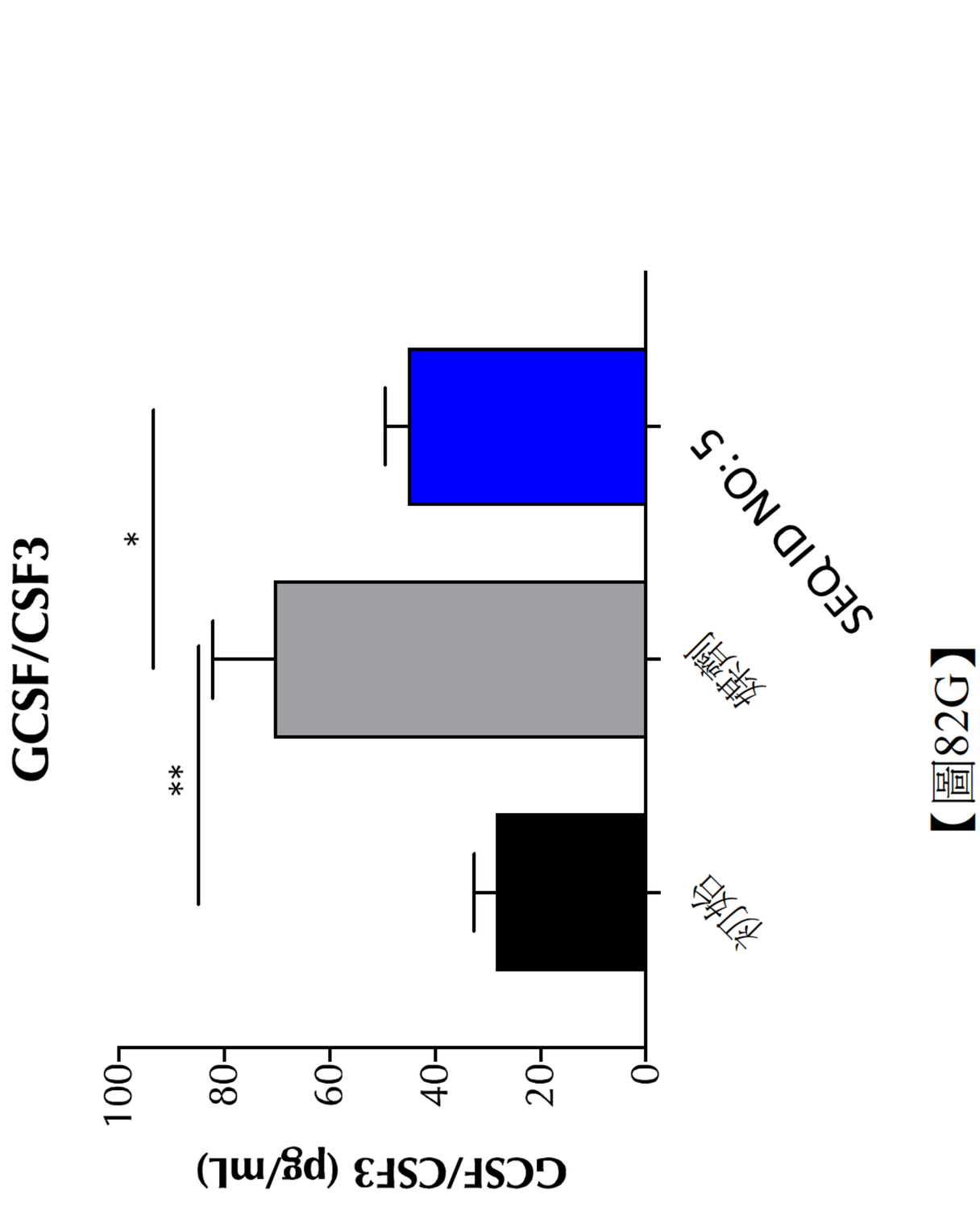
【圖82D】


IL-10
IL-10 (pg/mL)
60
40
20
0
**
*
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

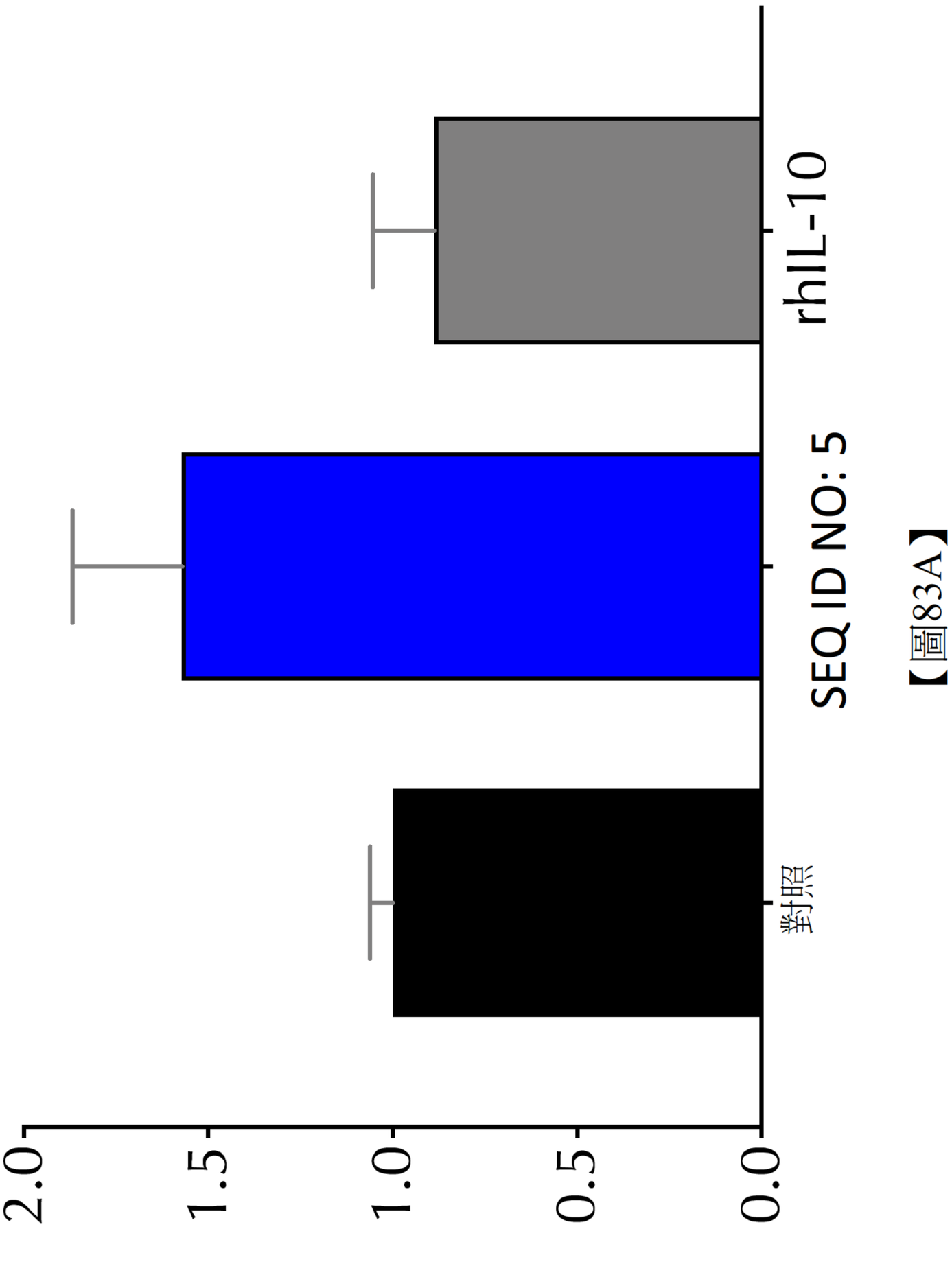
【圖82E】


MIP1α
MIP1α (pg/mL)
3
2
1
0
*
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

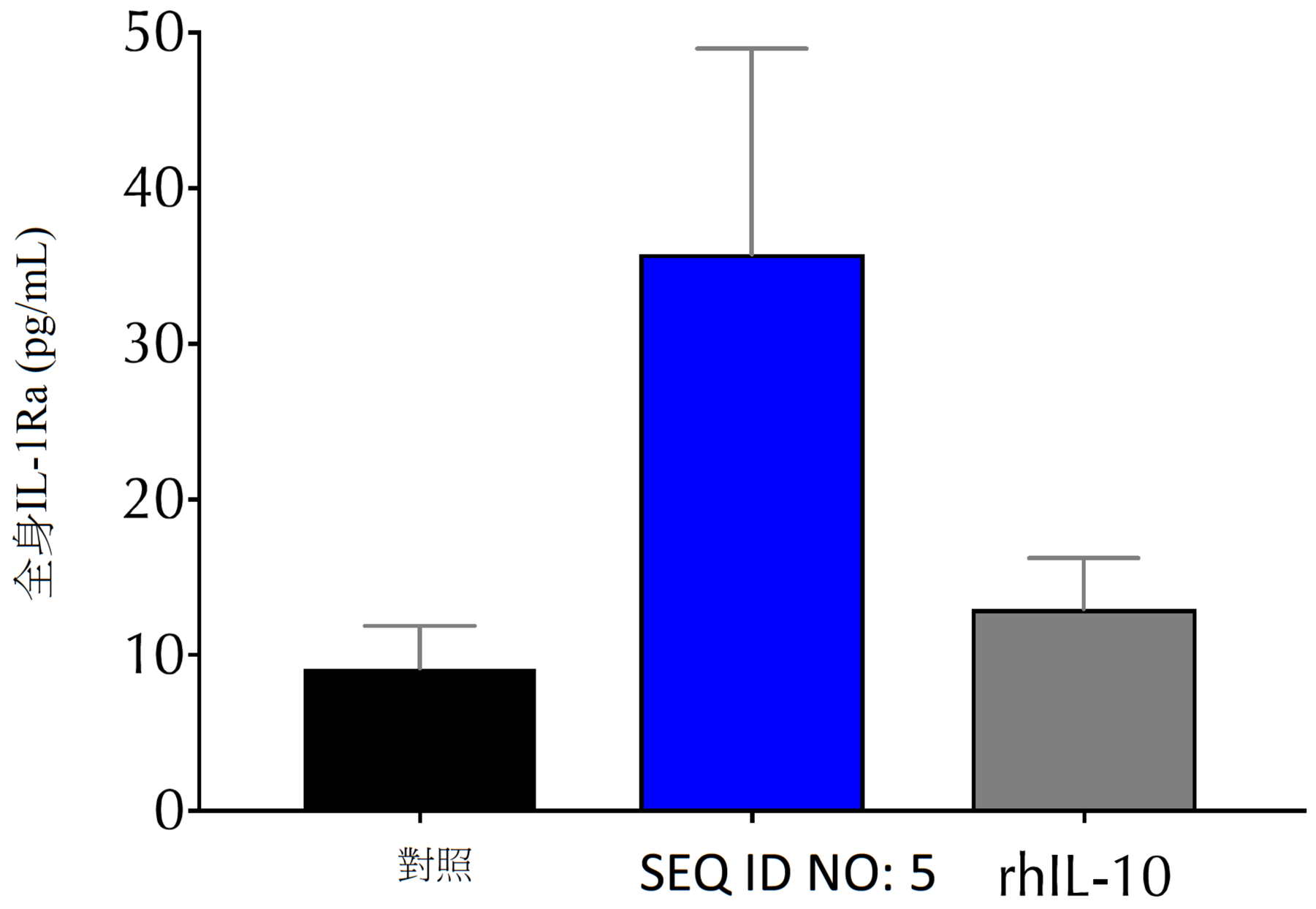
【圖82F】



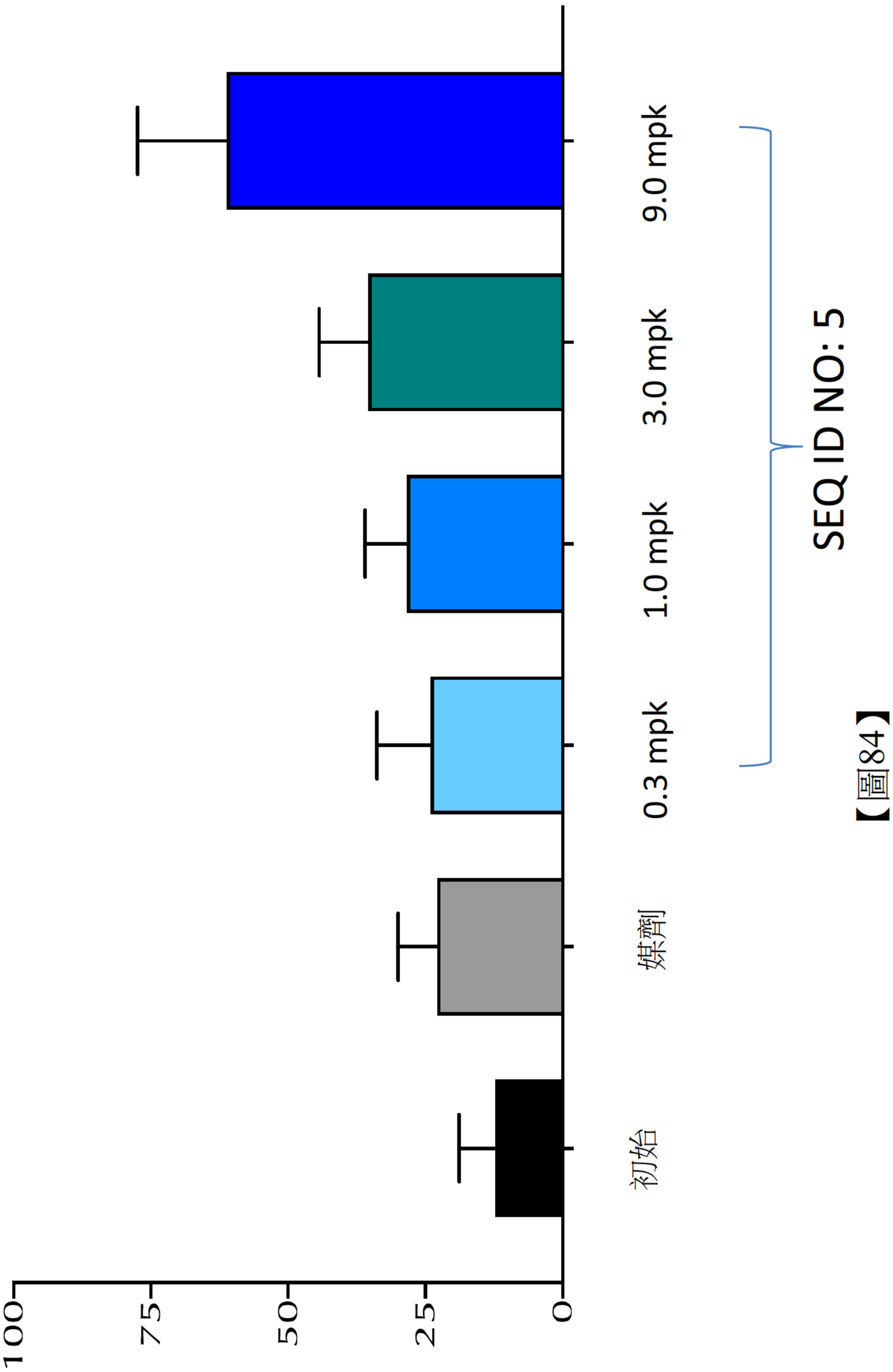
【圖82G】



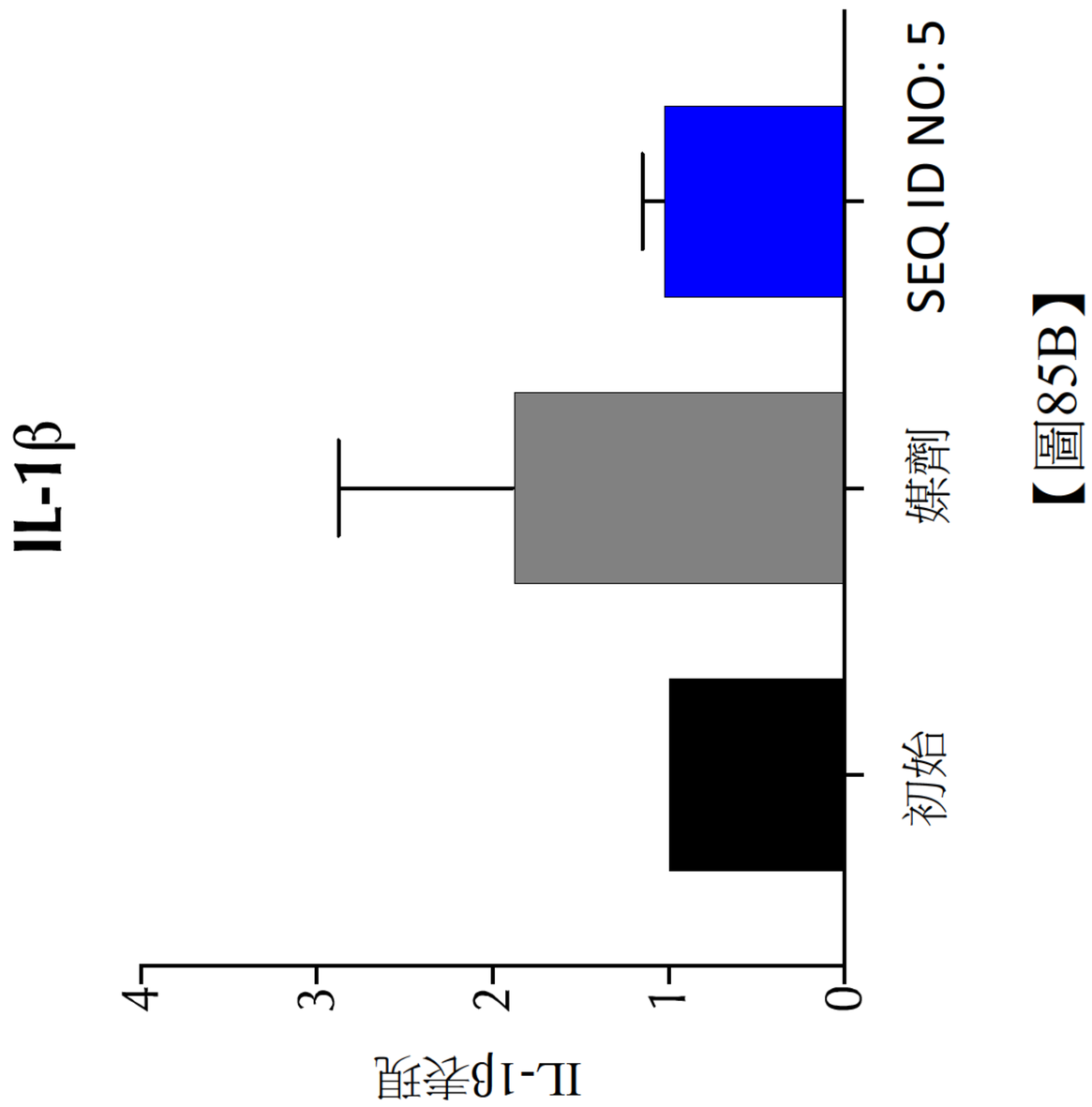
【圖83A】



【圖83B】

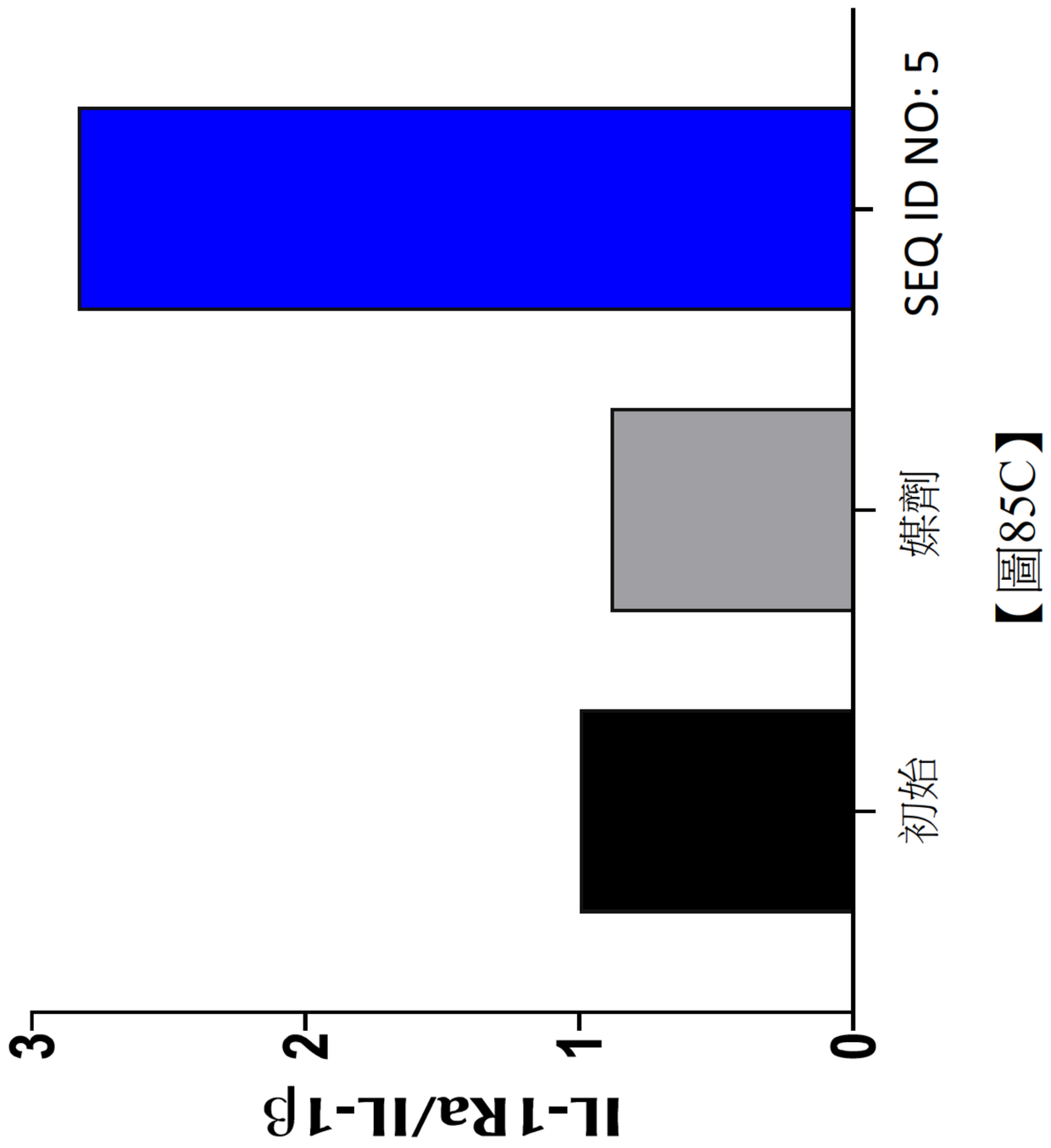

9.0 mpk
3.0 mpk
1.0 mpk
0.3 mpk
媒劑
初始
SEQ ID NO: 5
100
75
50
25
0
全身IL-1Ra濃度 (pg/ml)

【圖84】

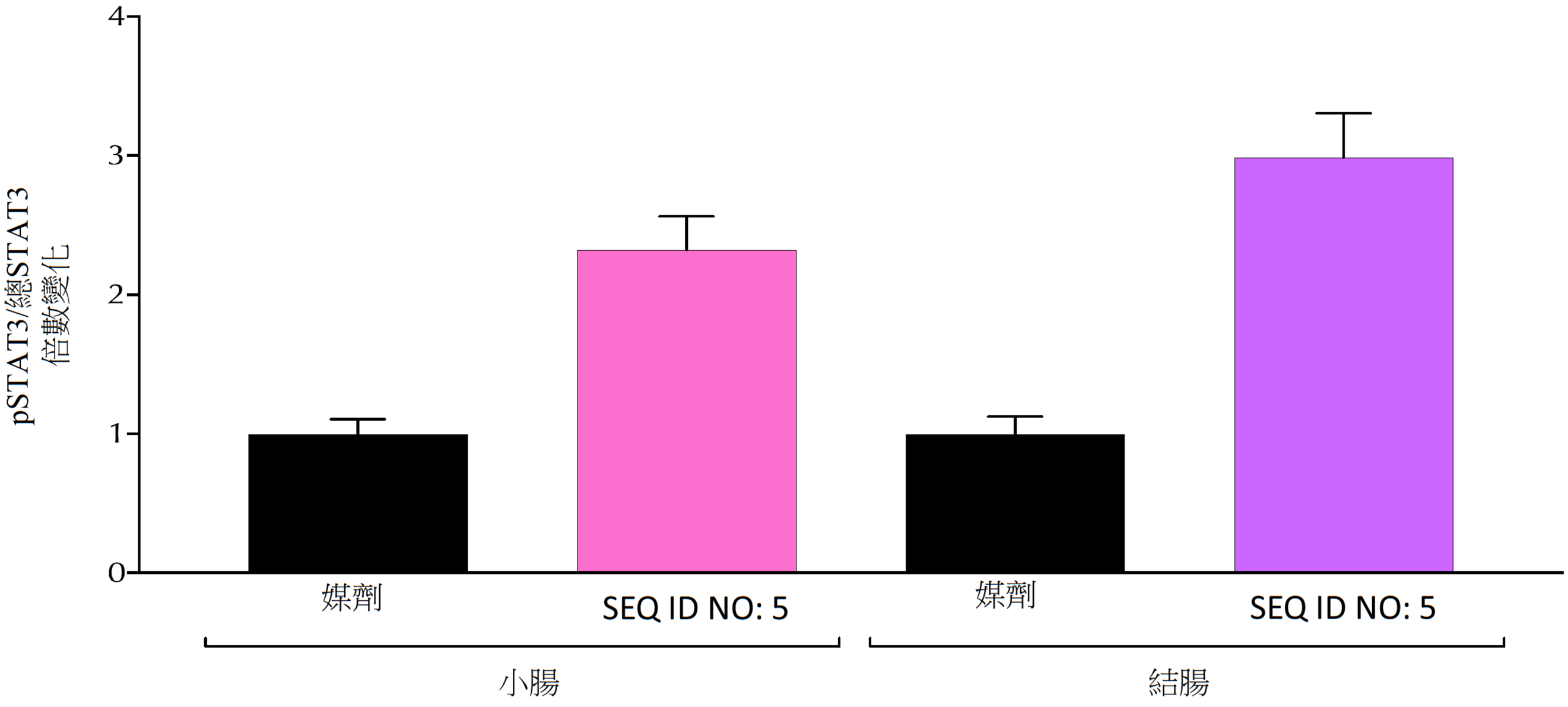

IL-1Ra表現
4
3
2
1
0
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5
IL-1β
4
3
2
1
0
IL-1β表現
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

【圖85A】

【圖85B】

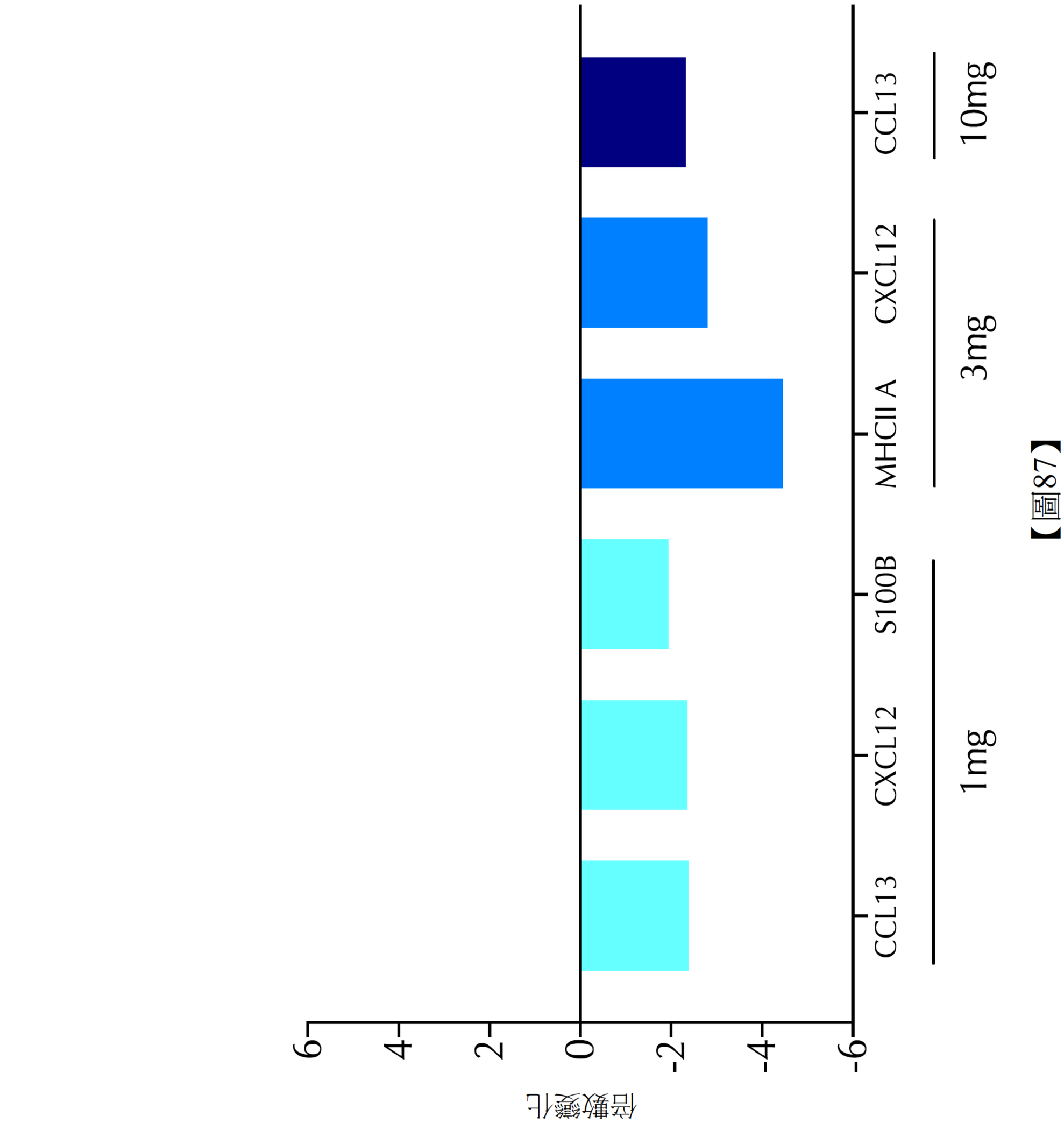


【圖85C】

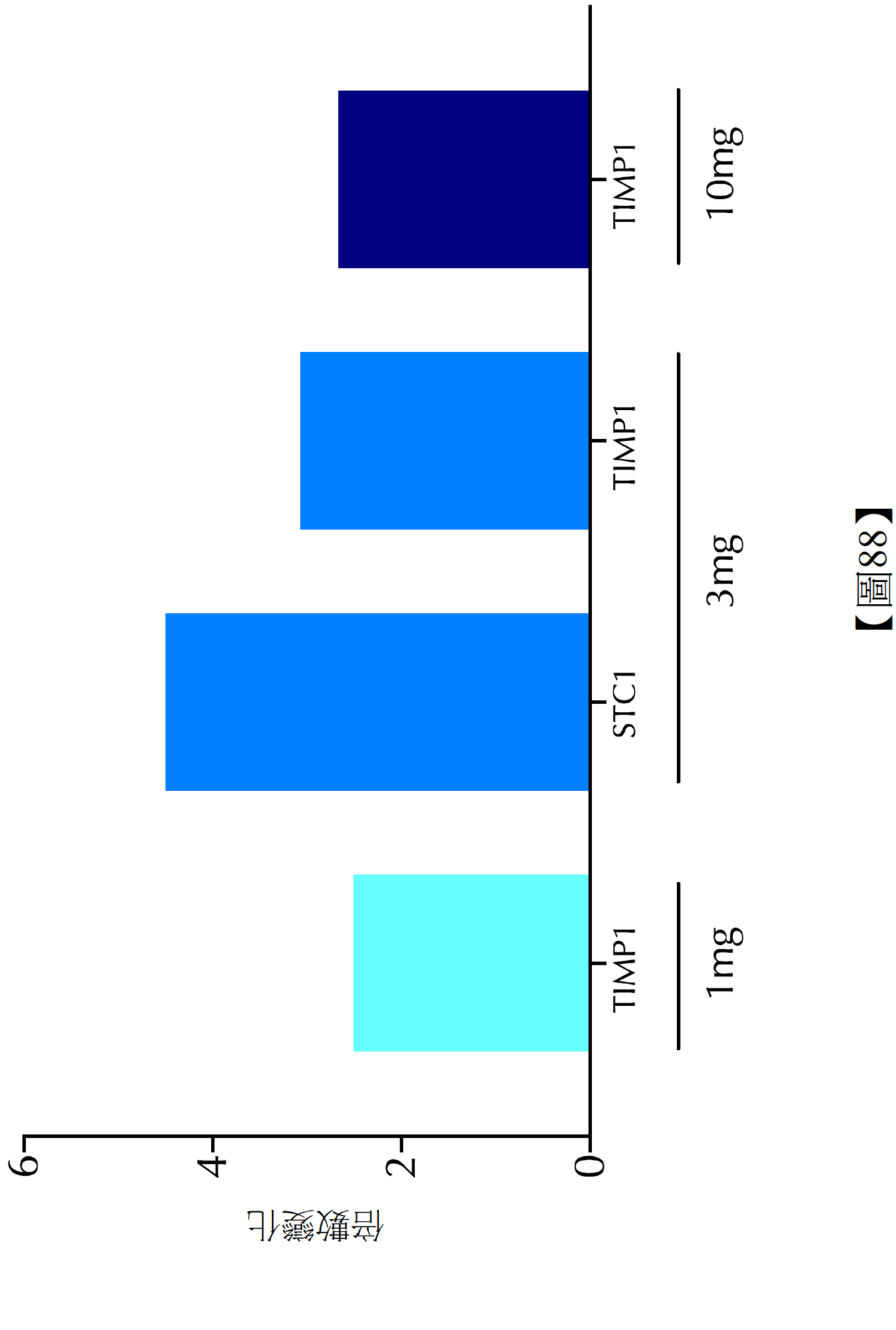


【圖86】

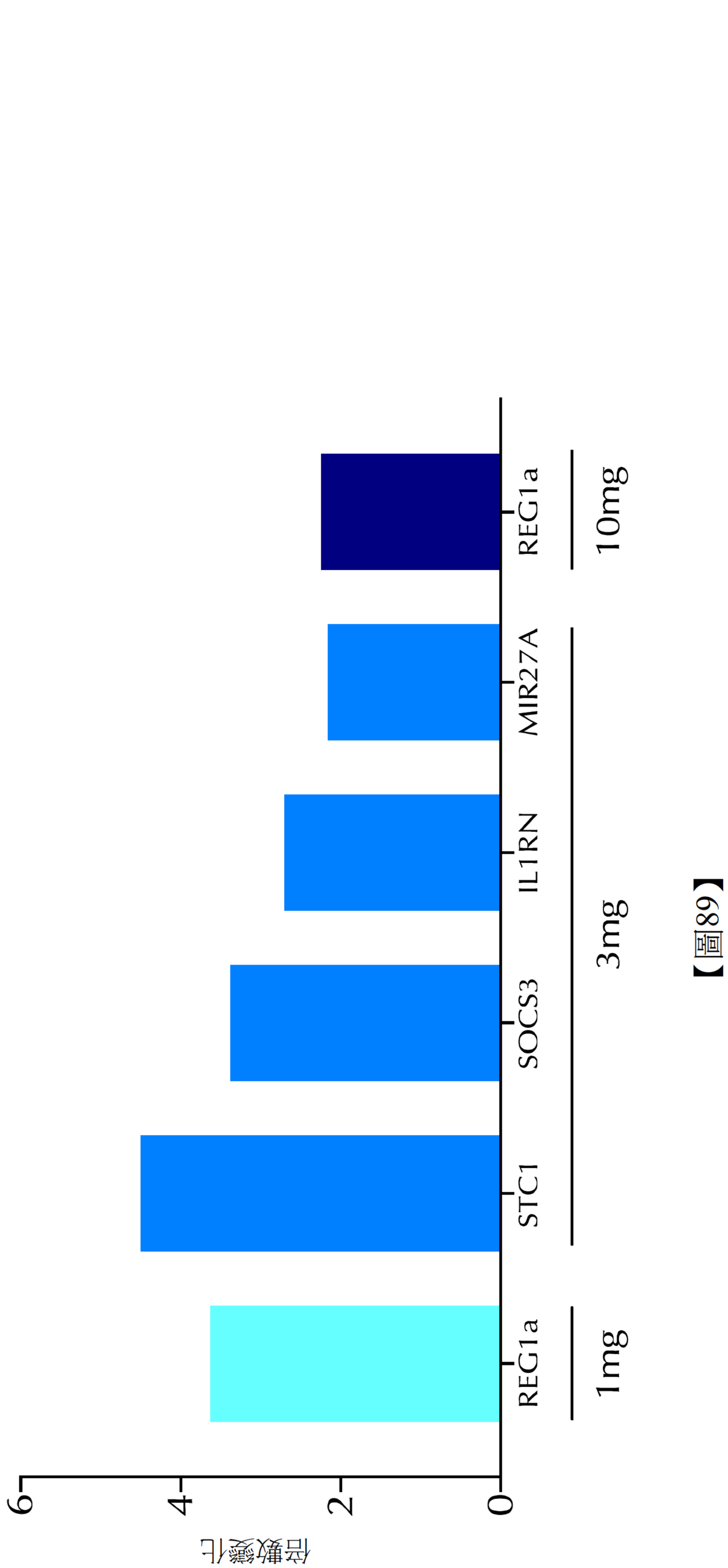
202120521



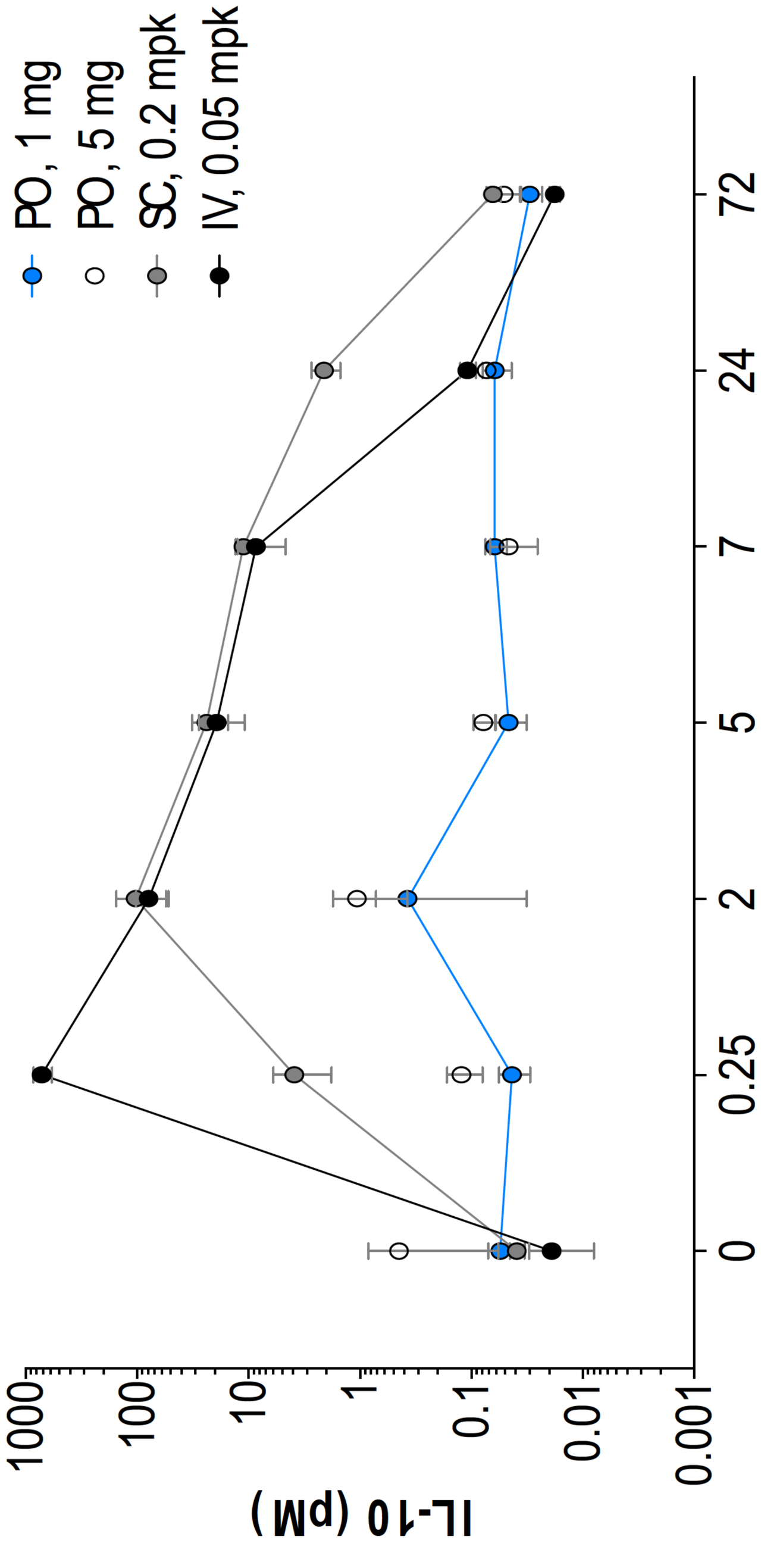
【圖87】



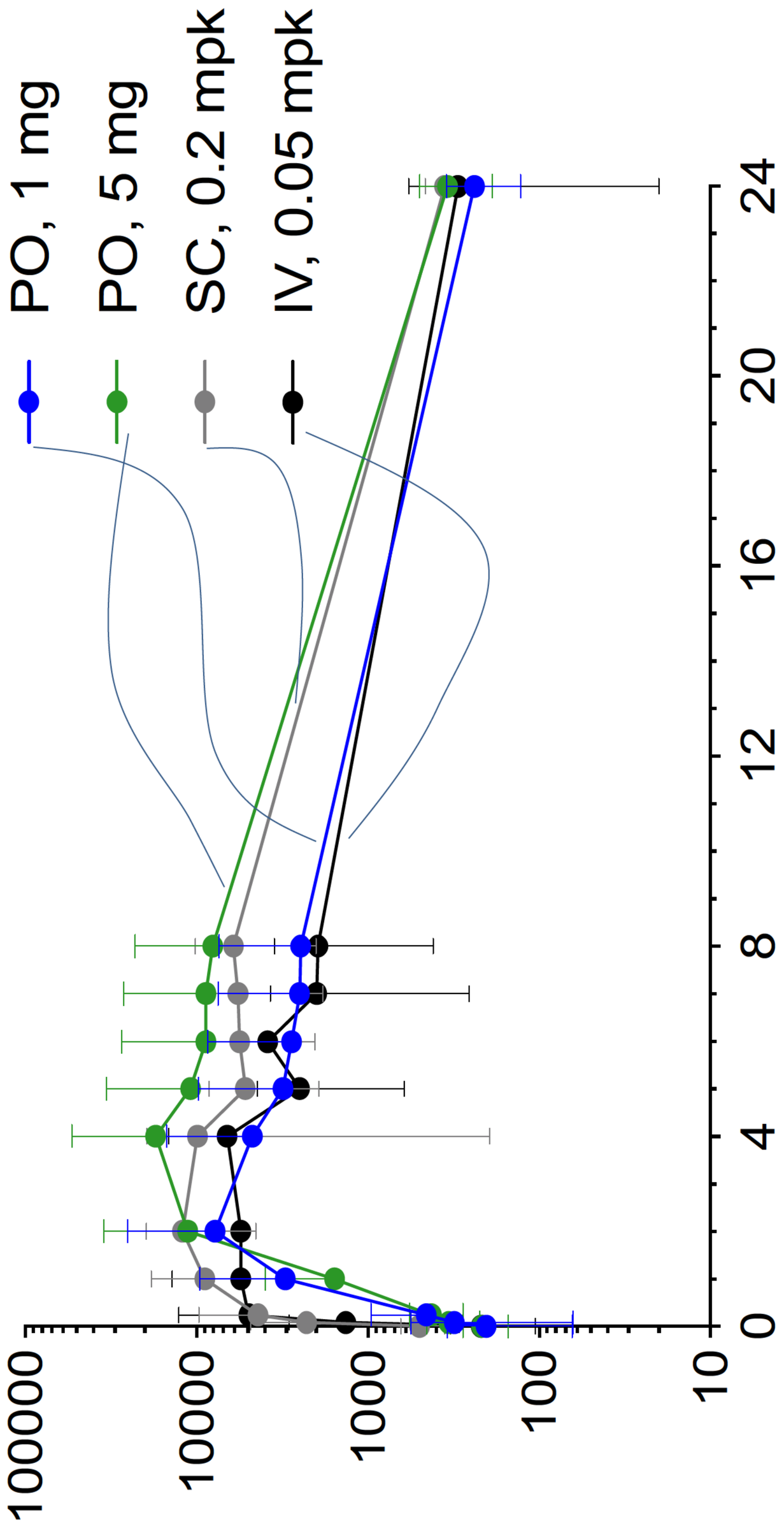
【圖88】



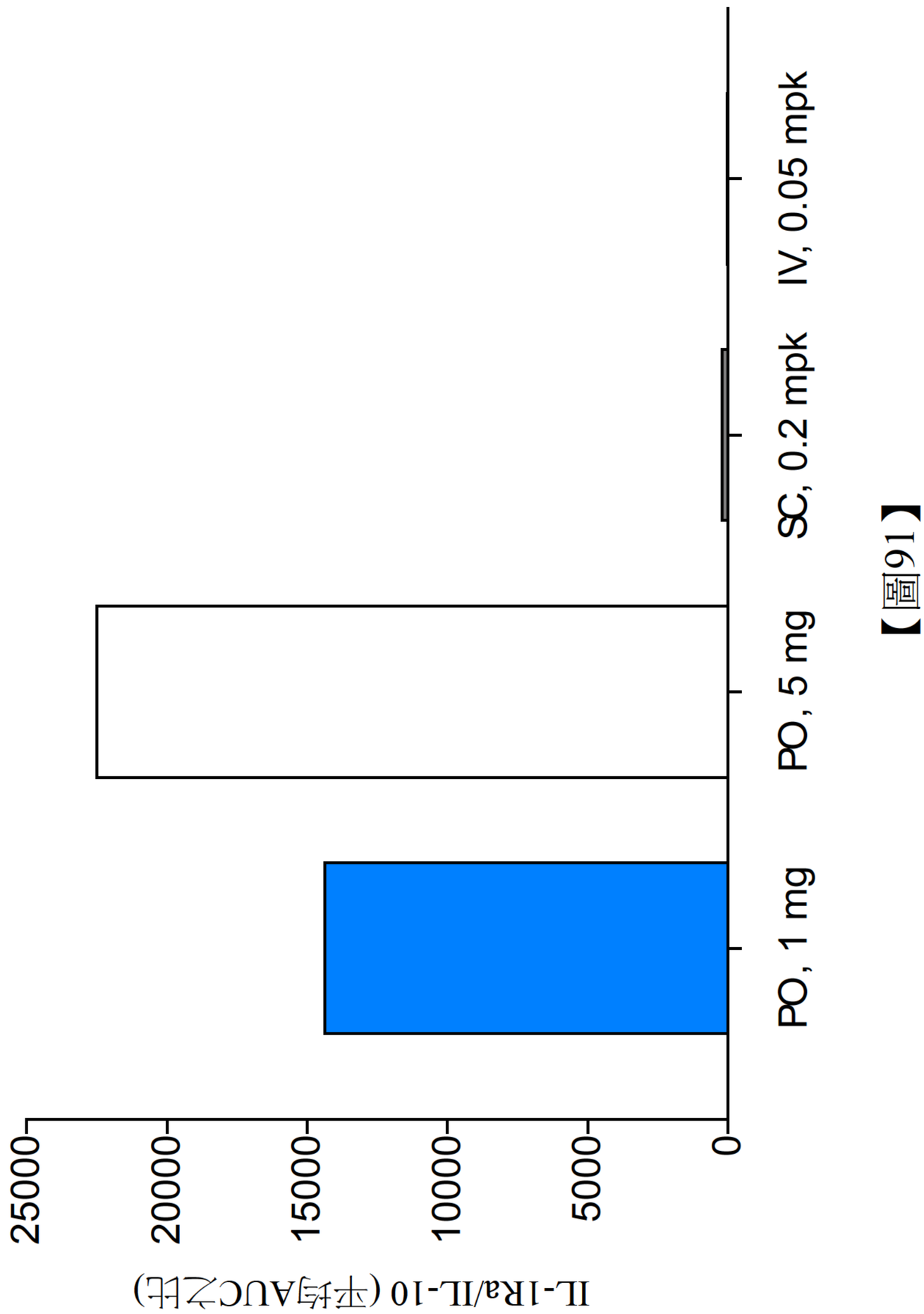
【圖89】


PO, 1 mg
PO, 5 mg
SC, 0.2 mpk
IV, 0.05 mpk
IL-10 (pM)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0
0.25
2
5
7
24
72
給藥後之小時數

【圖90A】

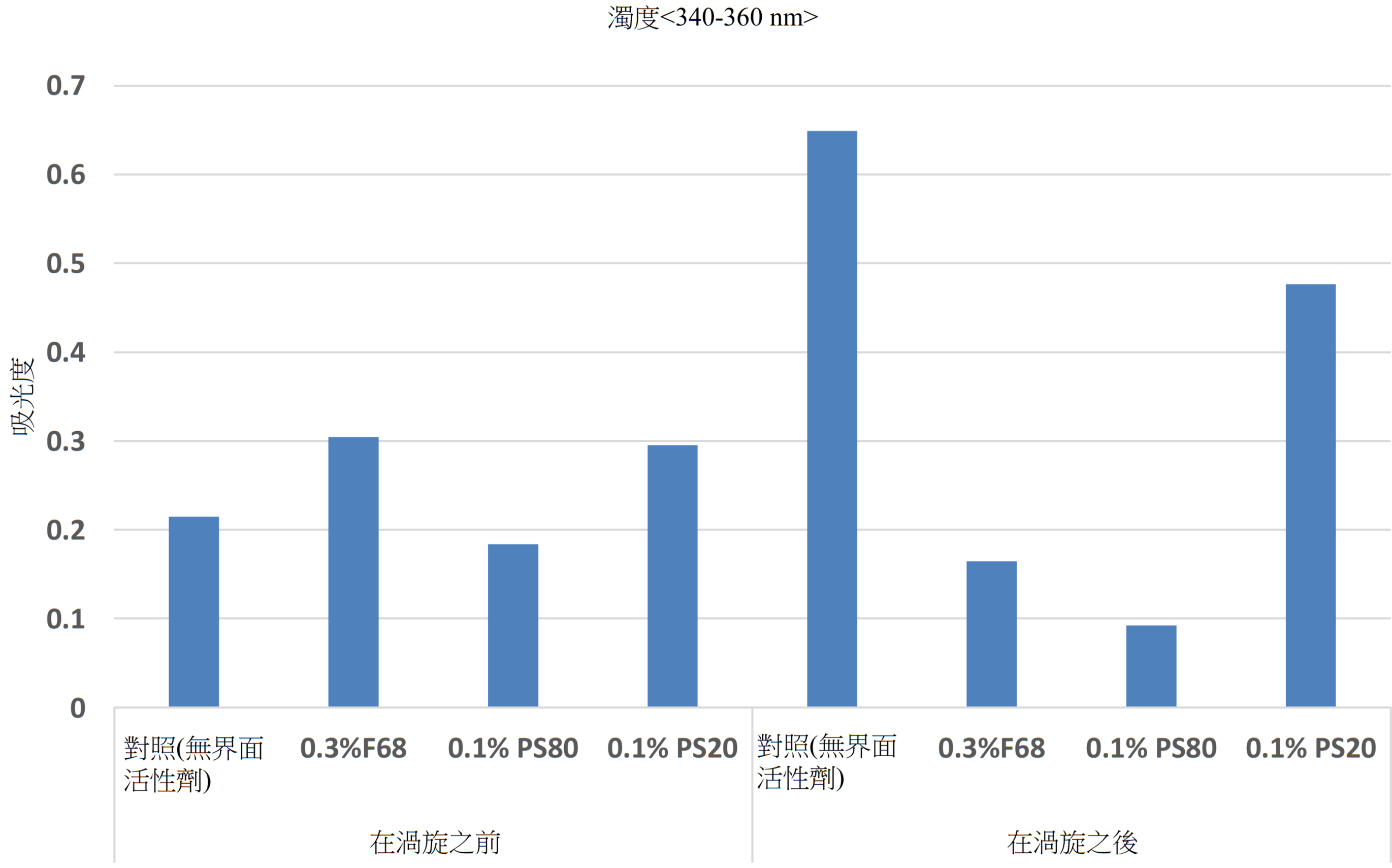

PO, 1 mg
PO, 5 mg
SC, 0.2 mpk
IV, 0.05 mpk
pg/mL, IL-1Ra
10000
1000
100
10
1
0
4
8
12
16
20
24
給藥後之小時數

【圖90B】

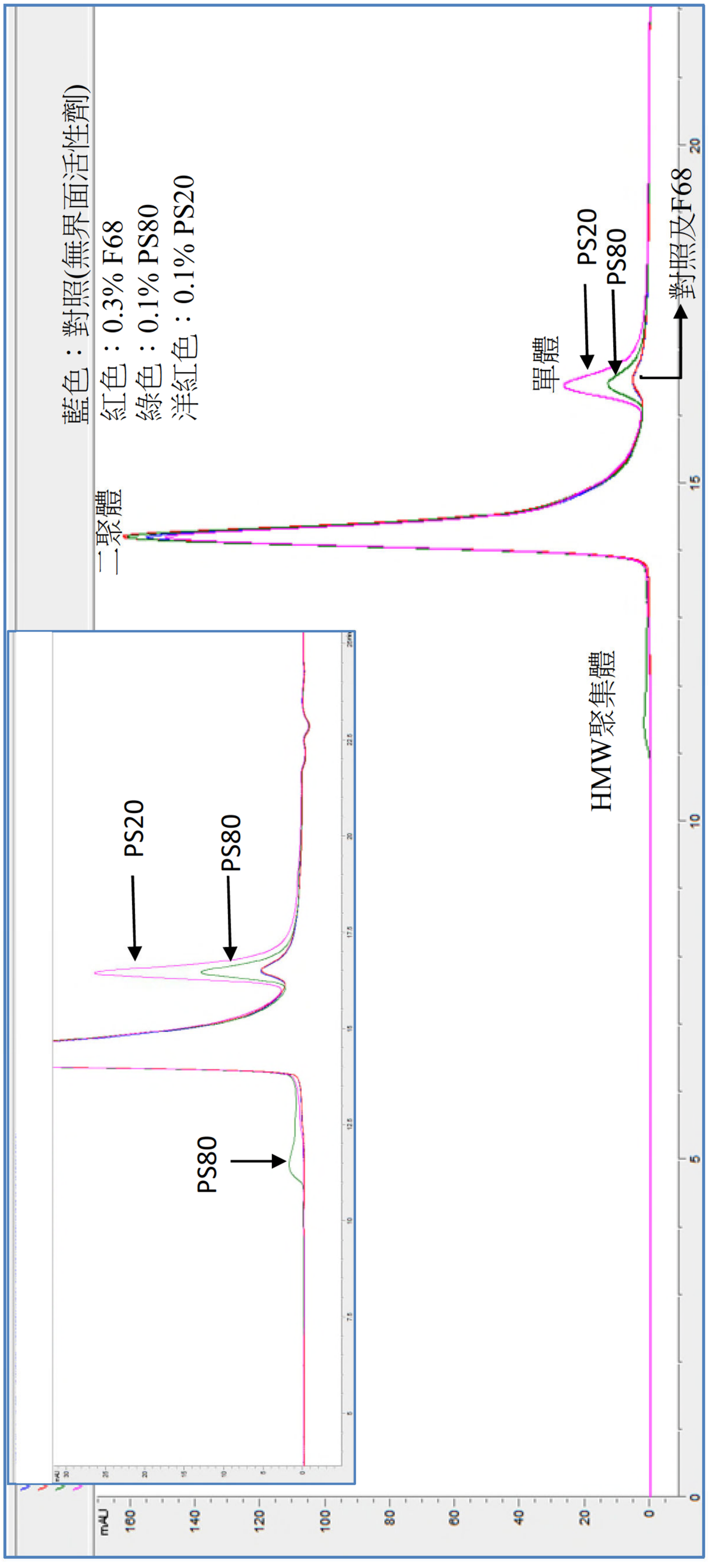

IL-1Ra/IL-10 (平均AUC之比)
25000
20000
15000
10000
5000
0
PO, 1 mg
PO, 5 mg
SC, 0.2 mpk
IV, 0.05 mpk

【圖91】

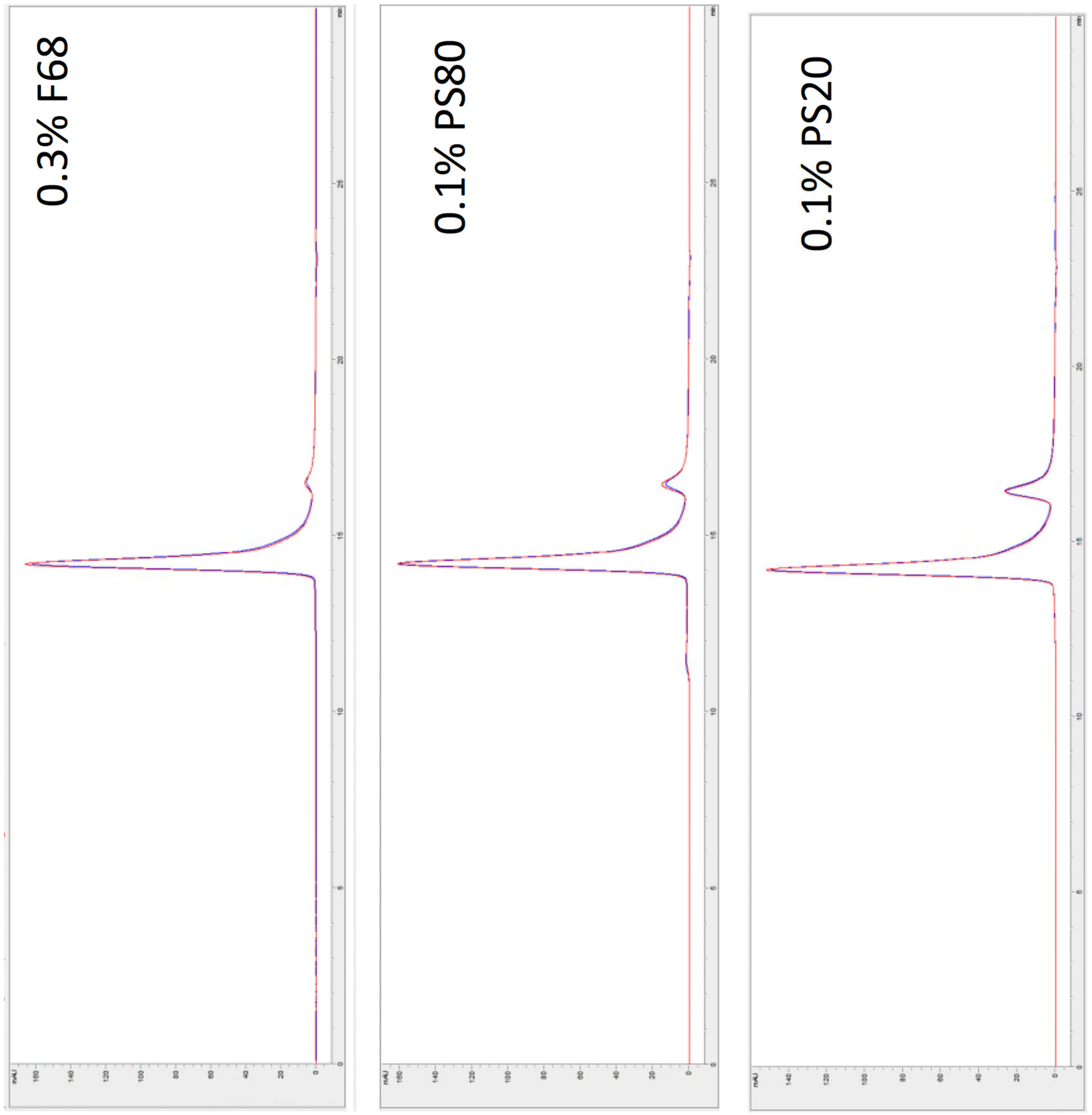
109127823
C231806DA.pdf
表單編號 A0202
第 123頁，共 182頁(發明圖式)
20212052



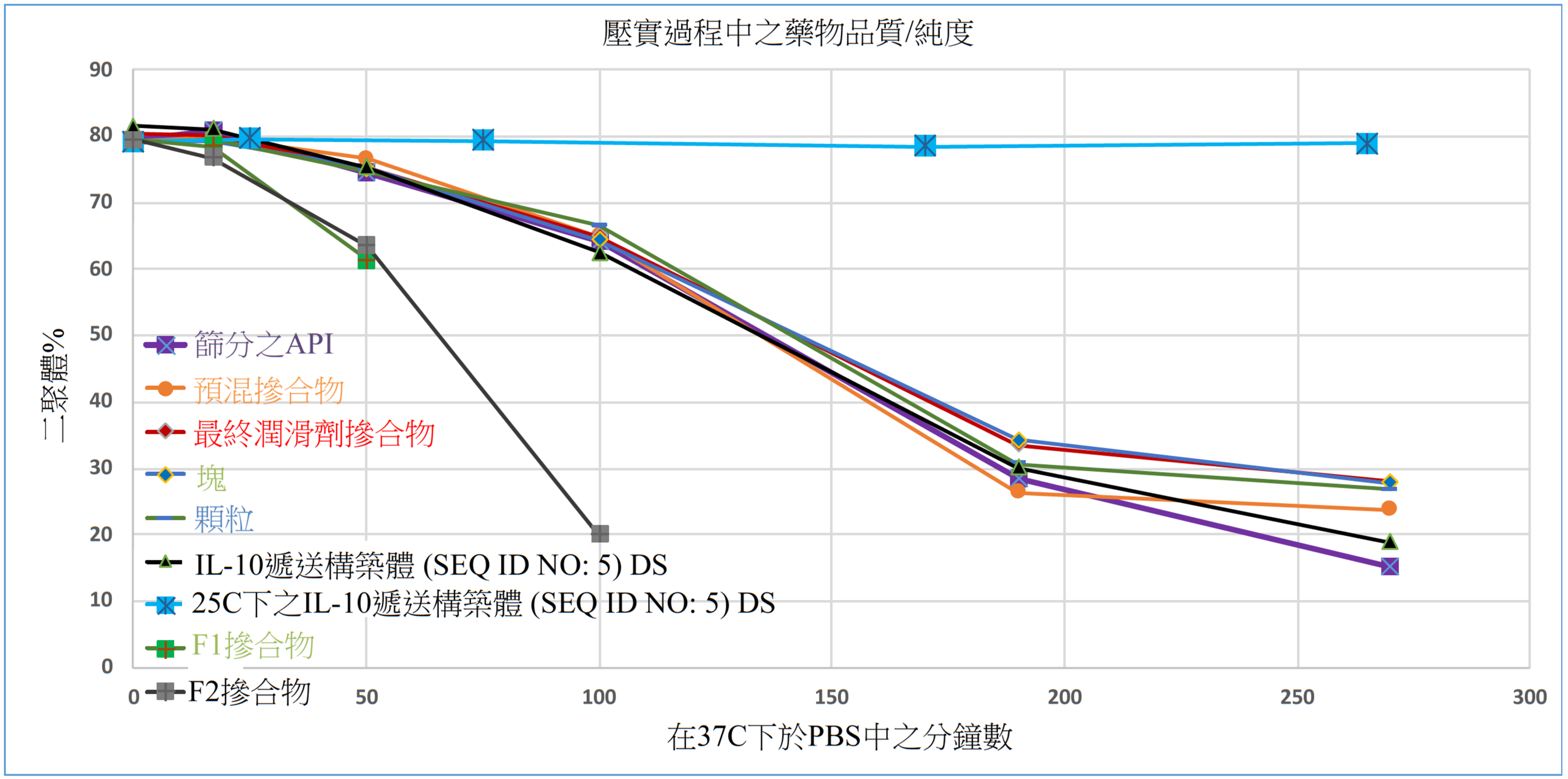
【圖92】


藍色：對照(無界面活性劑)
紅色：0.3% F68
綠色：0.1% PS80
洋紅色：0.1% PS20
二聚體
單體
HMW聚集體
PS20
PS80
對照及F68
PS80
mAU
160
140
120
100
80
60
40
20
0
20
15
10
5
0

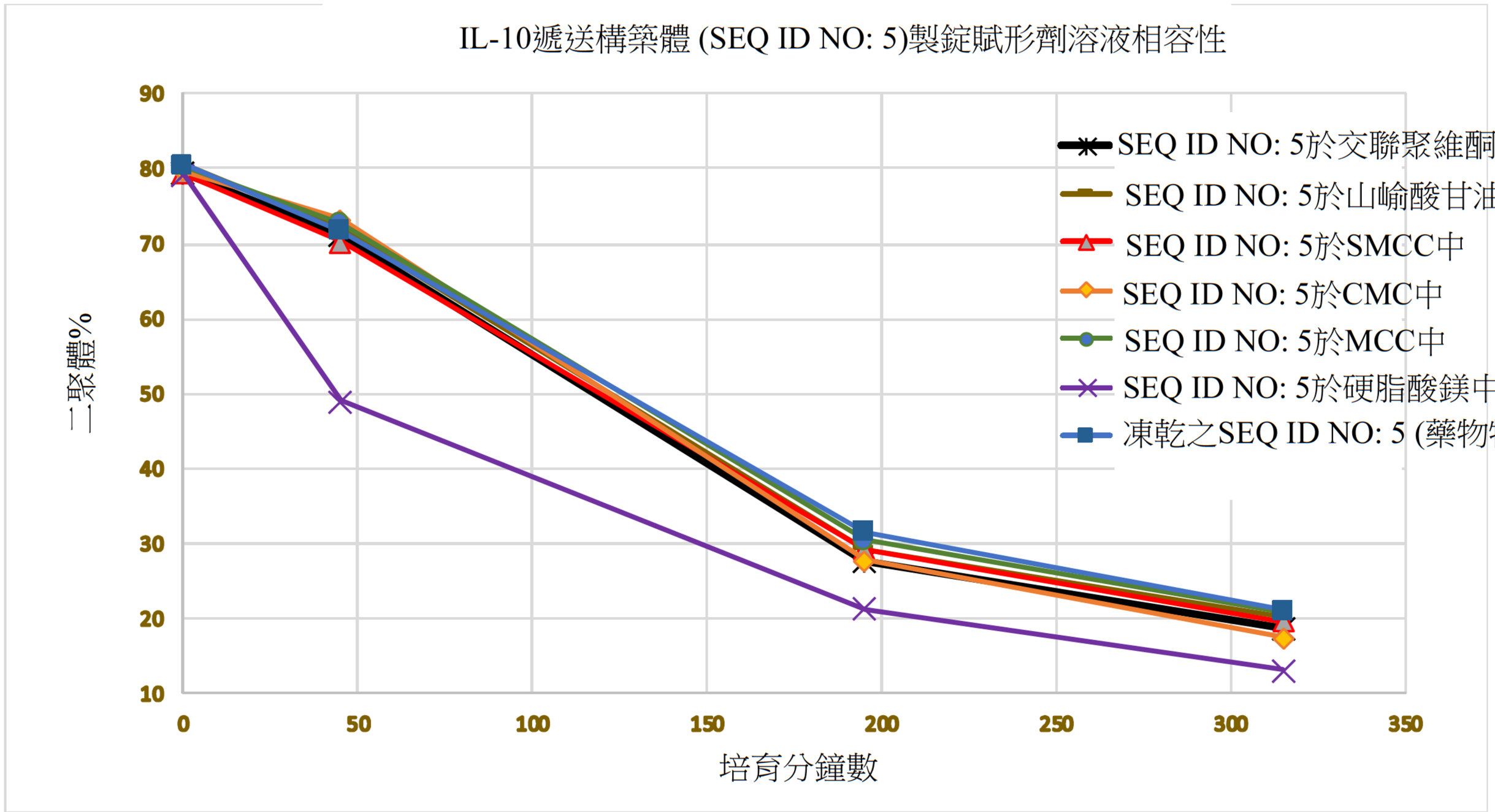
【圖93】



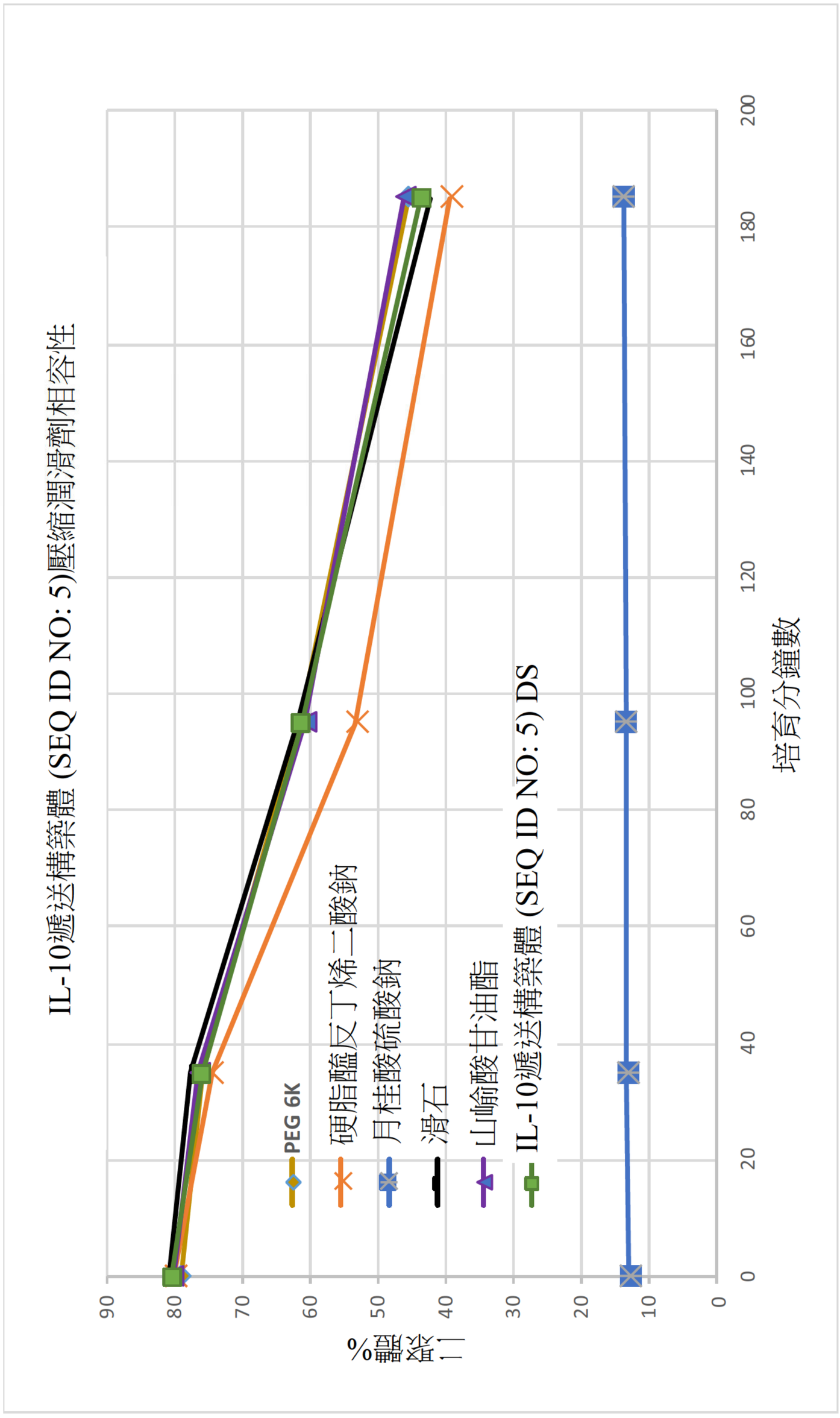
【圖94】


壓實過程中之藥物品質/純度
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
50
100
150
200
250
300
二聚體%
在37C下於PBS中之分鐘數
篩分之API
預混摻合物
最終潤滑劑摻合物
塊
顆粒
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5) DS
25C下之IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5) DS
F1摻合物
F2摻合物

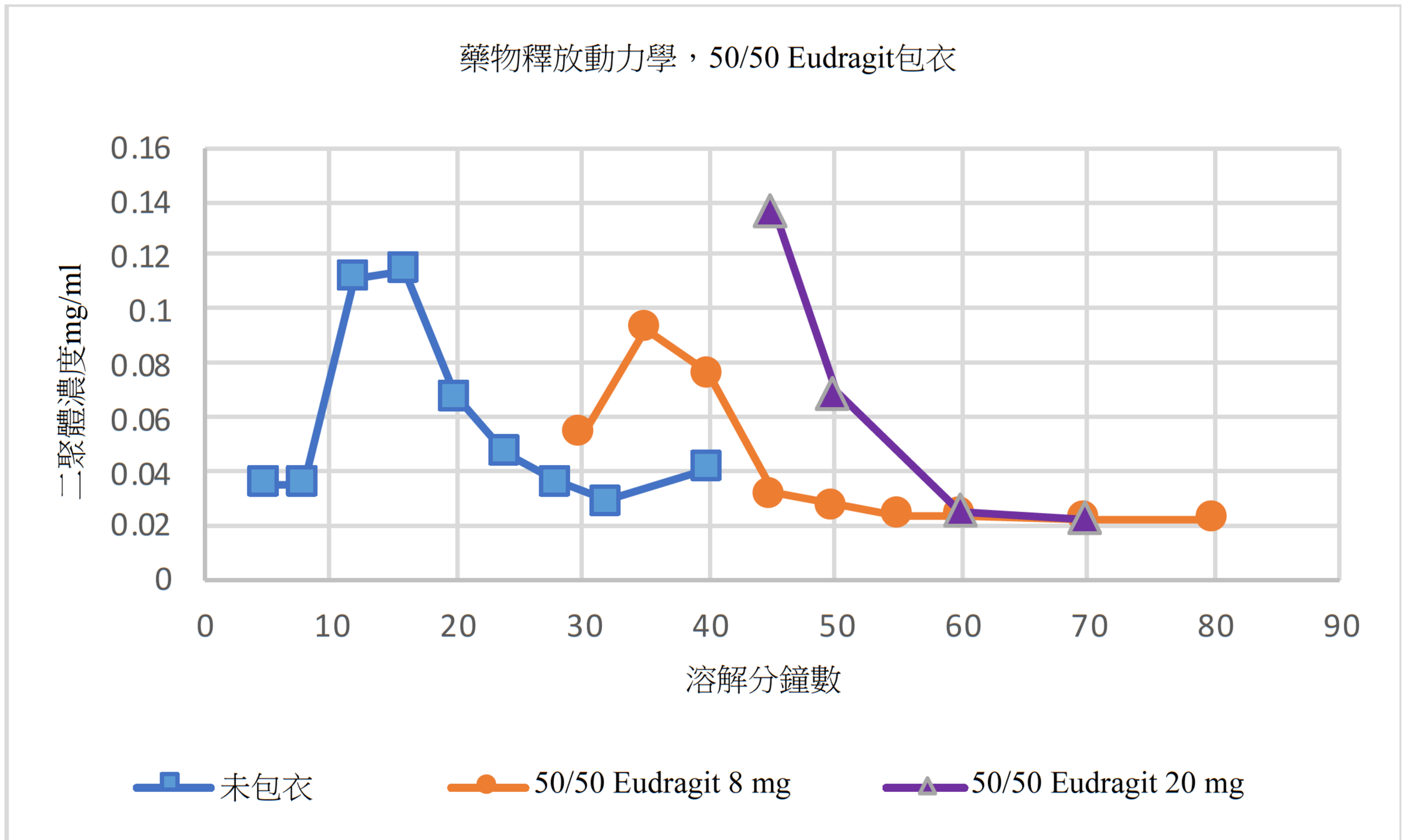
【圖95】


IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5)製錠賦形劑溶液相容性
一聚體%
培育分鐘數
SEQ ID NO: 5於交聯聚維酮中
SEQ ID NO: 5於山嵛酸甘油酯中
SEQ ID NO: 5於SMCC中
SEQ ID NO: 5於CMC中
SEQ ID NO: 5於MCC中
SEQ ID NO: 5於硬脂酸鎂中
凍乾之SEQ ID NO: 5 (藥物物質)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
50
100
150
200
250
300
350

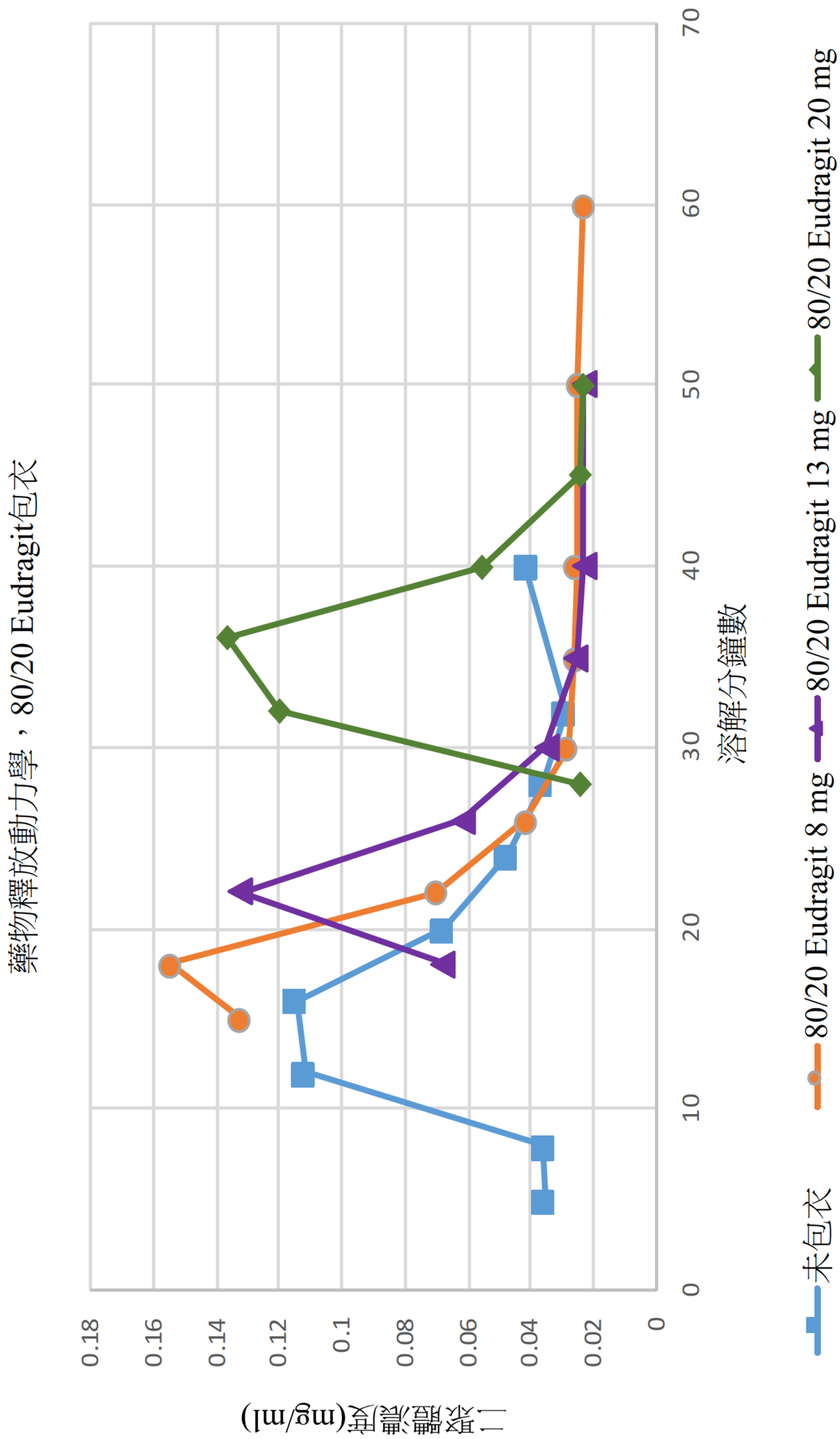
【圖96】


IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5)壓縮潤滑劑相容性
二聚體%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
培育分鐘數
100
120
140
160
180
200
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5) DS
PEG 6K
硬脂醯反丁烯二酸鈉
月桂酸硫酸鈉
滑石
山嵛酸甘油酯
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5)

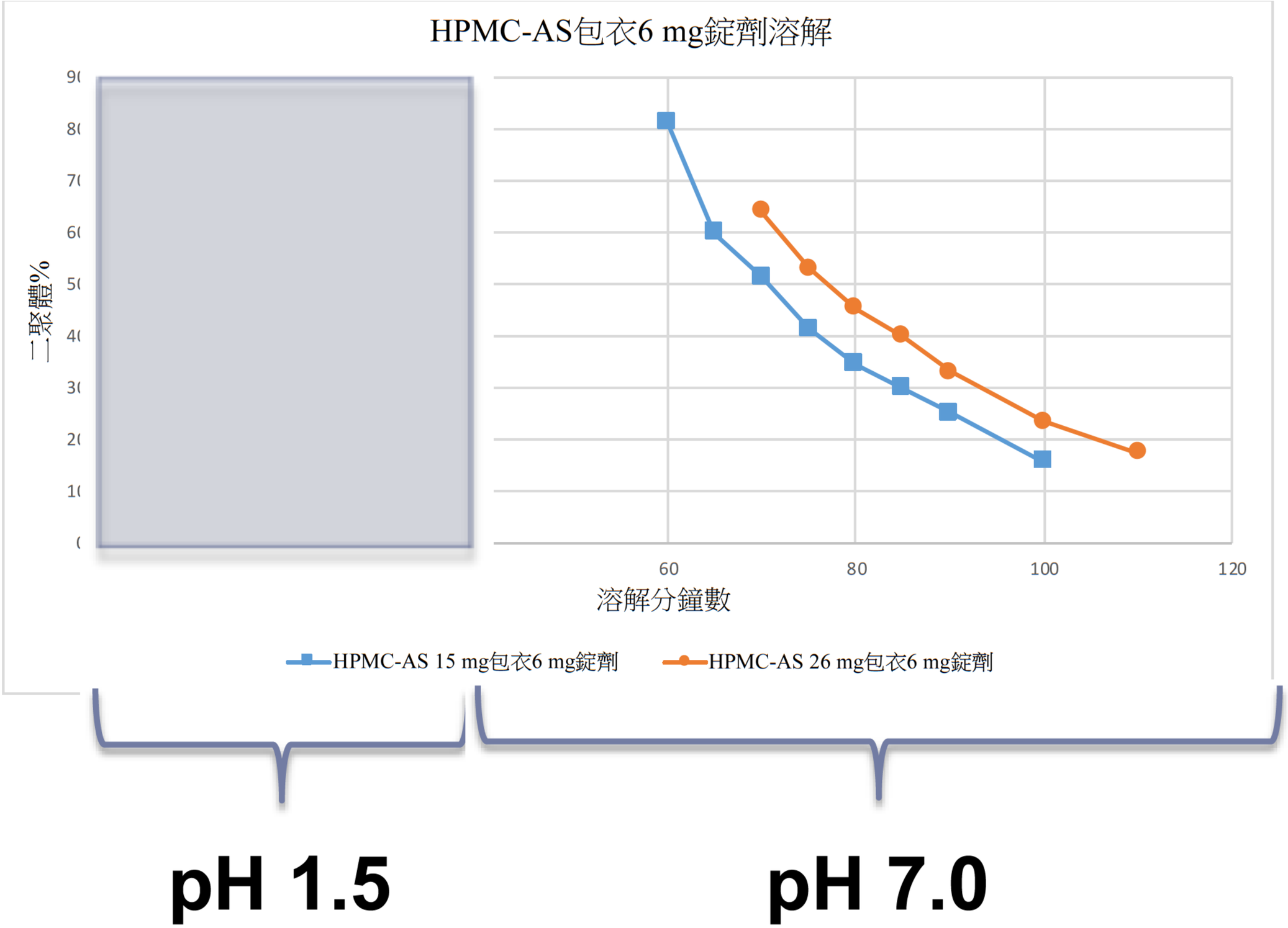
【圖97】


藥物釋放動力學，50/50 Eudragit包衣
二聚體濃度mg/ml
0.16
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
溶解分鐘數
未包衣
50/50 Eudragit 8 mg
50/50 Eudragit 20 mg

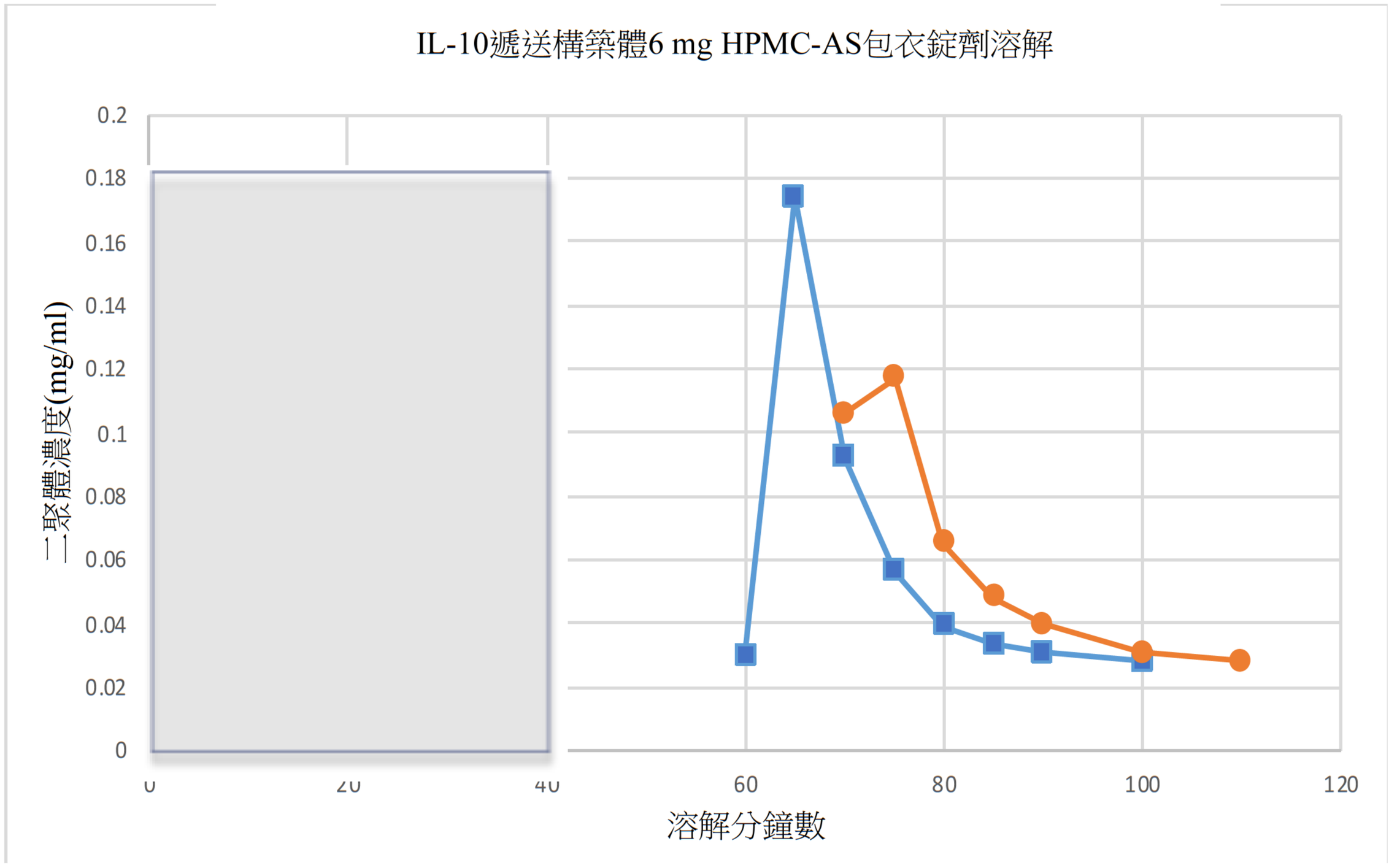
【圖98】


藥物釋放動力學，80/20 Eudragit包衣
溶解分鐘數
藥物釋放量(mg/ml)
0
10
20
30
40
50
60
70
0
0.02
0.04
0.06
0.08
0.1
0.12
0.14
0.16
0.18
未包衣
80/20 Eudragit 8 mg
80/20 Eudragit 13 mg
80/20 Eudragit 20 mg

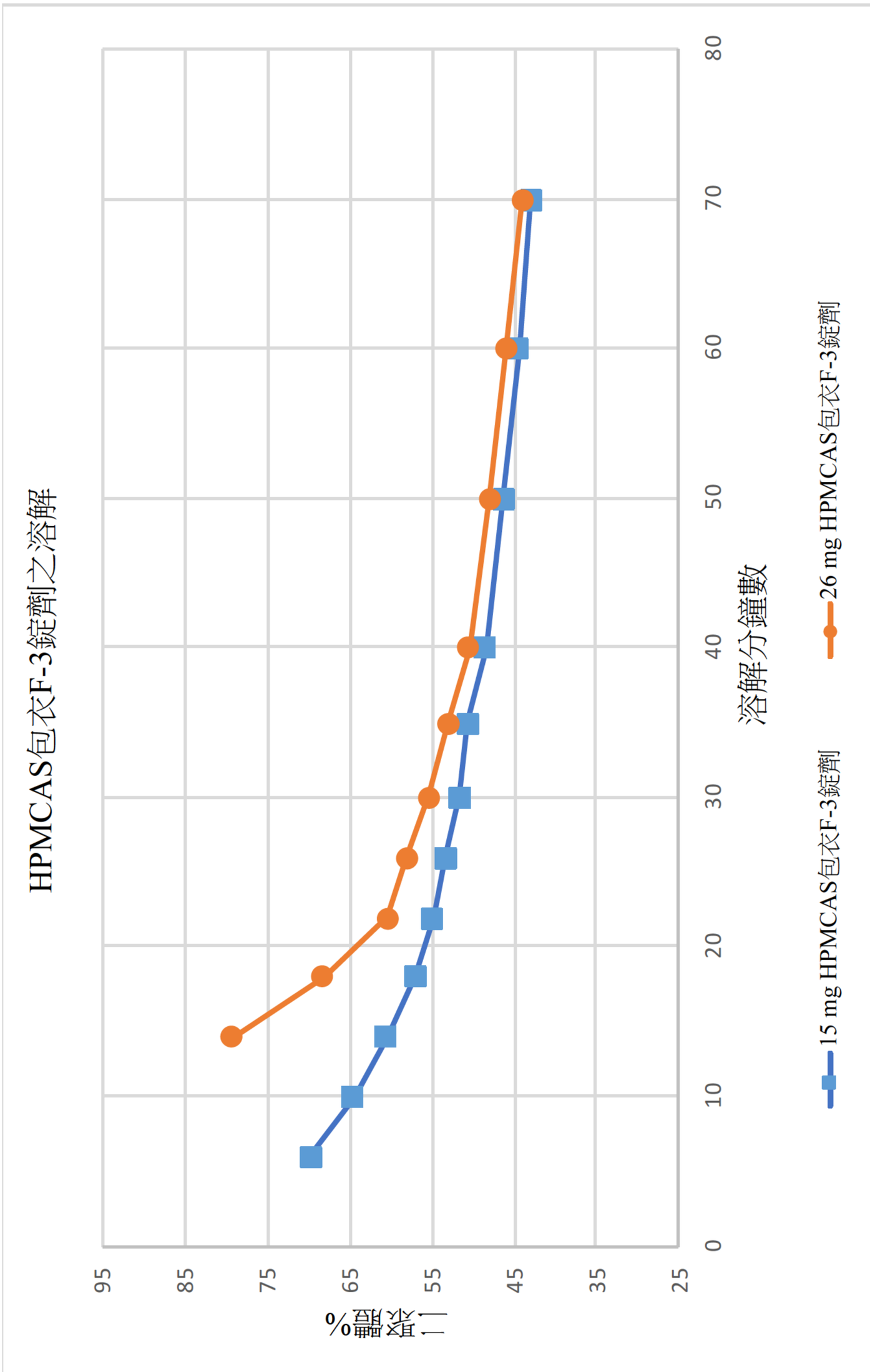
【圖99】


HPMC-AS包衣6 mg錠劑溶解
二聚體%
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
60
80
100
120
溶解分鐘數
HPMC-AS 15 mg包衣6 mg錠劑
HPMC-AS 26 mg包衣6 mg錠劑
pH 1.5
pH 7.0

【圖100】

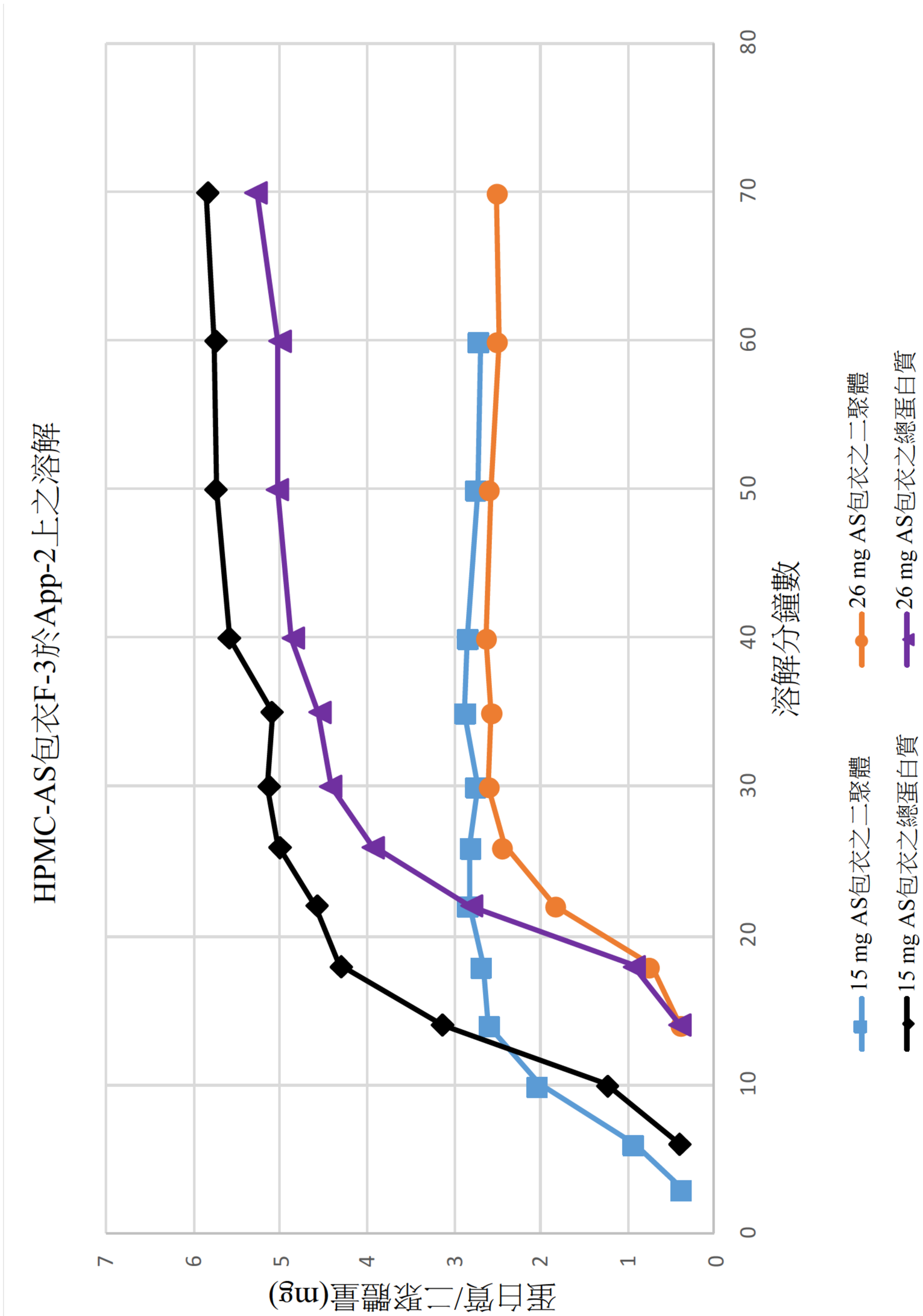

IL-10遞送構築體6 mg HPMC-AS包衣錠劑溶解
二聚體濃度(mg/ml)
0.2
0.18
0.16
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
0
20
40
60
80
100
120
溶解分鐘數
SEQ ID NO: 5腸溶16 mg包衣
SEQ ID NO: 5腸溶25 mg包衣
pH 1.5
pH 7.0

【圖101】


HPMCAS包衣F-3錠劑之溶解
溶解分鐘數
二聚體%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
25
35
45
55
65
75
85
95
15 mg HPMCAS包衣F-3錠劑
26 mg HPMCAS包衣F-3錠劑

【圖102】

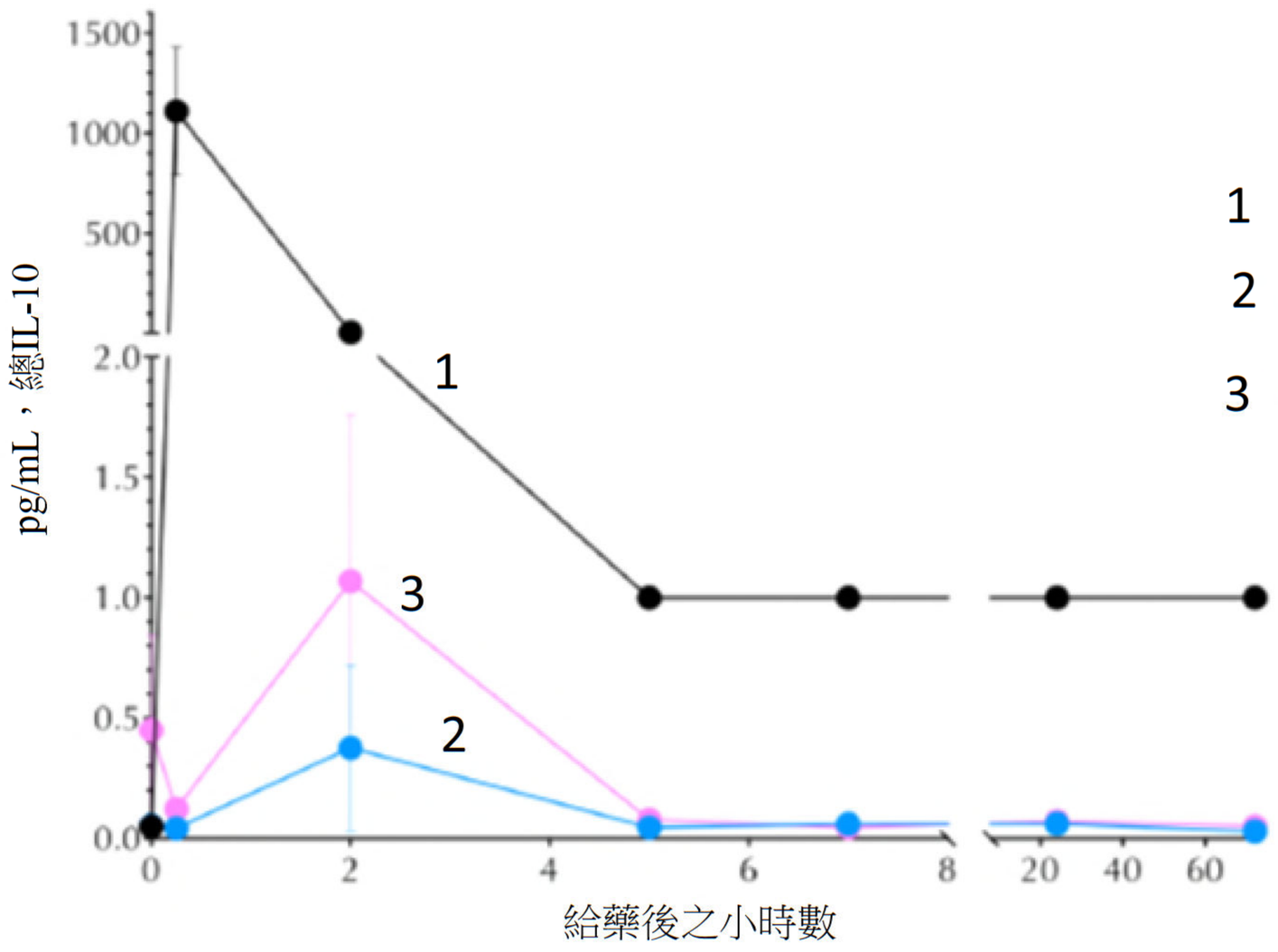
202120521



【圖103】

SEQ ID NO: 5/ IL-10

(血漿)

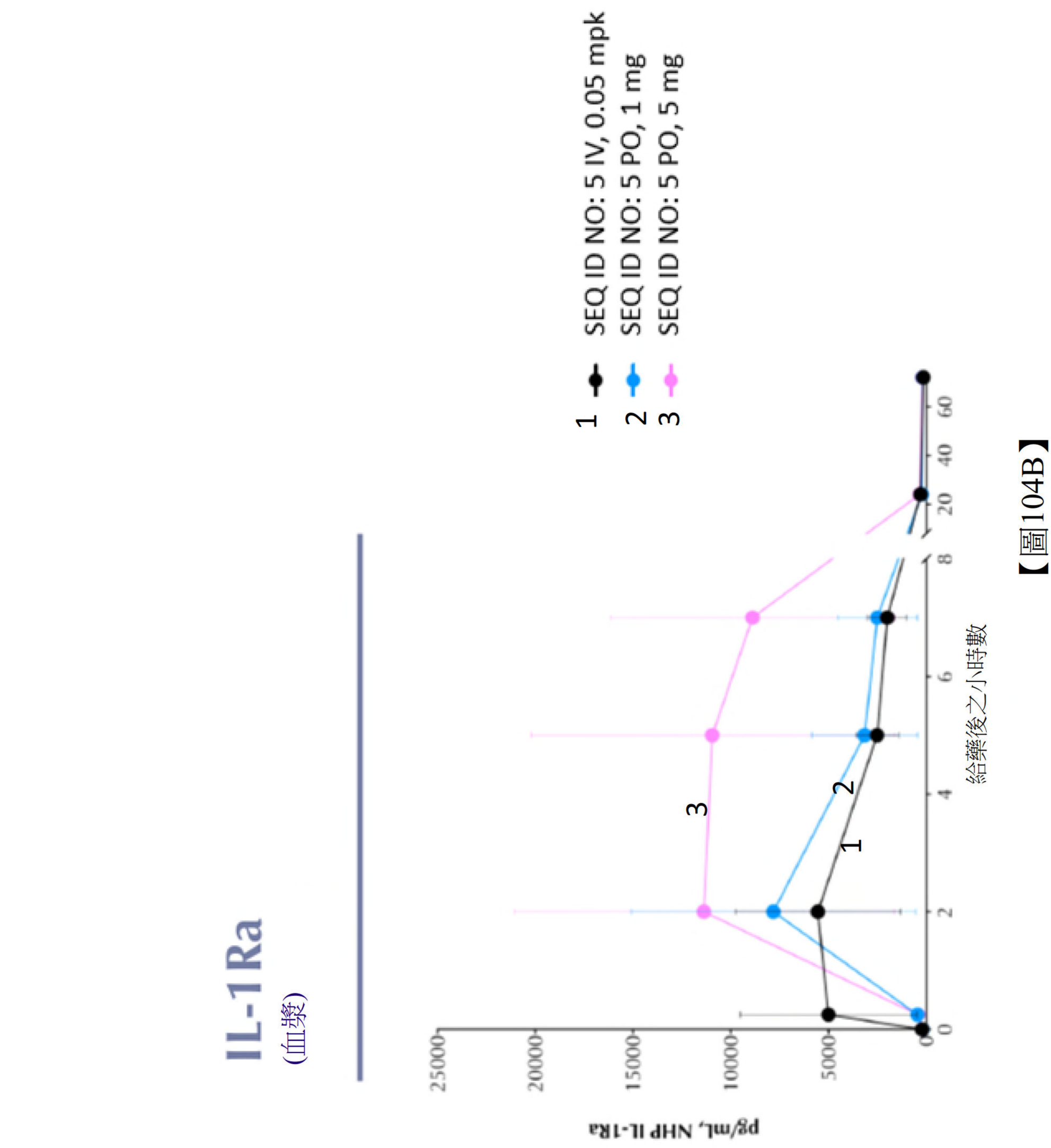


1 SEQ ID NO: 5 IV, 0.05 mpk

2 SEQ ID NO: 5 PO, 1 mg

3 SEQ ID NO: 5 PO, 5 mg

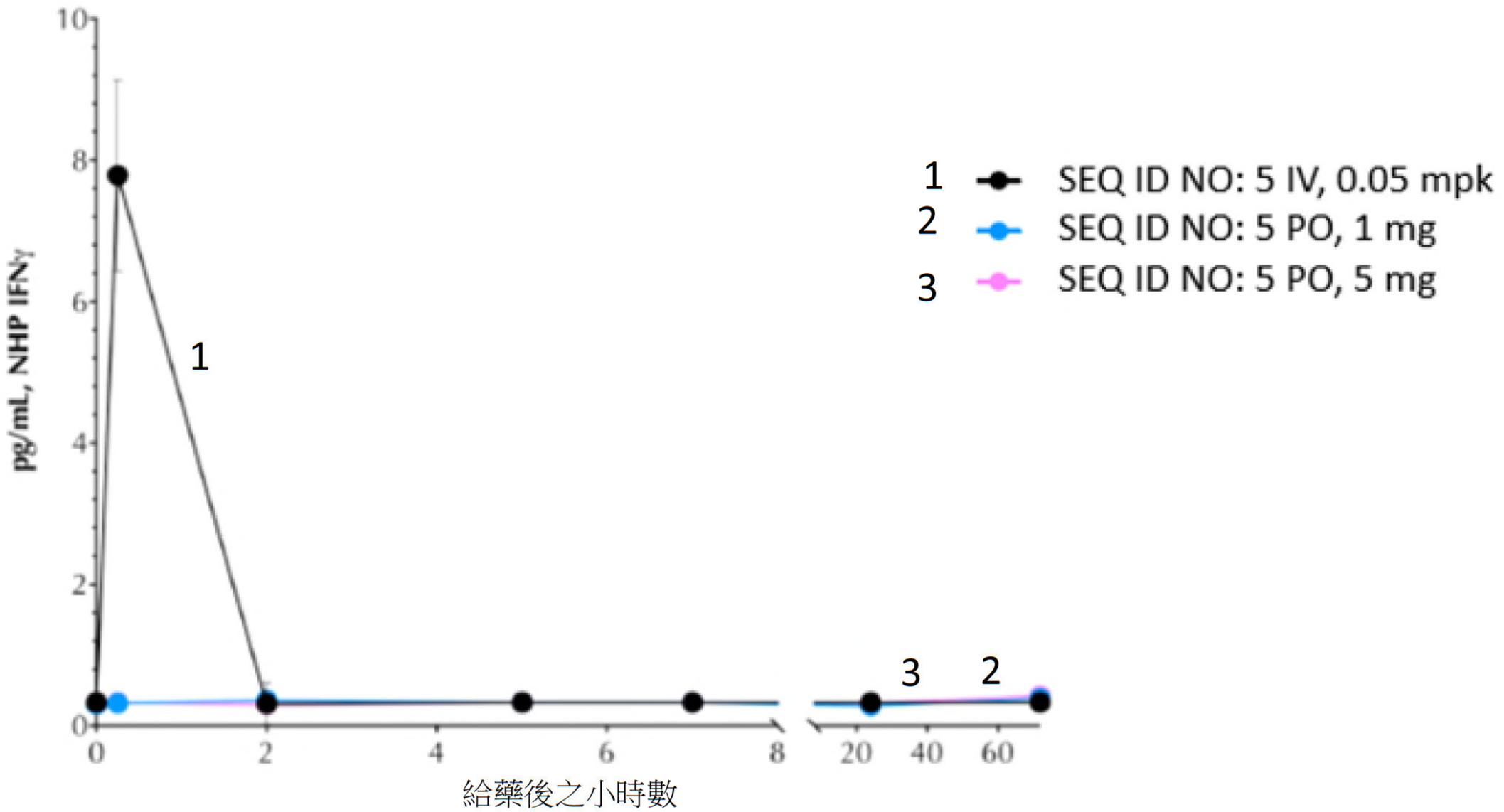
【圖104A】


IL-1Ra
(血漿)
1 SEQ ID NO: 5 IV, 0.05 mpk
2 SEQ ID NO: 5 PO, 1 mpk
3 SEQ ID NO: 5 PO, 5 mpk
pg/mL, NHP IL-1Ra
給藥後之小時數
0
2
4
6
8
20
40
60
5000
10000
15000
20000

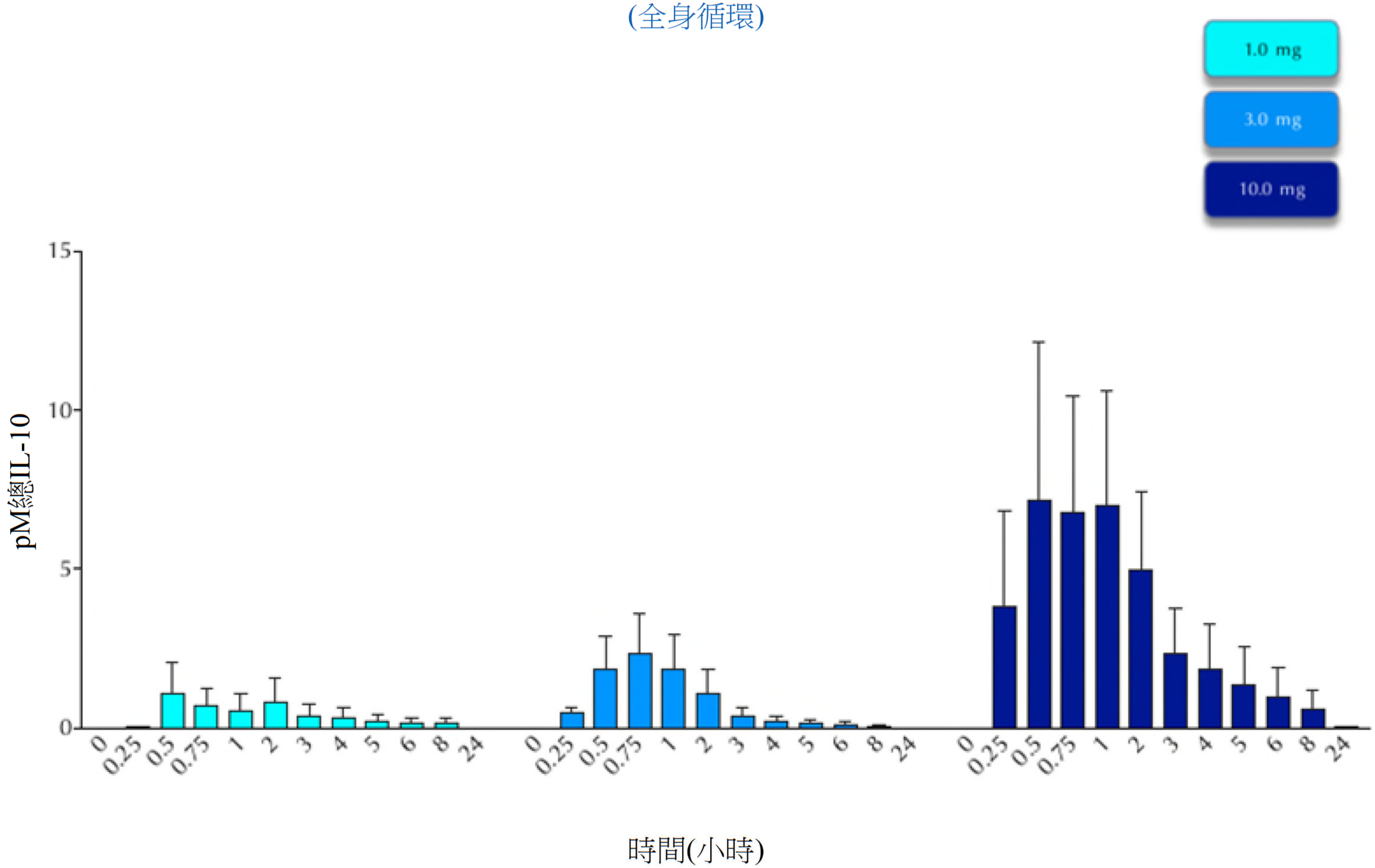
【圖104B】

IFN-γ

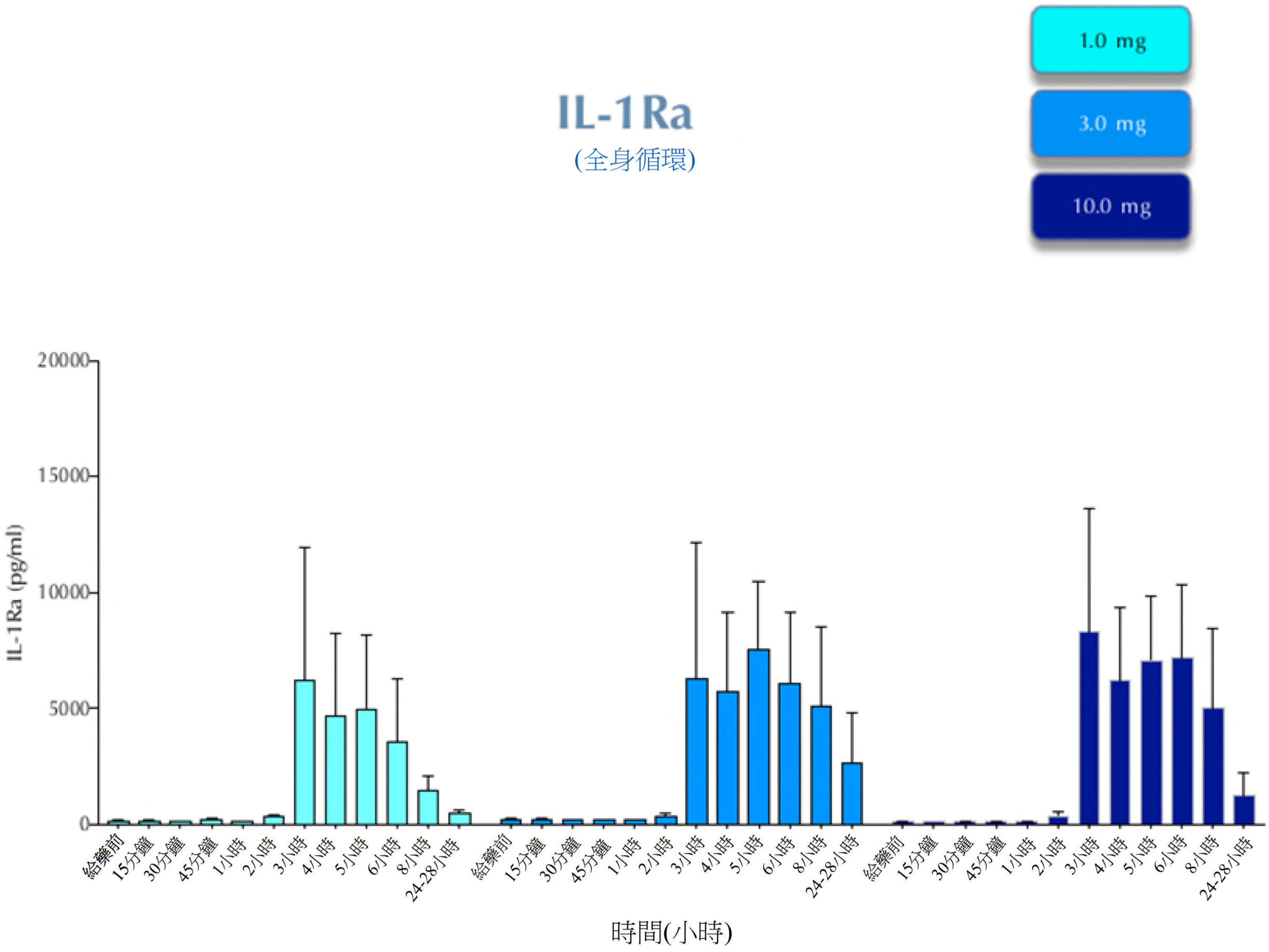
(血漿)



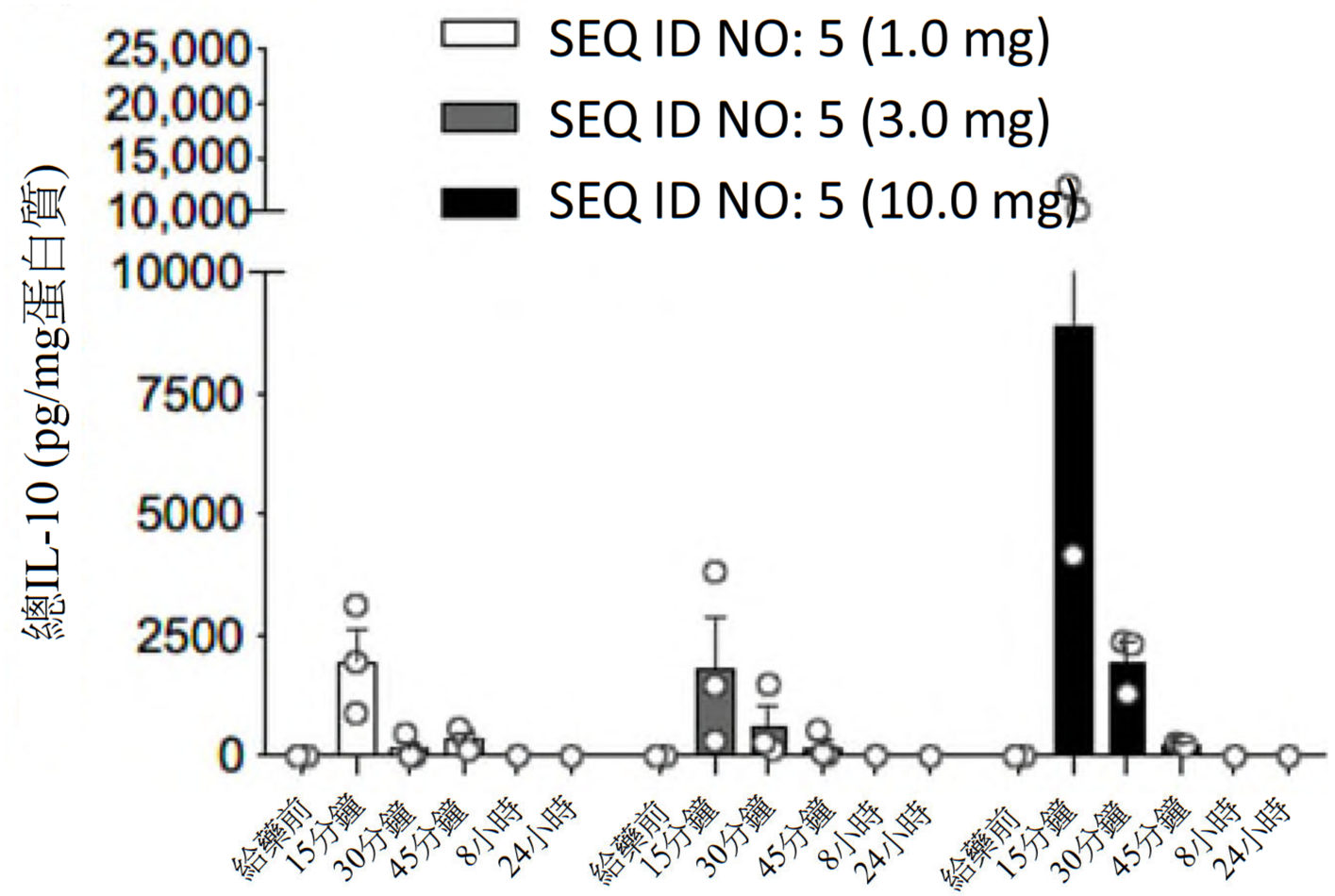
【圖104C】


總IL-10
(全身循環)
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg
pM總IL-10
15
10
5
0
0
0.25
0.5
0.75
1
2
3
4
5
6
8
24
時間(小時)

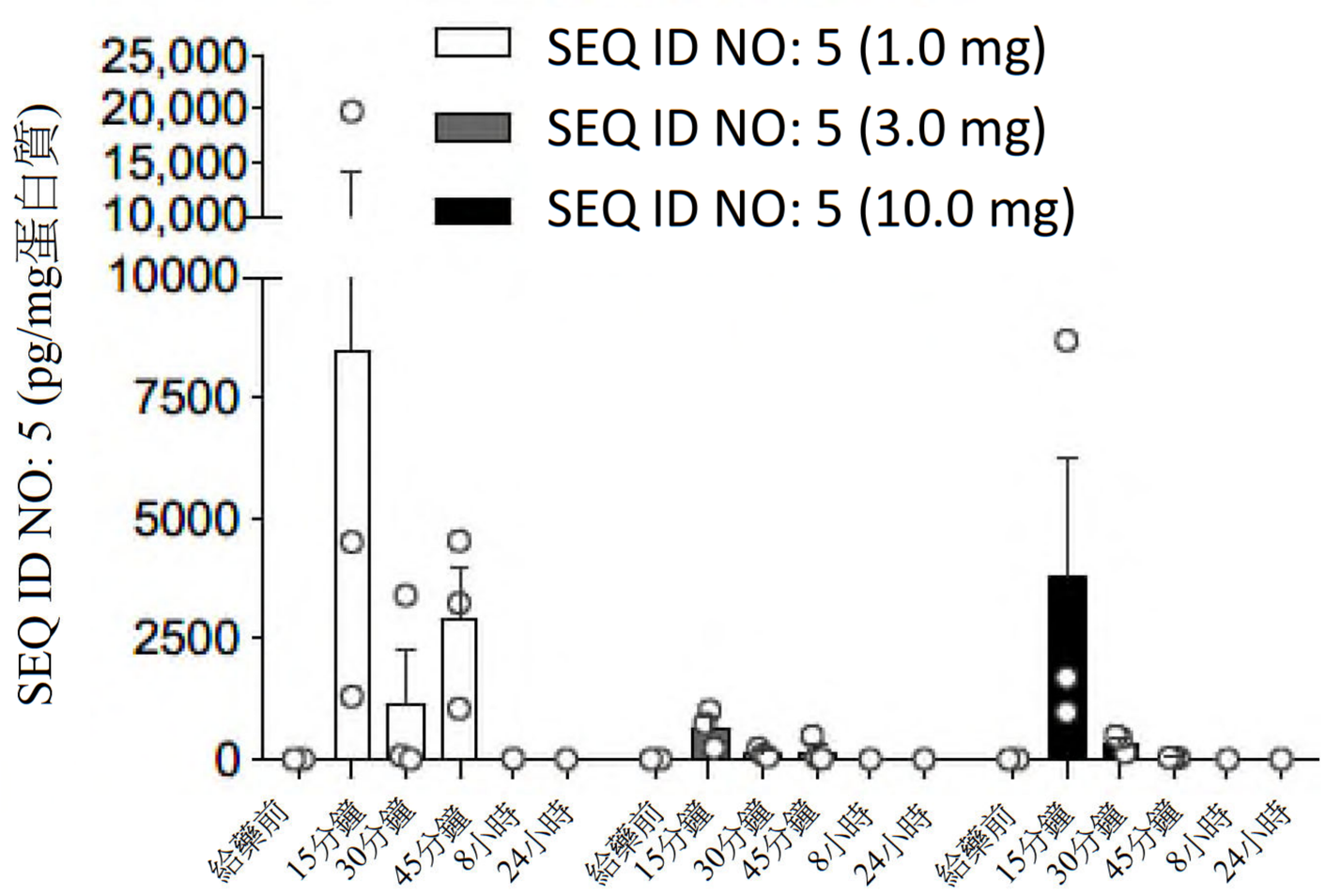
【圖105A】


IL-1Ra
(全身循環)
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg
IL-1Ra (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
1小時
2小時
3小時
4小時
5小時
6小時
8小時
24-28小時
時間(小時)

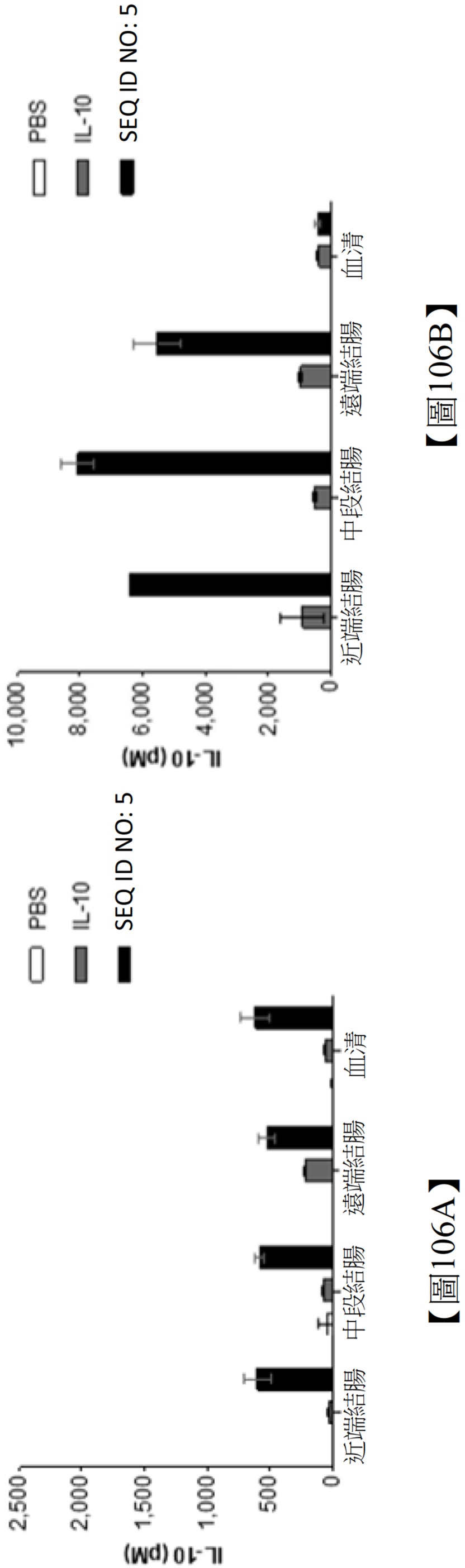
【圖105B】


SEQ ID NO: 5 (1.0 mg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg)
總IL-10 (pg/mg蛋白質)
25,000
20,000
15,000
10,000
10000
7500
5000
2500
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時

【圖105C】


SEQ ID NO: 5 (1.0 mg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg)
SEQ ID NO: 5 (pg/mg蛋白質)
25,000
20,000
15,000
10,000
10000
7500
5000
2500
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時

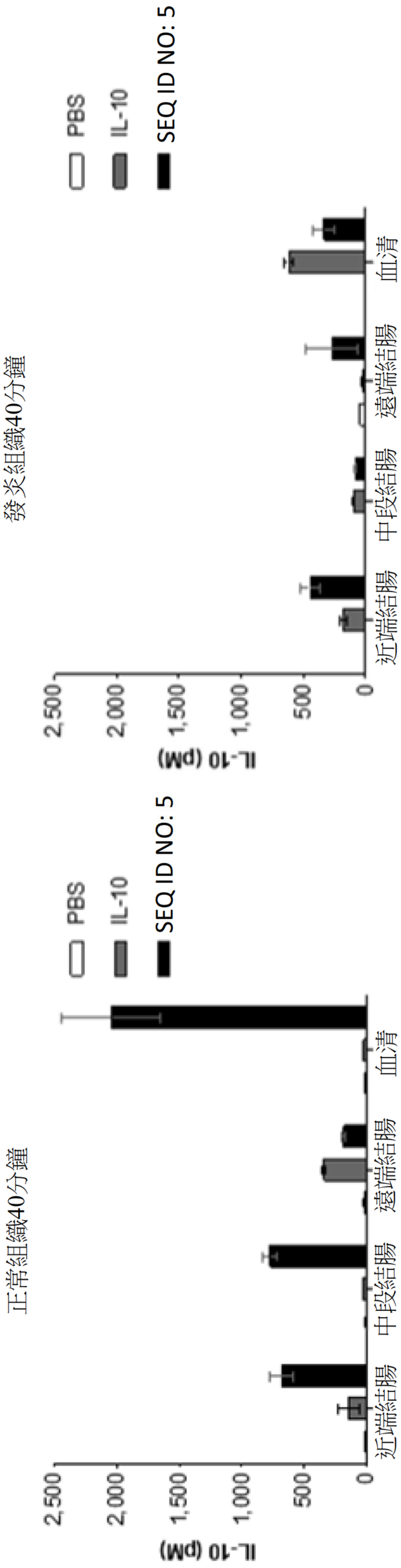
【圖105D】


PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
發炎組織10分鐘
IL-10 (pM)
10,000
8,000
6,000
4,000
2,000
0
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清

【圖106B】

PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
正常組織10分鐘
IL-10 (pM)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
中段結腸
遠端結腸
血清
近端結腸

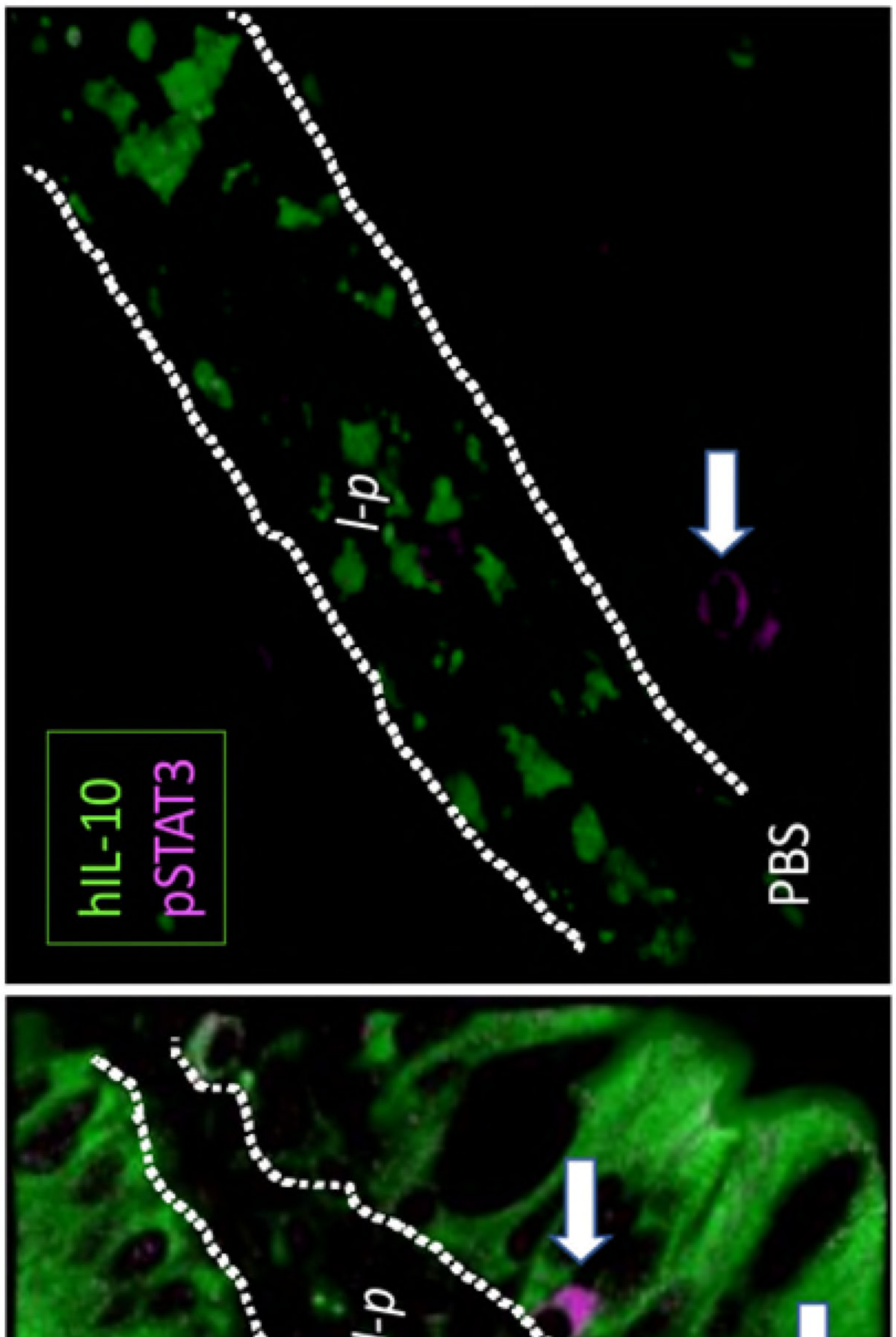
【圖106A】


PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
發炎組織40分鐘
IL-10 (pM)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清

【圖106D】

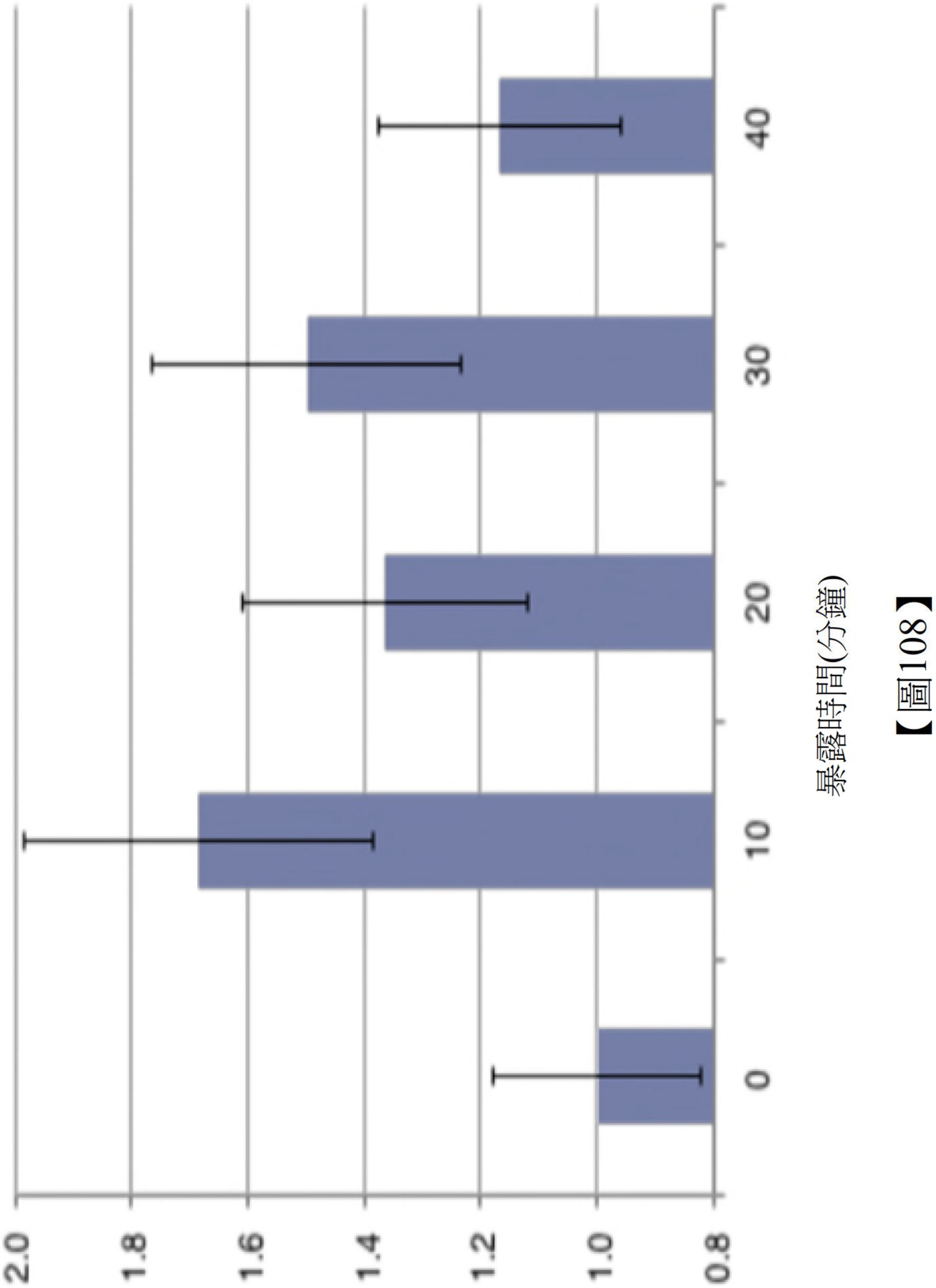
PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
正常組織40分鐘
IL-10 (pM)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清

【圖106C】

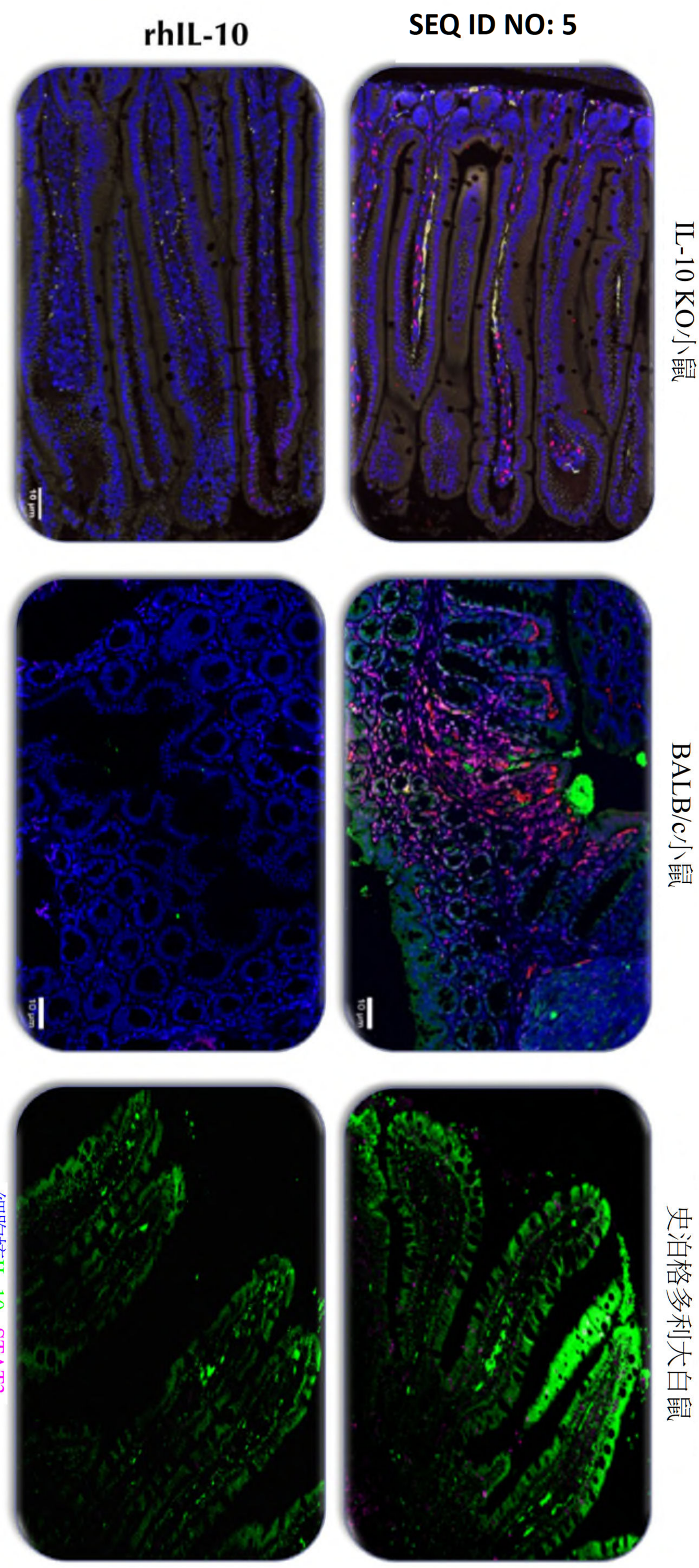


【圖107】

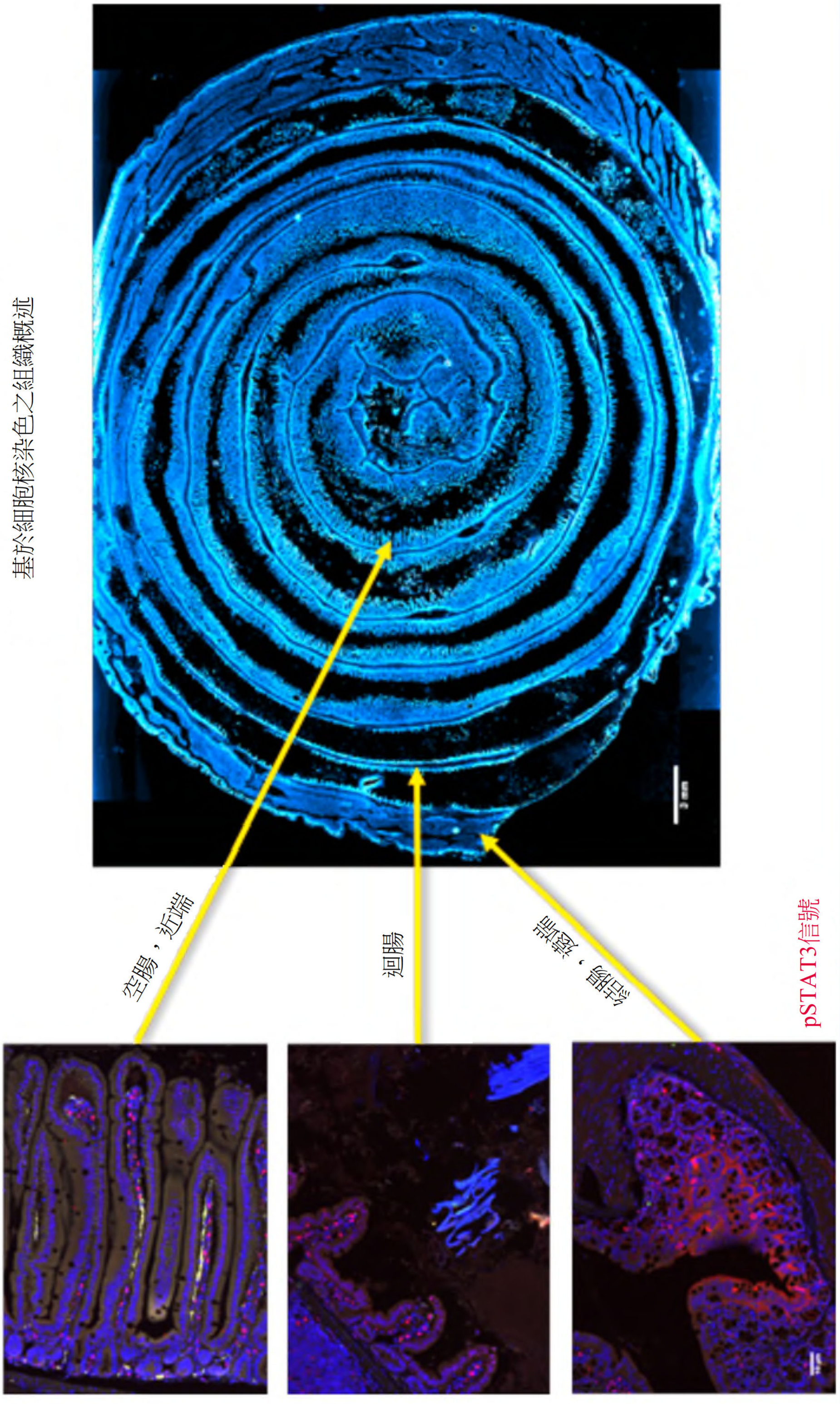
202120521



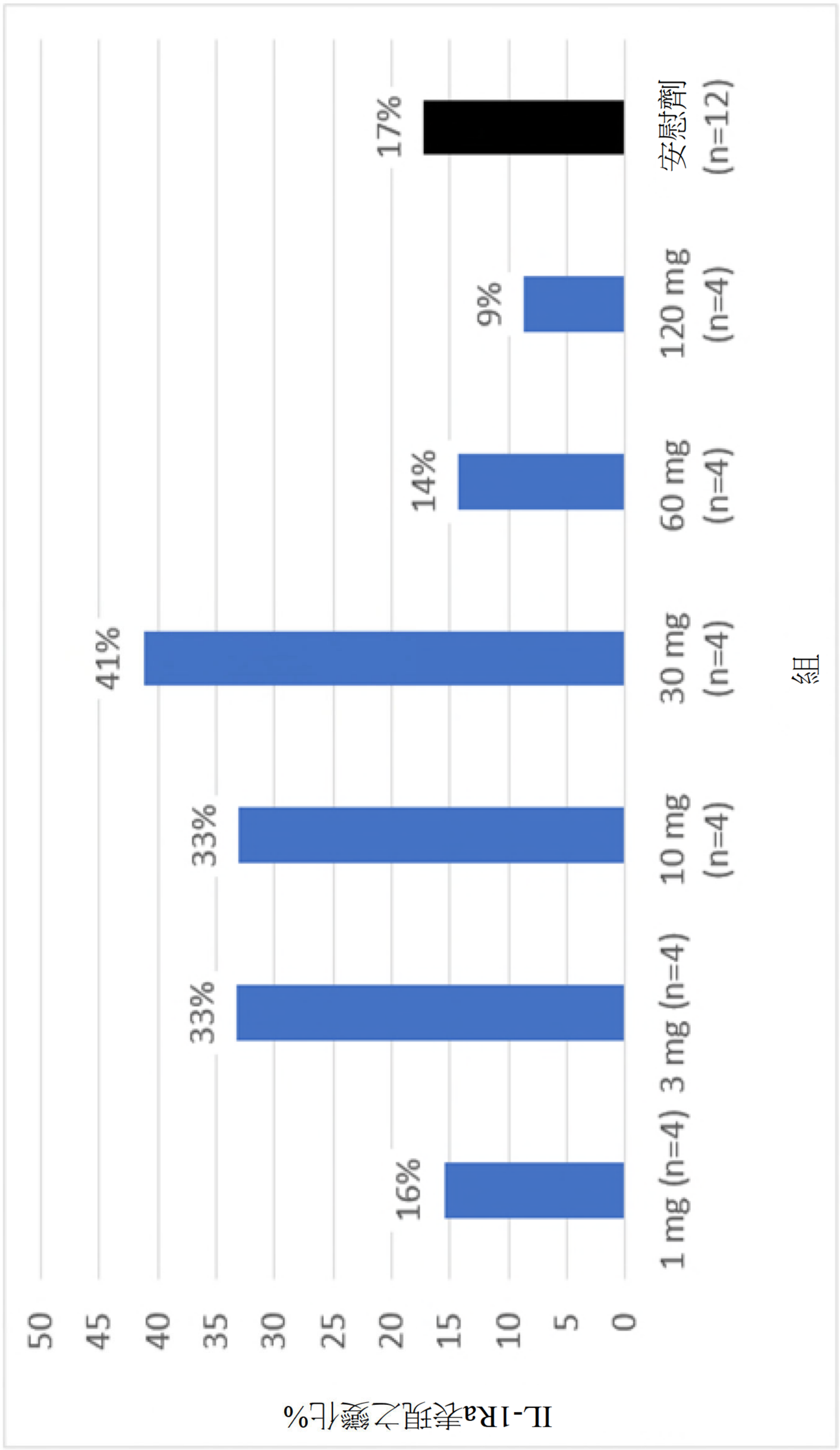
【圖108】


rhIL-10
SEQ ID NO: 5
IL-10 KO小鼠
BALB/c小鼠
史泊格多利大白鼠
細胞核IL-10 pSTAT3
10 μm

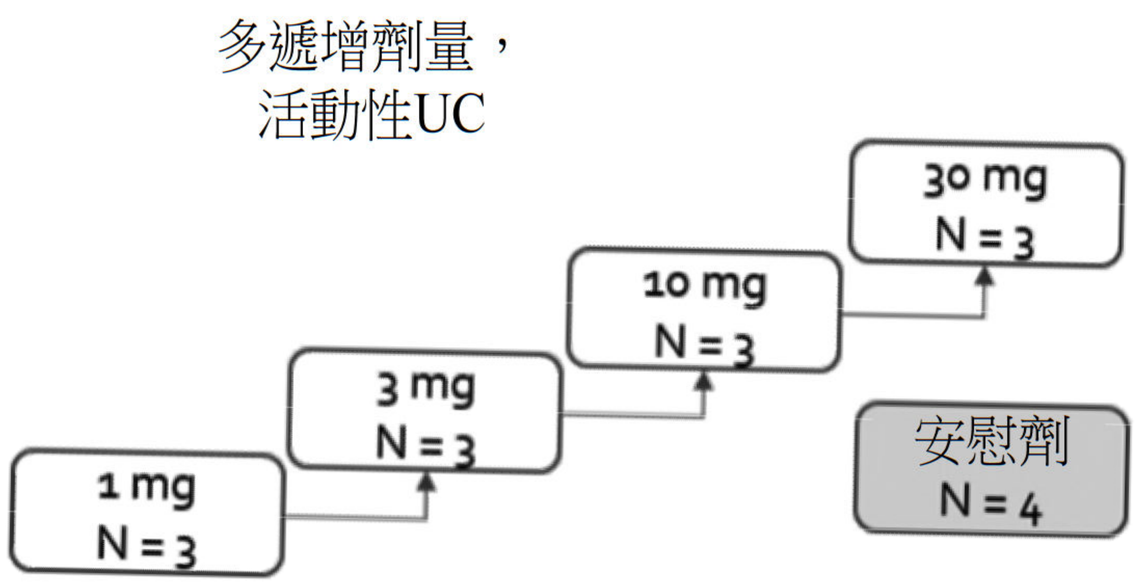
【圖109】



【圖110】


IL-1Ra表現之變化%
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
16%
33%
33%
30 mg (n=4)
60 mg (n=4)
120 mg (n=4)
安慰劑 (n=12)
17%
14%
9%
41%
10 mg (n=4)
3 mg (n=4)
1 mg (n=4)
組

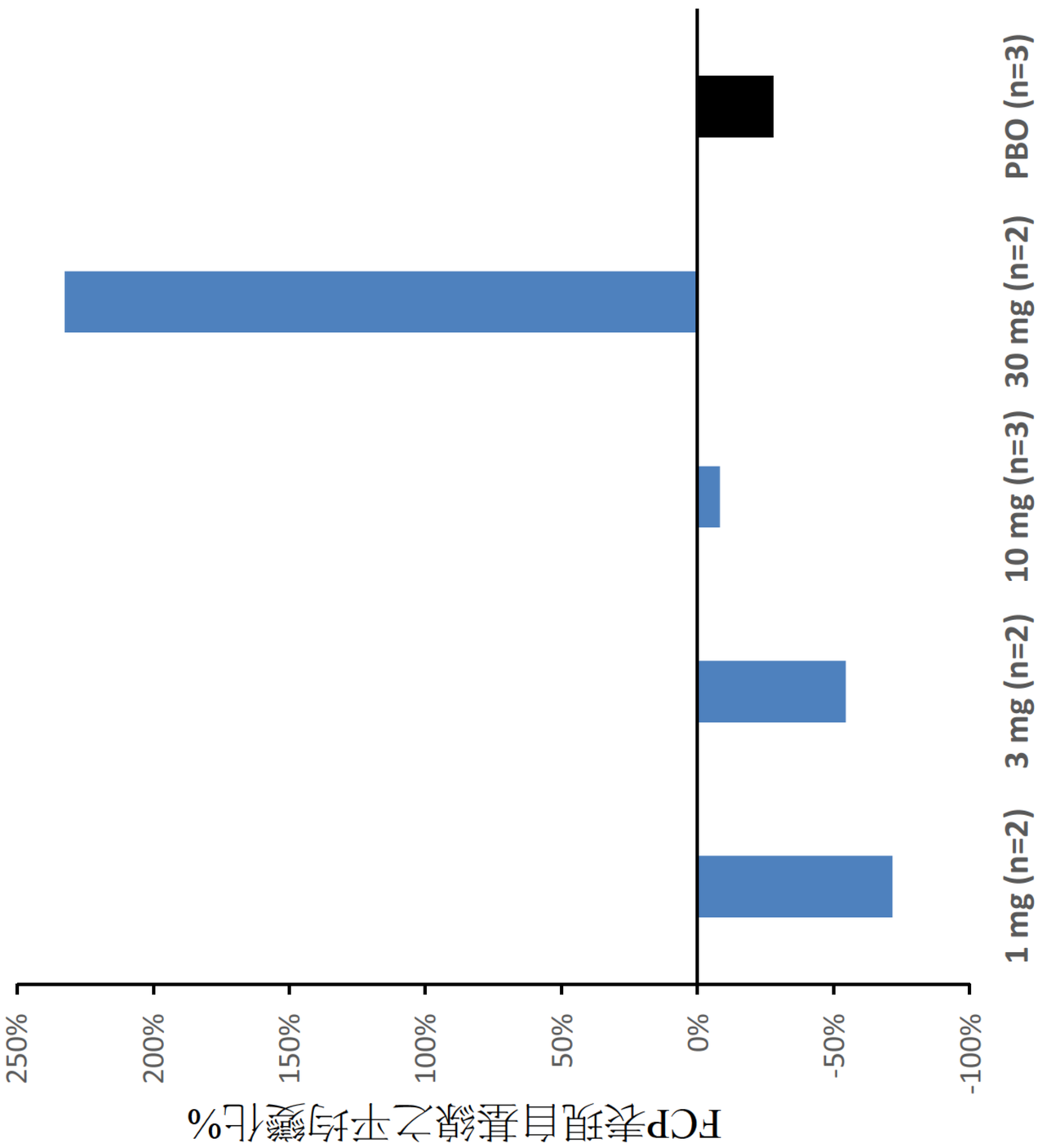
【圖111】

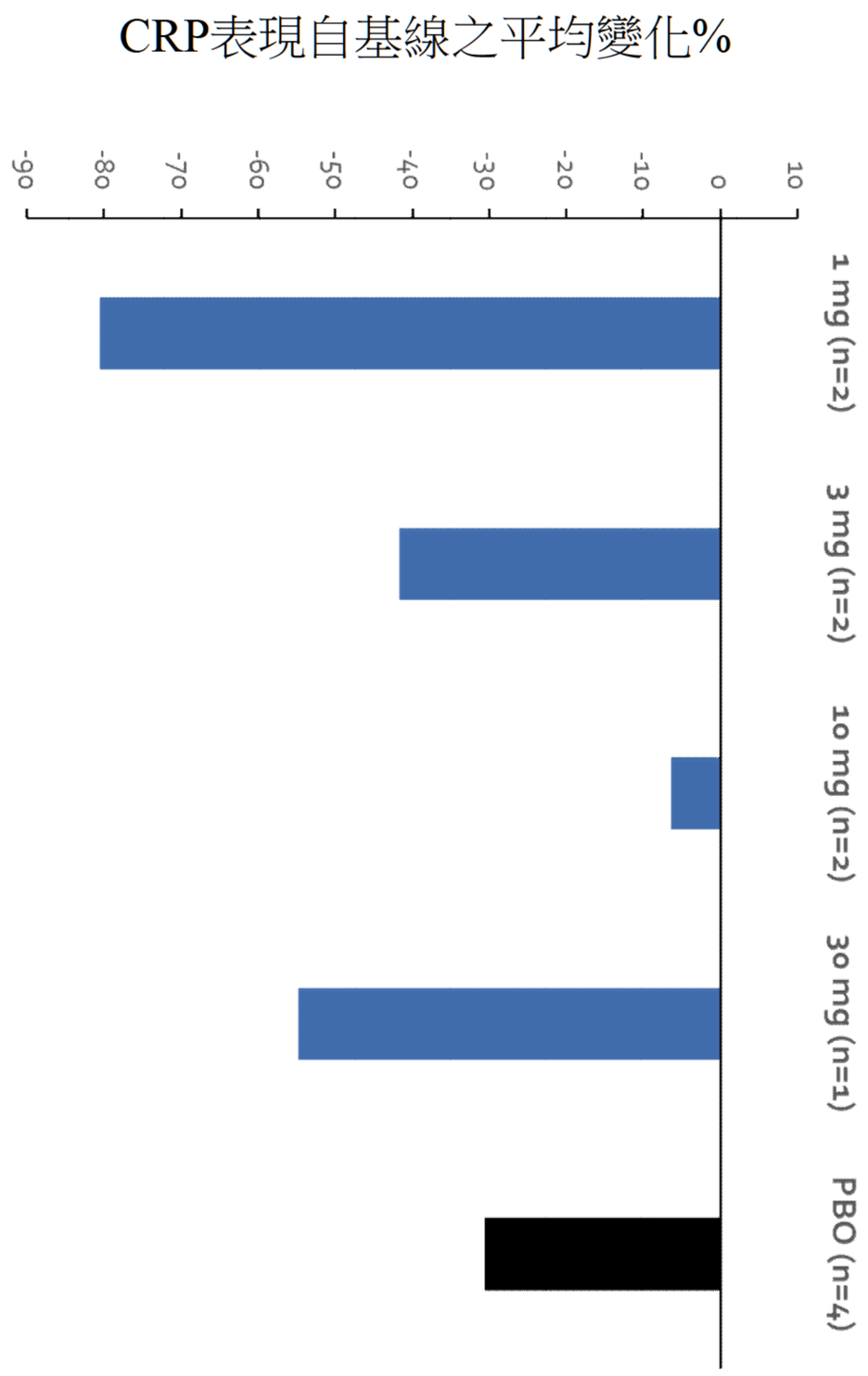


【圖112】

202120521

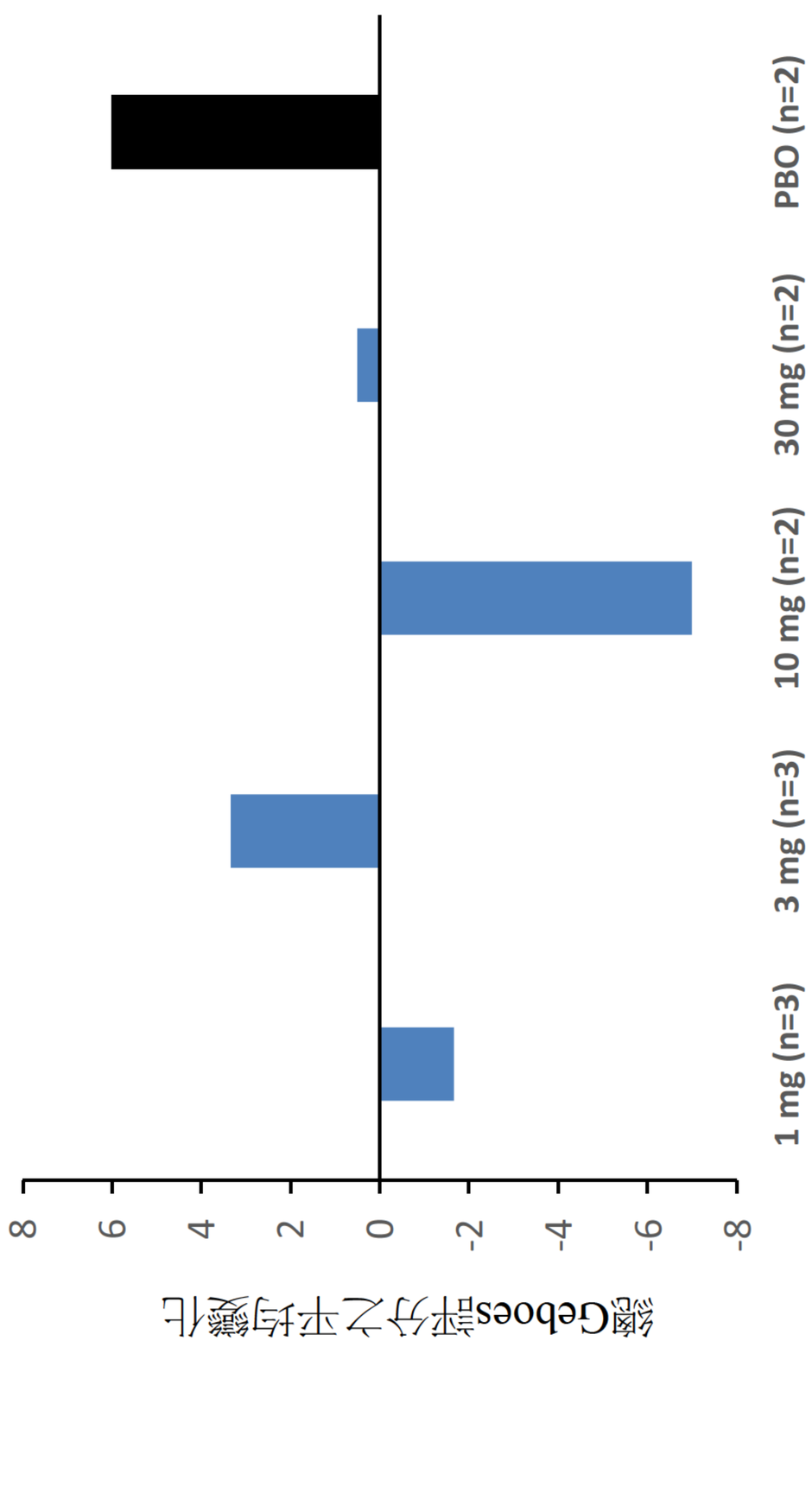
【圖113】



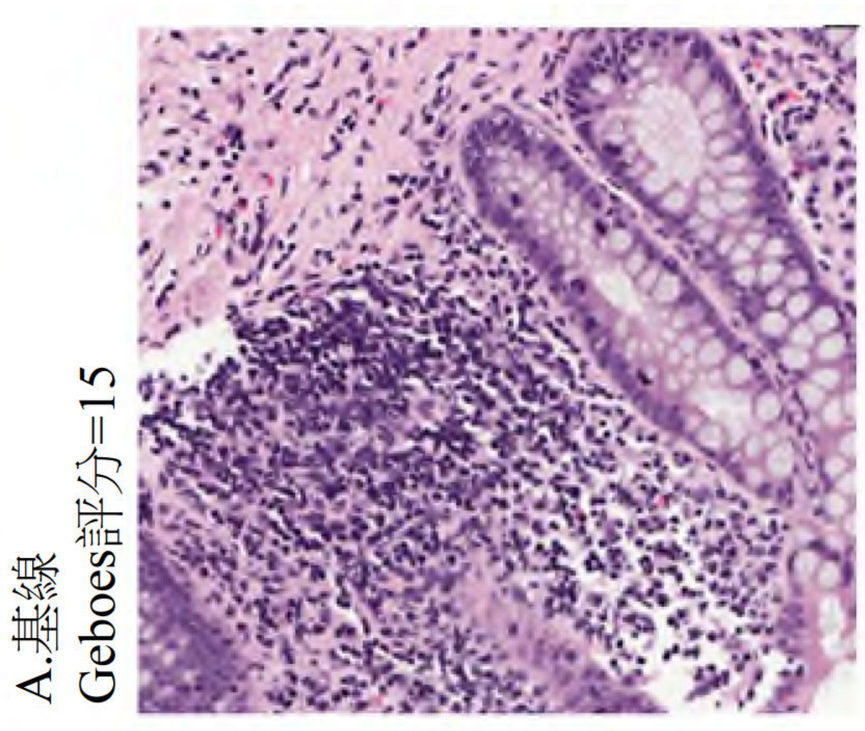

CRP表現自基線之平均變化%
-90
-80
-70
-60
-50
-40
-30
-20
-10
0
10
1 mg (n=2)
3 mg (n=2)
10 mg (n=2)
30 mg (n=1)
PBO (n=4)

【圖114】

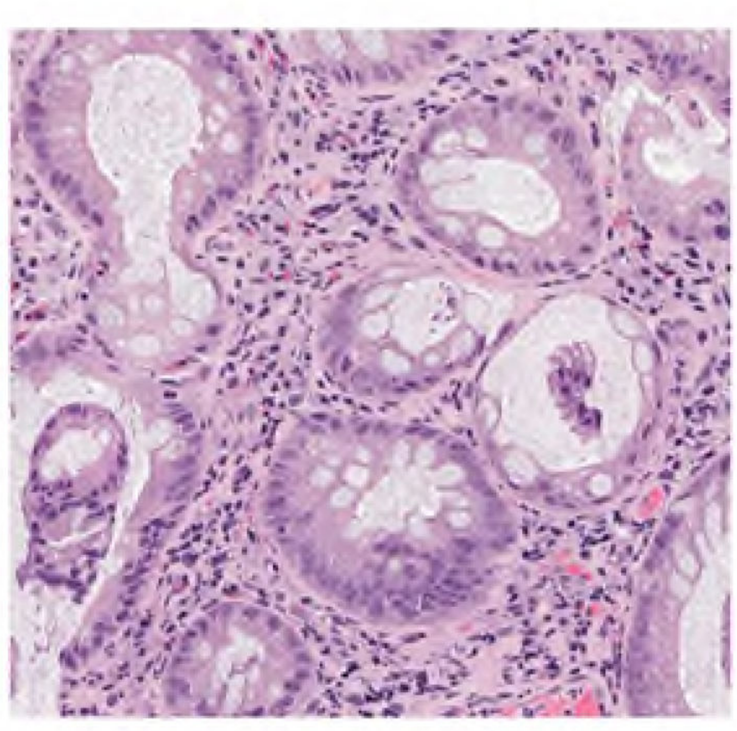
202120521



【圖115】

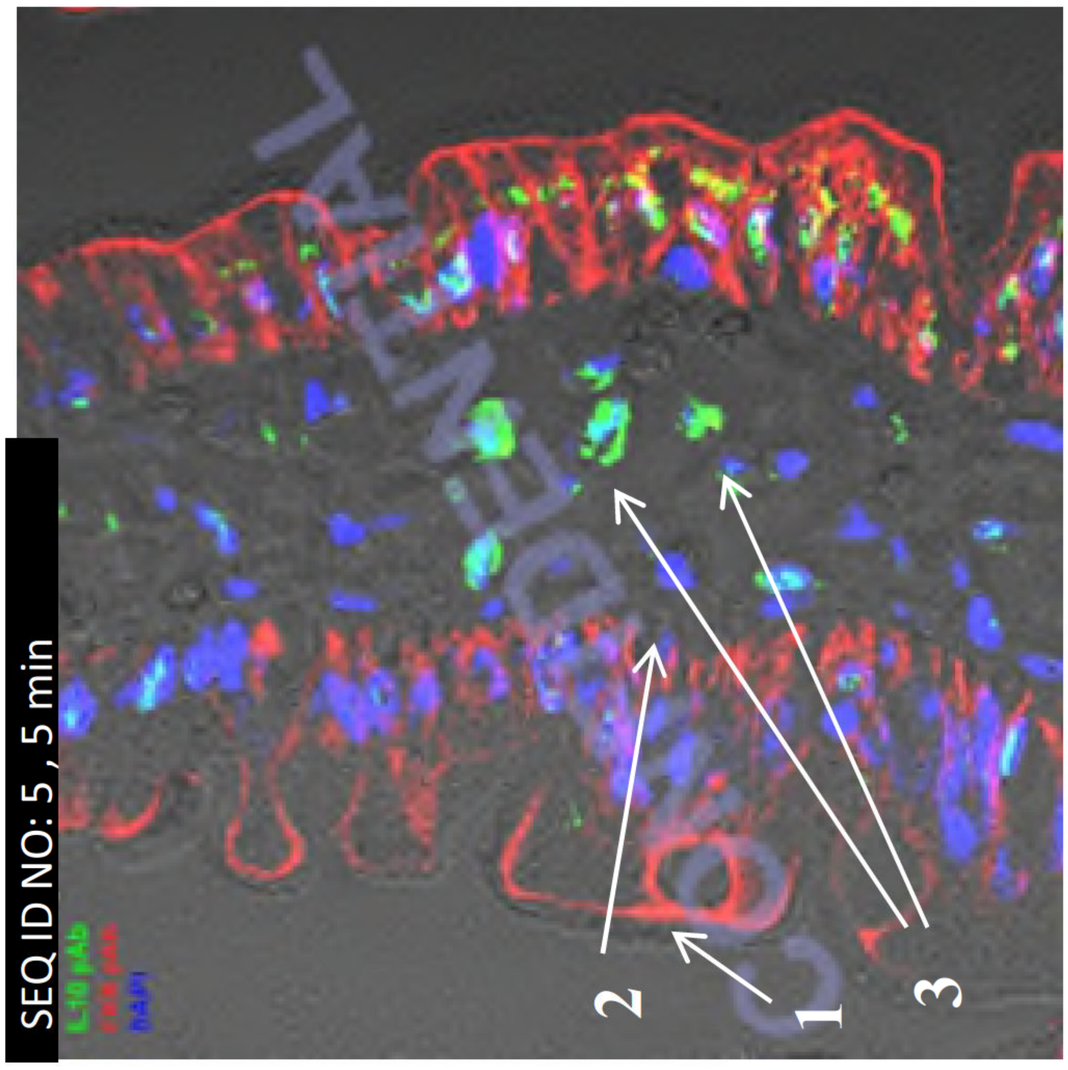


A.基線
Geboes評分=15

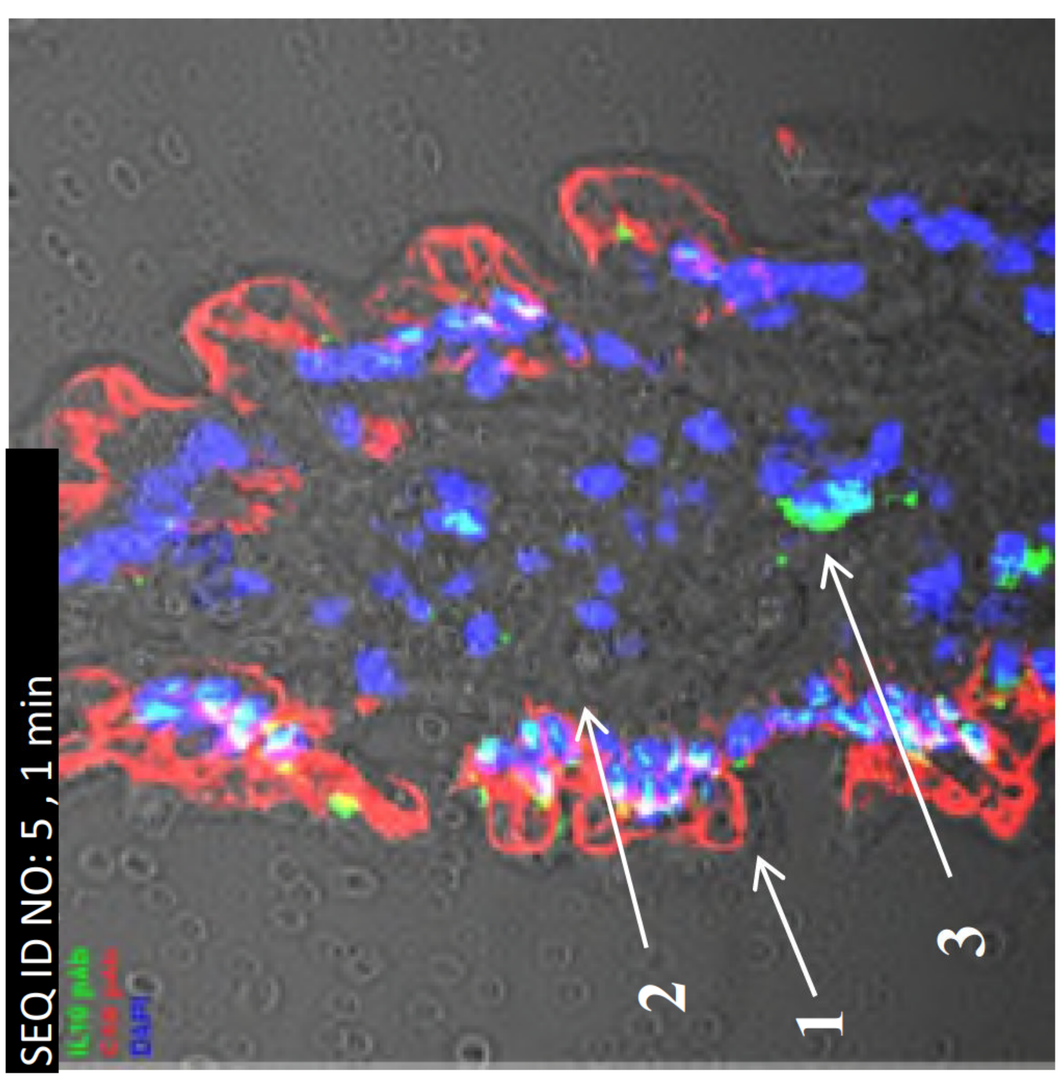


B.IL-10遞送構築體持續14天之後
Geboes評分=3

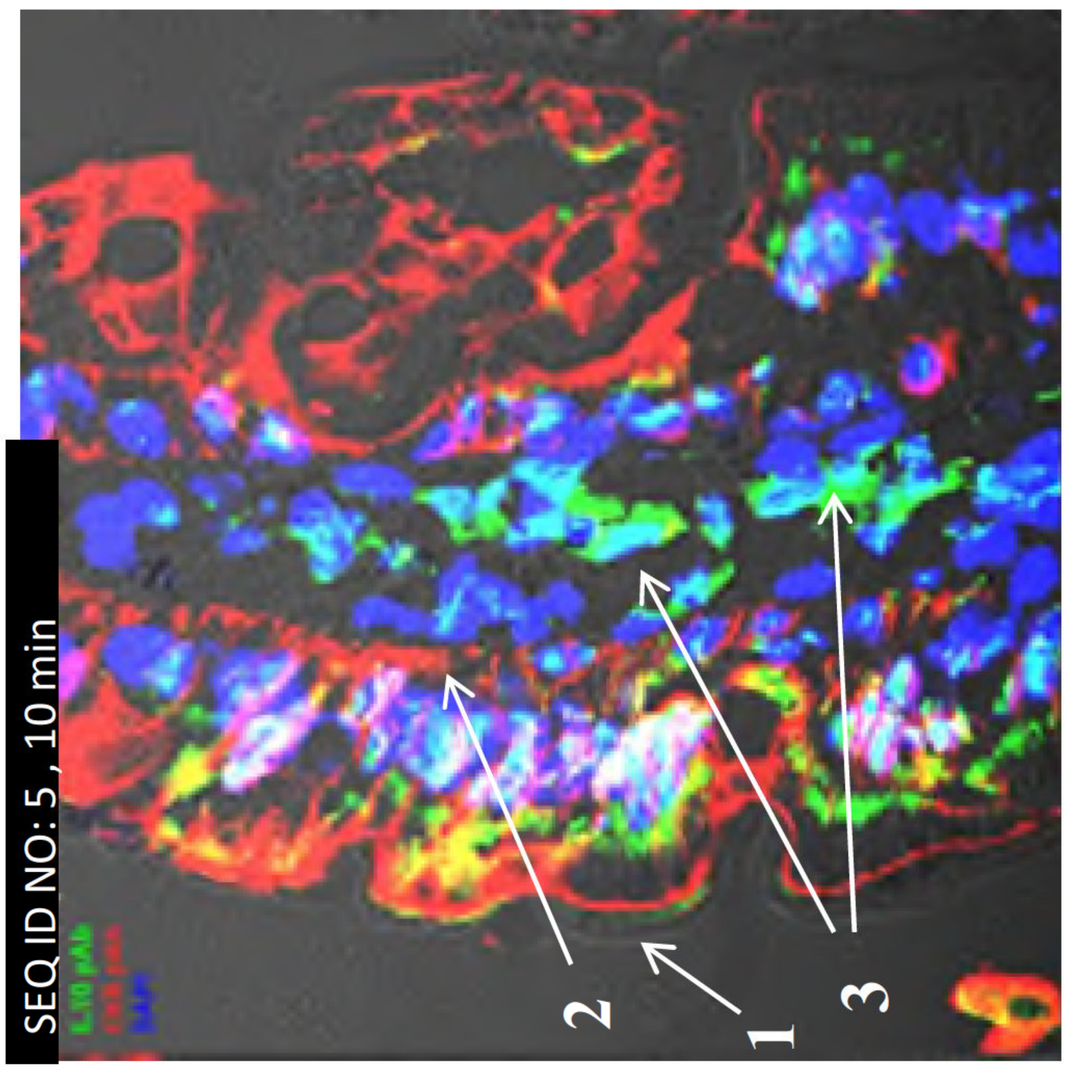
【圖116】


SEQ ID NO: 5 , 5 min
IL10 pAb
CD8 pAb
DAPI
2
1
3

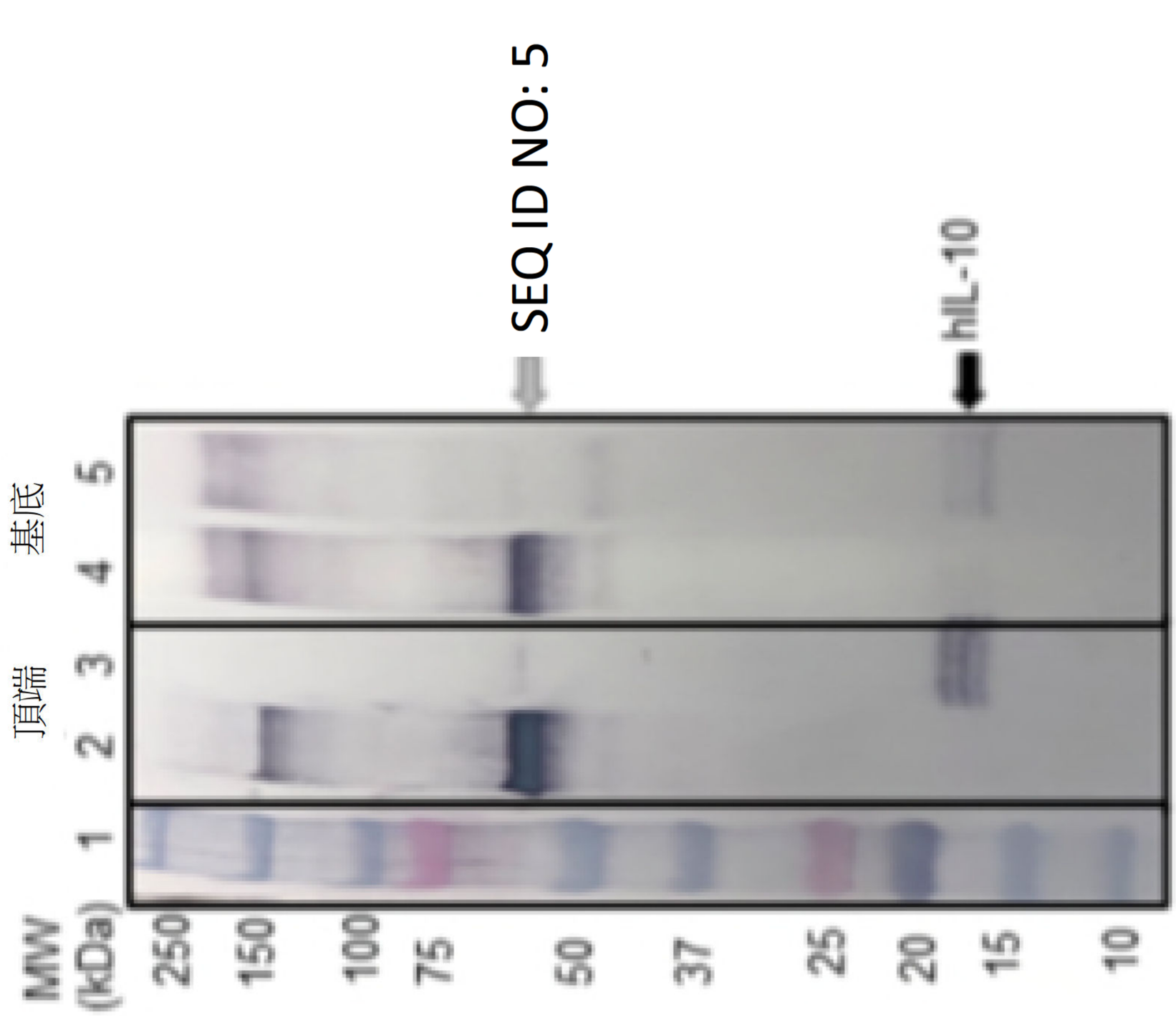
【圖117B】


SEQ ID NO: 5 , 1 min
IL10 pAb
CD8 pAb
DAPI
2
1
3

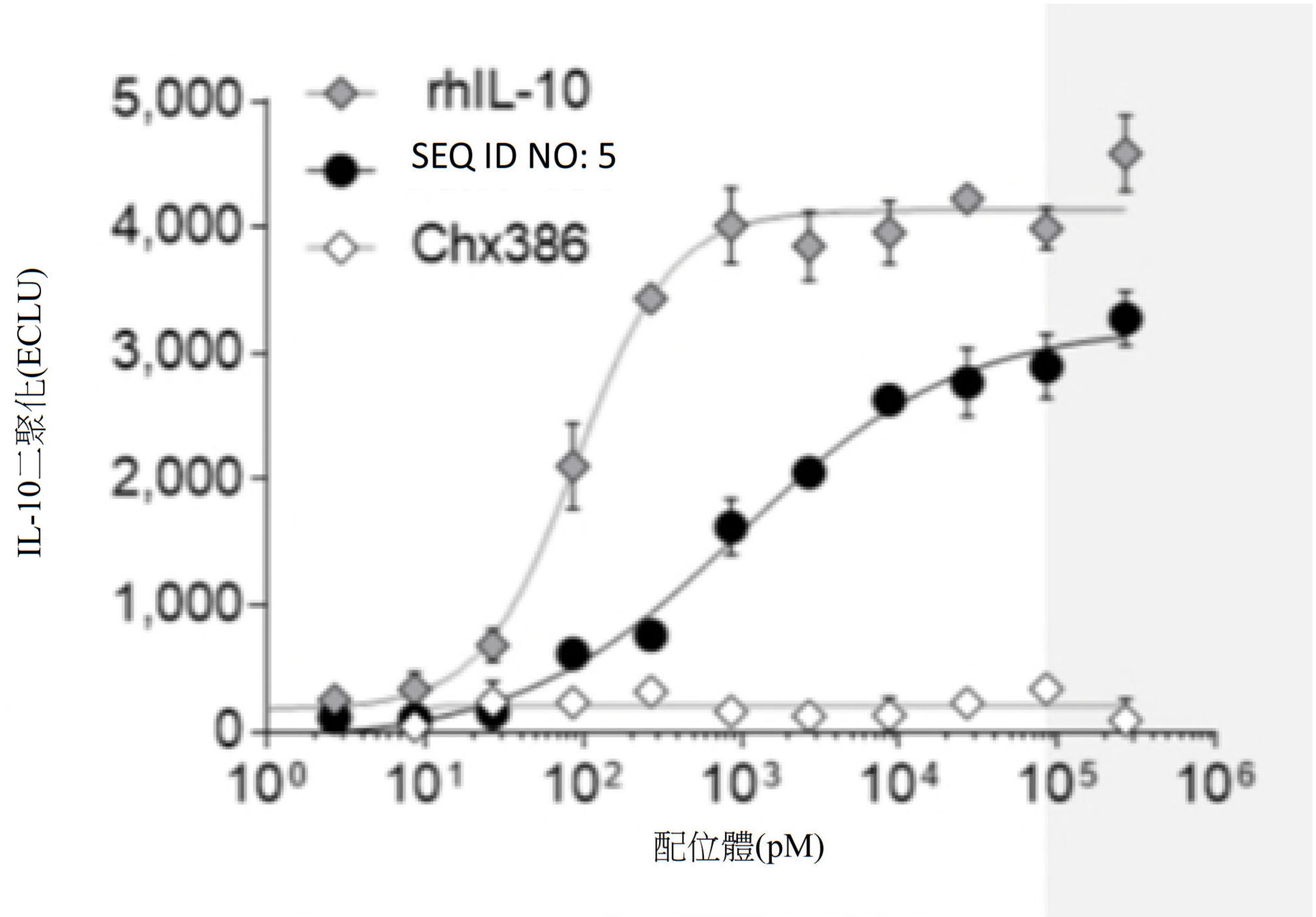
【圖117A】



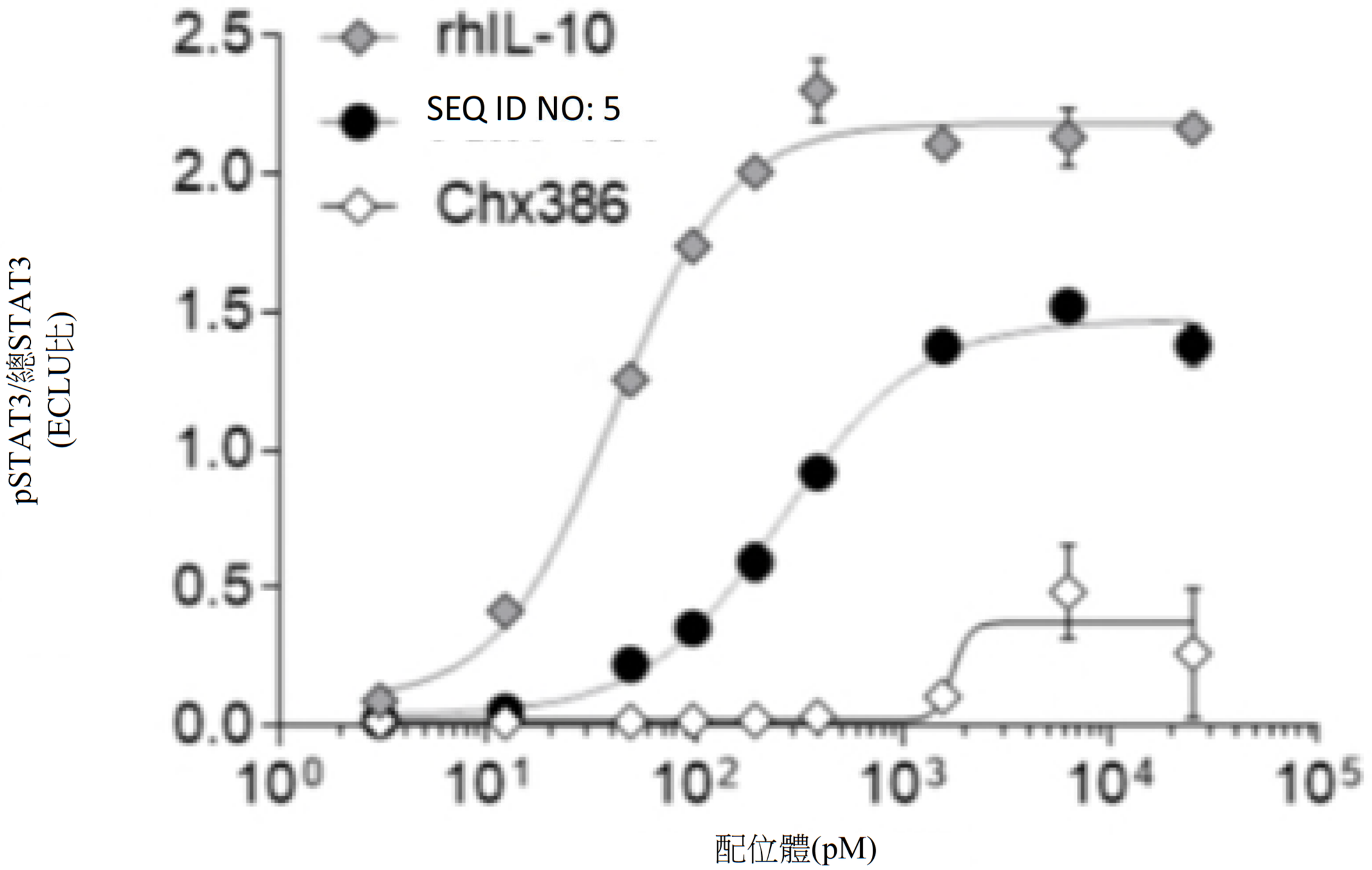
【圖117C】


SEQ ID NO: 5
hIL-10
MW (kDa)
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
頂端
基底
1
2
3
4
5

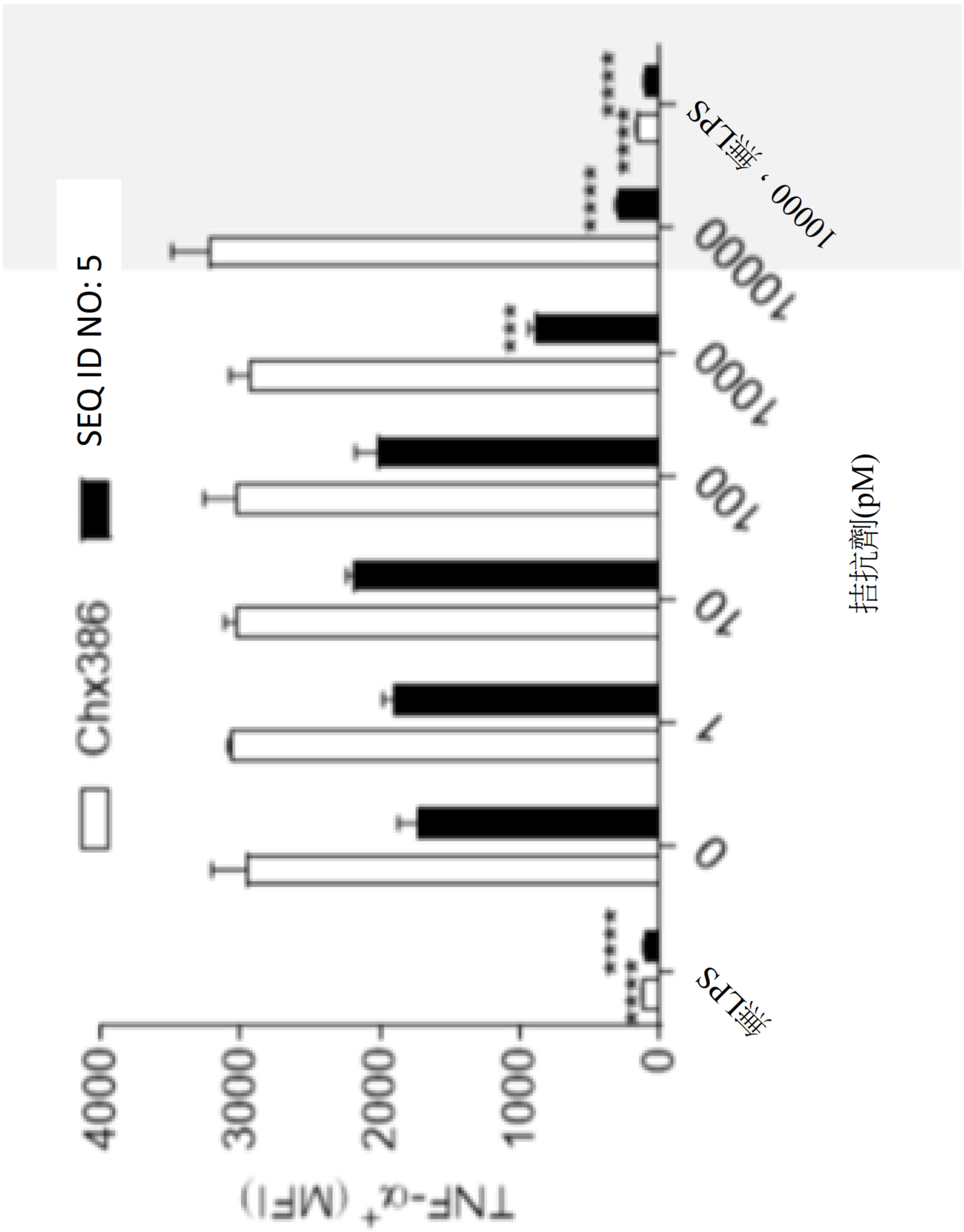
【圖118】


rhIL-10
SEQ ID NO: 5
Chx386
IL-10二聚化(ECLU)
5,000
4,000
3,000
2,000
1,000
0
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
配位體(pM)

【圖119】

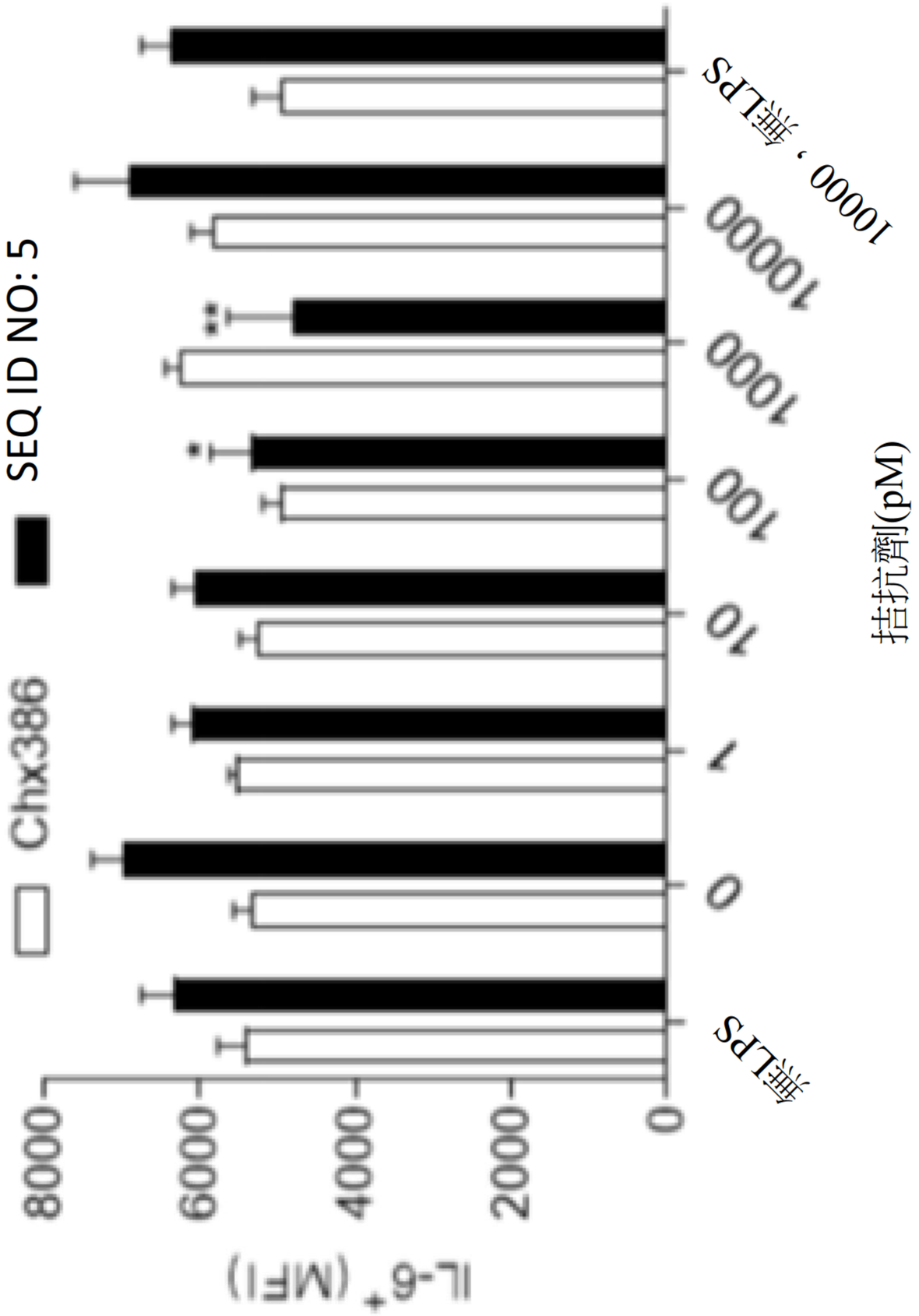

rhIL-10
SEQ ID NO: 5
Chx386
pSTAT3/總STAT3
(ECLU比)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
配位體(pM)

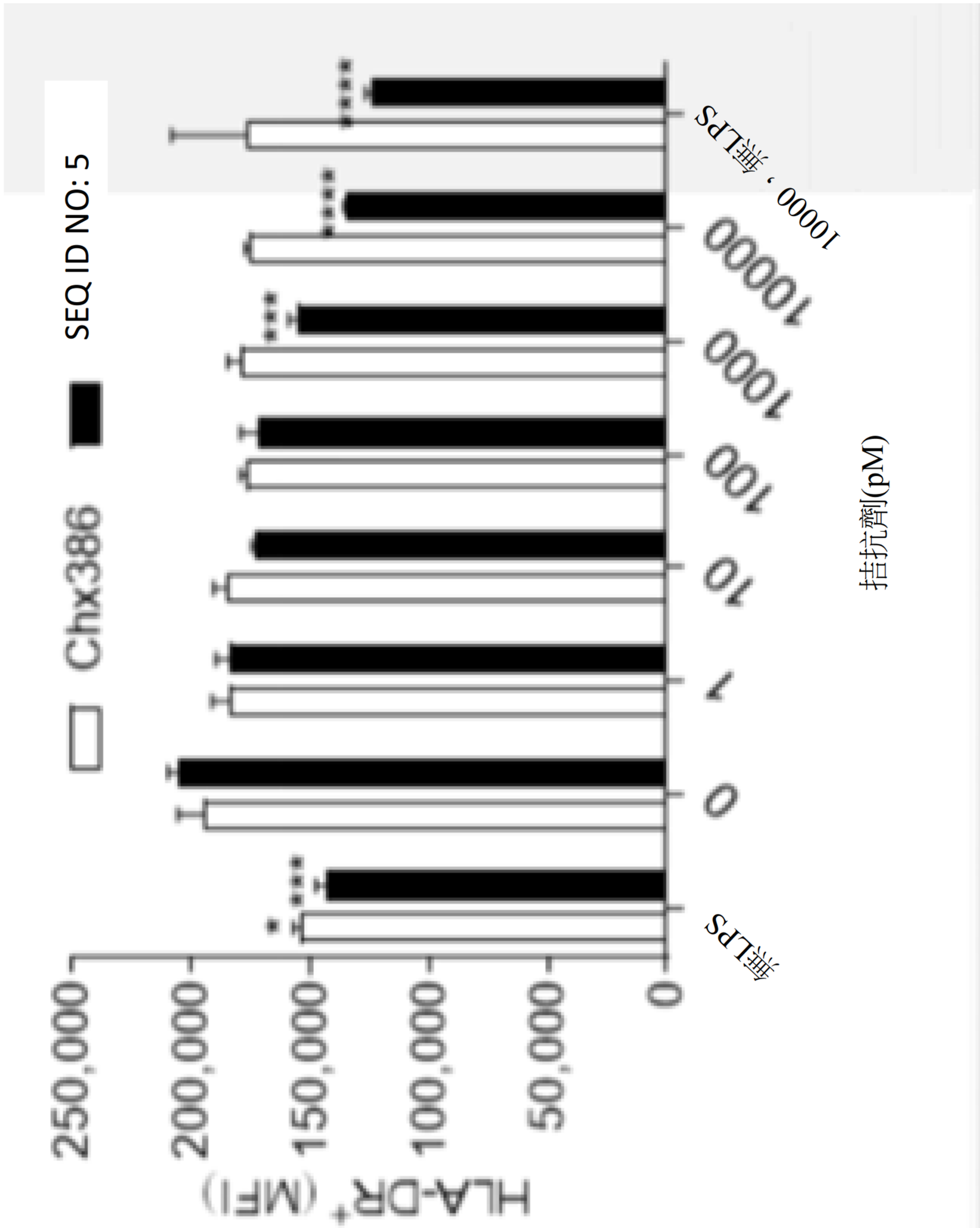
【圖120】


SEQ ID NO: 5
Chx386
TNF-α+ (MFI)
4000
3000
2000
1000
0
無LPS
0
1
10
100
1000
10000
10000，無LPS
拮抗劑(pM)

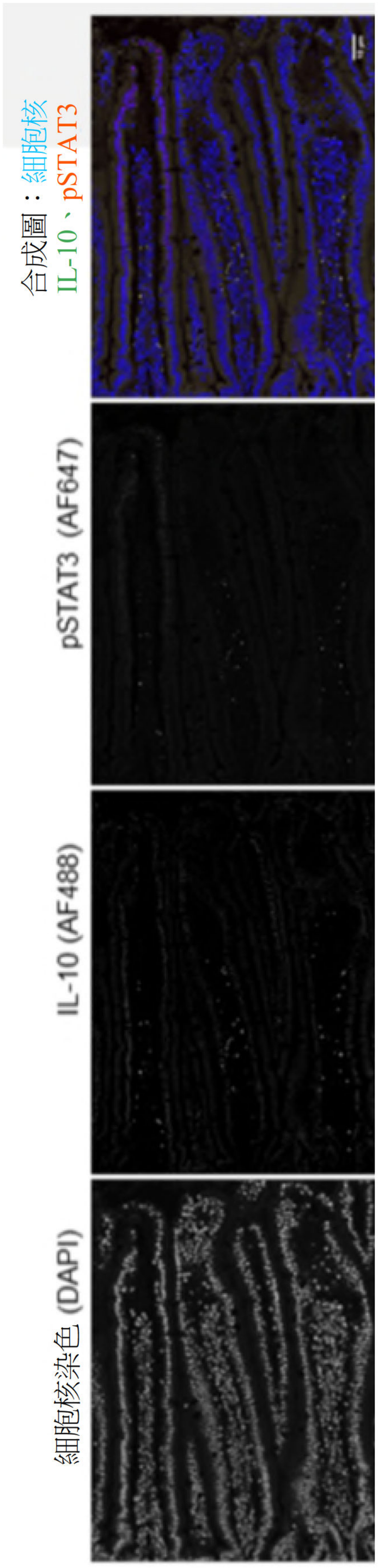
【圖121】

【圖122】

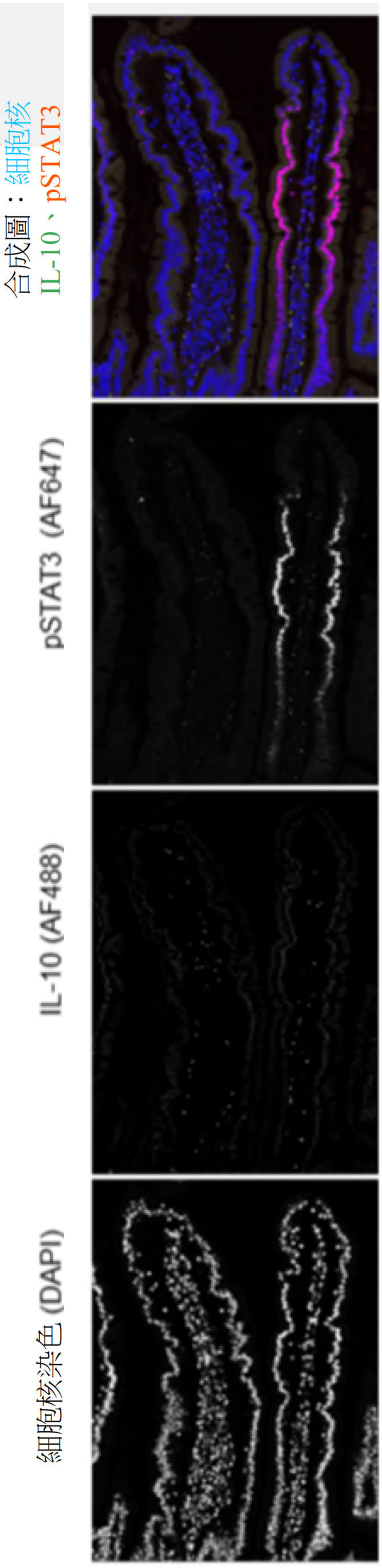

SEQ ID NO: 5
Chx386
IL-6+ (MFI)
8000
6000
4000
2000
0
無LPS
0
1
10
100
1000
10000
10000，無LPS
拮抗劑(pM)


SEQ ID NO: 5
Chx386
HLA-DR+ (MFI)
250,000
200,000
150,000
100,000
50,000
0
無LPS
0
1
10
100
1000
10000
10000，無LPS
拮抗劑(pM)

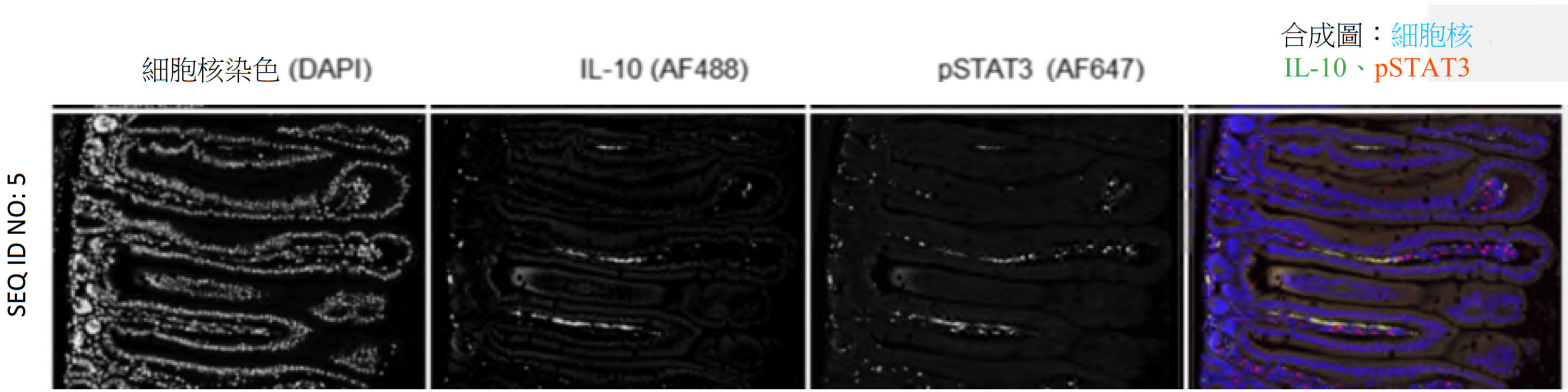
【圖123】


合成圖：細胞核
IL-10、pSTAT3
pSTAT3 (AF647)
IL-10 (AF488)
細胞核染色 (DAPI)
PBS

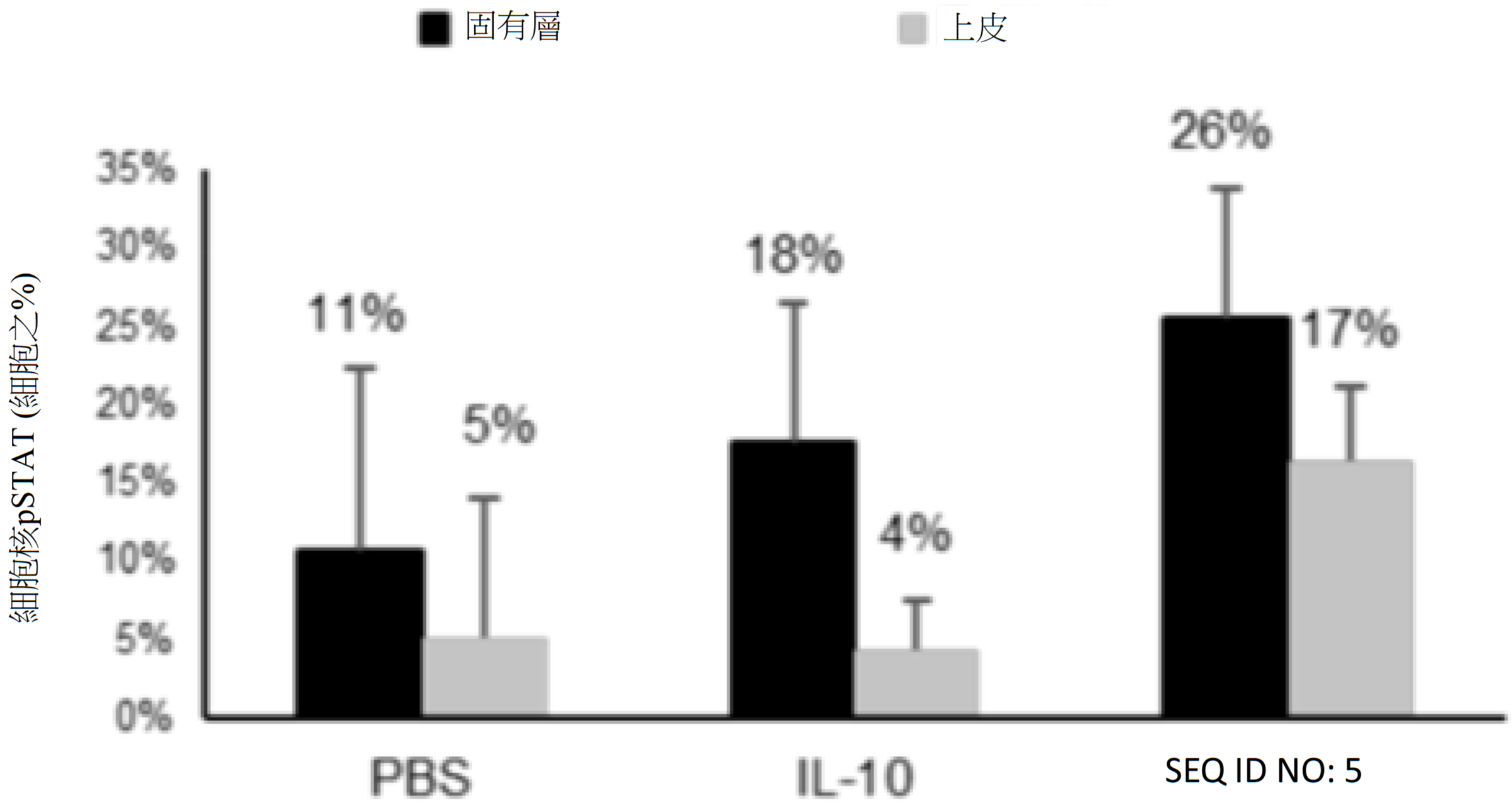
【圖124】


合成圖：細胞核
IL-10、pSTAT3
pSTAT3 (AF647)
IL-10 (AF488)
細胞核染色 (DAPI)
IL-10

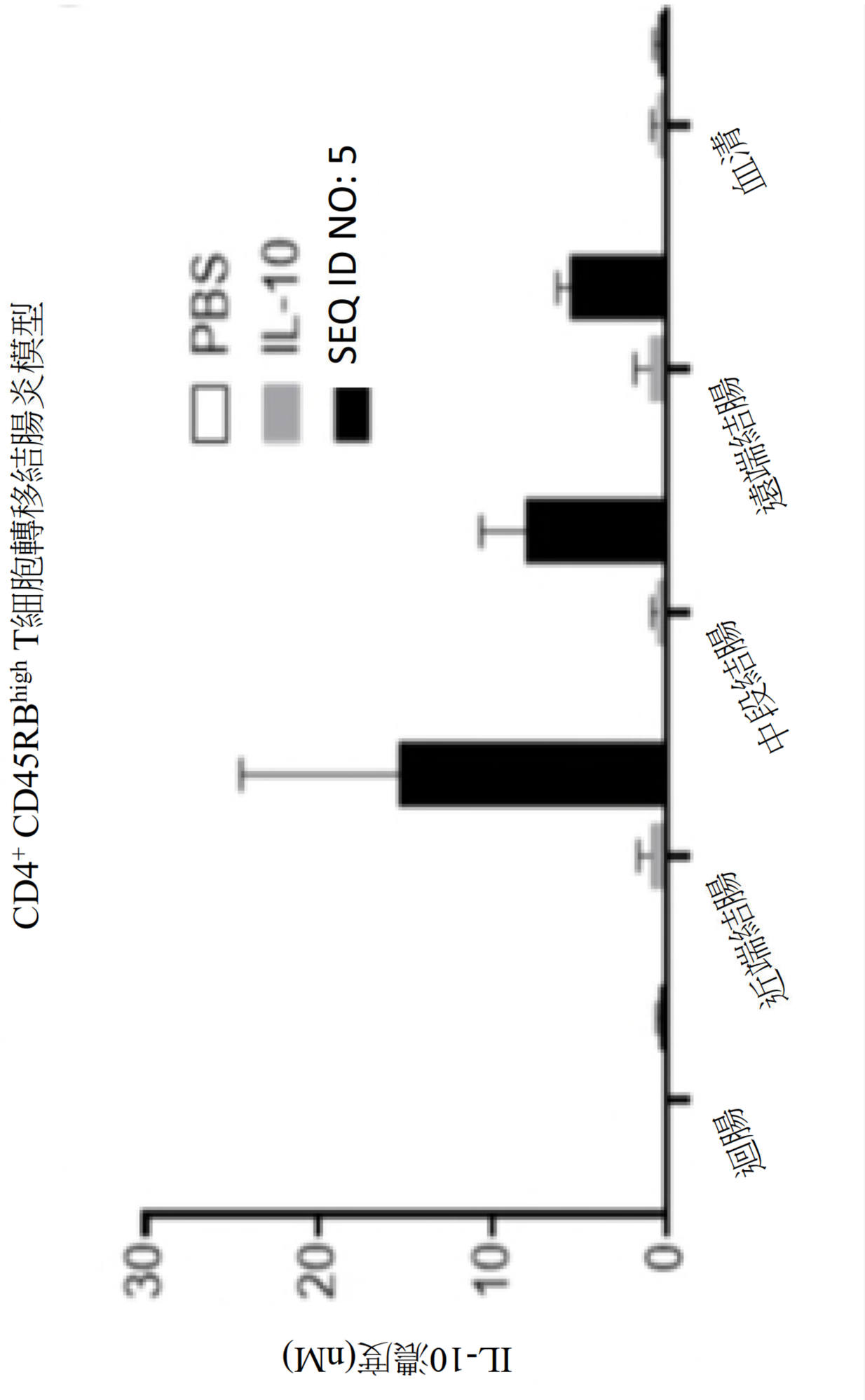
【圖125】


細胞核染色 (DAPI)
IL-10 (AF488)
pSTAT3 (AF647)
合成圖：細胞核
IL-10、pSTAT3
SEQ ID NO: 5

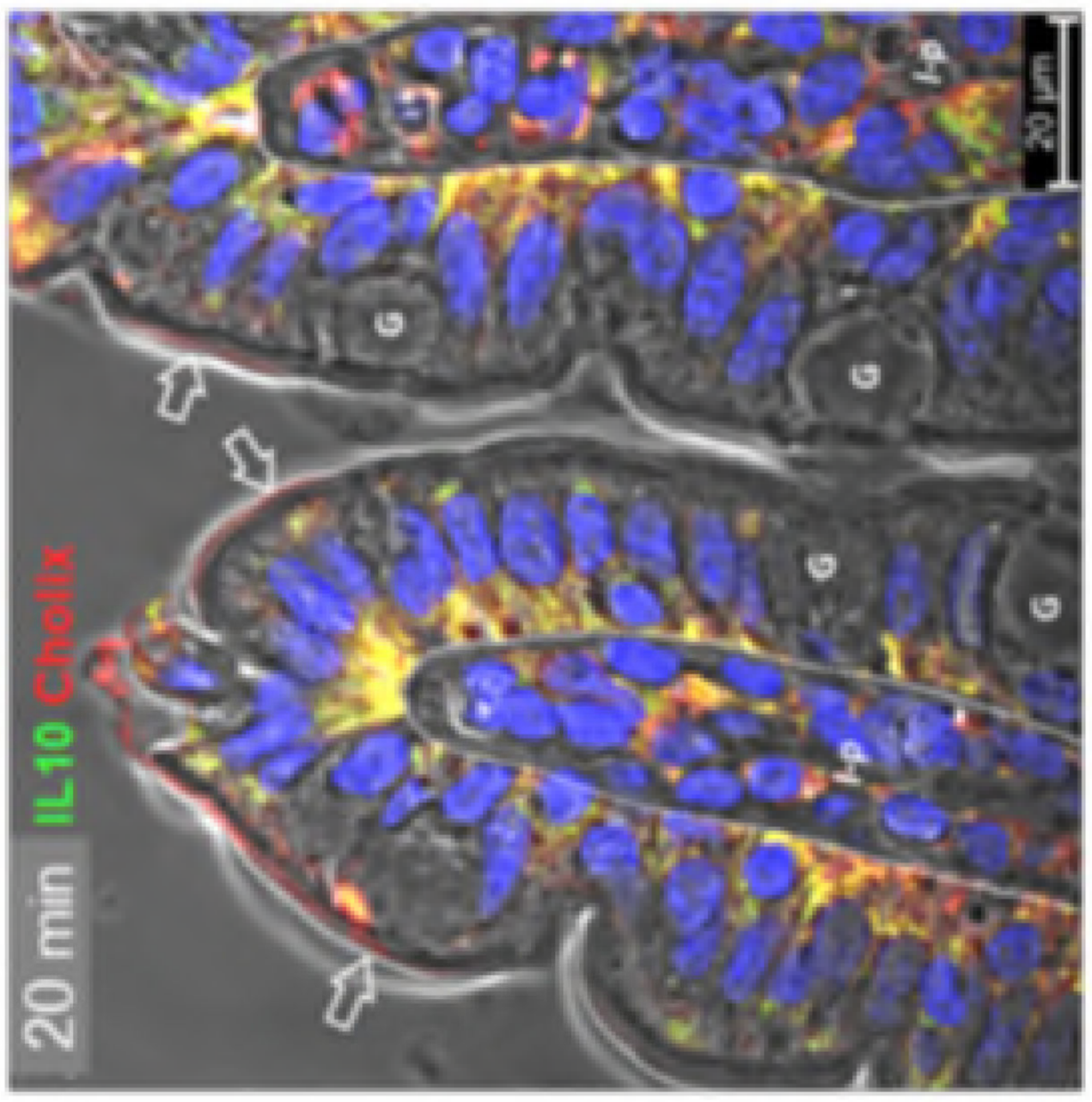
【圖126】


固有層
上皮
細胞核pSTAT (細胞之%)
35%
30%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
11%
5%
18%
4%
26%
17%
PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5

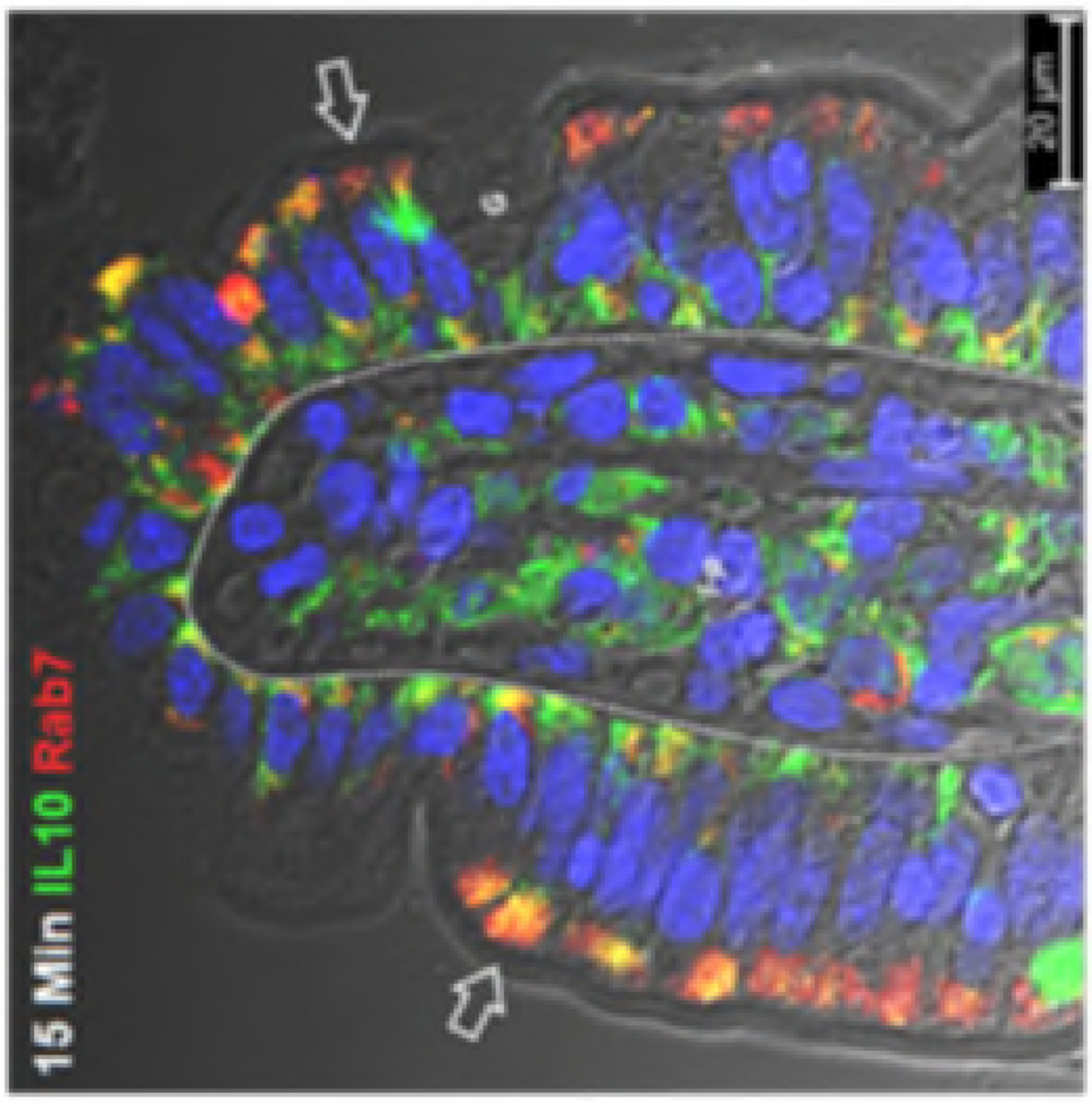
【圖127】


CD4+ CD45RBhigh T細胞轉移結腸炎模型
PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
IL-10濃度(nM)
30
20
10
0
迴腸
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清

【圖128】



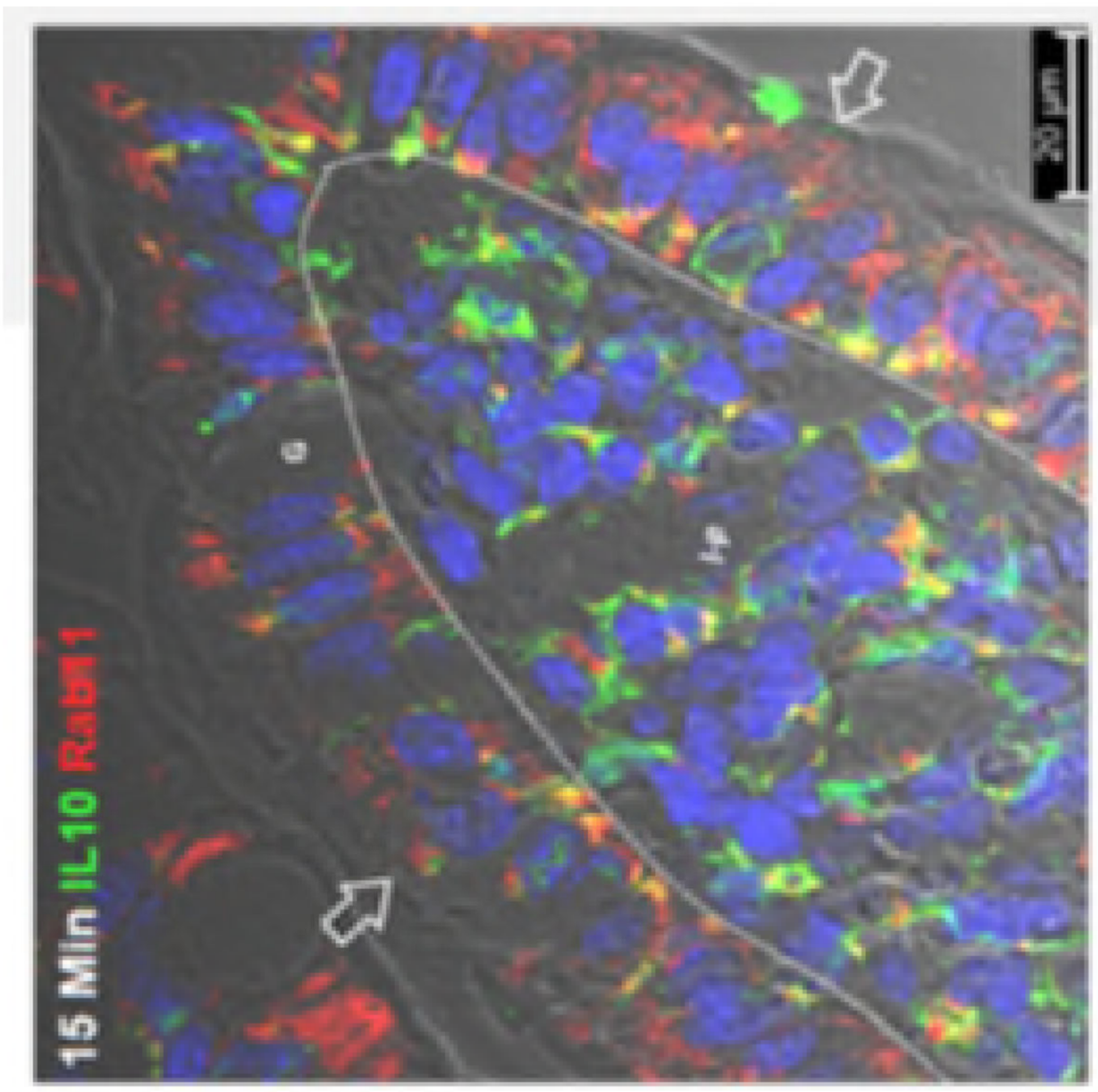
【圖129】

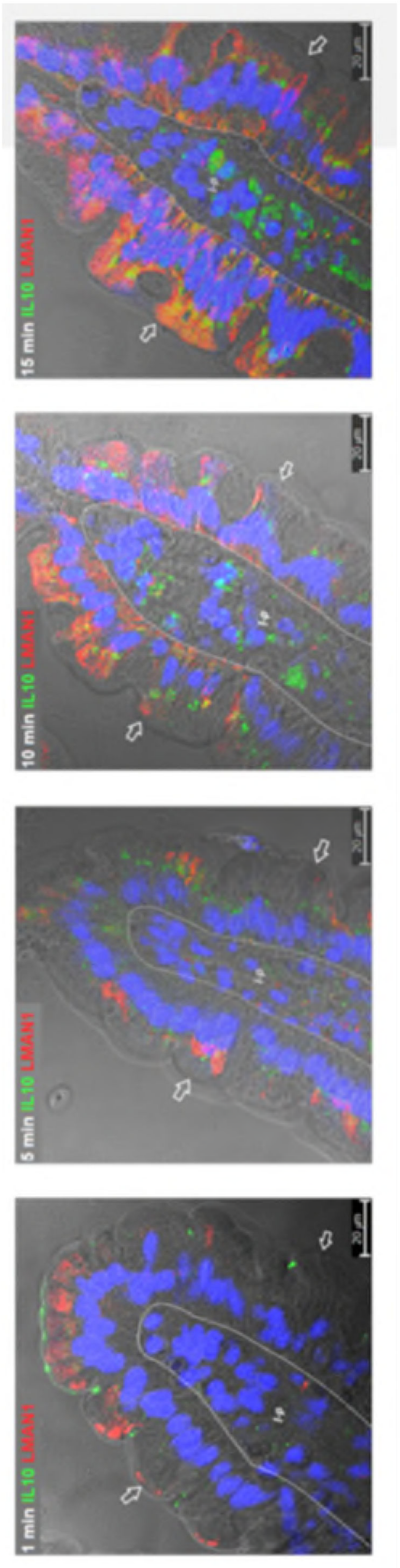


【圖130】

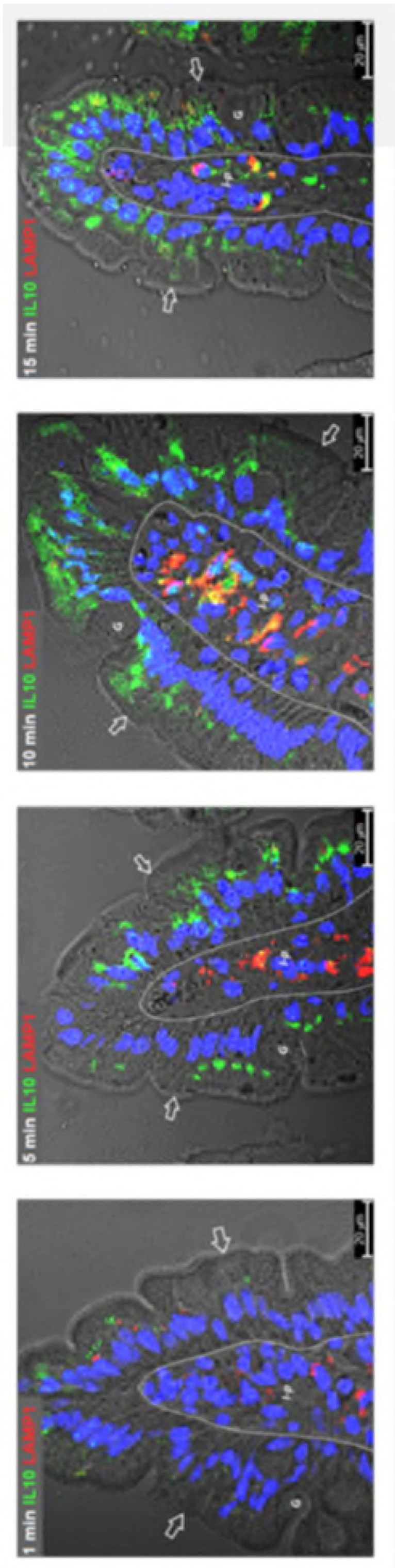
202120521

【圖131】

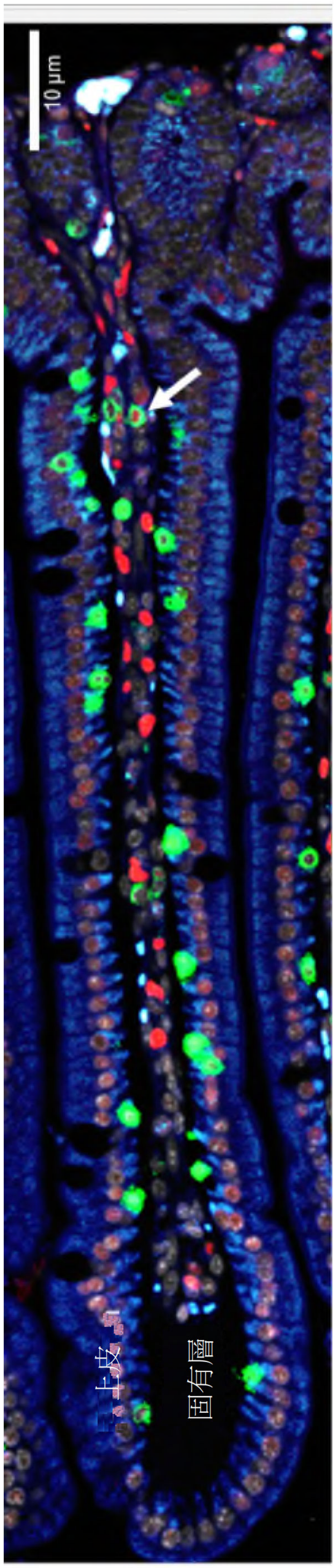



15 min IL10 LMAN1
10 min IL10 LMAN1
5 min IL10 LMAN1
1 min IL10 LMAN1

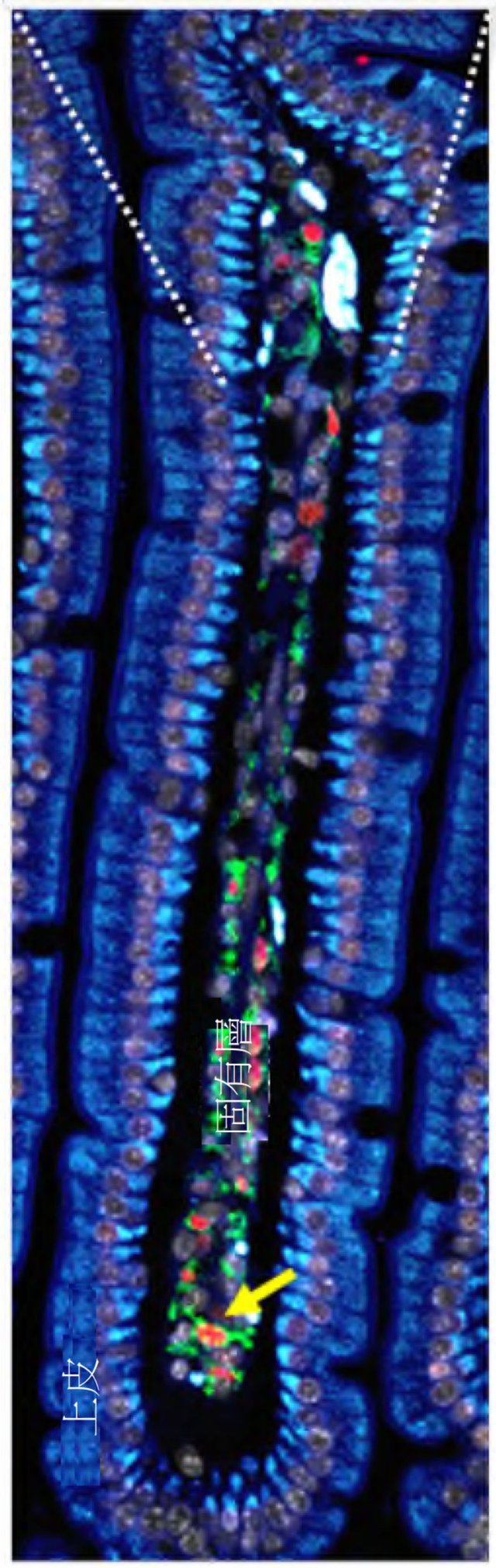
【圖132】


15 min IL10 LAMP1
10 min IL10 LAMP1
5 min IL10 LAMP1
1 min IL10 LAMP1

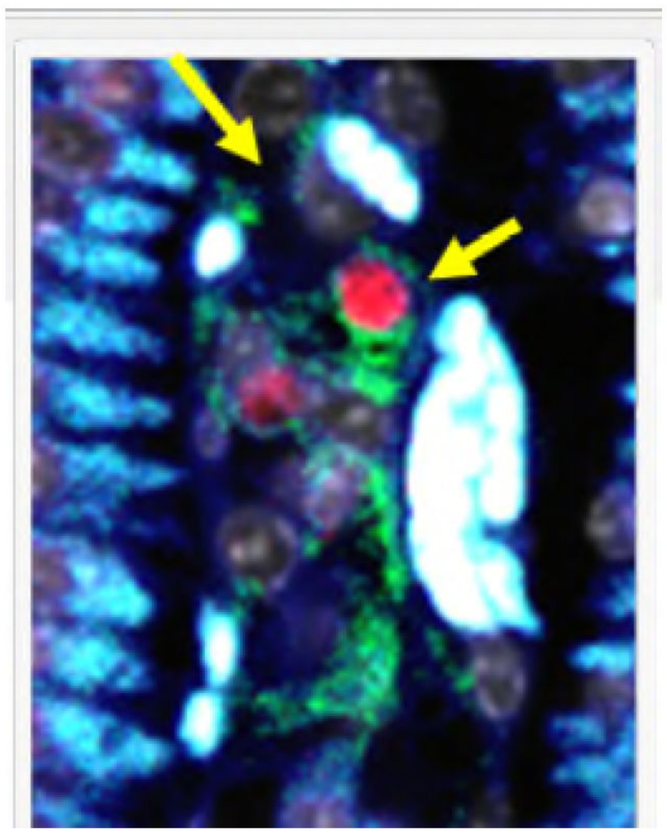
【圖133】



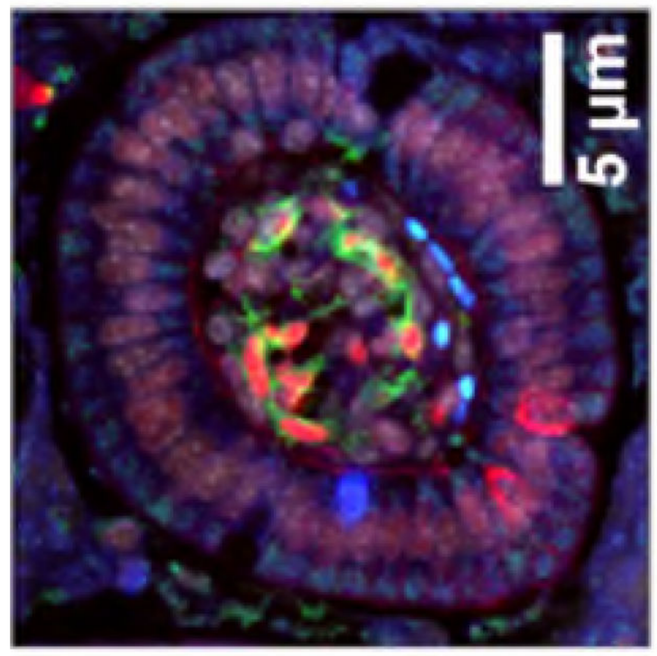
【圖134】



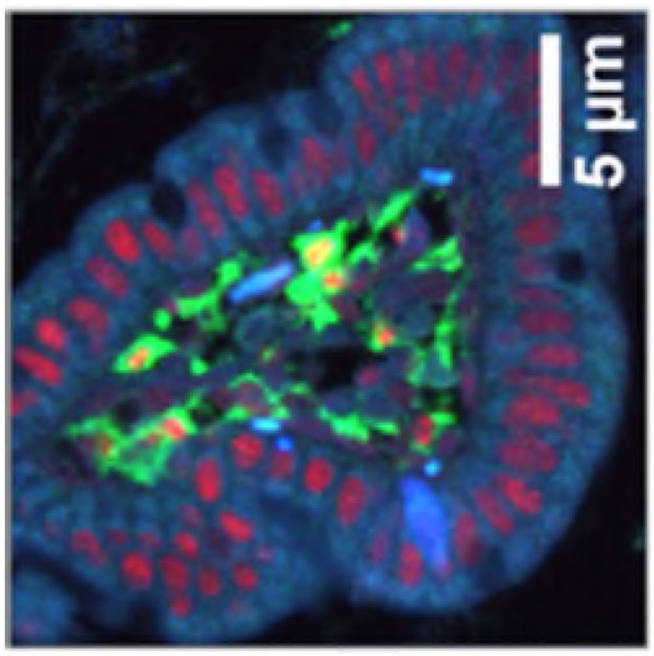
【圖135】



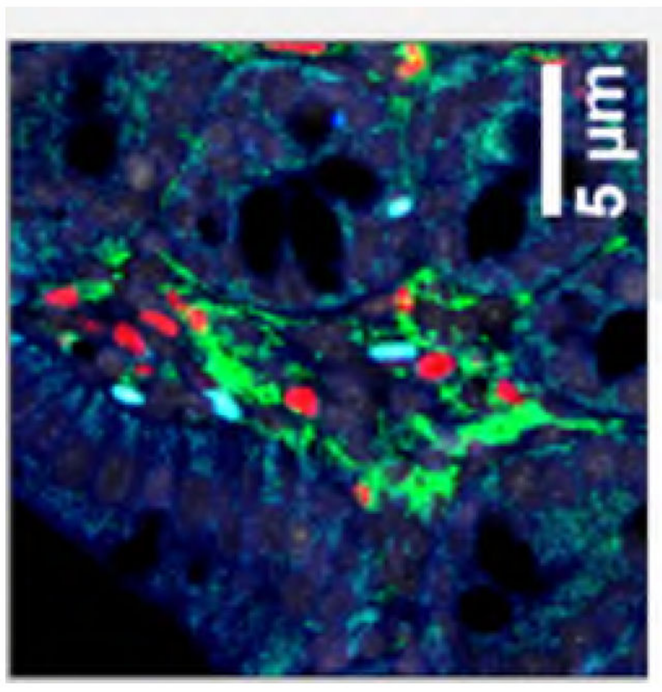
【圖136】

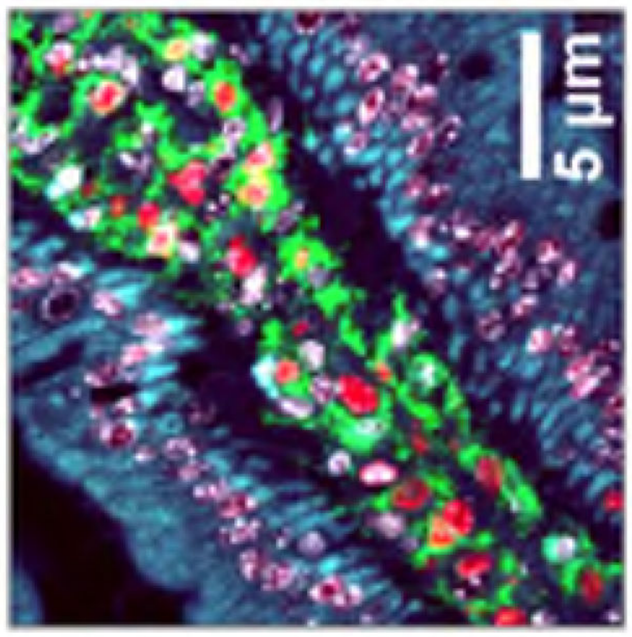


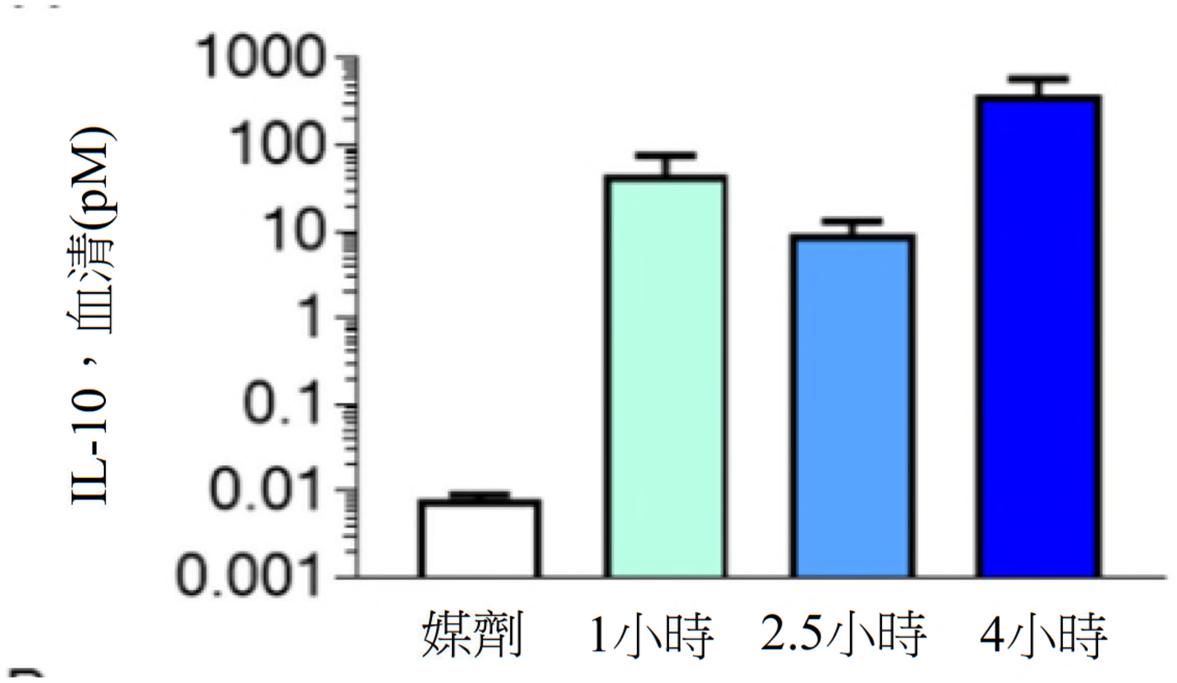
【圖137】



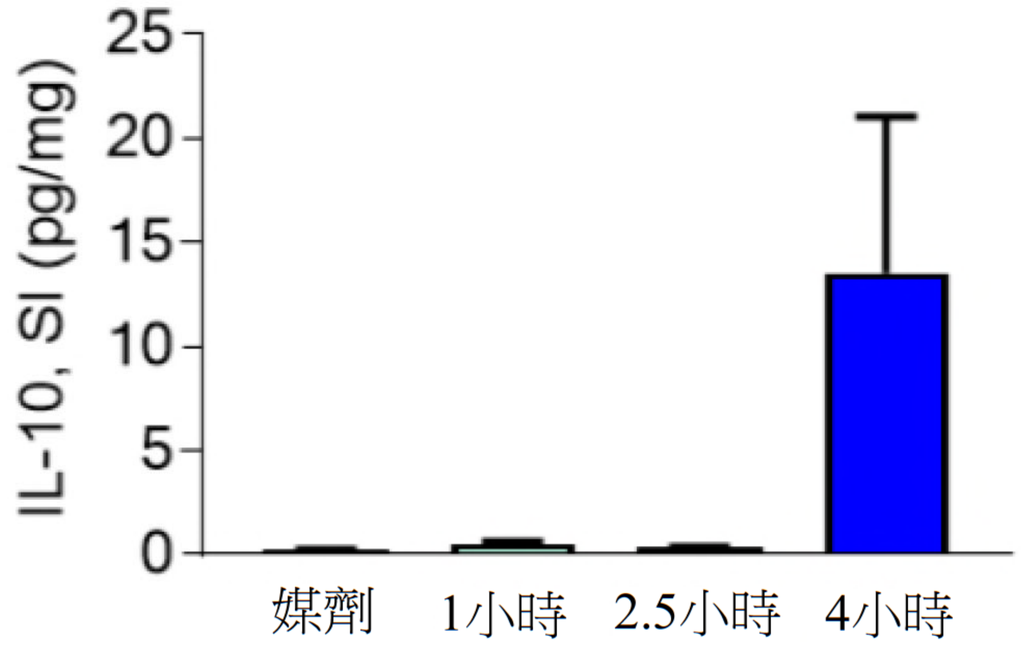
【圖138】



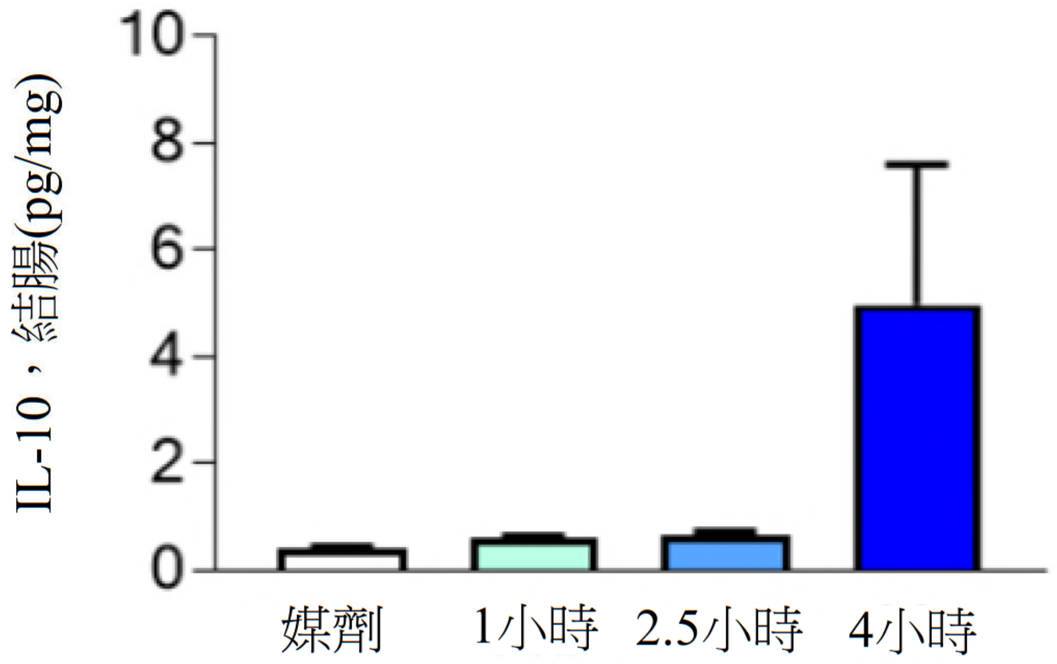



IL-10，血清(pM)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
媒劑
1小時
2.5小時
4小時

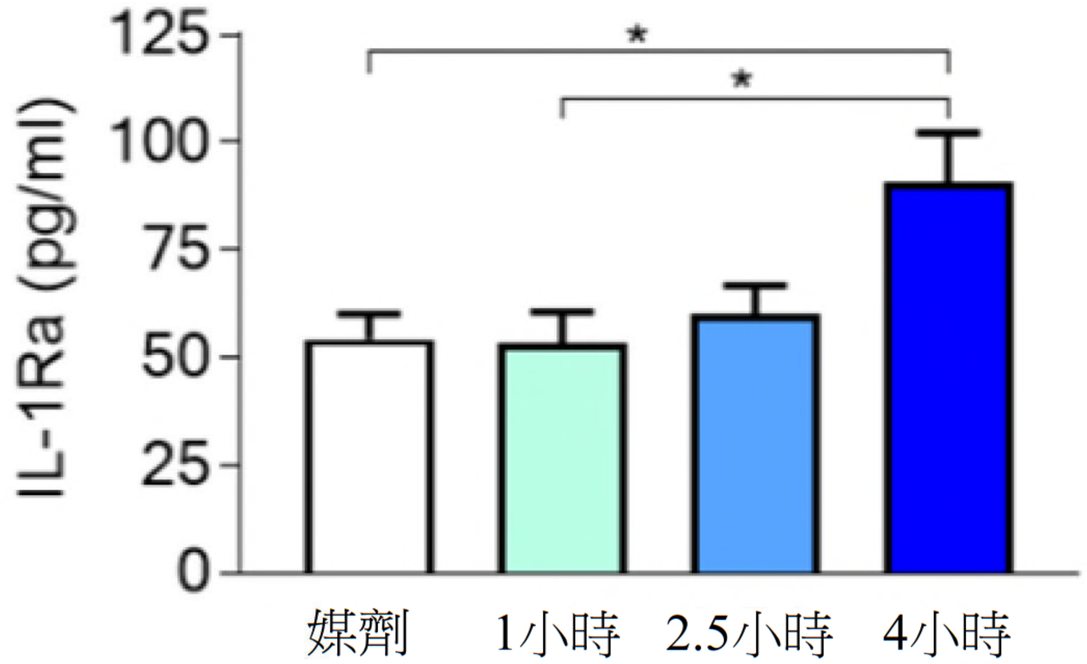
【圖139】


IL-10, SI (pg/mg)
25
20
15
10
5
0
媒劑
1小時
2.5小時
4小時

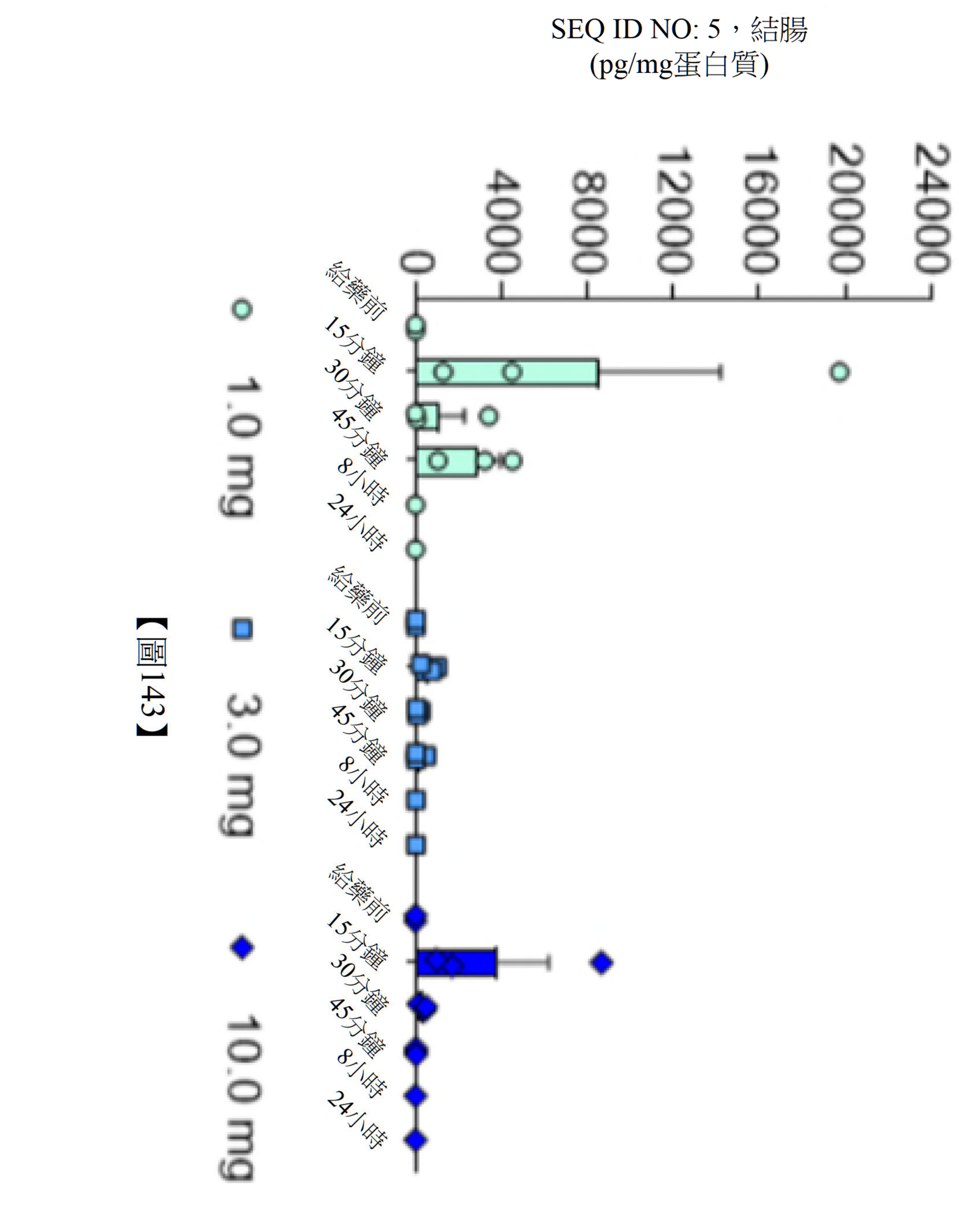
【圖140】


IL-10，結腸(pg/mg)
10
8
6
4
2
0
媒劑
1小時
2.5小時
4小時

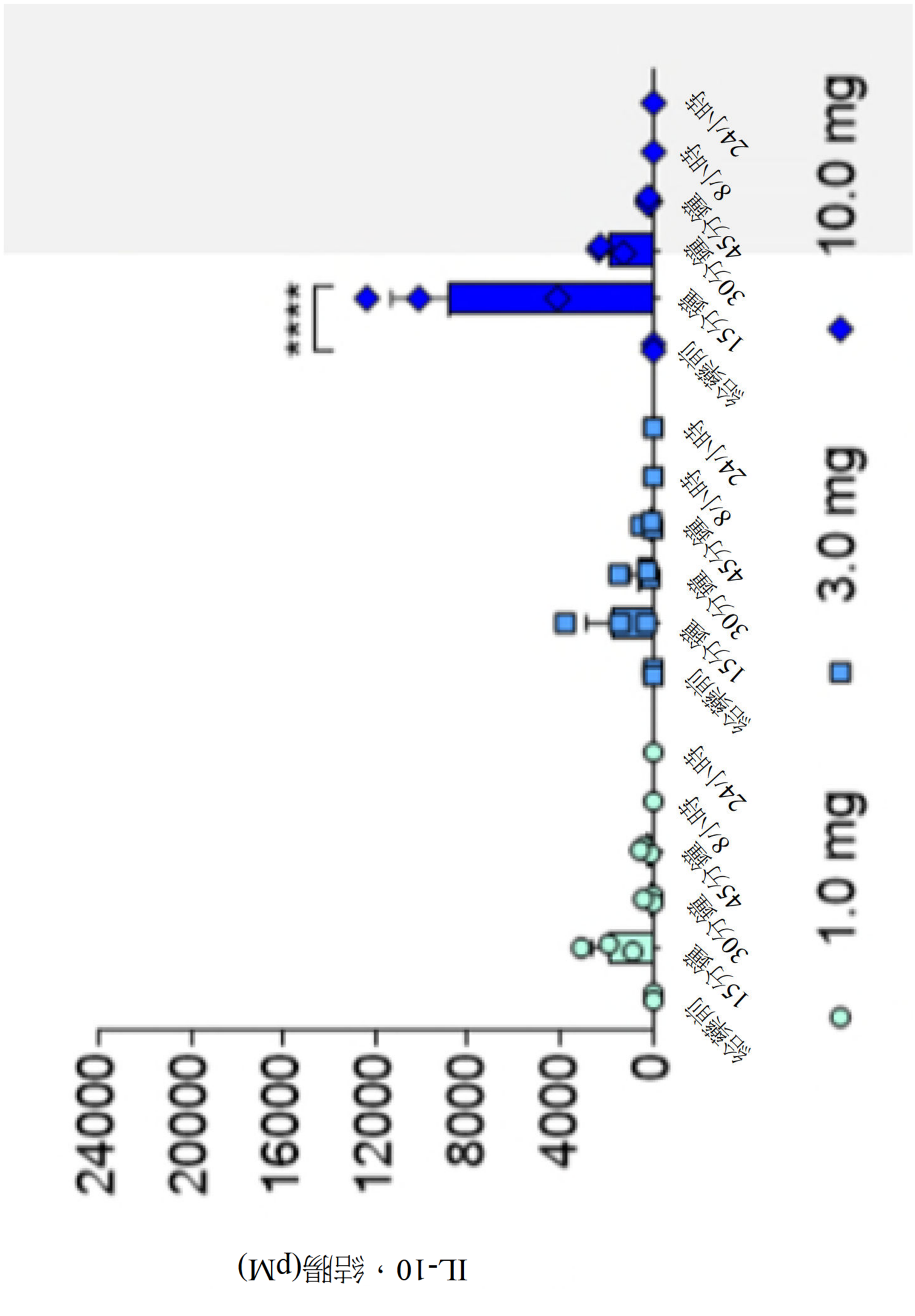
【圖141】


IL-1Ra (pg/ml)
125
100
75
50
25
0
*
*
媒劑
1小時
2.5小時
4小時

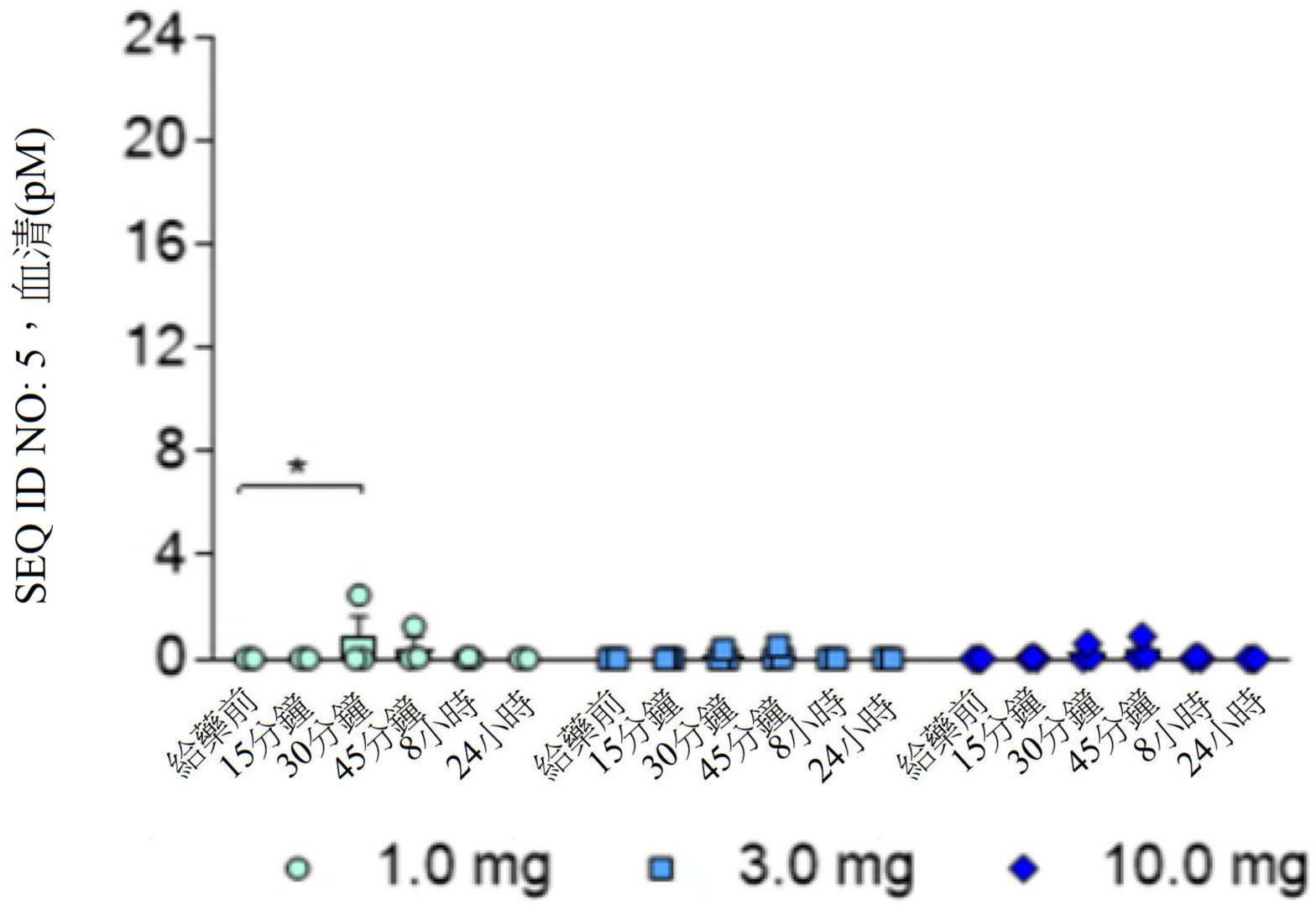
【圖142】


SEQ ID NO: 5，結腸
(pg/mg蛋白質)
24000
20000
16000
12000
8000
4000
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

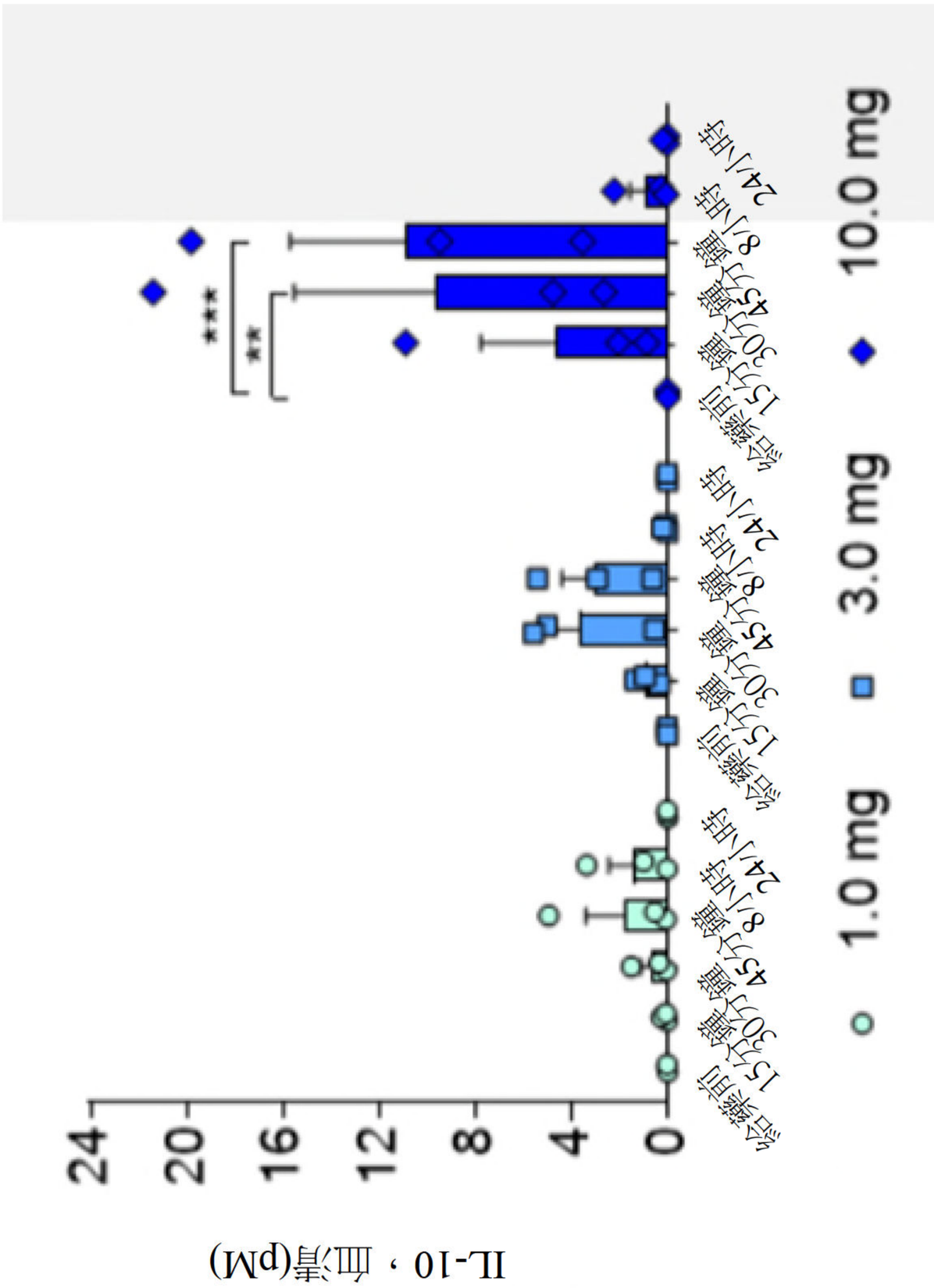
【圖143】


IL-10，結腸(pM)
24000
20000
16000
12000
8000
4000
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
****
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

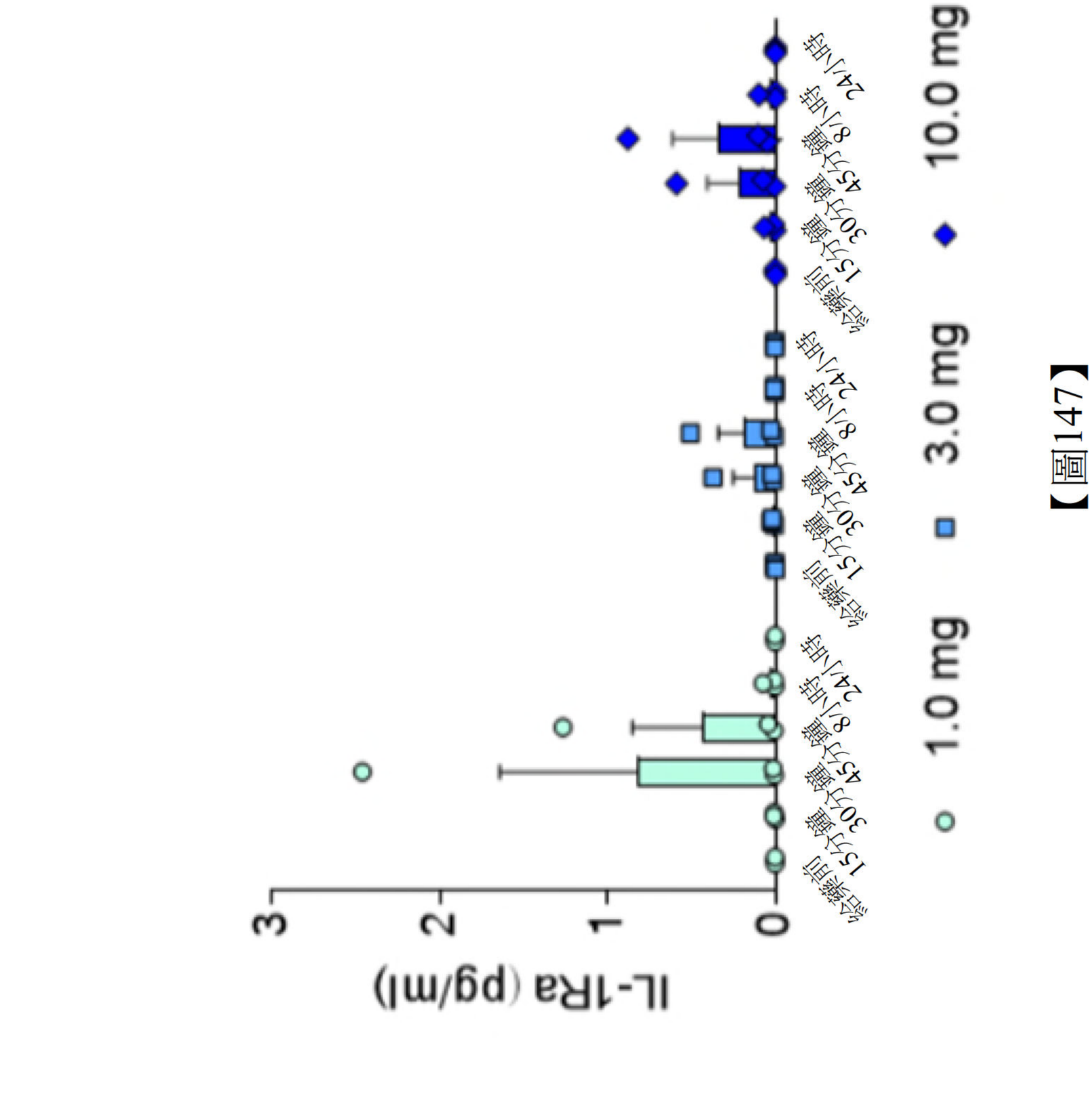
【圖144】


SEQ ID NO: 5，血清(pM)
24
20
16
12
8
4
0
*
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

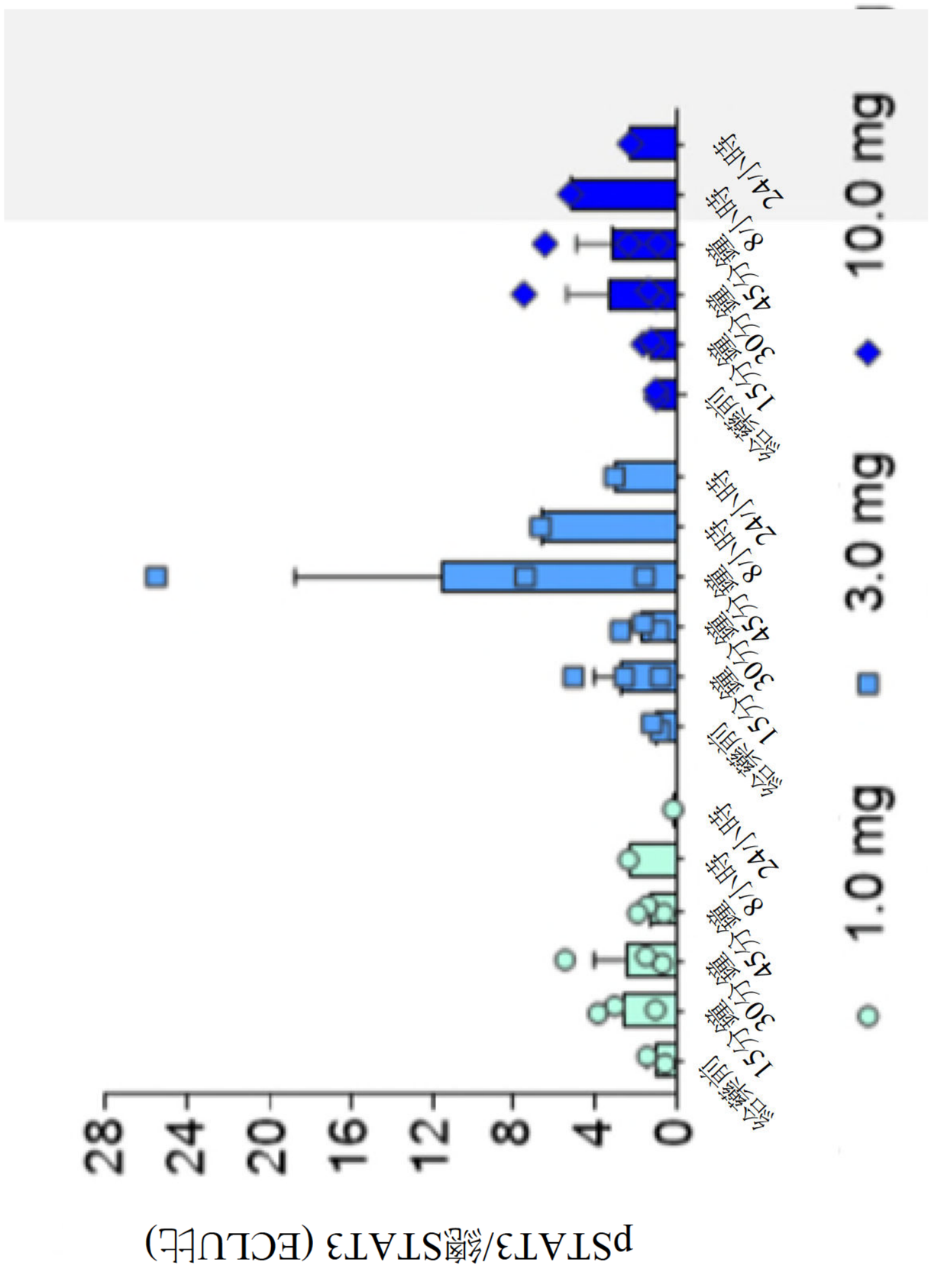
【圖145】


IL-10，血清(pM)
24
20
16
12
8
4
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
***
**
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

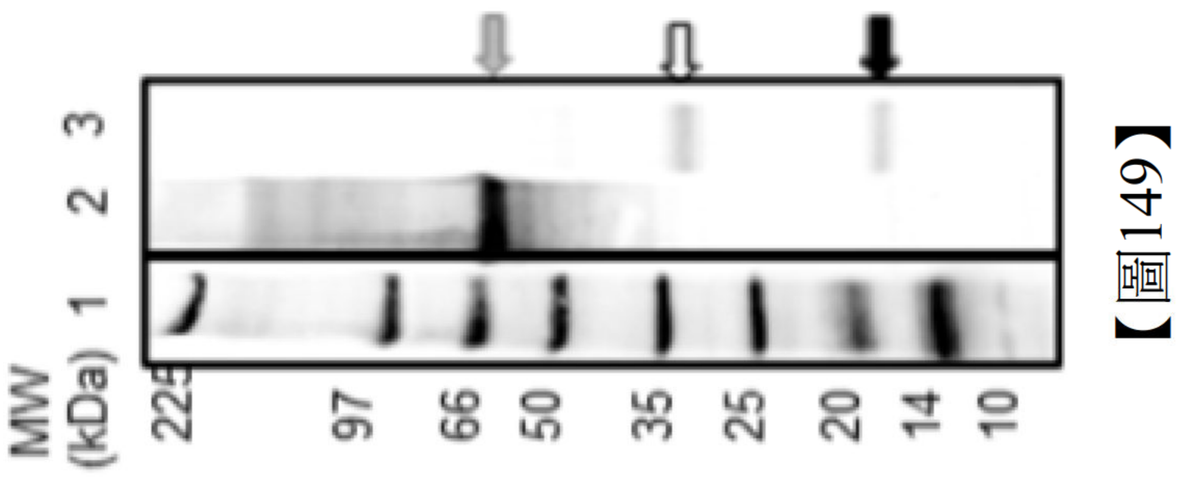
【圖146】


1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg
IL-1Ra (pg/ml)
0
1
2
3
安慰劑 15分鐘
安慰劑 30分鐘
安慰劑 45分鐘
安慰劑 8小時
安慰劑 24小時

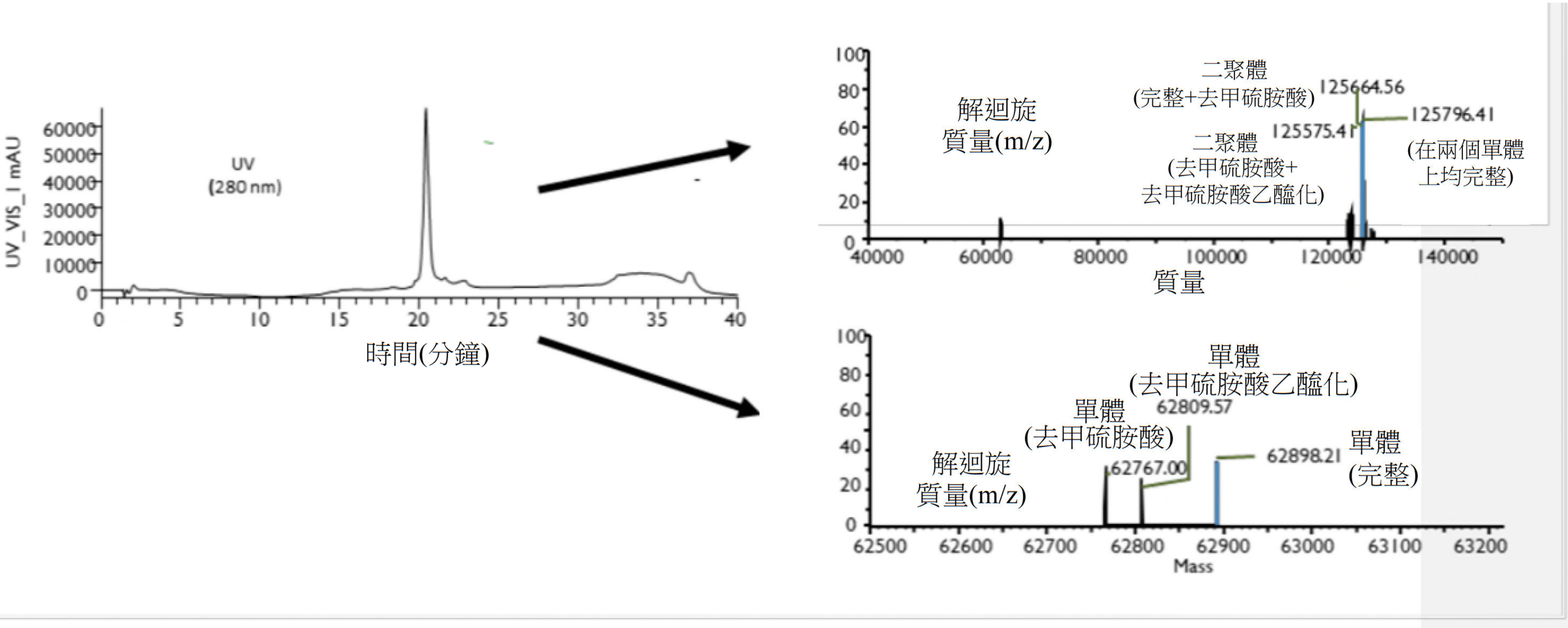
【圖147】


3.0 mg
10.0 mg
1.0 mg
pSTAT3/總STAT3 (ECLU比)
0
4
8
12
16
20
24
28
空藻鹿
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時

【圖148】



【圖149】


UV_VIS_1 mAU
UV
(280 nm)
時間(分鐘)
解迴旋
質量(m/z)
二聚體
(完整+去甲硫胺酸)
125664.56
125796.41
125575.41
二聚體
(去甲硫胺酸+
去甲硫胺酸乙醯化)
(在兩個單體
上均完整)
質量
單體
(去甲硫胺酸乙醯化)
62809.57
單體
(去甲硫胺酸)
62898.21
單體
(完整)
62767.00
解迴旋
質量(m/z)
Mass

【圖150】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

組合物、配方及介白素生產及純化

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS, FORMULATIONS, AND INTERLEUKIN PRODUCTION AND PURIFICATION

【技術領域】

【0001】本文描述可藉由投與時在個體中之獨特反應來表徵的cholix-IL-10融合蛋白及其使用方法。此獨特反應可包含該個體中之一或多個標記之含量的變化及/或IL-10在該個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，本文進一步描述該等cholix-IL-10融合蛋白之口服配方。本文描述純化IL-10遞送構築體之方法，包括再摺疊及富集之方法，其可使得維持高百分比的呈生物活性二聚體形式之該等IL-10遞送構築體。本文描述口服配方，其經設計以在小腸或結腸中位點特異性釋放治療蛋白。在一些情況下，該治療蛋白呈二聚體形式，諸如能夠穿過腸上皮細胞之IL-10遞送構築體。

【先前技術】

【0002】儘管經口投與可為投與蛋白質藥物之方便及期望的途徑，但由此投與途徑呈現之挑戰包括胃部之酸性環境，其可引起蛋白質結構(包括二聚體)變性及化學鍵水解、跨越胃腸道之不同區域可變的pH及存在蛋白水解酶，其分泌至胃腸道中且將蛋白質分解為較小片段。此外，即使蛋白質藥物能夠經受住此等挑戰且完整地到達下胃腸道，此類藥物可能由於其大尺寸而難以穿過腸道上皮。

【0003】另外，一些治療蛋白以二聚體形式具活性(或更具活性)。因此，當以不引起恰當二聚化的方式生產或調配時，其治療效用可受損。常用純化及加工方案可阻止所需二聚體形成，產生(例如)過度高比例之單體或聚集體。

【發明內容】

【0004】在某些實施例中，本文描述由SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列組成的遞送構築體。在一些實施例中，遞送構築體由SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列組成。在一些實施例中，遞送構築體由SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列組成。在一些實施例中，遞送構築體為均二聚體之一部分。在一些實施例中，遞送構築體安置於調配用於經口投與之組合物內，其中用於經口投與之組合物包含與遞送構築體相同的複數個遞送構築體，且其中至少80%之遞送構築體呈二聚體形式。

【0005】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向個體投與有效量的如本文所述之遞送構築體。在一些實施例中，發炎性疾病為潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。在一些實施例中，發炎性疾病為潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，發炎性疾病為克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性疾病為乳糜瀉。

【0006】在某些實施例中，本文描述再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使包含IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶

解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；(ii)使可溶性IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊之IL-10遞送構築體；其中方法不包含在步驟(ii)之接觸之前使可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解劑或還原劑接觸。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一些實施例中，載體衍生自細菌分泌之多肽。在一些實施例中，細菌為霍亂弧菌(Vibrio cholerae)。在一些實施例中，霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

【0007】 在一些實施例中，再摺疊溶液包含比率為0.8:1至1.2:1之還原麩胱甘肽與氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM還原麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液之pH為7.5至8.5。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、Tris及EDTA。在一些實施例中，再摺疊溶液包含蔗糖。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。在一些實施例中，精胺酸以900 mM至1.1 M之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，蔗糖以200 mM至300 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，Tris以75 mM至125 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，EDTA以1.75 mM至2.25 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。

【0008】 在一些實施例中，該方法進一步包含溶解包含包涵體之細胞。在一些實施例中，細胞為細菌。在一些實施例中，細菌為大腸桿菌。

在一些實施例中，溶解包含高壓均質化。在一些實施例中，該方法進一步包含分離包涵體。在一些實施例中，離液劑包含鹽酸胍或脲。在一些實施例中，溶解溶液進一步包含Tris。在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生至少16小時。在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生12小時至18小時。

【0009】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸在2℃至8℃發生。在一些實施例中，該方法進一步包含再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。在一些實施例中，第一無菌過濾在與再摺疊溶液接觸之後發生。在一些實施例中，該方法進一步包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含透濾。在一些實施例中，透濾包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。在一些實施例中，第一透濾體積及第二透濾體積包含冷緩衝液。在一些實施例中，第三透濾體積及第四透濾體積包含室溫緩衝液。在一些實施例中，冷緩衝液及室溫緩衝液包含Tris及NaCl。

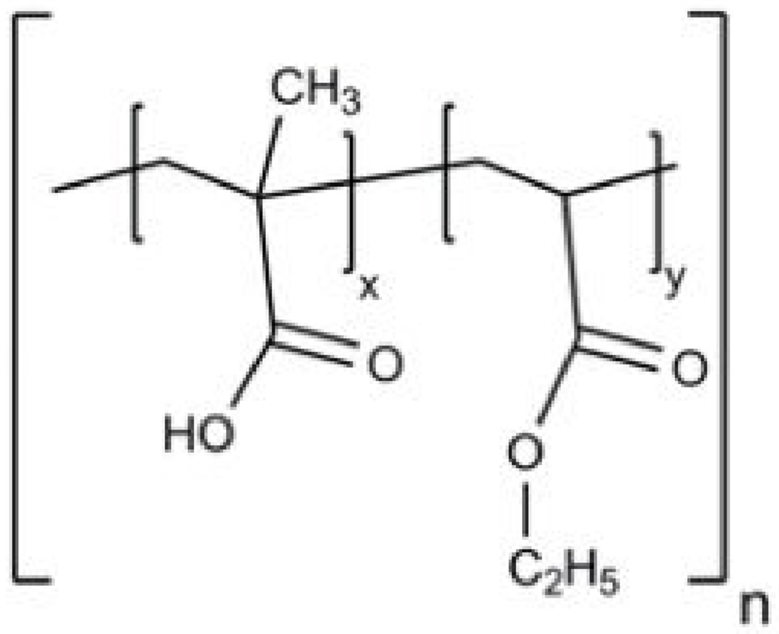
【0010】 在某些實施例中，本文描述自包含呈二聚體形式、單體形式及聚集體形式之IL-10遞送構築體的池富集IL-10遞送構築體二聚體之方法，該方法包含：(i)對池進行陰離子交換(AEX)層析，其藉由將IL-10遞送構築體二聚體結合至陰離子交換管柱且隨後自陰離子交換管柱溶離IL-10遞送構築體二聚體，由此產生第一複數個溶離份，其中之一者為富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第一溶離份；及(ii)對富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的溶離份進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析，由此產生第二複數個溶離份，其中之一者為進一步富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第二溶離份。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一

些實施例中，載體衍生自細菌分泌之多肽。在一些實施例中，細菌為霍亂弧菌。在一些實施例中，霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，該方法進一步包含測定第一複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。在一些實施例中，該方法進一步包含測定第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。在一些實施例中，第一溶離份中至少75%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，第二溶離份中至少80%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，該方法進一步包含進行第二溶離份之切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含超濾。在一些實施例中，該方法進一步包含透濾。在一些實施例中，該方法進一步包含進行第二溶離份之無菌過濾。在一些實施例中，方法不包含陽離子交換層析。在一些實施例中，池包含再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0011】 在某些實施例中，本文描述包含以下之口服配方：(a) IL-10遞送構築體；(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑；及(c)包含兩種或更多種各自具有不同標稱溶解pH之共聚物的第一包衣；其中口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基

本上不釋放任何IL-10遞送構築體。在一些實施例中，pH為1.0之溶液為含有鹽酸之溶解介質。在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，在暴露於pH為7.0之溶液2小時之後釋放之至少5%、至少10%、至少20%或至少25%的IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，pH為7.0之溶液為檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一些實施例中，載體衍生自細菌分泌之多肽。在一些實施例中，細菌為霍亂弧菌。在一些實施例中，霍亂弧菌分泌之多肽為cholix多肽。

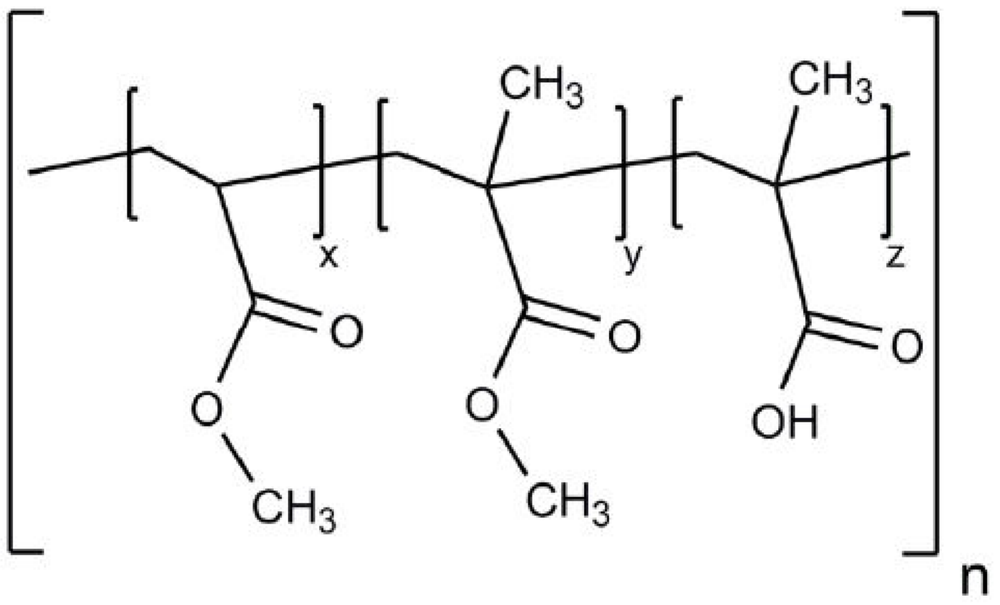
【0012】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，口服配方在膠囊或錠劑中。在一些實施例中，第一共聚物在pH>5.5處具有至少50%標稱溶解，且第二共聚物在pH>7.0處具有至少50%標稱溶解。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第一聚合物之重量平均分子量為200,000 g/mol至450,000 g/mol，或250,000 g/mol至400,000 g/mol，或280,000 g/mol至370,000 g/mol，或300,000 g/mol至340,000 g/mol。在一些實施例中，第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1。

【0013】 在一些實施例中，第一共聚物中之游離羧基與酯基之比為0.8:1及1.2:1。在一些實施例中，第二共聚物不同於第一共聚物。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為15:85至55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第二聚合物之重量平均分子量為160,000 g/mol至400,000 g/mol，或200,000 g/mol至360,000 g/mol，或240,000 g/mol至320,000 g/mol，或260,000 g/mol至300,000 g/mol。在一些實施例中，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



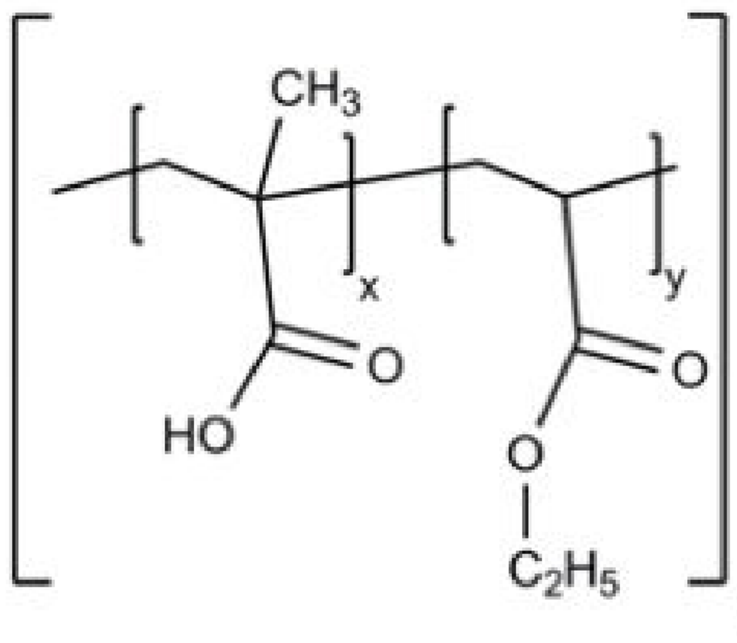
式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1。

【0014】 在一些實施例中，第二共聚物中之游離羧基與酯基之比為0.8:1至1.2:1。在一些實施例中，第一包衣進一步包含防黏劑、塑化劑、界面活性劑或其組合。在一些實施例中，第一包衣包含防黏劑，其中防黏劑包含單硬脂酸甘油酯。在一些實施例中，第一包衣包含塑化劑，其中塑化劑為檸檬酸三乙酯。在一些實施例中，第一包衣包含界面活性劑，其中界面活性劑為聚山梨醇酯80。在一些實施例中，5%至15% (w/w)之第一包衣為單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物。在一些實施例中，第一包衣之厚度基本上等同於1號膠囊上之60 mg包衣之厚度。在一些實施例中，第一包衣以0.1 mg/mm2至0.2 mg/mm2之量安置於內部部分周圍。在一些實施例中，第一包衣之質量為30 mg至60 mg。在一些實施例中，口服配方進一步包含在第一包衣外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，口服配方進一步包含在第一包衣內部且在IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。

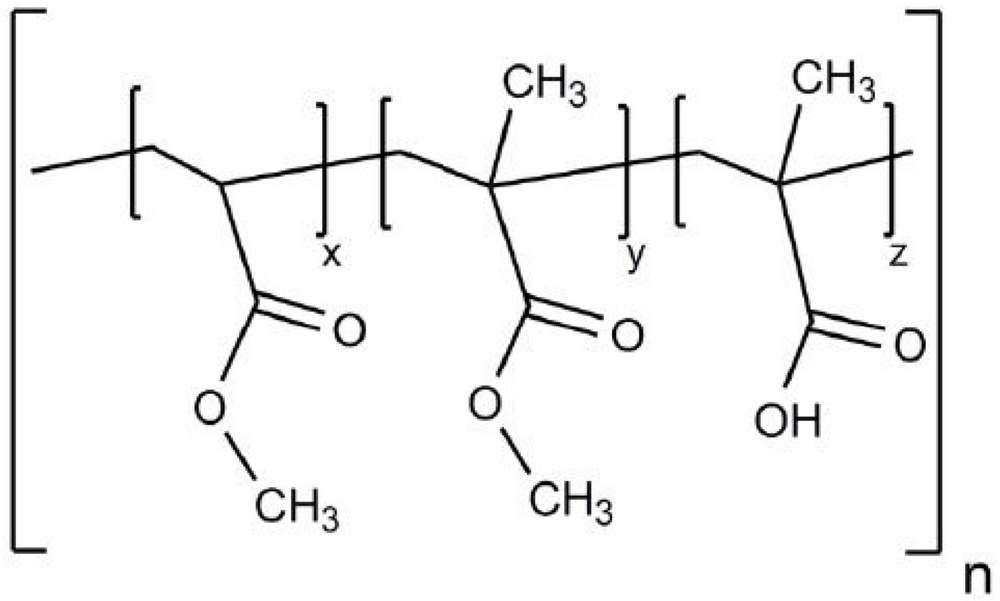
【0015】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體以1 mg至20 mg之量存在於口服配方中。在一些實施例中，IL-10遞送構築體以1 mg、5 mg或20 mg之量存在於口服配方中。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑、滲透劑、鹽及增積劑。在一些實施例中，鹽包含磷酸鉀，增積劑包含甘胺酸，滲透劑包含蔗糖，且界面活性劑包含泊洛沙姆188。在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.45:1至0.55:1、較佳約0.5:1之滲透劑與IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.12:1至0.18:1、較佳約0.15:1之界面活性劑與IL-10遞送構築體。

在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.05:1至0.09:1、較佳約0.07:1之鹽與IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方包含重量比為0.8:1至1.2:1、較佳約1:1之增積劑與IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方為固體。在一些實施例中，口服配方呈單位劑型。在一些實施例中，口服配方之存放期為至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且其中口服配方進一步包含：(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；且進一步包含第二共聚物，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；其中第一共聚物與第二共聚物之比為30:70；且其中第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；(d)位於第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及(e)位於第一包衣內部及治療負載物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【0016】 在某些實施例中，本文描述包含以下之固體組合物：IL-10遞送構築體；及一或多種賦形劑；其中IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；且其中大於80%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，固體組合物經凍乾或噴霧乾燥。在一些實施例中，固體組合物為錠劑或膠囊。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆。在一些實施例中，泊洛沙姆為泊洛沙姆188。在一些實施例中，界面活性劑不包括聚山梨醇酯。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑為蔗糖。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽為磷酸鉀。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑為甘胺酸。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10經由連接子偶聯至載體。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。

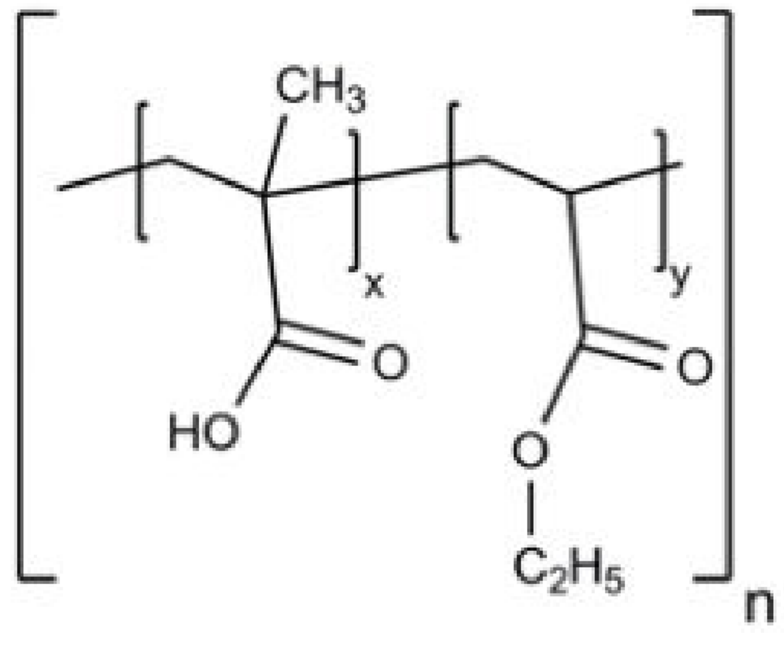
【0017】在一些實施例中，大於81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%或90%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，85%至92%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，固體組合物包含第一包衣。在一些實施例中，第一包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中第一包衣在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為約15:85至約55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。在一些實施例中，固體組合物進一步包含在第一包衣外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，固體組合物進一步包含在第一包衣內部且在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。

【0018】在某些實施例中，本文描述包含以下之固體口服配方：(a)包含與載體偶聯之IL-10的IL-10遞送構築體，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；及(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含非離子潤滑劑；及(c)在

IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑周圍之第一包衣。在一些實施例中，非離子潤滑劑為山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，口服配方不含硬脂酸鎂。在一些實施例中，口服配方呈錠劑形式。在一些實施例中，口服配方經設計以使得在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基本上不自口服配方釋放任何IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方進一步包含第一包衣，其包含兩種或更多種各自具有不同標稱溶解pH之共聚物。在一些實施例中，至少45%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑、崩解劑或其組合。在一些實施例中，增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。在一些實施例中，崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，口服配方係藉由壓縮IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑而產生。在一些實施例中，壓縮在約2000磅-力(lbf)至約3500 lbf之壓縮力下進行。在一些實施例中，第一包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中第一包衣在IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。

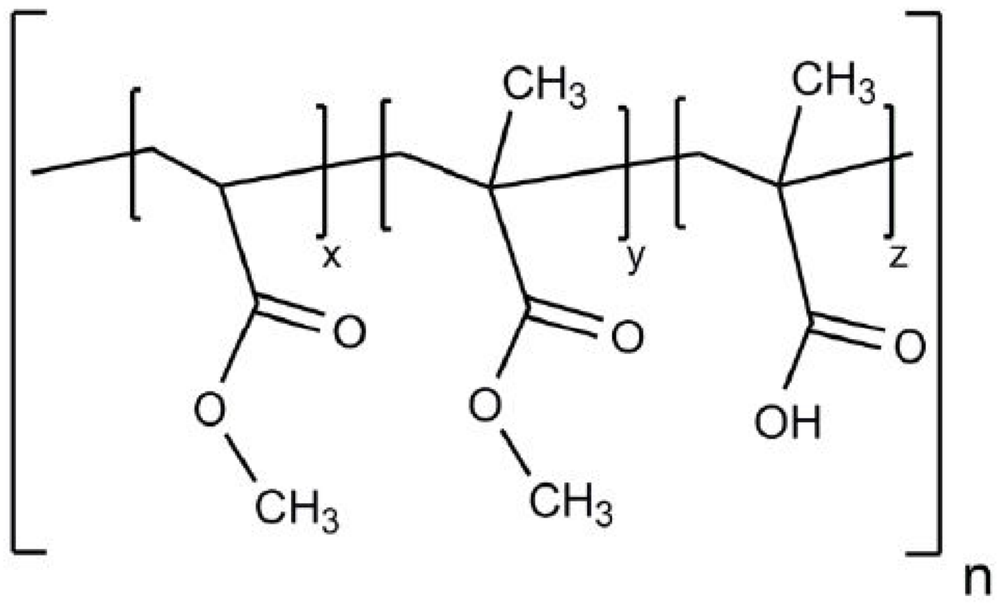
【0019】 在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物

之比為約15:85至約55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。在一些實施例中，固體口服配方進一步包含在第一包衣外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，固體口服配方進一步包含在第一包衣內部且在IL-10遞送構築體及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑進一步包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且其中口服配方進一步包含：(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；且進一步包含第二共聚物，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；其中第一共聚物與第二共聚物之比為30:70；且其中第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；(d)位於第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及(e)位於第一包衣內部及治療負載物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【0020】 在某些實施例中，本文描述包含以下之口服配方：(a) IL-10及(b)一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中向個體投與口服配方之劑量產生選自由以下組成之群的免疫調節反應：(i)糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低，(ii) C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線之降低，(iii) Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低，及(iv) (i)-(iii)之組合。在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP相對於FCP基線之降低。在一些實施例中，FCP濃度係測定自糞便樣品或結腸活檢體。在一些實施例中，FCP濃度之降低為相對於FCP基線至少20%、30%、40%或50%之降低。

【0021】 在一些實施例中，FCP基線為在投藥之前個體中之初始FCP濃度。在一些實施例中，初始FCP濃度可指示個體之胃腸道適應症。在一些實施例中，初始FCP濃度為大於150 μg/g。如技術方案178或179之

口服配方，其中胃腸道適應症為潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病(Crohn's disease)。在一些實施例中，FCP濃度相對於初始FCP濃度降低至少50%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。在一些實施例中，FCP基線為安慰劑調節之FCP基線。在一些實施例中，FCP濃度相對於安慰劑調節之FCP基線降低至少20%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。在一些實施例中，FCP濃度降低至50 μg/g或更小。在一些實施例中，免疫調節反應包含CRP濃度相對於CRP基線之降低。在一些實施例中，CRP濃度為全身性CRP濃度。在一些實施例中，CRP濃度係測定自血液樣品。在一些實施例中，CRP濃度之降低為相對於CRP基線至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%之降低。在一些實施例中，CRP基線為在投藥之前個體中之初始CRP濃度。在一些實施例中，初始CRP濃度為大於5 mg/L。在一些實施例中，初始CRP濃度指示個體之胃腸道適應症。

【0022】在一些實施例中，胃腸道適應症為大腸激躁症(IBD)。在一些實施例中，CRP濃度相對於初始CRP濃度降低至少40%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。在一些實施例中，CRP基線為安慰劑調節之CRP基線。在一些實施例中，CRP濃度相對於安慰劑調節之CRP基線降低至少10%，且口服配方之劑量為約3 mg。在一些實施例中，CRP濃度相對於安慰劑調節之CRP基線降低至少40%，且口服配方之劑量為約1 mg。在一些實施例中，CRP濃度係降低至小於5 mg/L。在一些實施例中，免疫調節反應包含Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。在一些實施例中，Geboes評分基線為在投藥之前的初始Geboes評分。在一些實施例中，Geboes評分基線為安慰劑調節之Geboes評分基線。在一些實施例中，Geboes評分相對於安慰劑調節之Geboes評分基線降低至少2個單位，

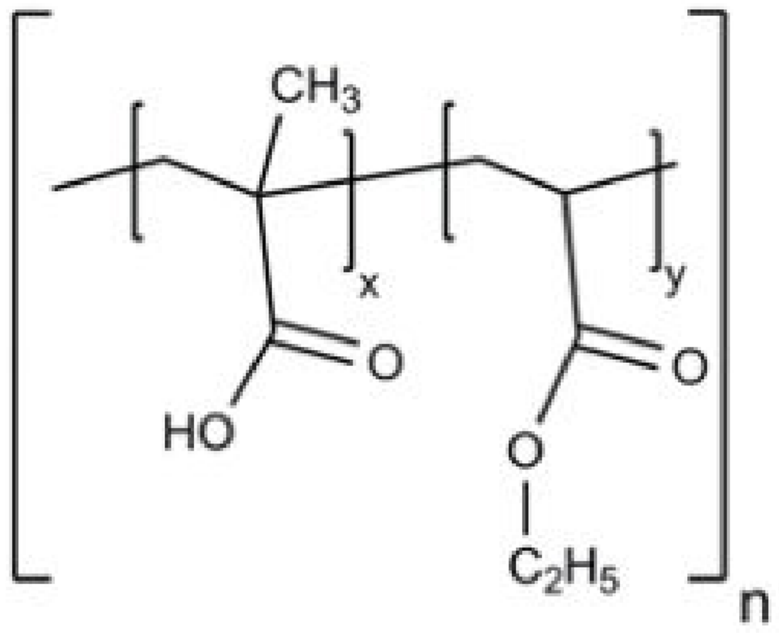
且口服配方之劑量為約1 mg至約30 mg。

【0023】在一些實施例中，小於5%之所投與IL-10進入個體之血流。在一些實施例中，在每日投與口服配方之劑量持續14日之後觀測到免疫調節反應。在一些實施例中，口服配方之劑量為10 mg或更小。在一些實施例中，口服配方之劑量為1 mg至10 mg、3 mg至10 mg或1 mg至3 mg。在一些實施例中，口服配方之劑量為1 mg、3 mg或10 mg。在一些實施例中，口服配方為膠囊。

【0024】在一些實施例中，口服配方為可生物降解的。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑為蔗糖。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽為磷酸鉀。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑為甘胺酸。在一些實施例中，口服配方包含第一包衣，其中第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一包衣含有包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯之第一共聚物及包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯之第二共聚物。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為約15:85至55:45。在一些實施例中，第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為20:80、30:70、40:60或50:50。

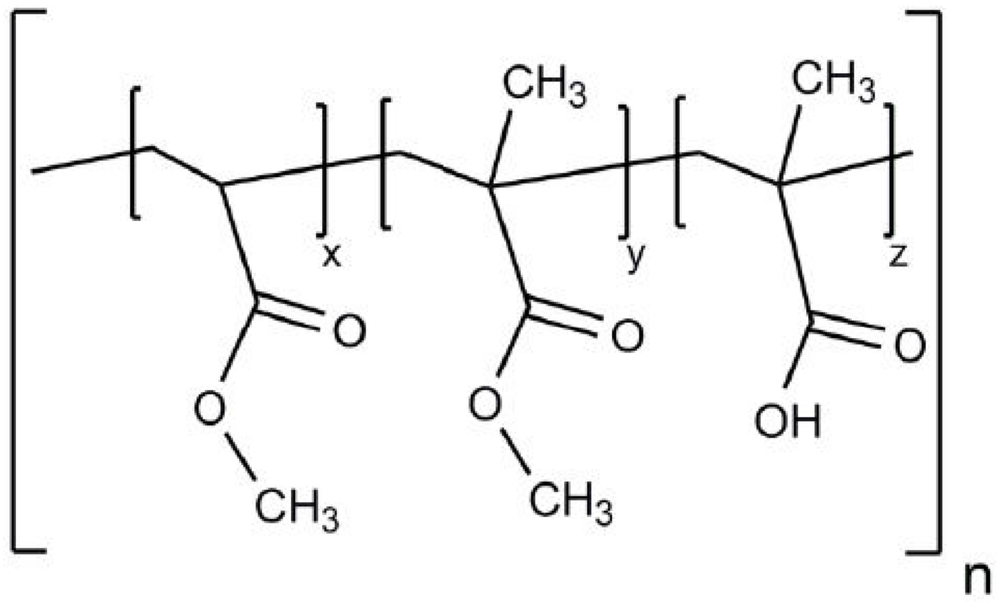
【0025】在一些實施例中，口服配方進一步包含位於第一包衣內部及IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第二包衣。在一些實施例中，第二包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，口

服配方進一步包含在第一包衣內部且在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第三包衣。在一些實施例中，第三包衣包含HPMC。在一些實施例中，IL-10為與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含載體。在一些實施例中，IL-10遞送構築體在載體之胺基酸位置1處具有V1L取代。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鉀鹽、甘胺酸、蔗糖或海藻糖及泊洛沙姆，其中泊洛沙姆之重量平均分子量為15,000至25,000道爾頓且聚氧乙烯含量為70重量%至90重量%；且其中口服配方進一步包含：(c)包含第一共聚物之第一包衣，其中第一共聚物包含式I之聚合物：



式I；

其中x、y及n各為大於或等於1；且進一步包含第二共聚物，其中第二共聚物包含式II之聚合物：



式II；

其中x、y、z及n各為大於或等於1；其中第一共聚物與第二共聚物之比為30:70；且其中第一包衣進一步包含5%至15% (w/w)之單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物；(d)位於第一包衣外部之包含HPMC之第二包衣；及(e)位於第一包衣內部及治療負載物及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之包含HPMC之第三包衣。

【0026】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該方法包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中該投與產生選自由以下組成之群的免疫調節反應：(i)糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低，(ii) C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線之降低，(iii)Geboes評分相對於基線Geboes評分之降低，及(iv) (i)-(iii)之組合。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、乳糜瀉、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【0027】在某些實施例中，本文描述調節患有發炎性病症之個體中之生物標記之方法，該方法包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中生物標記係選自由以下組成之群：糞

便鈣衛蛋白(FCP)、C反應蛋白(CRP)及其組合。在一些實施例中，該投與引起FCP濃度相對於FCP基線之降低。在一些實施例中，該投與引起CRP濃度相對於CRP基線之降低。在一些實施例中，該投與進一步引起Geboes評分相對於基線Geboes評分之降低。在一些實施例中，包含治療患有發炎性病症之個體。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、乳糜瀉、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。

【0028】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向個體投與包含IL-10之配方。在一些實施例中，消炎劑為胺基水楊酸鹽。在一些實施例中，胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。在一些實施例中，消炎劑為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為潑尼松。在一些實施例中，皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。在一些實施例中，消炎劑為免疫抑制劑。在一些實施例中，免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。在一些實施例中，消炎劑為TNFα抑制劑。在一些實施例中，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗(adalimumab)、賽妥珠單抗(certolizumab)、依那西普(etanercept)、戈利木單抗(golimumab)及英利昔單抗(infliximab)。

【0029】在一些實施例中，至少一種消炎劑為Janus激酶(JAK)抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼

(filgotinib)、優帕替尼(upadacitinib)、皮非替尼(peficitinib)及托法替尼(tofacitinib)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。在一些實施例中，S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫(ozanimod)、阿瑟利莫(amiselimod)及伊拉斯莫(etrasimod)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為整合素阻斷劑。在一些實施例中，整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗(etrolizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、維多珠單抗(vedolizumab)、阿布里單抗(abrilumab)及卡洛斯特甲基(carotegrast methyl)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為IL-23抑制劑。在一些實施例中，IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗(ustekinumab)、密利基單抗(mirikizumab)、布拉奇單抗(brazikumab)、古賽庫單抗(guselkumab)及里森基單抗(risankizumab)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。在一些實施例中，至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特(apremilast)、西洛司特(cilomilast)、羅氟司特(roflumilast)、替托司特(tetomilast)及咯利普蘭(rolipram)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為拉喹莫德(laquinimod)。

【0030】在某些實施例中，本文描述再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使包含IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；(ii)使可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解還原劑接觸以產生還原之IL-10遞送構築體；及(iii)使還原之IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊之IL-10遞送構築體。在某些實施例中，本文描述再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使可溶性IL-10遞送構築體

與包含亞硫酸鈉之亞硫酸分解還原劑接觸以產生還原之IL-10遞送構築體；(ii)使還原之IL-10遞送構築體與連四硫酸鉀接觸；(iii)藉由深度過濾澄清還原之IL-10遞送構築體以產生澄清之IL-10遞送構築體；(iv)對澄清之IL-10遞送構築體進行超濾，接著進行透濾；及(v)使澄清之IL-10遞送構築體與包含以下之再摺疊溶液接觸：0.8 mM至1.2 mM還原麩胱甘肽、0.4 mM至0.6 mM氧化麩胱甘肽、800 mM至1.2 M精胺酸、200 mM至300 mM蔗糖、75 mM至125 mM Tris及1.5 mM至2.5 mM EDTA，其中再摺疊溶液在7.5至8.5之pH下緩衝以產生再摺疊之IL-10遞送構築體，且其中與再摺疊溶液接觸進行至少16小時。在一些實施例中，亞硫酸分解還原劑包含亞硫酸鈉。

【0031】 在某些實施例中，本文描述包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中向個體投與劑量為1 mg至約60 mg之口服配方使得個體中之IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度增加超過20%。在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方之劑量，其中該投與使得個體中之IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度增加超過20%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為超過30%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為30%至45%、30%至35%或40%至43%。在一些實施例中，向個體投與口服配方之劑量使得個體中IL-10之血漿濃度不超過1500 pg/mL、1000 pg/mL、500 pg/mL、100 pg/mL或10 pg/mL。在一些實施例中，向個體投與口服

配方引起IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，表現CD3之細胞為淋巴細胞。在一些實施例中，淋巴細胞為T淋巴細胞。在一些實施例中，向個體投與口服配方引起IL-10與巨噬細胞在個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，向個體投與口服配方不引起IL-10與細胞在個體之固有層中之共定位，其中細胞選自由以下組成之群：樹突狀細胞、B淋巴細胞、內皮細胞及其組合。

【0032】 在某些實施例中，本文描述包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中向個體投與口服配方引起個體之血漿中之IL-1Ra之濃度相對於基線含量至少5000 pg/mL之增加及以下中之至少一者：(1)小於50 pg/mL之峰值IL-10血漿濃度及(2)IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方，其中該投與引起個體之血漿中之IL-1Ra之濃度相對於基線含量至少5000 pg/mL之增加及以下中之至少一者：(1)小於50 pg/mL之峰值IL-10血漿濃度及(2)IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎或牛皮癬。在一些實施例中，個體之血漿中之峰值IL-1Ra濃度係在投藥之後2至4小時或2至3小時獲得。在一些實施例中，向個體投與口服配方使得個體之血漿中之峰值IL-10濃度為小於10 pg/mL、2.5 pg/mL或1.5 pg/mL。在一些實施例中，IL-1Ra之濃度達到25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。在一些實施例中，向個體投與口服配方使得個體之結腸組織中IL-Ra

與介白素1β之表現比增加。在一些實施例中，IL-1Ra與IL-1β之比為至少2:1。在一些實施例中，向個體投與口服配方使得個體之結腸組織中之介白素1受體激動劑(IL-1Ra)表現增加。

【0033】 在某些實施例中，本文描述包含與SEQ ID NO: 10具有至少90%、至少92%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之序列的非天然核酸。在一些實施例中，非天然核酸具有與SEQ ID NO: 10具有100%一致性之序列。

【0034】 在某些實施例中，本文描述包含以下之固體口服配方：(i)包含與載體偶聯之IL-10的IL-10遞送構築體，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；(ii)一或多種賦形劑，其中一或多種賦形劑包含非離子潤滑劑；及(iii)在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑周圍之第一包衣。在一些實施例中，非離子潤滑劑為山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，口服配方不含離子界面活性劑。在一些實施例中，口服配方不含硬脂酸鎂。在一些實施例中，口服配方呈錠劑形式。

【0035】 在一些實施例中，口服配方經設計以使得在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為1.0之溶液1小時之後基本上不自口服配方釋放任何IL-10遞送構築體。在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於呈開放模式之4型溶解裝置中pH為7.0之溶液2小時之後釋放至少40%之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，第一包衣包含各自具有不同標稱溶解pH之聚合物之摻合物。在一些實施例中，至少45%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【0036】 在一些實施例中，一或多種賦形劑包含增積劑、崩解劑或其組合。在一些實施例中，增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。在一些實

施例中，崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【0037】 在某些實施例中，本文描述呈錠劑形式之口服配方，其包含藉由腸溶包衣囊封之IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑，其中在將口服配方浸沒至4型溶解裝置中pH為7.0之溶液中1小時之後，呈二聚體形式之IL-10的百分比為至少45%。在一些實施例中，pH為7.0之溶液為檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，腸溶包衣之厚度為4 mg/cm^2至20 mg/cm^2、4 mg/cm^2至6 mg/cm^2、5 mg/cm^2至10 mg/cm^2或5 mg/cm^2至20 mg/cm^2。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

【0038】 在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑為蔗糖。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽為磷酸鉀。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑為甘胺酸。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含至少一種壓實賦形劑。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑包含增積劑。在一些實施例

中，增積劑為矽化微晶纖維素(SMCC)。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑包含崩解劑。在一些實施例中，崩解劑為交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑包含潤滑劑。在一些實施例中，潤滑劑為非離子界面活性劑。在一些實施例中，非離子界面活性劑為山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，非離子界面活性劑為二山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，至少一種壓實賦形劑係包含於顆粒內相、顆粒外相或其組合中。

【0039】 在一些實施例中，口服配方係藉由壓縮IL-10及至少一種壓實賦形劑而產生。在一些實施例中，壓縮在約2000磅-力(lbf)至約3500 lbf之壓縮力下進行。

【0040】 在一些實施例中，IL-10為與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10為與SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之IL-10遞送構築體的一部分。

【0041】 在一些實施例中，腸溶包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中腸溶包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，腸溶包衣中第一共聚物與第二共聚物之比為按重量計約50:50至約20:80。在一些實施例中，腸溶包衣中第一共聚物與第二共聚物之比為按重量計約25:75至約35:65。在一些實施例中，腸溶包衣為口服配方之

重量的5%至12%。在一些實施例中，腸溶包衣為口服配方之重量的不超過12%。在一些實施例中，口服配方進一步包含位於腸溶包衣內部及IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部之第二腸溶包衣。在一些實施例中，第二腸溶包衣包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，第二腸溶為口服配方之重量的3%至5%。在一些實施例中，當口服配方呈固體形式時，呈二聚體形式之IL-10之百分比為至少45%。

【0042】在一些實施例中，腸溶包衣包含乙酸丁二酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS)，其中腸溶包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，HPMCAS包含第一HPMCAS及第二HPMCAS。在一些實施例中，第一HPMCAS在大於或等於6.8之pH下可溶。在一些實施例中，第一HPMCAS包含HPMCAS-HF。在一些實施例中，第二HPMCAS在大於或等於6.0之pH下可溶。在一些實施例中，第二HPMCAS包含HPMCAS-MF。在一些實施例中，第一HPMCAS與第二HPMCAS之比為約40:60至約60:40。

【0043】在某些實施例中，本文揭示包含投與本文所描述之配方中之任一者以治療有需要之個體之疾病或病況的方法。類似地，本文揭示用於治療有需要之個體之疾病或病況的本文所描述之IL-10遞送構築體或配方。類似地，本文揭示如本文所揭示之IL-10遞送構築體之用途，其用於製造供治療有需要之個體之疾病或病況用之藥劑。在一些實施例中，疾病或病況選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎及牛皮癬。

【0044】在某些實施例中，本文揭示包含以下之固體組合物：IL-10遞送構築體；及一或多種賦形劑；其中IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10，該載體促進胞吞轉運IL-10遞送構築體穿過極化腸上皮細胞；且其中大於80%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 20-146中之任一者之位置1-386的胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 147之位置1-386的胺基酸序列。

【0045】在一些實施例中，固體組合物為錠劑或膠囊。在一些實施例中，一或多種賦形劑包含泊洛沙姆188、蔗糖、磷酸鉀、甘胺酸或其組合。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10經由連接子偶聯至載體。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，大於81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%或90%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。在一些實施例中，85%至92%之IL-10遞送構築體呈二聚體形式。

【0046】在一些實施例中，固體組合物包含腸溶包衣。在一些實施例中，腸溶包衣包含第一共聚物及第二共聚物，其中腸溶包衣在IL-10遞送構築體及一或多種賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，腸溶包衣中之第一共聚物

與第二共聚物之比為約50:50至約20:80。在一些實施例中，腸溶包衣中之第一共聚物與第二共聚物之比為25:75至約35:65。

【0047】在某些實施例中，本文揭示再摺疊IL-10遞送構築體之方法，該方法包含：(i)使包含IL-10遞送構築體之包涵體與包含離液劑之溶解溶液接觸以產生可溶性IL-10遞送構築體；(ii)使可溶性IL-10遞送構築體與包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽之再摺疊溶液接觸，以產生再摺疊IL-10遞送構築體；其中方法不包含在步驟(ii)之接觸之前使可溶性IL-10遞送構築體與亞硫酸分解劑或還原劑接觸。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含與載體偶聯之IL-10。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 20-146中之任一者之位置1-386的胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 147之位置1-386的胺基酸序列。

【0048】在一些實施例中，再摺疊溶液包含比率(w/w)為0.8:1至1.2:1之還原麩胱甘肽:氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM還原麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液之pH為7.5至8.5。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、Tris及EDTA。在一些實施例中，再摺疊溶液包含蔗糖。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。在一些實施例中，精胺酸以900 mM至1.1 M之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，蔗糖以200 mM至300 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，Tris以75 mM至125 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。在一些實施例中，EDTA以

1.75 mM至2.25 mM之濃度存在於再摺疊溶液中。

【0049】在一些實施例中，該方法進一步包含溶解包含包涵體之細胞。在一些實施例中，細胞為細菌。在一些實施例中，細菌為大腸桿菌。在一些實施例中，溶解包含高壓均質化。在一些實施例中，該方法進一步包含分離包涵體。在一些實施例中，離液劑包含鹽酸胍或脲。在一些實施例中，溶解溶液進一步包含Tris。

【0050】在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生至少16小時。在一些實施例中，可溶性IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸發生12小時至18小時。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸在2℃至8℃發生。在一些實施例中，該方法進一步包含再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。在一些實施例中，第一無菌過濾在與再摺疊溶液接觸之後發生。在一些實施例中，該方法進一步包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含透濾。在一些實施例中，透濾包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。在一些實施例中，第一透濾體積及第二透濾體積包含冷緩衝液。在一些實施例中，第三透濾體積及第四透濾體積包含室溫緩衝液。在一些實施例中，冷緩衝液及室溫緩衝液包含Tris及NaCl。

【0051】在一些實施例中，IL-10遞送構築體二聚體可儲存於例如25℃下之緩衝液中兩天。此類緩衝液可包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl。相比於僅包含pH 7.0之10 mM磷酸鈉的緩衝液，當儲存於包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl之緩衝液中時，IL-10遞送構

築體二聚體可更穩定。

【0052】在某些實施例中，本文描述自包含呈二聚體形式、單體形式及聚集體形式之IL-10遞送構築體的池富集IL-10遞送構築體二聚體之方法，該方法包含：(i)對池進行陰離子交換(AEX)層析，其藉由將IL-10遞送構築體二聚體結合至陰離子交換管柱且隨後自陰離子交換管柱溶離IL-10遞送構築體二聚體，由此產生第一複數個溶離份，其中之一者為富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第一溶離份；及(ii)對富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的溶離份進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析，由此產生第二複數個溶離份，其中之一者為進一步富含呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的第二溶離份。在一些實施例中，IL-10遞送構築體中之每一者包含與載體偶聯之IL-10。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體包含SEQ ID NO: 12中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 20-146中之任一者之位置1-386的胺基酸序列。在一些實施例中，載體含有包含SEQ ID NO: 147之位置1-386的胺基酸序列。

【0053】在一些情況下，方法可包含進行陽離子交換層析，例如用Sulfate 650F管柱。陽離子交換層析步驟可在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之後、在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之前、或在陰離子交換層析步驟與陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之間進行。

【0054】在一些實施例中，該方法進一步包含測定第一複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為

尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。在一些實施例中，該方法進一步包含測定第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比。在一些實施例中，該測定係藉由尺寸排阻層析。在一些實施例中，尺寸排阻層析為尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)。

【0055】 在一些實施例中，第一溶離份中至少75%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，第二溶離份中至少80%之IL-10遞送構築體為呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。在一些實施例中，該方法進一步包含進行第二溶離份之切向流過濾。在一些實施例中，切向流過濾包含超濾。在一些實施例中，該方法進一步包含透濾。在一些實施例中，該方法進一步包含對第二溶離份進行無菌過濾。在一些實施例中，方法不包含陽離子交換層析。在一些實施例中，池包含獲自本文所描述之任一方法之再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0056】 在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向個體投與包含IL-10之配方。類似地，本文揭示本文所描述之IL-10遞送構築體或配方，其用於治療個體之發炎性病症，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的。類似地，本文揭示如本文所揭示之IL-10遞送構築體之用途，其用於製造供治療個體之發炎性病症用之藥劑，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的。在一些實施例中，消炎劑為胺基水楊酸鹽。在一些實施例中，胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。在一些實施例中，消炎劑為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為潑尼松。在一些實施例中，皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)

投與之皮質類固醇。在一些實施例中，消炎劑為免疫抑制劑。在一些實施例中，免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。在一些實施例中，消炎劑為TNFα抑制劑。在一些實施例中，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗(adalimumab)、賽妥珠單抗(certolizumab)、依那西普(etanercept)、戈利木單抗(golimumab)及英利昔單抗(infliximab)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為Janus激酶(JAK)抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼(filgotinib)、優帕替尼(upadacitinib)、皮非替尼(peficitinib)及托法替尼(tofacitinib)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。在一些實施例中，S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫(ozanimod)、阿瑟利莫(amiselimod)及伊拉斯莫(etrasimod)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為整合素阻斷劑。在一些實施例中，整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗(etrolizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、維多珠單抗(vedolizumab)、阿布里單抗(abrilumab)及卡洛斯特甲基(carotegrast methyl)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為IL-23抑制劑。在一些實施例中，IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗(ustekinumab)、密利基單抗(mirikizumab)、布拉奇單抗(brazikumab)、古賽庫單抗(guselkumab)及里森基單抗(risankizumab)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。在一些實施例中，至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特(apremilast)、西洛司特(cilomilast)、羅氟司特(roflumilast)、替托司特(tetomilast)及咯利普蘭(rolipram)。在一些實施例中，至少一種消炎劑為拉喹莫德(laquinimod)。在一些實施例中，每日

向個體投與配方，持續至少5、7、10、12或14日。

【0057】在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎或牛皮癬。在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20及泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑選自由蔗糖及海藻糖組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽選自由以下組成之群：磷酸鉀、氯化鈉、氯化鉀、氯化鎂及硫酸鈉。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑係選自由甘胺酸及甘露糖醇組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含崩解劑。在一些實施例中，崩解劑係選自由以下組成之群：微晶纖維素(MCC)、矽化微晶纖維素(SMCC)、澱粉、乙醇酸澱粉鈉、維格姆(veegum)、膨潤土、海藻酸、海藻酸鈣、交聯羧甲纖維素鈉(croscarmellose sodium/crosslinked sodium carboxymethyl cellulose)及交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含結合劑。在一些實施例中，結合劑係選自由以下組成之群：蔗糖、乳糖、澱粉、纖維素、明膠、聚乙烯吡咯啶酮(PVP)及聚乙二醇(PEG)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含潤

滑劑。在一些實施例中，潤滑劑係選自由以下組成之群：硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、二山嵛酸甘油酯、硬脂醯反丁烯二酸鈉、硬脂酸、滑石、二氧化矽、硬脂酸鈣、碳酸鎂、氫化油、礦物油、聚乙二醇(PEG)及單硬脂酸甘油酯。

【0058】 在一些實施例中，IL-10為包含與載體偶聯之IL-10之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含將IL-10與載體偶聯之連接子。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體與SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，在與細胞接觸時，載體促進IL-10遞送構築體之內吞作用或胞吞轉運。在一些實施例中，細胞為腸道上皮細胞。在一些實施例中，腸道上皮細胞為極化腸道上皮細胞。

【0059】 在一些實施例中，配方為口服配方。在一些實施例中，口服配方為膠囊或錠劑。在一些實施例中，口服配方含有包含第一共聚物及第二共聚物之第一包衣，其中第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第一包衣中第一共聚物與第二共聚物之比(w/w)為0.8:1至1.2:1。在一些實施例中，投與包含經口投與。

【0060】 在某些實施例中，本文揭示對發炎性病症得以緩解之個體

預防發炎性病症復發之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑的配方。在一些實施例中，發炎性病症選自由以下組成之群：潰瘍性結腸炎、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎或牛皮癬。

【0061】在一些實施例中，IL-10與SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20及泊洛沙姆188。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含滲透劑。在一些實施例中，滲透劑選自由蔗糖及海藻糖組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含鹽。在一些實施例中，該鹽選自由以下組成之群：磷酸鉀、氯化鈉、氯化鉀、氯化鎂及硫酸鈉。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含增積劑。在一些實施例中，增積劑係選自由甘胺酸及甘露糖醇組成之群。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含崩解劑。在一些實施例中，崩解劑係選自由以下組成之群：微晶纖維素(MCC)、矽化微晶纖維素(SMCC)、澱粉、乙醇酸澱粉鈉、維格姆(veegum)、膨潤土、海藻酸、海藻酸鈣、交聯羧甲纖維素鈉(croscarmellose sodium/crosslinked sodium carboxymethyl cellulose)及交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含結合劑。在一些實施例中，結合劑係選自由以下組成之群：蔗糖、乳糖、澱粉、纖維素、明膠、聚乙烯吡咯啶酮(PVP)及聚乙

二醇(PEG)。在一些實施例中，一或多種醫藥學上可接受之賦形劑包含潤滑劑。在一些實施例中，潤滑劑係選自由以下組成之群：硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、二山嵛酸甘油酯、硬脂醯反丁烯二酸鈉、硬脂酸、滑石、二氧化矽、硬脂酸鈣、碳酸鎂、氫化油、礦物油、聚乙二醇(PEG)及單硬脂酸甘油酯。

【0062】在一些實施例中，IL-10為包含與載體偶聯之IL-10之IL-10遞送構築體的一部分。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含將IL-10與載體偶聯之連接子。在一些實施例中，連接子包含SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸序列。在一些實施例中，載體與SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，在與細胞接觸時，載體促進IL-10遞送構築體之內吞作用或胞吞轉運。在一些實施例中，細胞為腸道上皮細胞。在一些實施例中，腸道上皮細胞為極化腸道上皮細胞。

【0063】在一些實施例中，配方為口服配方。在一些實施例中，口服配方為膠囊或錠劑。在一些實施例中，口服配方含有包含第一共聚物及第二共聚物之第一包衣，其中第一包衣在IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑外部。在一些實施例中，第一共聚物包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。在一些實施例中，第二共聚物包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。在一些實施例中，第一包衣中第一共聚物與第二共聚物之比為0.8:1至1.2:1。在一些實施例中，投與包含經口投與。

【0064】在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向個體經口投與IL-10治療劑及向個體投與非IL-10免疫抑制劑。在其他實施例中，本發明提供治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，該方法包含向個體經口投與IL-10治療劑，其中個體同時接受非IL-10免疫抑制劑。在其他實施例中，本發明提供治療個體之發炎性疾病之方法，其中個體對非IL-10免疫抑制劑之反應不充分，該方法包含向個體經口投與IL-10治療劑。

【0065】在一些情況下，該方法進一步包含將非IL-10免疫抑制劑與IL-10治療劑一起投與。在一些情況下，在確定不充分反應之前，個體用非IL-10免疫抑制劑治療至少6週。在一些情況下，在確定不充分反應之前，個體用非IL-10免疫抑制劑治療至少12週。在一些情況下，不充分反應為部分反應。

【0066】在一些情況下，發炎性疾病係選自由以下組成之群：發炎性腸病、牛皮癬、斑塊型牛皮癬、化膿性汗腺炎、牛皮癬性關節炎、類風濕性關節炎、幼年特發性關節炎、僵直性脊椎炎、細菌性敗血症、克羅恩氏病、瘻管性克羅恩氏病、中度至重度潰瘍性結腸炎、輕度至中度潰瘍性結腸炎、潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎、缺血性結腸炎、改道性結腸炎、白塞氏症候群(Behcet's syndrome)、不確定型結腸炎、胰臟炎、肝炎、儲袋炎、直腸炎、葡萄膜炎、移植物抗宿主疾病及上皮細胞損傷。在一些情況下，發炎性疾病為發炎性腸病。在一些情況下，發炎性疾病係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病。

【0067】在一些情況下，發炎性疾病為類風濕性關節炎，且具有不

充分反應之個體的一或多個關節患有活動性疾病。在一些情況下，一或多個關節患有活動性疾病係藉由螢光光學成像或磁共振成像鑑別。在一些情況下，具有不充分反應之個體另外具有兩個或更多個觸痛的關節。在一些情況下，具有不充分反應之個體另外具有兩個或更多個腫脹的關節。

【0068】 在一些情況下，發炎性疾病為潰瘍性結腸炎，且具有不充分反應之個體患有中度至重度潰瘍性結腸炎。在一些情況下，具有不充分反應之個體的改良梅歐臨床評分(Mayo Clinic Score，MMS)為約4分至約9分。在一些情況下，具有不充分反應之個體的集中讀取MCS內視鏡分項評分為2級或更高。在一些情況下，具有不充分反應之個體的MMS直腸出血分項評分為1分或更高。在一些情況下，具有不充分反應之個體患有自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。如以上技術方案中任一項之方法，其中IL-10治療劑為IL-10遞送構築體。

【0069】 在一些情況下，IL-10遞送構築體包含由SEQ ID NO: 4中所闡述之胺基酸序列組成之載體。在一些情況下，IL-10遞送構築體包含由與SEQ ID NO: 4至少90%一致之胺基酸序列組成之載體。在一些情況下，IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列。

【0070】 在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為TNFα抑制劑。在一些情況下，TNFα抑制劑為單株抗體。在一些情況下，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：英利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(Humira)及戈利木單抗(Simponi)。在一些情況下，TNFα抑制劑包含SEQ ID NO: 151及SEQ ID NO: 152。在一些情況下，TNFα抑制劑包含SEQ ID NO: 153及SEQ ID NO: 154。在一些情況下，TNFα抑制劑不為依那西普。

參考文獻併入

【0071】 本說明書中所提及之所有公開案、專利及專利申請案均以引用的方式併入本文中，其引用的程度如各單獨的公開案、專利或專利申請案經特定及單獨地指示以引用的方式併入一般。

【圖式簡單說明】

【0072】 本專利或申請案檔案含有至少一張彩製圖。在申請且支付必要費用後，專利局將提供具有彩色圖式之本專利或專利申請公開案之複本。本發明之各種特徵在所附申請專利範圍中細緻闡述。將參考闡述利用本發明原理之例示性實施例及其隨附圖式的以下詳細描述來獲得對本發明之特徵及優點的較佳理解：

【0073】 **圖1**說明如藉由小角度X射線散射(SAXS)所測定的cholix-IL-10遞送構築體均二聚體(包含SEQ ID NO: 5之兩個相同次單位的二聚體)之結構。

【0074】 **圖2A-圖2B**說明表現、再摺疊及純化IL-10或IL-10遞送構築體之例示性方法。**圖2A**說明具有亞硫酸分解步驟的用於表現、再摺疊及純化IL-10或IL-10遞送構築體之例示性方法。**圖2B**說明不具有亞硫酸分解步驟的用於表現、再摺疊及純化IL-10或IL-10遞送構築體之例示性方法。

【0075】 **圖3**說明模擬隨時間推移在相同反應器內之胃、小腸及結腸之生理條件的經調適SHIME®系統。

【0076】 **圖4**說明在禁食條件下之模擬胃腸道的pH曲線。箭頭指示在胃培育期(ST0；ST45)及小腸培育期(SI0；SI0,5；SI1；SI1,5；SI2；SI3)期間獲取之樣品的時間及對應pH。

【0077】 **圖5A-圖5E**說明咖啡鹼(mg)自具有各種包衣組成及包衣厚

度之1號膠囊的平均釋放，如由**表12**中之膠囊配方所示。平均釋放係由3個個別膠囊測定。時間點與模擬胃之條件由ST0及ST45表示。時間點與模擬小腸之條件由SI0、SI0,5、SI1、SI1,5、SI2及SI3表示。時間點與模擬結腸之條件由C0、C0,5、C1、C1,5、C2、C3、C4及C18表示。**圖5A**說明咖啡鹼自配方A之膠囊的釋放。樣品相比於其先前樣品之差異係用星號(*)指示，其表示統計顯著變化($p<0.05$)。膠囊之目測評分指示於條上方(1：膠囊完整；2：膠囊受損但幾乎所有產品仍在膠囊中；3：膠囊受損且釋放所有產品；4：膠囊毀壞)。**圖5B**說明咖啡鹼自配方B之膠囊的釋放。**圖5C**說明咖啡鹼自配方C之膠囊的釋放。**圖5D**說明咖啡鹼自配方D之膠囊的釋放。**圖5E**說明咖啡鹼自配方E之膠囊的釋放。

【0078】 **圖6A-圖6C**說明咖啡鹼自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 7.0處。**圖6A**說明咖啡鹼自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖6B**說明咖啡鹼自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖6C**說明咖啡鹼自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0079】 **圖7A-圖7C**說明咖啡鹼自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.5處。**圖7A**說明咖啡鹼自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖7B**說明咖啡鹼自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖7C**說明咖啡鹼自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0080】 **圖8A-圖8C**說明咖啡鹼自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.0處。**圖8A**說明咖啡鹼自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖8B**說明咖啡鹼自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖8C**說明咖啡鹼自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0081】 **圖9A-圖9C**說明目標構築體(SEQ ID NO: 5)自各種膠囊包

衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 7.0處。**圖9A**說明目標構築體自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖9B**說明目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖9C**說明目標構築體自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0082】 **圖10A-圖10C**說明目標構築體(SEQ ID NO: 5)自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.5處。**圖10A**說明目標構築體自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖10B**說明目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖10C**說明目標構築體自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0083】 **圖11A-圖11C**說明目標構築體(SEQ ID NO: 5)自各種膠囊包衣之釋放%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.0處。**圖11A**說明目標構築體自膠囊包衣A-B之釋放%。**圖11B**說明目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖11C**說明目標構築體自膠囊包衣G-H之釋放%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0084】 **圖12A-圖12C**說明自各種膠囊包衣釋放的呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)之%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 7.0處。**圖12A**說明自膠囊包衣A-B釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。**圖12B**說明自膠囊包衣C-F釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。**圖12C**說明自膠囊包衣G-H釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0085】 **圖13A-圖13C**說明自各種膠囊包衣釋放的呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)之%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.5處。**圖13A**說明自膠囊包衣A-B釋放的呈二聚體形式之目標構築體

之%。**圖13B**說明呈二聚體形式之目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖13C**說明自膠囊包衣G-H釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0086】 **圖14A-圖14C**說明自各種膠囊包衣釋放的呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)之%，第一個小時在pH 1.0處且其餘的時間在pH 6.0處。**圖14A**說明自膠囊包衣A-B釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。**圖14B**說明呈二聚體形式之目標構築體自膠囊包衣C-F之釋放%。**圖14C**說明自膠囊包衣G-H釋放的呈二聚體形式之目標構築體之%。膠囊包衣A-H描述於**表23**中。

【0087】 **圖15A-圖15C**說明在向食蟹獼猴投與含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼與**表25**中所示之膠囊包衣A、B或C中之一者的膠囊之後的8小時期間，食蟹獼猴中之IL-10、咖啡鹼及介白素-1受體拮抗劑(IL-1RA)的血清含量。**圖15A**說明IL-10之血清含量。**圖15B**說明咖啡鹼之血清含量。**圖15C**說明IL-1RA之血清含量。X軸及Y軸為對數標度。用表示平均值之標準誤差的條來繪製各組之平均值。

【0088】 **圖16A-圖16C**說明在向食蟹獼猴投與含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼與**表25**中所示之膠囊包衣A、G及H中之一者的膠囊之後的8小時期間，食蟹獼猴中之IL-10、咖啡鹼及IL-1RA的血清含量。**圖16A**說明IL-10之血清含量。**圖16B**說明咖啡鹼之血清含量。**圖16C**說明IL-1RA之血清含量。X軸及Y軸為對數標度。用表示平均值之標準誤差的條來繪製各組之平均值。

【0089】 **圖17A-圖17C**說明在向食蟹獼猴投與含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼與**表25**中所示之膠囊包衣A、C、D、E及F中之一者的

膠囊之後的8小時期間，食蟹獼猴中之IL-10、咖啡鹼及IL-1RA的血清含量。**圖17A**說明IL-10之血清含量。**圖17B**說明咖啡鹼之血清含量。**圖17C**說明IL-1RA之血清含量。X軸及Y軸為對數標度。用表示平均值之標準誤差的條來繪製各組之平均值。

【0090】 **圖18**說明在40℃下培育3天之後，不同壓實賦形劑及凍乾目標構築體(SEQ ID NO: 5)粉末之組合的尺寸排阻層析圖(SEC)。檢查之壓實賦形劑包括：澱粉、交聯羧甲纖維素鈉、硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、微晶纖維素(MCC)、乳糖、交聯聚維酮及矽化微晶纖維素(SMCC)。

【0091】 **圖19**說明尺寸排阻層析圖(SEC)，其展示目標構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度以及F1及F2配方之目標構築體(SEQ ID NO: 5)的二聚體純度。

【0092】 **圖20A-圖20D**說明在溶解不同錠劑配方之後的目標構築體(SEQ ID NO: 5)之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20A**說明在溶解使用2000磅-力(lbf)之壓縮力產生之**F1**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20B**說明在溶解使用2500 lbf壓縮力產生之**F1**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20C**說明在溶解使用2500 lbf壓縮力產生之**F2**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。**圖20D**說明在溶解使用3000 lbf壓縮力產生之**F2**錠劑之後的目標構築體之總回收率、二聚體回收率及二聚體百分比。在此等實驗中，二聚體回收率指示相對於參考標準鑑別之二聚體的絕對量。在此等實驗中，二聚體純度指示相對於偵測之IL-10遞送構築體之所有形式(其包括聚集體及單體)的二聚體%。分析係在pH 7.0處進行。

【0093】 **圖21**說明在25℃培育之前及之後，不同凍乾配方中呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)的%。水平線指示在25℃下3天之後，參考樣品(1× PBS-無賦形劑)之主峰二聚體純度。

【0094】 **圖22**說明在-20℃下之5個凍/融循環(F/T)之前及之後，不同凍乾配方中呈二聚體形式之目標構築體(SEQ ID NO: 5)的%。

【0095】 **圖23A-圖23B**說明在-20℃及-80℃下之5個凍/融循環對目標構築體(SEQ ID NO: 5)聚集體及二聚體之效應。**圖23A**說明5個凍/融循環對目標構築體聚集體(HMW)百分比之效應。**圖23B**說明5個凍/融循環對目標構築體二聚體百分比之效應。

【0096】 **圖24A-圖24D**說明在來自**表11**之凍乾緩衝液之不同配方中的一週時程內，目標聚集體或二聚體在4℃或25℃下之百分比變化。對於四種不同配方中之每一者檢查凍乾緩衝液中之兩種不同濃度的目標構築體(SEQ ID NO: 5) (20 mg/ml及40 mg/ml)。**圖24A**說明在4℃下目標構築體聚集體之百分比變化。**圖24B**說明在4℃下目標二聚體之百分比變化。**圖24C**說明在25℃下目標構築體聚集體之百分比變化。箭頭指示pH為7.5的含有蔗糖之凍乾緩衝液。**圖24D**說明在25℃下目標構築體二聚體之百分比變化。箭頭指示pH為7.5的含有蔗糖之凍乾緩衝液。

【0097】 **圖25A-圖25B**說明當改變再摺疊溶液之精胺酸濃度及目標構築體(SEQ ID NO: 5)濃度時的再摺疊效率。**圖25A**展示再摺疊效率(再摺疊結束時的二聚體%)之等高線圖。**圖25B**展示再摺疊效率之條形圖。

【0098】 **圖26A-圖26B**說明當改變再摺疊溶液之甘油濃度及pH時，目標構築體(SEQ ID NO：5)之再摺疊效率。**圖26A**展示再摺疊效率之等高線圖。**圖26B**展示再摺疊效率之條形圖。

【0099】 **圖27A-圖27B**說明當改變再摺疊溶液之蔗糖濃度及PEG 3350濃度時，目標構築體(SEQ ID NO：5)之再摺疊效率。**圖27A**展示再摺疊效率之等高線圖。**圖27B**展示再摺疊效率之條形圖。

【0100】 **圖28**說明尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)層析圖，其展示四種再摺疊溶液中之每一者的目標構築體(SEQ ID NO: 5)聚集體、二聚體及單體。「A」表示含有0.7 M精胺酸之對照再摺疊溶液。「B」表示具有1 M精胺酸之再摺疊溶液。「C」表示具有1 M精胺酸加0.25 M蔗糖加0.2% PEG3350之再摺疊溶液。「D」表示1 M精胺酸加0.25 M蔗糖。

【0101】 **圖29**說明**圖28**中所說明之四種再摺疊溶液中之每一者的再摺疊效率。

【0102】 **圖30**說明在遵循SDS-PAGE之純化過程中之不同中間步驟處之目標構築體的考馬斯藍染色。通道1及11含有標記12分子量標記。通道8、9、10、18、19及20為空白。通道2至10 SDS-PAGE中之樣品係在還原條件下運行。通道12至20中之樣品係在非還原性條件下運行SDS-PAGE。通道2及12含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)。通道3及13含有過濾之TFF-2滲餘物(Cycle #1)。通道4及14含有過濾之TFF-2滲餘物(Cycle #2)。通道5及15含有Capto™Q彙集溶離液。通道6及16含有CHT彙集溶離液。通道7及17含有TFF-3最終滲餘物。

【0103】 **圖31A-圖31B**說明本文所述之口服配方**3200**及**3205**的實施例。**圖31A**說明口服配方**3200**，其含有包含治療蛋白之內部區(**3201**)、第一包衣(**3203**)、第二包衣(**3202**)及第三包衣(**3204**)。**圖31B**說明包含第一包衣(**3203**)之口服配方。

【0104】 **圖32A-圖32B**說明放射性標記自膠囊釋放的時間，該等膠

囊具有如**表35**中所述之配方1、2或3的包衣。**圖32A**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的初始放射性標記釋放時間。**圖32B**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的完全放射性標記釋放時間。

【0105】 **圖33A-圖33B**說明放射性標記自膠囊釋放的解剖位置，該等膠囊具有如**表35**中所述之配方1、2或3的包衣。**圖33A**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的初始放射性標記釋放之解剖位置。**圖33B**說明在向健康志願者投與口服膠囊包衣配方之後的完全放射性標記釋放之解剖位置。PSB=近端小腸；DSB=遠端小腸；AC=升結腸；TC=橫結腸；DC=降結腸。

【0106】 **圖34**說明鑑別表示目標構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體、聚集體及單體之峰的尺寸排阻層析圖(SEC)。

【0107】 **圖35**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠體重之百分比變化的效應。在損害之前及之後每日記錄小鼠之體重。資料表示為平均值±SEM；每組之n：初始(5)、媒劑(10)、IL-10遞送構築體(15)、5-ASA (15)。藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試分析資料以比較每日各組與媒劑之差異。*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001，****p<0.0001。

【0108】 **圖36**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠存活率之效應。在損害之前及之後每日記錄小鼠之死亡率。資料表示為存活率%。

【0109】 **圖37**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之疾病嚴重度的效應。藉由損害之後7天發炎之結腸標記來評估嚴重度。

【0110】 **圖38A**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之結腸重量的效應。結腸重量係在損害之後7天量測。

【0111】 **圖38B**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之隱血陽性的效應。

【0112】 圖**38C**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之大便堅實度的效應。

【0113】 **圖38D**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之疾病活動性指數的效應。

【0114】 **圖38E**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之巨噬細胞群落刺激因子1 (MCSF)之血清含量的效應。

【0115】 **圖38F**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之IL12 p70蛋白之血清含量的效應。

【0116】 **圖38G**說明在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對小鼠之IL-3之血清含量的效應。

【0117】 **圖39A-圖39E**說明經口投與IL-10遞送構築體對與發炎過程相關之蛋白質之細胞表現的效應，該等發炎過程與潰瘍性結腸炎相關。藉由免疫組織化學來分析在喔唑酮誘導之結腸發炎之後，來自小鼠之近端、中段及遠端結腸的橫切片 。**圖39A**說明經口投與IL-10遞送構築體對NFκB之細胞表現的效應。**圖39B**說明經口投與IL-10遞送構築體對TNFα之細胞表現的效應。**圖39C**說明經口投與IL-10遞送構築體對CD4之細胞表現的效應。**圖39D**說明經口投與IL-10遞送構築體對IL-4之細胞表現的效應。

圖39E說明經口投與IL-10遞送構築體對Foxp3之細胞表現的效應。

【0118】 **圖40A-圖40B**說明在經口遞送IL-10遞送構築體給藥溶液之後，全身細胞介素之Luminex陣列。**圖40A**說明在經口遞送IL-10遞送構築體給藥溶液之後，IL-6之Luminex陣列。**圖40B**說明在經口遞送IL-10遞送構築體給藥溶液之後，IL-23之Luminex陣列。

【0119】 **圖41A-圖41J**說明在指定治療之後，使用MSD Proinflammatory Panel 1之10種細胞介素於血漿樣品中之濃度。**圖41A**說明IFNγ之血漿濃度。**圖41B**說明IL-10之血漿濃度。**圖41C**說明IL-12p70之血漿濃度。**圖41D**說明IL-1β之血漿濃度。**圖41E**說明IL-2之血漿濃度。**圖41F**說明IL-4之血漿濃度。**圖41G**說明IL-5之血漿濃度。**圖41H**說明IL-6之血漿濃度。**圖41I**說明KC/GRO之血漿濃度。**圖41J**說明TNF-α之血漿濃度。

【0120】 **圖42**說明在噁唑酮誘導之發炎性結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠體重之百分比變化的效應。

【0121】 **圖43**說明在噁唑酮誘導之發炎性結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠之存活率%的效應。在噁唑酮損害之前及之後每日記錄小鼠之死亡率。資料表示為存活率%。

【0122】 **圖44**說明在噁唑酮誘導之結腸發炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠之疾病嚴重性的效應。藉由噁唑酮損害之後的大便堅實度及隱血陽性來對疾病活動性指數(DAI)進行評分。資料表示為平均值±SEM。

【0123】 **圖45**說明在噁唑酮誘導之結腸發炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對小鼠之結腸重量/長度比的效應。在噁唑酮損害之後7

天量測結腸重量及長度。資料表示為平均值±SEM。

【0124】 **圖46**說明在噁唑酮誘導之結腸發炎之後，小鼠之近端、中段及遠端結腸的組織病理學。資料表示為平均值±SEM。

【0125】 **圖47A-圖47LL**說明小鼠之循環細胞介素、趨化因子及生長因子的全身濃度。使用Luminex珠粒陣列來分析循環細胞介素之血漿濃度。資料表示為平均值±SEM。**圖47A**說明GCSF/CSF3之全身濃度。**圖47B**說明GMCSF之全身濃度。**圖47C**說明MCSF之全身濃度。**圖47D**說明VEGF之全身濃度。**圖47E**說明LIF之全身濃度。**圖47F**說明Exotaxin之全身濃度。**圖47G**說明GROA之全身濃度。**圖47H**說明IP10之全身濃度。**圖47I**說明LIX之全身濃度。**圖47J**說明MCP1之全身濃度。**圖47K**說明MCP3之全身濃度。**圖47L**說明MIP1α之全身濃度。**圖47M**說明MIP1β之全身濃度。**圖47N**說明MIP2之全身濃度。**圖47O**說明RANTES之全身濃度。**圖47P**說明IL-1α之全身濃度。**圖47Q**說明IL-1β之全身濃度。**圖47R**說明IL-2之全身濃度。**圖47S**說明IL-3之全身濃度。**圖47T**說明IL-4之全身濃度。**圖47U**說明IL-5之全身濃度。**圖47V**說明IL-6之全身濃度。**圖47W**說明IL-9之全身濃度。**圖47X**說明IL-12p70之全身濃度。**圖47Y**說明IL-13之全身濃度。**圖47Z**說明IL-15/IL-15R之全身濃度。**圖47AA**說明IL-17A之全身濃度。**圖47BB**說明IL-18之全身濃度。**圖47CC**說明IL-23之全身濃度。**圖47DD**說明IL-27之全身濃度。**圖47EE**說明IL-28之全身濃度。**圖47FF**說明IL-31之全身濃度。**圖47GG**說明IFN-α之全身濃度。**圖47HH**說明IFN-γ之全身濃度。**圖47II**說明TNF-α之全身濃度。**圖47JJ**說明IL-10之全身濃度。**圖47KK**說明IL-22之全身濃度。**圖47LL**說明TGF-β之全身濃度。

【0126】 **圖48A-圖48J**說明使用V-PLEX促炎性圖之10種細胞介素

於血漿樣品中之濃度。**圖48A**說明IFNγ之血漿濃度。**圖48B**說明IL-10之血漿濃度。**圖48C**說明IL-12p70之血漿濃度。**圖48D**說明IL-1β之血漿濃度。**圖48E**說明IL-2之血漿濃度。**圖48F**說明IL-4之血漿濃度。**圖48G**說明IL-5之血漿濃度。**圖48H**說明IL-6之血漿濃度。**圖48I**說明KC/GRO之血漿濃度。**圖48J**說明TNF-α之血漿濃度。資料表示為平均值±SEM。

【0127】 **圖49A-圖49D**說明在喔唑酮誘導之發炎性結腸炎智慧，小鼠之全身性及結腸IL-1Ra表現。**圖49A**說明IL-1Ra之全身性血漿濃度。**圖49B**說明IL-1Ra於初始、媒劑及9 mg/kg IL-10遞送構築體治療小鼠之結腸組織中的基因表現。**圖49C**說明IL-1β於初始、媒劑及9 mg/kg SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體治療小鼠之結腸組織中的基因表現。mRNA轉錄物含量係標準化為GAPDH。資料表示為平均值±SEM。**圖49D**說明此結果亦由IL-1Ra/IL-1β比增加來反映。

【0128】 **圖50A**說明結腸炎之葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導及在由向下箭頭指示之天數用溶解於100 mL PBS中之SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體(如所指示)每日經口管飼治療的時刻表。

【0129】 **圖50B**說明在研究之生存期部分期間DSS誘導之體重減輕。

【0130】 **圖50C**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對體重之效應。體重呈現為在DSS誘導之發炎之後相對於基線之百分比變化。資料表示為平均值±SEM。

【0131】 **圖51**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對疾病活動性指數(DAI)之效應。將體重減輕、大便堅實度及大便隱血(評分0-3)之個別評分加總以得到回應於DSS誘導之發炎的DAI(0-9範圍內)。資料表示為平均值±SEM。

【0132】 **圖52**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對結腸長度之效應。資料表示為平均值±SEM。

【0133】 **圖53**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對加總組織學參數(發炎、腺損失、糜爛及增生)之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，*p<0.05。

【0134】 **圖54**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對水腫寬度之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，**p<0.01，*p<0.05。

【0135】 **圖55**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對結腸黏膜厚度之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，***p<0.001，**p<0.01，*p<0.05。

【0136】 **圖56**說明在DSS誘導之結腸炎之後，SEQ ID NO. 5之IL-10遞送構築體對結腸增生之效應。資料表示為平均值±SEM。****p<0.0001，**p<0.01。

【0137】 **圖57A-圖57B**說明DSS研究中之可變人類IL-10偵測及IL-1Ra誘導。全身濃度係藉由DSS損害之後的夾心免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。**圖57A**說明IL-10遞送構築體之全身濃度，如藉由抗cholix或抗IL-10偵測抗體來偵測。**圖57B**說明DSS損害之後的IL-1Ra之全身濃度。

【0138】 **圖58**說明在給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)後非人類靈長類動物(NHP)中之總IL-10的血漿濃度。總IL-10之全身濃度係藉由經口投與IL-10遞送構築體膠囊之後的免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。

【0139】 **圖59**說明在給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)後NHP中之IL-1Ra的血漿濃度。IL-1Ra之全身濃度係藉由經口投與IL-10遞送構築體膠囊之後的免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。

【0140】 **圖60**說明在給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)後NHP中之咖啡鹼的血漿濃度。咖啡鹼之全身濃度係藉由經口投與IL-10遞送構築體膠囊之後的免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM。

【0141】 **圖61A-圖61E**說明在經口給與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，NHP中之所選促炎性細胞介素的血漿濃度。**圖61A**說明IFNγ之血漿濃度。**圖61B**說明IL-1β之血漿濃度。**圖61C**說明IL-2之血漿濃度。**圖61D**說明IL-8之血漿濃度。**圖61E**說明IL-6之血漿濃度。

【0142】 **圖62**說明在15分鐘時程研究內，IL-10遞送構築體與腸上皮細胞中之LAMP1陽性溶酶體展示極少或無共定位。

【0143】 **圖63**說明含有CD11c之細胞(樹突狀細胞)及IL-10之免疫螢光影像。

【0144】 **圖64**說明含有CD19之細胞(B淋巴細胞)及IL-10之免疫螢光影像。

【0145】 **圖65**說明含有CD34之細胞(內皮細胞)及cholix之免疫螢光影像。

【0146】 **圖66**說明含有CD3之細胞(T淋巴細胞)及IL-10之免疫螢光影像。

【0147】 **圖67**說明GI黏膜下層中IL-10遞送構築體向T細胞及巨噬細胞之細胞靶向。

【0148】 **圖68**說明含有IL-10遞送構築體之包衣膠囊在4型溶解裝置

中之溶解。圖例：方形：僅HPMC包底衣；圓形：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續80分鐘；加號：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續120分鐘；菱形：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續120分鐘加HPMC包衣持續20分鐘；及三角形：HPMC包底衣加eudragit 50:50包衣持續120分鐘加HPMC包衣持續60分鐘。

【0149】 圖69說明含有IL-10遞送構築體之包衣錠劑在4型溶解裝置中之溶解。

【0150】 圖70說明IL-10遞送構築體之二聚體形式(各條之下部部分)以及IL-10遞送構築體之單體(LMW)及聚集體(HMW)形式(各條之上部部分)在**圖68**及**圖69**中所示之完整時程內的回收。資料說明t=0至量測之最後時間點的曲線下面積。自左至右，各條表示：(1)未包衣錠劑；(2)具有8 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為20:80；(3)具有13 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為20:80；(4)具有20 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為20:80；(5)具有8 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為50:50；(6)具有13 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為50:50；(7)具有8 mg包衣重量之錠劑，Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D之重量比為50:50；(8)腸溶-無；(9)腸溶-80m；(10)腸溶-120m；(11)腸溶120m+HPMC60m；(12)腸溶120m+HPMC20m。

【0151】 **圖71A-圖71C**說明在以1、3及10 mg (n=3/組)泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之某些標記的全身濃度。資料表示為平均值±SEM；未進行統計分析。**圖**

71A說明IL-10之全身濃度。**圖71B**說明IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之全身濃度。**圖71C**說明IL-1Ra之全身濃度。

【0152】 **圖72**說明在以1、3及10 mg (n=3/組)泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之IL-6的全身濃度。資料表示為平均值±SEM；未進行統計分析。

【0153】 **圖73**說明在以1、3及10 mg泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之IL-1Ra濃度。資料表示為平均值±SEM；各IL-10遞送構築體劑量之n：給藥前(2)，15分鐘(3)，30分鐘(3)，45分鐘(3)，8小時(1)及24小時(1)；未進行統計分析。

【0154】 **圖74**說明如藉由pSTAT3與總STAT3之比所量測的結腸組織中之STAT3磷酸化。磷酸化及總表現係在以1、3及10 mg泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後的45分鐘內藉由免疫分析來量測。資料表示為平均值±SEM，個IL-10遞送構築體劑量之n：給藥前(2)，15分鐘(3)，30分鐘(3)及45分鐘(3)，未進行統計分析。

【0155】 **圖75**說明在以1、3及10 mg泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，藉由免疫分析在24小時內量測之IL-6的組織濃度。資料表示為平均值±SEM；各IL-10遞送構築體劑量之n：給藥前(2)，15分鐘(3)，30分鐘(3)，45分鐘(3)，8小時(1)及24小時(1)；未進行統計分析。

【0156】 **圖76**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸抗炎性基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明針對以下各者觀測之倍數變化：

CD163、SCNN1G、STC1、HGF、SGK1、MIR24-2、SCNN1B、PTGDR、MTNR1A、ACE2、NOX1、BEST2、VNN2、LTB4R2、B3GALT5、AQP8、SLC9A3及CYP1A1。

【0157】 **圖77**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸促炎性基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：MHC-II、HPGDS、FCER1A、PLA2G2D、CCL13、FUT3、CCL28、UGT1A1、CCL20、NLRP1及TPH。

【0158】 **圖78**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸促炎性基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為每個目標2-3個探針之平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：MMP19、LIPG、MMP1、CHI3L1、MMP3、LAMC2、S100A8、CXCL1、FIGF、PCSK1、CASP5、CXCL2及CHGB。

【0159】 **圖79**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時處評估的結腸組織修復基因調節；各組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：SCNN1G、STC1、TIMP1、SCNN1B、BEST2、B3GALT5、AQP8及SLC9A3。

【0160】 **圖80**說明在以1、3及10 mg劑量泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後8小時評估之結腸抗微生物基因調節；每組之n：給藥前(4)，IL-10遞送構築體之所有劑量(2)。資料表示為平均值；未進行

統計分析。對於各劑量，自左至右之條說明：PI15、PI3、BDKRB1、CCI28及SERPINE2。

【0161】 **圖81A-圖81C**說明小鼠結腸切片之蘇木精及曙紅染色。**圖81A**為初始結腸部分，**圖81B**為來自用喎唑酮治療之小鼠之結腸的部分，且**圖81C**為來自用喎唑酮及8.5 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之小鼠之結腸的部分。

【0162】 **圖82A-圖82G**說明在用經口IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療後的發炎性標記表現。**圖82A**展示IL-4之表現。**圖82B**展示IL-6之表現。**圖82C**展示IL-1β之表現。**圖82D**展示IL-17A之表現。**圖82E**展示IL-10之表現。**圖82F**展示MIP1α之表現。**圖82G**展示GCSF/CSF3之表現。*$p < 0.05$；單因子變異數分析與圖基氏事後測試。

【0163】 **圖83A**說明在用等莫耳量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5；1 mg/kg)或重組人類IL-10 (0.9 mg/kg)治療之後的pSTAT3與總STAT3之比。

【0164】 **圖83B**說明在用等莫耳量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5；10 mg/kg)或重組人類IL-10 (3 mg/kg)治療之後的全身IL-1Ra含量。

【0165】 **圖84**說明在用IL-10遞送構築體(劑量在x軸上以mg/kg展示)治療之後的IL-1Ra之全身表現。

【0166】 **圖85A**說明IL-1Ra在用媒劑或9 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之小鼠中之結腸表現，如藉由qPCR所量測且標準化為初始小鼠中之表現量。

【0167】 **圖85B**說明IL-1β在用媒劑或9 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之小鼠中之結腸表現，如藉由qPCR所量測且標準化

為初始小鼠中之表現量。

【0168】 **圖85C**說明**圖85A**及**B**中之IL-1Ra與IL-1β之比。

【0169】 **圖86**說明用IL-10遞送構築體治療對結腸組織中之磷酸化STAT3 (pSTAT3)與總STAT3之比的效應。

【0170】 **圖87**說明在藉由乙狀結腸鏡以指示劑量投與IL-10遞送構築體之長尾獼猴(約5至約8 kg)中之促炎性標記的表現。

【0171】 **圖88**說明在藉由乙狀結腸鏡以指示劑量投與IL-10遞送構築體之長尾獼猴(約5至約8 kg)中之抗炎性標記的表現。

【0172】 **圖89**說明在藉由乙狀結腸鏡以指示劑量投與IL-10遞送構築體之長尾獼猴(約5至約8 kg)中與組織修復及傷口癒合相關之生物標記的表現。

【0173】 **圖90A-圖90B**說明在投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後於非人類靈長類動物中量測的PK及PD。**圖90A**說明在以指示劑量向長尾獼猴經口(PO，N=6)、皮下(SC，N=3)或靜脈內(IV，N=3)遞送IL-10遞送構築體之後，IL-10之全身濃度。**圖90B**說明在以指示劑量向長尾獼猴經口(PO，N=6)、皮下(SC，N=3)或靜脈內(IV，N=3)遞送IL-10遞送構築體之後，IL-1Ra之全身濃度。

【0174】 **圖91**說明在以指示劑量向長尾獼猴經口(PO，N=6)、皮下(SC，N=3)或靜脈內(IV，N=3)遞送IL-10遞送構築體之後，IL-1Ra與IL-10之比(平均AUC之比)。

【0175】 **圖92**說明包含IL-10遞送構築體，具有及不具有界面活性劑之溶液在渦旋之前及之後的濁度。

【0176】 **圖93**說明渦旋之前的SEC-HPLC層析圖。

【0177】 **圖94**說明渦旋之後的SEC-HPLC層析圖。

【0178】 **圖95**說明當與各種不同組分一起壓實時，PBS中之IL-10遞送構築體的穩定性。樣品在微量離心小瓶(Eppendorf vial)中以0.3 mg/mL IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於PBS中復原，在37℃下安裝在烤肉架振盪器上持續5小時。定期抽取樣品以藉由SEC進行分析。

【0179】 **圖96**說明IL-10遞送構築體/賦形劑在溶液中之相容性。

【0180】 **圖97**說明各種潤滑劑賦形劑與IL-10遞送構築體之相容性。

【0181】 **圖98**說明在4型溶解裝置中自Eudragit包衣錠劑(50/50 L30D55/FS30D)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放。

【0182】 **圖99**說明在4型溶解裝置中自Eudragit包衣錠劑(20/80 L30D55/FS30D)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放。

【0183】 **圖100**說明HPMC-AS包衣錠劑之溶解(4型裝置)。溶解自0.1 N HCL溶液開始，持續40分鐘，隨後將介質轉換為pH 7.0磷酸鹽緩衝液。

【0184】 **圖101**說明自HPMC-AS包衣膠囊之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放(4型裝置)。

【0185】 **圖102**說明HPMC-AS包衣F3錠劑在4型溶解裝置上之溶解。

【0186】 **圖103**說明HPMC-AS包衣F3錠劑在2型溶解裝置上之溶解。

【0187】 **圖104A-圖104C**說明在經口或靜脈內遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，各種蛋白質(例如生物標記)之血漿濃度。**圖**

104A說明IL-10之血漿濃度。**圖104B**說明IL-1Ra之血漿濃度。**圖104C**說明IFN-γ之濃度。

【0188】 **圖105A-圖105D**說明在向非人類靈長類動物(NHP)泛結腸遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，各種生物標記之全身或結腸組織濃度。**圖105A**說明IL-10之全身濃度。**圖105B**說明IL-1Ra之全身濃度。**圖105C**說明IL-10於結腸組織中之濃度。**圖105D**說明IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於結腸組織中之濃度。

【0189】 **圖106A-圖106D**說明在腔內注射PBS、rhIL-10 (159皮莫耳)或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)(159皮莫耳)的10及40分鐘內，在正常及發炎腸組織(近端、中段及遠端結腸)及血清中之rhIL-10含量，如藉由ELISA所量測。**圖106A**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後10分鐘，在正常腸組織中之rhIL-10含量。**圖106B**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後10分鐘，在發炎腸組織中之rhIL-10含量。**圖106C**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後40分鐘，在正常腸組織中之rhIL-10含量。**圖106D**說明在腔內注射PBS、rhIL-10或IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後40分鐘，在發炎腸組織中之rhIL-10含量。

【0190】 **圖107**說明在向Balb/C小鼠之空腸中腔內注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，rhIL-10及pSTAT3之組織定位。

【0191】 **圖108**說明在向Balb/C小鼠之空腸中腔內注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後，對pSTAT誘導之時程分析。

【0192】 **圖109**說明在不同鼠類模型中將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)運輸穿過腸上皮細胞之免疫螢光影像。

【0193】 **圖110**說明沿小鼠腸之固有層的pSTAT3活性。

【0194】 **圖111**說明在6個劑量(1 mg、3 mg、10 mg、30mg、60 mg、120 mg)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)或安慰劑之單次劑量之後的IL-1Ra表現。

【0195】 **圖112**說明在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之1b期試驗中的多遞增劑量(MAD)遞增。

【0196】 **圖113**說明在用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療基線FCP >150 μg/g之潰瘍性結腸炎(UC)患者僅14天之後的FCP減少。

【0197】 **圖114**說明在用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療基線CRP >5 mg/L之UC患者僅14天之後的全身循環中之CRP減少。

【0198】 **圖115**說明在用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療之14天內的Geboes評分降低。

【0199】 **圖116**描繪來自UC患者之給藥前(圖A)及治療後(圖B)組織學影像，在1b期試驗中給與該患者10 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，其中使用22分量表，Geboes評分自15分改善為3分，其中較高評分指示較嚴重疾病活動性。

【0200】 **圖117A-圖117C**展示顯微影像，該等顯微影像展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後的各個時間點處，IL-10穿過威斯塔大鼠體內之極化腸道上皮細胞的胞吞轉運。綠色螢光指示IL-10之存在(經由用抗IL-10抗體染色)。藍色螢光指示標記DNA之DAPI染色，且紅色螢光指示可在胞吞轉送期間與cholix源性載體共定位(例如在上皮細胞之核上區域中)之CK-8 (細胞角蛋白-8)的存在。白色箭頭#1突出顯示上皮細胞之頂端膜，白色箭頭#2突出顯示上皮

細胞之基底膜，且白色箭頭#3指示固有層中存在IL-10。**圖117A**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後一分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。**圖117B**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後五分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。**圖117C**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後十分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。

【0201】 **圖118**說明匯合、極化人類SMI-100單層之腸模型系統的結果。抗hIL-10西方墨點偵測等莫耳施加IL-10遞送構築體(通道2，頂端，t=0小時)或商業hIL-10 (通道3，頂端，t=0小時)轉運至各別跨孔之基底室(通道4，IL-10遞送構築體，基底，t=2小時及通道5，hIL-10，基底，t=2小時)的程度。將來自單一西方墨點之通道剪接在一起以促進比較且由黑線指示。

【0202】 **圖119**說明在6小時之後，工程化至由IL-10遞送構築體或hIL-10誘導之U2OS骨肉瘤細胞中的IL-10A及IL-10B受體之二聚化。

【0203】 **圖120**說明在20分鐘刺激之後，小鼠巨噬細胞樣細胞株J774.2中相對於總STAT3含量之STAT3磷酸化誘導。資料代表具有類似結果之多個研究。

【0204】 **圖121**說明對獲自健康供體之閘控活CD45+ CD14+單核球(PBMC)之流式細胞測量術分析，其展示IL-10對LPS誘導之TNFa分泌的抑制效應；平均值±SEM (n=3)形式之平均螢光強度(MFI)資料係藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試來分析。.p<0.5，..p<0.01，".p<0.001，'...p<0.0001 (相比於0 pM濃度值時)。

【0205】 **圖122**說明對獲自健康供體之閘控活CD45+ CD14+單核球

(PBMC)之流式細胞測量術分析，其展示IL-10對LPS誘導之IL-6分泌的抑制效應；平均值±SEM (n=3)形式之平均螢光強度(MFI)資料係藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試來分析。.p<0.5，..p<0.01，".p<0.001，'...p<0.0001 (相比於0 pM濃度值時)。

【0206】 **圖123**說明對獲自健康供體之閘控活CD45+ CD14+單核球(PBMC)之流式細胞測量術分析，其展示IL-10對LPS誘導之HLA-DR表面表現的抑制效應；平均值±SEM (n=3)形式之平均螢光強度(MFI)資料係藉由雙因子變異數分析與鄧尼特事後測試來分析。.p<0.5，..p<0.01，".p<0.001，'...p<0.0001 (相比於0 pM濃度值時)。

【0207】 **圖124**說明在經口管飼PBS之BALB/c小鼠體內之喔唑酮誘導之結腸炎。獲取單通道影像且合併為具有細胞核(藍色)、IL-10 (綠色)及pSTAT3 (紅色)之合成圖。

【0208】 **圖125**說明在經口管飼hIL-10之BALB/c小鼠體內之喔唑酮誘導之結腸炎。獲取單通道影像且合併為具有細胞核(藍色)、IL-10 (綠色)及pSTAT3 (紅色)之合成圖。

【0209】 **圖126**說明在經口管飼IL-10遞送構築體之BALB/c小鼠體內之喔唑酮誘導之結腸炎。獲取單通道影像且合併為具有細胞核(藍色)、IL-10 (綠色)及pSTAT3 (紅色)之合成圖。

【0210】 **圖127**說明小腸組織分段中表現pSTAT3之細胞的%。

【0211】 **圖128**說明在發炎T細胞轉移模型中對指定腸組織及血清進行腔內注射後，以PBS、IL-10及IL-10遞送構築體運行之hIL-10 ELISA的結果。

【0212】 **圖129**說明IL-10遞送構築體之cholix源性載體(紅色)及

hIL-10 (綠色)元件的共定位，表明其同時轉運及保留在固有層之細胞內。在腔內注射50 μL以約40 μM於PBS中製備之IL-10遞送構築體之後獲得大鼠空腸之免疫螢光顯微法影像。對於**圖129-圖133**：箭頭=頂端(內腔)上皮膜；虛線=上皮細胞-基底膜分界；l-p=固有層；G=杯狀細胞。細胞核用DAPI染色(藍色)。

【0213】 **圖130**說明IL-10遞送構築體之hIL-10 (綠色)元件的染色，且Rab7 (紅色)表明對前者之頂端偏好及對後者之基底偏好。

【0214】 **圖131**說明IL-10遞送構築體之hIL-10 (綠色)元件的染色，且Rab11 (紅色)表明對前者之頂端偏好及對後者之基底偏好。

【0215】 **圖132**說明在將IL-10遞送構築體腔內注射至大鼠空腸中之後的時程中的LMAN1重組及與腸上皮細胞內但不與固有層之細胞內的IL-10遞送構築體共定位。

【0216】 **圖133**說明在將IL-10遞送構築體腔內注射至大鼠空腸中之後的時程中，LAMP1在腸上皮細胞內無再分佈或共定位，但在固有層之細胞內具有廣泛共定位。

【0217】 **圖134**說明T細胞(CDC3+)及pSTAT3+細胞於小鼠腸組織中之定位。pSTAT3+ CDC3+細胞由白色箭頭指示。

【0218】 **圖135**說明巨噬細胞(F4/80+)及pSTAT3+細胞於小鼠腸組織中之定位。pSTAT3+ F4/80+細胞由黃色箭頭指示。

【0219】 **圖136**說明較高放大率的**圖135**之區域。pSTAT3+ F4/80+細胞由黃色箭頭指示。

【0220】 **圖137**說明pSTAT3+ F4/80+腸細胞之額外影像。

【0221】 **圖138**說明pSTAT3+ F4/80+結腸細胞之影像。

【0222】 **圖139**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠血清中之hIL-10濃度。

【0223】 **圖140**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠遠端小腸組織中之hIL-10濃度。

【0224】 **圖141**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠結腸組織中之hIL-10濃度。

【0225】 **圖142**說明在經口管飼10 mg/kg IL-10遞送構築體之後的時程內，小鼠血清中之IL-1Ra濃度。

【0226】 **圖143**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，結腸組織之剪斷活檢體中之IL-10遞送構築體濃度。

【0227】 **圖144**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，結腸組織之剪斷活檢體中之IL-10濃度。

【0228】 **圖145**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，IL-10遞送構築體之血清濃度。

【0229】 **圖146**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，IL-10之血清濃度。

【0230】 **圖147**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，IL-1Ra之血清濃度。

【0231】 **圖148**說明在結腸內噴灑指示劑量之IL-10遞送構築體之後，pSTAT3相對於總STAT3之比。

【實施方式】

交叉引用

【0232】 本申請案主張以下各者之權益：2019年8月16日申請之美

國臨時申請案第62/888,144號、2019年8月16日申請之美國臨時申請案第62/888,237號、2020年3月6日申請之美國臨時申請案第62/986,579號、2019年8月16日申請之美國臨時申請案第62/887,963號、2019年8月16日申請之美國臨時申請案第62/887,933號、2019年9月11日申請之美國臨時申請案第62/898,934號、2020年2月6申請之美國臨時申請案第62/971,126號、2019年9月11申請之美國臨時申請案第62/898,709號、2019年9月11日申請之美國臨時申請案第62/898,729號、2019年11月22日申請之美國臨時申請案第62/939,495號、2020年2月5日申請之美國臨時申請案第62/970,627號、2020年5月6日申請之美國臨時申請案第63/020,996號、2020年6月1日申請之美國臨時申請案第63/033,077號、2019年9月11日申請之美國臨時申請案第62/898,899號、2020年4月21日申請之美國臨時申請案第63/013,309號、2020年3月6日申請之美國臨時申請案第62/986,557號及2020年7月23日申請之美國臨時申請案第63/055,886號，該等申請案以引用之方式併入本文中。

序列表

【0233】本申請案含有序列表，其已以ASCII格式、以電子方式提交且以全文引用的方式併入本文中。2020年8月12日創建之該ASCII複本名稱為40566-721_601_SL.txt且大小為729,437位元組。

【0234】IL-10為消炎性細胞介素，其可限制由感染或發炎引起的組織損傷，使IL-10成為對於治療藥物開發有吸引力的蛋白質。包含IL-10及載體之融合蛋白(在本文中稱為IL-10遞送構築體)可調配為適合於經口投與之形式，諸如錠劑或膠囊。另外，此等錠劑或膠囊可以基本上維持IL-10遞送構築體二聚體之結構完整性的方式調配。另外，此等口服配方

周圍之腸溶包衣可促成IL-10遞送構築體之獨特溶解曲線。向個體投與此類口服配方可藉由個體之獨特藥效學(PD)及藥物動力學(PK)反應來表徵。

【0235】IL-10被視為先天性及後天性免疫系統之主調節因子，因為認為其不僅抑制炎性體，且亦抑制發現與疾病相關之許多發炎事件，包括巨噬細胞活化及分泌IL-1、IL-6、TNFα、MMP-1/2，同時減少發炎之全身性病徵及T調節細胞之發育。需要可與TNFα抑制劑一起使用之組合療法。提供除TNFα抑制劑以外之IL-10遞送構築體可為有效的且獲得較好患者結果。

【0236】除了熟習此項技術者對此等術語之理解之外，論述下文術語以說明如在本說明書中所使用之術語之含義。除非上下文另外明確指示，否則如本文及隨附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該」包括複數個指示物。應進一步注意，申請專利範圍可撰寫成排除任何視情況選用之要素。因此，此陳述意欲與對所主張要素之敍述結合充當使用諸如「僅僅(solely)」、「僅(only)」及其類似術語之排他性術語或使用「否定性」限制之前提基礎。

【0237】本文中呈現之某些範圍或數值，其中數值之前具有術語「約」。術語「約」在本文中用於意謂加或減1%、2%、3%、4%或5%之術語所指代之數字。如本文所用，術語「個體(subject)」及「個體(individual)」可互換使用且可為任何動物，包括哺乳動物(例如人類或非人類動物)。

【0238】如本文所用，術語「治療(treat/treating/treatment)」及其他文法等同者，包括緩解、緩和或減輕疾病或病況之一或多個症狀；減

輕、預防或減少疾病或病況之一或多個症狀的表像、嚴重程度或頻率；減輕或預防疾病或病況之一或多個症狀之潛在原因；抑制疾病或病況，諸如遏制疾病或病況之發展、緩解疾病或病況、促使疾病或病況消退、緩解由疾病或病況所引起之病況或預防性及/或治療性抑制疾病或病況之症狀。

【0239】 如本文所述，術語「序列一致性百分比(%)」及與其相關的術語在胺基酸序列或核酸序列之情況下為在序列比對及必要時引入缺口序列(gap)以達成最大序列一致性百分比，且不將任何保守取代考慮為序列一致性之一部分之後，分別與選定序列制之胺基酸殘基或核酸殘基相同的候選序列中之胺基酸殘基或核酸殘基之百分比。目的為測定胺基酸序列一致性百分比或核酸一致性百分比之比對可以在此項技術之技能範圍內的不同方式達成，例如使用公開可用的電腦軟體，諸如Clustal Omega、BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2或Megalign (DNASTAR)軟體，其中BLAST為優先選擇的比對算法。熟習此項技術者可確定對於量測比對而言適當的參數，包括在所比較之序列的全長上達成最大比對所需之任何演算法，但為簡單起見，可較佳使用預設參數。

介白素-10 (IL-10)及IL-10遞送構築體

【0240】 本發明涵蓋用於向個體遞送IL-10之組合物及方法。如先前所述，IL-10為為消炎性細胞介素，其可限制由感染或發炎引起的組織損傷，使IL-10成為對於治療藥物開發有吸引力的蛋白質。人類IL-10主要以均二聚體形式存在於溶液中，其中IL-10之兩個次單位為非共價結合的，且各次單位含有兩個鏈內二硫鍵。二聚體結構之破壞，諸如藉由此等二硫鍵之還原或亞硫酸分解可使得次單位解離以產生IL-10之單體或其聚集體，該等單體或聚集體可不具有二聚體之生物活性。與二聚體形式之

IL-10相關的生物活性可包含誘導促炎性細胞介素，諸如腫瘤壞死因子α (TNFα)、介白素-1β (IL-1β)、介白素-12 (IL-12)及介白素-6 (IL-6)。與二聚體形式之IL-10相關的生物活性可包含下調Th1細胞介素、MHC II類抗原及共刺激分子於巨噬細胞上之表現；增強B細胞存活、增殖及抗體生產；阻斷NF-κB活性；及調節JAK-STAT路徑。

【0241】 本文涵蓋包含IL-10之配方，其中較高程度之IL-10維持於二聚體形式。本文進一步涵蓋用於改良含IL-10之構築體之再摺疊效率的再摺疊溶液及方法，以及進一步產生高含量之可存在於乾(例如凍乾)藥物物質以及最終口服配方中之二聚體的後續純化方法。**實例3**含有例示性再摺疊方案。**實例4**含有例示性純化方案。**實例5**含有例示性凍乾方案及凍乾前及凍乾後組合物之所得二聚體含量。

【0242】 在一些實施例中，IL-10分子偶聯至可將腸上皮細胞，或極化上皮細胞遞送穿過IL-10之載體。此係稱為IL-10遞送構築體。較佳地，偶聯至載體之IL-10呈二聚體形式。在一些情況下，二聚體為均二聚體。在一些情況下，二聚體為雜二聚體。在一些情況下，雜二聚體可包含第一IL-10單體及序列與第一IL-10單體不同的變異IL-10單體，以形成二聚IL-10。當IL-10呈二聚體形式時，單一單體或兩種單體可偶聯至載體。在一個實施例中，各IL-10獨立地偶聯至載體。IL-10遞送構築體二聚體可由**圖1**說明。IL-10遞送構築體均二聚體**100**可包含兩個IL-10遞送構築體(例如SEQ ID NO: 5)，各遞送構築體包含經間隔子**102**連接至載體之IL-10 **101**。載體可包含結合域**103**及易位域**104**。

【0243】 組合物中之二聚體%可描述二聚體中之IL-10遞送構築體之總數目的百分比。舉例而言，當組合物具有IL-10/載體融合蛋白之三個複

本時，其中之兩者形成二聚體，67%之遞送構築體可被視為呈二聚體形式。

【0244】IL-10可為人類IL-10。人類IL-10可包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。IL-10之變異體包括相比於參考序列具有一或多個胺基酸取代、添加及/或缺失之彼等。IL-10之變異體可在藉由結腸內噴霧向食蟹獼猴投與之後保留上調結腸組織或血清中之IL-1Ra的能力。在一些情況下，IL-10或SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之變異體涵蓋於本文所述之組合物及方法中。IL-10或SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2之變異體可為與其或其片段具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%%序列一致性之胺基酸序列。IL-10之變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1在N36、N36、D73、I87、N110、N115、K117、R128、F129及N172中之一或多者處之胺基酸取代。IL-10之變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1之一或多個胺基酸取代，諸如N36Y、N36I、D73V、I87M、N110I、N115K、K117N、R128W、F129L及N172H。在一些情況下，IL-10變異體可包含N36Y、N110I、K117N及N172H取代。在一些情況下，IL-10變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1之N36Y、D73V、I87M、N110I、N115K及R128W。在一些情況下，IL-10變異體可包含相對於SEQ ID NO: 1之N36I、N110I、K117N及F129L。

【0245】載體可為蛋白質或另一類型之分子，其能夠將異源負載物轉運穿過上皮細胞(例如個體，諸如人類之極化腸上皮細胞)或轉運至上皮細胞中。此類轉運可包括胞移作用。胞吞轉運過程可涉及載體與一或多種受體及/或蛋白質在頂表面及/或底表面上以及上皮細胞(例如極化腸上皮細

胞)內部之相互作用。載體可能夠將上皮細胞轉運穿過異源負載物，諸如IL-10，而不損害上皮細胞、載體及/或負載物之生物及/或治療功能。

【0246】 在一些實施例中，本文中之載體利用內源運輸路徑將與其偶聯之異源負載物轉運穿過極化上皮細胞。此類載體可在本文中稱為胞吞轉運載體。在一些情況下，本文中之載體可利用內源運輸路徑將與其偶聯之異源負載物轉運至極化上皮細胞中。此類載體在本文中可稱為胞吞載體。在胞吞載體內，可存在將與其偶聯之負載物遞送至極化上皮細胞內之特定區域中的載體，該等特定區域諸如頂室、核上室或基底室。

【0247】 本文中之載體中之任一者可藉由與此類上皮之一或多種內源蛋白質的相互作用及/或共定位來轉運與其偶聯之分子。一或多種內源蛋白質可為能夠將載體移動至上皮細胞中或穿過上皮細胞之受體或酶。與上皮細胞之一或多種內源蛋白質的相互作用及/或共定位可為載體提供一或多種功能，包括胞吞至上皮細胞中、回避溶酶體破壞途徑、自頂室遷移至基底室及/或自上皮細胞之基底膜胞泄至黏膜下層室(諸如固有層)中。

【0248】 載體可衍生自藉由細菌分泌之多肽。此類載體可衍生自藉由霍亂弧菌(*Vibrio Cholerae*)或綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)分泌之多肽。在一些實施例中，該載體為cholix多肽。在一些實施例中，載體為藉由霍亂弧菌分泌之cholix多肽，而在其他實施例中，cholix多肽為其變異體或衍生自一些其他物種。cholix多肽(例如分泌自霍亂弧菌之cholix多肽或其變異體)可例如包含**表2**之SEQ ID NO: 20-146中之任一者之序列。**表4**藉由鑑別此類載體之各種胺基酸殘基序列及SEQ ID NO20-147可截短之C端位置來說明例示性載體。在一些實施例中，cholix多肽不包含SEQ ID NO: 126或不由其組成。cholix多肽可包括天然及非天然存在之

cholix多肽序列，以及與本文所述之天然(例如SEQ ID NO: 20-78或130-146)或非天然(例如SEQ ID NO: 3或11)存在之cholix多肽具有至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%序列一致性之彼等序列。cholix多肽亦可包括天然及非天然存在之cholix多肽序列之胞吞及/或胞吞轉運片段(例如cholix多肽之N端及/或C端截短)，其中此類胞吞及/或胞吞轉運片段可與此類天然或非天然存在之cholix多肽序列中之任一者具有至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%序列一致性。

【0249】 **表3**提供可用作本文中之載體的cholix衍生之多肽之共同序列(SEQ ID NO: 147，**式I**)。

【0250】 舉例而言，非天然存在之cholix多肽可包括SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 11中所闡述之胺基酸序列或由其組成(**表1**)。cholix多肽載體可為全長cholix多肽之截短及/或突變變異體。胞吞轉運載體之實例可包括具有SEQ ID NO 3、11、20-78或130-146中之任一者之C端截短之彼等，其中C端截短可出現於位置195處之C端殘基之後的任何胺基酸位置處之多肽的C端(例如SEQ ID NO: 3或11之位置195-634中之任一者處之截短)。可使用與共同序列SEQ ID NO: 147或參考序列SEQ ID NO: 3或11中之任一者的序列比對來確定截短之胺基酸位置。下**表4**說明例示性載體中包括之胺基酸範圍且鑑別SEQ ID NO 3、11、20-78或130-146可截短之不同C端位置。在一些情況下，胞吞轉運載體包括具有SEQ ID NO 3、11、20-78或130-146中之任一者的C端截短之彼等。

【0251】 載體可為非天然存在之較長cholix多肽的截短型。舉例而言，載體可具有包含SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 11之胺基酸殘基1-

206、1-245、1-251、1-266及1-386或由其組成之胺基酸序列。非天然存在之變異體中之突變可包括相對於天然存在之cholix多肽的一或多個取代、缺失及/或添加。在一些實施例中，本文中之載體可包含V1L取代。換言之，在一些實施例中，cholix相關載體在位置「1」處具有白胺酸胺基酸。(位置1通常係指不具有N端甲硫胺酸之變異體之第一胺基酸或包括N端甲硫胺酸之變異體中之第二位置。換言之，在測定載體之長度時，可忽略N端甲硫胺酸(若存在))。在一些實施例中，包含V1L取代之載體經歷N-端胺基酸之裂解減少或消去。在一些實施例中，包含V1L取代之載體經歷N-端胺基酸之乙醯化減少或消去。相對於天然存在之cholix變體，本文所提供之載體可具有降低(例如降低至少50%)或削磨之ADP核糖基化活性(例如延長因子2之核糖基化)。在一些實施例中，載體可包含N-端甲硫胺酸。在其他實施例中，不存在N-端甲硫胺酸。

【0252】本文中之載體可具有降低(例如降低至少50%)或削磨之ADP核糖基化活性(例如延長因子2之核糖基化)。載體可為衍生自cholix之多肽或其變異體，相比於參考序列，例如SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 11在位置206至633中之任一者處進一步截短。能夠經由胞吞轉運來轉運異源負載物，諸如IL-10遞送構築體的cholix蛋白之截短(例如SEQ ID NO: 147或其變異體之截短)可稱為功能片段。載體亦包括與本文中之載體序列中之任一者具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%序列一致性的以上中之任一者之變異體。在一個實例中，載體包含SEQ ID NO: 3。在另一實例中，載體包含SEQ ID NO: 4。本文中之載體中之任一者可單獨或與N端甲硫胺酸組合具有V1L取代。在一個實例中，載體包含SEQ ID NO: 11。在一個實例中，載體包含SEQ ID NO: 12。載體亦包括與本文中

之序列中之任一者具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%序列一致性的以上中之任一者之變異體。

【0253】 載體可共價或非共價、直接地或間接地偶聯至IL-10。當IL-10共價偶聯至載體時，其可直接或經由間隔子偶聯至載體。IL-10可偶聯至載體之C端或N端。當間隔子用於將IL-10偶聯至載體時，間隔子可包括一或多個胺基酸。本文中涵蓋之間隔子之實例包括寡肽序列，諸如S、$(GS)_x$、$(GGS)_x$、$(GGGS)_x$(SEQ ID NO: 7)、$(GGGGS)_x$ (SEQ ID NO: 8)或$(GGGGGS)_x$ (SEQ ID NO: 9)，其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15。在一些情況下，間隔子不包括與IL-10序列，例如SEQ ID NO: 6 (GGGGSGGGGSGGGG)相鄰之S殘基。

【0254】 載體及/或IL-10可在其N端及/或C端進一步包含一或多個修飾。此類修飾可包括N端甲硫胺酸殘基或表現於異源系統中之其他已知殘基。

【0255】 IL-10遞送構築體可與固有層中表現CD3之細胞共定位。表現CD3之細胞可為淋巴細胞。淋巴細胞可為T細胞。在一些實施例中，IL-10遞送構築體不與固有層中表現CD11c (例如樹突狀細胞)、CD19 (例如B淋巴細胞)或CD34 (例如內皮細胞)之細胞共定位。IL-10遞送構築體可與固有層中之巨噬細胞共定位。IL-10遞送構築體與細胞之共定位可包含IL-10遞送構築體與細胞表面上之受體的相互作用或結合。載體或IL-10遞送構築體之IL-10可與受體相互作用或結合。

【0256】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。IL-10遞送構築體可與SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、

95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，IL-10遞送構築體包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。IL-10遞送構築體可與SEQ ID NO: 13中所闡述之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。IL-10視情況連同如本文所提供之一或多種載體及一或多種間隔子之表現及純化可使得二聚IL-10遞送構築體之濃度大幅提高。在一個實例中，SEQ ID NO: 5之表現及純化可產生包含大於80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%呈二聚體形式之IL-10的組合物。在另一實例中，SEQ ID NO: 13之表現及純化可產生包含大於80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%呈二聚體形式之IL-10的組合物。此類IL-10可為M-hIL10或M-cholix^{386}-IL-10，其中hIL-10或cholix^{386}-IL-10包含N端甲硫胺酸(M)。或者，85%至90%、85%至92%或85%至95%之IL-10呈二聚體形式。

【0257】 在一些實施例中，2%至5%之IL-10呈聚集體形式。在一些實施例中，不超過2%、3%、4%或5%之IL-10呈聚集體形式。在一些實施例中，5%至7%或6%至7%之IL-10呈單體形式。在一些實施例中，不超過5%、6%、7%或8%之IL-10呈單體形式。

【0258】 尺寸排阻層析(SE-HPLC)可用於表徵IL-10遞送構築體之尺寸分佈。可藉由SEC-HPLC測定液體組合物或凍乾組合物(若在液體中復原)中以二聚體、單體及聚集體形式發現之IL-10遞送構築體的百分比**(圖34)**。

【0259】本文進一步描述非天然存在之核酸，其包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：SEQ ID NO: 10中所闡述之核酸序列，或與SEQ ID NO: 10具有至少90%、至少92%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之核酸序列。核酸可經密碼子最佳化。核酸可由載體編碼。載體可為質體或病毒載體。病毒載體可為慢病毒、腺病毒、腺相關病毒(AAV)、反轉錄病毒或單純疱疹病毒。載體可為複製勝任型或非複製勝任型。載體可為整合載體或非整合載體。細胞可經本文所述之載體中之任一者轉形。細胞可為細菌細胞。細菌細胞可為大腸桿菌細胞。細胞可為酵母細胞。酵母細胞可為釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)細胞。

表1-序列

SEQ ID NO:	**描述**	**序列**
SEQ ID NO: 1	IL-10	MHSSALLCCLVLLTGVRASPGQGTQSENSCTHFPGNLP NMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSL GENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKL QEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
SEQ ID NO: 2	IL-10，分泌活性形式	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQ MKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEE VMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLRRCHRFL PCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIE AYMTMKIRN
SEQ ID NO: 3	非天然存在之cholix變異體	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLP ENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYH GTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPE SAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEA VAKEQSISTKPPYKERKDELK
SEQ ID NO: 4	非天然存在之cholix變異	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY

	體(cholix^{386})	VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QA
SEQ ID NO: 5	IL-10遞送構築體	MVEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDE GVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRH YVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWL VPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLE QWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDN WFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNA MSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQ NIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRR INENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG AQAGGGGSGGGGSGGGGSPGQGTQSENSCTHFPGNLP NMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSL GENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKL QEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
SEQ ID NO: 6	間隔子	GGGGSGGGGSGGGG
SEQ ID NO: 10	編碼IL-10遞送構築體之DNA序列	ATGGTAGAAGAAGCGCTGAATATTTTTGACGAGTGTC GTAGCCCGTGTAGCCTGACTCCGGAACCGGGCAAGC CGATTCAGTCCAAACTGTCTATCCCGAGCGACGTTGT GCTGGATGAGGGCGTGTTGTATTACAGCATGACGATC AATGATGAGCAAAACGACATCAAAGACGAAGATAAG GGTGAGTCTATTATCACCATTGGCGAGTTTGCGACGG TGCGTGCAACGCGCCATTACGTGAATCAAGACGCGC CGTTTGGTGTCATTCACCTGGATATCACGACCGAAAA TGGCACGAAAACCTATTCGTATAATCGCAAAGAGGGC GAGTTCGCGATCAACTGGCTGGTTCCGATCGGTGAG GATAGCCCGGCGAGCATCAAGATCAGCGTTGATGAA CTGGATCAGCAGCGCAACATTATTGAAGTCCCGAAGT TGTATAGCATCGACCTGGATAATCAGACCCTGGAGCA GTGGAAAACCCAGGGTAACGTTAGCTTCTCCGTGAC CCGTCCGGAGCACAACATTGCCATTAGCTGGCCGAG CGTTAGCTACAAAGCCGCACAGAAAGAGGGTTCCCG CCACAAGCGTTGGGCTCATTGGCATACCGGTTTGGCG CTGTGTTGGCTGGTGCCGATGGATGCGATCTATAACT ACATCACGCAGCAAAATTGCACGCTGGGTGACAATT GGTTCGGTGGCAGCTACGAGACTGTGGCGGGTACCC CTAAGGTTATTACCGTCAAACAGGGTATTGAGCAAAA GCCTGTCGAGCAGCGTATCCACTTTAGCAAGGGTAAC GCCATGTCTGCTCTGGCGGCTCATAGAGTTTGCGGCG TTCCGCTGGAGACTCTGGCCCGTTCCCGCAAGCCGC GTGACCTGACCGATGACCTGAGCTGCGCGTATCAAG CGCAAAACATTGTTAGCTTATTCGTTGCGACGCGCAT

		TTTGTTTTCGCACCTGGATAGCGTGTTCACGCTGAAC CTGGATGAACAGGAACCAGAAGTGGCAGAGCGTCTG TCAGATCTGCGTCGTATCAACGAAAACAACCCGGGC ATGGTTACCCAGGTCCTTACGGTTGCACGCCAGATTT ACAATGATTACGTGACCCATCACCCGGGTCTGACCCC AGAACAAACCAGCGCAGGCGCACAAGCGGGTGGCG GTGGTTCCGGTGGCGGTGGTAGCGGTGGCGGTGGTA GCCCTGGTCAAGGCACCCAATCCGAGAATAGCTGCA CGCATTTTCCAGGCAATCTGCCGAATATGCTGCGTGA CCTCCGCGACGCGTTCTCTCGTGTTAAGACCTTTTTT CAGATGAAAGACCAGCTGGACAATCTGCTGCTGAAA GAATCCCTGCTGGAAGATTTCAAAGGCTATCTGGGTT GCCAGGCCCTGAGCGAGATGATCCAATTCTACTTGGA AGAGGTCATGCCGCAGGCCGAAAATCAAGACCCGGA CATCAAGGCACACGTGAACAGCTTGGGCGAAAACCT GAAAACCCTGCGTTTGCGCCTGCGTCGTTGTCACCGT TTCCTGCCGTGCGAGAATAAGAGCAAAGCCGTCGAA CAAGTCAAAAATGCATTCAACAAGCTGCAAGAGAAA GGTATCTACAAGGCTATGAGCGAGTTTGACATTTTCA TTAACTACATTGAAGCGTACATGACCATGAAGATCCG TAAC
SEQ ID NO: 11	非天然存在之cholix變異體(V1L)	LEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLP ENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYH GTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPE SAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEA VAKEQSISTKPPYKERKDELK
SEQ ID NO: 12	非天然存在之cholix變異體 (cholix^{386}) (V1L)	LEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEG VLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHY VNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLV PIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH KRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNW FGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAM SALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRIN ENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGA QA
SEQ ID NO: 13	IL-10遞送構築體 (cholix	MLEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDE GVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRH

	V1L)	YVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWL VPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLE QWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDN WFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNA MSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQ NIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRR INENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG AQAGGGGSGGGGSGGGGSPGQGTQSENSCTHFPGNLP NMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFK GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSL GENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKL QEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
SEQ ID NO: 151	Humira Fab輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 152	Humira Fab重鏈	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWV RQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
SEQ ID NO: 153	Remicade Fab輕鏈	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRT NGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVES EDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 154	Remicade Fab重鏈	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWV RQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDD SKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQ GTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT

表2-額外cholix多肽

SEQ ID NO: 130	VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF

TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 131 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAKQSIAISWPSVSY
KAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDN
WFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHR
VCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTH
HPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSG
RSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGT
GEYGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVI
GHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEEL
AIDEEAVAKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 132 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIMDEGKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTEN
GTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKL
YSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQ
KEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGG
SYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVP
LETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD
EQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTP
EQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPEN
RAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIV
NRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPT
RAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAV
AKEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 133 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYERLTPAEEAVVKEAI
AKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 134 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE

VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYERLTPAEEAVVKEAI
AKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 135 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKQIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 136 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 137 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVSTHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 138 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG

TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 139 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIHRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 140 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 141 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER

EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 142 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 143 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRMLFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
REARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 144 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARLKKGTGNAELPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITHVIGHSLPLRNEAF
TGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEVLAIDEEAVAEEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 145 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVFFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA

RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VTERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIHRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 146 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 20 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVALNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 21 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAP
EVAERLSALRQINENNPGVVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAE
RETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 22 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN

DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAER
ETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 23 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAIMVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETL
ARSRKPRYLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
PEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQT
SAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV
ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI
APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNE
AFTGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISPKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 24 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKDGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSAIRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 25 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKDGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKHCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA

PVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEA
FTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 26 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWRTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 27 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSNGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 28 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLLENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 29 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETV

AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 30 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 31 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 32 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 33
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 34
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 35
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAER
ETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 36
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAIHWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT

PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 37 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATIRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 38 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITFGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTEN
GTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKL
YSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGS
RHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYET
VAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETL
ARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQT
SAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV
ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI
APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNE
AFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 39 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH
KRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLAR
SRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEV
AERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG
AQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQ
QGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPV
PRGSDTESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKA
RGVMLRVYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFT
GTDAEEGSDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 40 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR

HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 41 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPA
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 42 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQNIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 43 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDIAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSI

STKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 44 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 45 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 46 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 47 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA

GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 48 VEDELNIFDECRSPCLLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 49 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPE
VAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVIT
PQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
EARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAF
TGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 50 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 51 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY

SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSQKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSIS
AKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 52 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 53 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 54 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE

DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 55 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 56 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 57 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVML
RVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISA
KPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 58 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP

EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGENGLPTTEEKK
SRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAFT
GPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 59 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAEVNHRYARIKEGTGENGLPTTEEKK
SRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAFT
GPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 60 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGENGLPTTEKKK
SRGVMLKVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAF
TGPESAGGENETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQS
ISAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 61 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 62 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG

TKTYSYNRKEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSISAK
PPYKERKDELK

SEQ ID NO: 63 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGENGLPTTEEKK
SRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPLRNEAFT
GPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEHDELK

SEQ ID NO: 64 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 65 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR

VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 66 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEQSIAISWPSVSYNAAHKNGSR
HKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVT
NWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGN
NTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGV
MLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESA
GGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPP
YKERKDELK

SEQ ID NO: 67 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERDARGV
MLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESA
GGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPP
YKEQKDELK

SEQ ID NO: 68 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 69 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKMYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR

DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVD
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPY
KERKDELK

SEQ ID NO: 70 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAI
TVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLQDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 71 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTE
SERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLR
VYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEG
SDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

SEQ ID NO: 72 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPLLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTE
SERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLR
VYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEG
SDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

SEQ ID NO: 73 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN

DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDD
LRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNW
TYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTE
SERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLR
VYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEG
SDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

SEQ ID NO: 74 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLFIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAIEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 75 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYS
IDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRH
KRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWYGGAYKTVAGTPKAIT
VKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRD
LPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSA
LRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDTDKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNW
TYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKE
RKDELK

SEQ ID NO: 76 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN

TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 77 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAPEVAERLS
DLRRINEDNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELETTHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 78 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKA
ITVKQGIEQKAVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNN
TENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVM
LRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPY
KEQKDELK

SEQ ID NO: 79 TPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIIT
IGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAIN
WLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQG
NVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCW
LVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPV
EQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYN
AQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPG
MVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADK
SCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQ
ALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYV
STDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLPQASLERF
YRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGWDM
AIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 80 SIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRH
YVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPAS
IKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEH
NIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYIT
QQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNA
MEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATR

ILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQ
IYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQAN
INIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVG
YHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGY
ARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENA
EEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIP
GNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 81 MTINDEQNDIMDEGKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDIT
TENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEV
PKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYK
AAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNW
FGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTL
NLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG
LTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQ
TIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYG
LPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSL
PLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEE
AVAKEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 82 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
TINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHW
HTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITV
KQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLT
DDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLR
RINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILS
LFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWT
YQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETIIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 83 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHW
HTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIT
VKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDL
TDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSAL
RQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADIL
SLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWT
YQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 84 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHW
HTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITV

KQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLT
DDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALR
QINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILS
LFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWT
YQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTE
NEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 85 MTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDIT
TENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEV
PKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHK
NGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAG
TPKAITVKQGIEQKAVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARS
RKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEV
AERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG
AQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERE
TRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT
GPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSI
SAKPPYKEQKDELK

SEQ ID NO: 86 MTINDEQNDIKDEDKGESIITIGDFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDIT
TENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVP
KLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKN
GSRHKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGT
PKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSR
KPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAE
RLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQ
AADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPR
GNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDAR
GVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGP
ERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSIST
KPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 87 CSLTPEPGKPIQSQLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
VYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 88 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL

CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 89 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 90 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLIPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 91 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
VYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRA
SLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 92 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN

QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVALNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEA
THQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWG
GLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRAS
LERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 93 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIMVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRYLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 94 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKDGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSAIRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 95 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKDGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYLTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 96 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA

INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 97 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYTRIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 98 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFYPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 99 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKT
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRA
SLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 100 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES

IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSC
AYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINEN
NPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPD
ADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELE
ATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKW
GGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPR
ASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVI
GWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 101 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 102 CSLTPELGKPIQSKLSISSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 103 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 104 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 105 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 106 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEREARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 107 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDGEDET

VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 108 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDDQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLA
LCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIE
QKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLS
CAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINE
NNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCP
DADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQEL
EATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQNIVNRIAPVPRGNNTENEEK
WGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIP
RASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 109 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGE
SIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEF
AINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWL
TTLPKVVLCFFEDPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQK
TVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENN
PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDA
DKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAT
HQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
ERFYRTNTLLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGW
DMAIHAVAIPS

SEQ ID NO: 110 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAI
NWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWETQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 111 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAI
NWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWETQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREDYVFVGYHGTNHAAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLRVYIPRASLERFY

RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 112 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQR
IHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 113 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQR
IHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAPEVAERLSDLRRINEDNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELETTHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 114 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQR
IHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
YAVAIPS

SEQ ID NO: 115 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAITVKQGIEQKTVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIV
SLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQ
VLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVA
SNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTR
EDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH

AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLRVYIPRASLERFYRT
NTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHA
VAIPS

SEQ ID NO: 116 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPGAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 117 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFA
INWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWEN
QGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKV
VLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQAL
TREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 118 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGES
IIIIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAI
NWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRI
HFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVT
QVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCV
ASNNDQANINIESRSGRSYLPENRVVITPQGVTNWTYQELDATHQAL
TREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVA
THAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFY
RTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAI
HAVAIPS

SEQ ID NO: 119 CSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFA
INWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVV
LCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIV
SLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQV
LTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVAS
NSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQ

EGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDA
SVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLPQASLERFYRIN
ADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGWDMAIHG
VAIPS

SEQ ID NO: 120 CSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGE
SIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFA
INWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQ
GNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVV
LCFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIV
SLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQV
LTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSASAQAADILSLFCPDADKSCVASN
SDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQE
GYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDAS
VAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLPQASLERFYRINA
DLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGWDMAIHGV
AIPS

SEQ ID NO: 121 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKQIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSR
HKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETV
AGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVI
TPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIA
PVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRV

SEQ ID NO: 122 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAEKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLLCPDADGSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGG

SEQ ID NO: 123 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSFNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAEKDGARH
KRWAHWHTGLALCWLVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGMEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVSLFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEP
EVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIARQIYNDYVTEHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRITPV
PRGNNTEKEEEWGG

SEQ ID NO: 124 YSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGS
RHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYET
VAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSNGNAMSALAAHRVCGVPLETL
ARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQT
SAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV
ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI
APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNE
AFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 125 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLY
SIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSR
HKRWANWLTTLPKVVLCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAI
TVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPR
DLQDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLS
ALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAA
DILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTN
WTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHV

SEQ ID NO: 126 VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTIN
DEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSI
DLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRH
KRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVA
GTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLAR
SRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEV
AERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAG
AQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIES

SEQ ID NO: 127 LFSHLDSVFTLNLHEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQI
YNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANI
NIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVG
YHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGY
ARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENA
EEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIP
GNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 128 AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVN
RIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR
AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRN
EAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVA
KEQSISTKPPYKERKDELK

SEQ ID NO: 129 AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVN
RIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR
AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRN
EAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVA
KEQSISTKPPYKERKDEL

表3-式I

SEQ ID NO: 147	X1-E-X3-X4-L-X6-I-F-D-E-C-R-S-P-C-X16-L-T-P-E-X21-G-K-X24-I-Q-S-K-L-X30-I-P-X33-D-V-V-L-D-E-G-V-L-Y-Y-S-M-T-I-N-

D-E-Q-N-D-I-X56-D-E-X59-K-G-E-S-I-I-T-X67-G-E-F-A-T-X73-R-A-T-R-H-Y-V-X81-Q-D-A-P-F-G-V-I-X90-L-D-I-T-T-E-N-G-T-K-X101-Y-S-X104-N-R-K-X108-X109-E-F-X112-I-X114-W-L-V-X118-X119-G-E-D-S-P-A-S-I-K-I-S-X131-D-E-X134-D-Q-X137-R-N-I-I-E-V-P-K-L-Y-S-I-D-L-D-N-Q-T-L-E-Q-W-X160-X161-Q-G-N-V-X166-F-X168-V-T-R-P-E-X174-X175-I-A-I-S-W-P-S-V-S-Y-X186-A-A-X189-K-X191-G-X193-R-H-K-R-W-A-X200-W-X202-T-X204-X205-X206-X207-X208-X209-L-X211-X212-X213-X214-X215-X216-X217-X218-X219-X220-X221-X222-X223-X224-C-T-X227-G-X229-X230-W-X232-G-G-X235-Y-X237-T-V-A-G-X242-P-X244-X245-I-X247-V-K-Q-G-X252-E-Q-K-X256-V-E-Q-R-I-H-F-S-X265-X266-N-A-X269-X270-X271-L-A-A-H-R-V-C-G-V-P-L-E-T-L-A-R-X288-R-K-P-R-X293-L-X295-D-D-L-X299-C-X301-Y-X303-A-Q-X306-I-V-S-L-F-X312-A-T-R-X316-L-F-X319-H-X321-D-S-X324-F-T-L-N-L-X330-X331-Q-X333-P-X335-V-X337-E-R-L-X341-X342-X343-R-X345-I-N-E-X349-N-P-G-X353-V-X355-Q-V-L-T-X360-A-R-Q-I-Y-N-D-Y-V-T-X371-H-P-X374-L-X376-P-E-Q-T-S-A-X383-A-Q-A-A-D-I-L-S-L-X393-X394-P-D-X397-D-X399-X400-C-V-A-X404-X405-X406-D-Q-A-N-I-N-X413-E-S-R-S-G-R-S-Y-L-X423-E-N-R-A-V-I-T-X431-Q-G-V-T-N-W-T-Y-Q-E-L-X443-X444-X445-H-Q-X448-L-T-X451-E-X453-Y-V-F-V-G-Y-H-G-T-N-H-X465-A-A-Q-X469-I-V-N-R-I-X475-P-V-P-R-G-X481-X482-T-E-X485-E-X487-X488-W-G-G-X492-Y-V-X495-T-X497-A-X499-X500-X501-X502-X503-Y-X505-R-X507-X508-X509-G-T-X512-X513-X514-X515-X516-X517-T-X519-X520-X521-X522-X523-X524-R-G-V-M-L-X530-V-Y-X533-X534-X535-A-S-L-E-R-F-Y-R-X544-N-X546-X547-L-E-X550-X551-X552-X553-X554-X555-X556-X557-V-I-G-H-X562-L-P-L-R-N-E-A-F-T-G-X573-X574-X575-X576-X577-G-X579-X580-E-T-X583-I-G-W-D-X588-A-I-X591-X592-V-A-I-P-S-T-I-P-G-N-X603-Y-X605-X606-L-X608-X609-X610-E-E-A-X614-A-X616-E-Q-S-I-S-X622-K-P-P-Y-K-E-X629-X630-D-E-L-K；其中X1選自由V及L組成之群；X3選自由E及D組成之群；X4選自由A及E組成之群；X6選自由N及K組成之群；X16選自由S及L組成之群；X21選自由P及L組成之群；X24選自由P及Q組成之群；X30選自由S及F組成之群；X33選自由S及G組成之群；X56選自由K及M組成之群；X59選自由D及G組成之群；X67選自由I及F組成之群；X73選自由V及I組成之群；X81選自由N及S組成之群；X90選自由H及N組成之群；X101選自由T及M組成之群；X104選自由Y及F組成之群；X108選自由E及D組成之群；X109選自由G及S組成之群；X112選自由A及T組成之群；X114選自由N及H組成之群；X118選自由P及I組成之群；X119選自由I及P組成之群；X131選自由V及I組成之群；X134選自由L及I組成之群；X137選自由Q及K組成之群；X160選自由K及E組成之群；X161選自由T及N組成之群；X166選自由S及F組成之群；X168選自由S及A組成之群；X174選自由H及Q組成之群；X175選自由N、S、SIAKQS (SEQ ID NO: 148)及SIAKQSIAKQS (SEQ ID NO: 149)組成之群；X186選自由K及N組成之群；X189選自由Q、E及H組成之群；X191選自由以下E、N及D之群；X193選自由S及A組成之群；X200選自由H及N

組成之群；X202選自由H、L、F及R組成之群；X204選自由G及T組成之群；X205選自由L及S組成之群；X206選自由A及P組成之群；X207選自由L、E及K組成之群；X208選自由C及V組成之群；X209選自由W、v及T組成之群；X211選自由V及無胺基酸組成之群；X212選自由P及無胺基酸組成之群；X213選自由M、I、L及無胺基酸組成之群；X214選自由D及無胺基酸組成之群；X215選自由A及無胺基酸組成之群；X216選自由I及無胺基酸組成之群；X217選自由Y及C組成之群；X218選自由N及F組成之群；X219選自由Y及F組成之群；X220選自由I及E組成之群；X221選自由T及D組成之群；X222選自由Q及P組成之群；X223選自由Q、E及A組成之群；X224選自由N、L及Q組成之群；X227選自由L及Y組成之群；X229選自由D及E組成之群；X230選自由N及D組成之群；X232選自由F、H及Y組成之群；X235選自由S及A組成之群；X237選自由E及K組成之群；X242選自由T及I組成之群；X244選自由K、E及G組成之群；X245選自由V及A組成之群；X247選自由T及M組成之群；X252選自由I及M組成之群；X256選自由P、T及A組成之群；X265選自由K、Q及N組成之群；X266選自由G及K組成之群；X269選自由M及I組成之群；X270選自由S及E組成之群；X271選自由A及T組成之群；X288選自由S及G組成之群；X293選自由D及Y組成之群；X295選自由T、P及Q組成之群；X299選自由S及Q組成之群；X301選自由A及V組成之群；X303選自由Q及N組成之群；X306選自由N及Q組成之群；X312選自由V及L組成之群；X316選自由I及M組成之群；X319選自由S及T組成之群；X321選自由L及I組成之群；X324選自由V及I組成之群；X330選自由D、E及H組成之群；X331選自由E及G組成之群；X333選自由E及A組成之群；X335選自由E及A組成之群；X337選自由A及T組成之群；X341選自由S、D及T組成之群；X342選自由D及A組成之群；X343選自由L及I組成之群；X345選自由R及Q組成之群；X349選自由N及D組成之群；X353選自由M及V組成之群；X355選自由T及I組成之群；X360選自由V及I組成之群；X371選自由H及E組成之群；X374選自由G及L組成之群；X376選自由T及I組成之群；X383選自由G及S組成之群；X393選自由F及L組成之群；X394選自由C及Y組成之群；X397選自由A及T組成之群；X399選自由K、E及G組成之群；X400選自由S、P及H組成之群；X404選自由S及L組成之群；X405選自由N及D組成之群；X406選自由N及S組成之群；X413選自由I及V組成之群；X423選自由P及L組成之群；X431選自由P及Q組成之群；X443選自由E及D組成之群；X444選自由A及T組成之群；X445選自由T及K組成之群；X448選自由A及T組成之群；X451選自由R及Q組成之群；X453選自由G及D組成之群；X465選自由V及A組成之群；X469選自由T、S及N組成之群；X475選自由A、S及T組成之群；X481選自由N及S組成之群；X482選自由N及D組成之群；X485選自由N、S及K組成之群；X487選自由E、R及K組成之群；X488選自由K、A及E組成之群；X492選自由L及V組成之群；X495選自由

A及S下組成之群；X497選自由H及D組成之群；X499選自由E及S組成之群；X500選自由V及L組成之群；X501選自由A及N組成之群；X502選自由H及Y組成之群；X503選自由G及R組成之群；X505選自由A及T組成之群；X507選自由I及L組成之群；X508選自由K及Q組成之群；X509選自由E及K組成之群；X512選自由G及A組成之群；X513選自由E、D及N組成之群；X514選自由Y、G、A及N組成之群；X515選自由G及E組成之群；X516選自由L及G組成之群；X517選自由P及L組成之群；X519選自由R、P及T組成之群；X520選自由A及E組成之群；X521選自由E及K組成之群；X522選自由R、Q及K組成之群；X523選自由D、K及E組成之群；X524選自由A、T及S組成之群；X530選自由R及K組成之群；X533選自由I及L組成之群；X534選自由P及H組成之群；X535選自由R及Q組成之群；X544選自由T及I組成之群；X546選自由T、A及I組成之群；X547選自由對及D組成之群；X550選自由N及K組成之群；X551選自由A及E組成之群；X552選自由E、R及D組成之群；X553選自由E、N及R組成之群；X554選自由H及L組成之群；X555選自由I及V組成之群；X556選自由T及E組成之群；X557選自由Q、R H及D組成之群；X562選自由S及P組成之群；X573選自由P及T組成之群；X574選自由E及D組成之群；X575選自由S、A及R組成之群；X576選自由A、E及V組成之群；X577選自由G、E及D組成之群；X579選自由E及S組成之群；X580選自由D及N組成之群；X583選自由V及A組成之群；X588選自由M及I組成之群；X591選自由H及Y組成之群；X592選自由A及G組成之群；X603選自由A及S組成之群；X605選自由E及A組成之群；X606選自由E、A、Q、G、V及R組成之群；X608選自由A、P及T組成之群；X609選自由I、T及P組成之群；X610選自由D及A組成之群；X614選自由V及VVKEAI (SEQ ID NO: 150)組成之群；X616選自由K及E組成之群；X622選自由T、A及P組成之群；且X629選自由R、Q及H組成之群；且X630選自由K及無胺基酸組成之群。

表4-鑑別SEQ ID NO: 20-147中之任一者之胺基酸殘基的例示性胞吞轉運載體

AA殘基	AA殘基	AA殘基
1-195	1-269	1-343
1-196	1-270	1-344
1-197	1-271	1-345
1-198	1-272	1-346
1-199	1-273	1-347
1-200	1-274	1-348
1-201	1-275	1-349
1-202	1-276	1-350
1-203	1-277	1-351
1-204	1-278	1-352
1-205	1-279	1-353
1-206	1-280	1-354

1-207	1-281	1-355
1-208	1-282	1-356
1-209	1-283	1-357
1-210	1-284	1-358
1-211	1-285	1-359
1-212	1-286	1-360
1-213	1-287	1-361
1-214	1-288	1-362
1-215	1-289	1-363
1-216	1-290	1-364
1-217	1-291	1-365
1-218	1-292	1-366
1-219	1-293	1-367
1-220	1-294	1-368
1-221	1-295	1-369
1-222	1-296	1-370
1-223	1-297	1-371
1-224	1-298	1-372
1-225	1-299	1-373
1-226	1-300	1-374
1-227	1-301	1-375
1-228	1-302	1-376
1-229	1-303	1-377
1-230	1-304	1-378
1-231	1-305	1-379
1-232	1-306	1-380
1-233	1-307	1-381
1-234	1-308	1-382
1-235	1-309	1-383
1-236	1-310	1-384
1-237	1-311	1-385
1-238	1-312	1-386
1-239	1-313	1-387
1-240	1-314	1-388
1-241	1-315	1-389
1-242	1-316	1-390
1-243	1-317	1-391
1-244	1-318	1-392
1-245	1-319	1-393
1-246	1-320	1-394
1-247	1-321	1-395
1-248	1-322	1-396
1-249	1-323	1-397
1-250	1-324	1-398
1-251	1-325	1-399
1-252	1-326	1-400
1-253	1-327	1-401
1-254	1-328	1-402
1-255	1-329	1-403
1-256	1-330	1-404
1-257	1-331	1-405

1-258
1-259
1-260
1-261
1-262
1-263
1-264
1-265
1-266
1-267
1-268
1-332
1-333
1-334
1-335
1-336
1-337
1-338
1-339
1-340
1-341
1-342
1-406
1-407
1-408
1-409
1-410
1-411
1-412
1-413
1-414
1-415

製造方法

【0260】 在一個實施例中，可根據**圖2A**中概述之方法進行(例如IL-10遞送構築體之)表現、分離、純化及再摺疊。在另一實施例中，可根據**圖2B**中概述之方法進行(例如IL-10遞送構築體之)表現、分離、純化及再摺疊。

【0261】 在**圖2A**之步驟**201**或**圖2B**之步驟**301**中，細胞經工程化及培養以藉由用編碼IL-10遞送構築體之質體轉形細胞而以重組方式表現IL-10遞送構築體，諸如SEQ ID NO: 5。在一些實施例中，質體包括對應於SEQ ID NO. 10中之序列(或與其具有至少90%、至少92%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之序列)的核酸，其為用於細菌中之表現的密碼子改良序列。質體可進一步包含針對抗生素耐藥性之標記。質體可賦予耐藥性之抗生素可為康黴素、安比西林、四環素或氯黴素。在一些情況下，細胞為細菌細胞。細菌可為大腸桿菌(*Escherichia coli*)。轉形細胞可經進一步擴增。轉形細胞之擴增可為無性擴增。擴增之細胞可轉移至生產用生物反應器中進行醱酵。醱酵可在1500 L生物反應器中進行。在一些實施例中，醱酵在質體賦予耐藥性之抗生素存在下進行。生產醱酵可包含細胞生長期後跟表現期。表現期可包含使用異丙基β-D-1-硫代半乳糖苷(IPTG)作為誘導劑。IL-10遞送構築體可以不溶性包涵體形式在細胞內表

現。在生產結束時，可藉由離心收穫細胞。此離心可產生包含細胞之第一離心塊。第一離心塊可再懸浮於第一緩衝液中。第一緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第一緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第一緩衝液可進一步包含15 mM至25 mM EDTA，較佳20 mM EDTA。第一離心塊與第一緩衝液中細胞之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。第一離心塊可在第一緩衝液中混合50至70分鐘，較佳60分鐘，直至獲得均質混合物。

【0262】 在**圖2A**之步驟**202**或**圖2B**之步驟**302**中，經培養細胞例如藉由溶解破壞，以釋放包涵體。溶解可包含高壓均質化。高壓均質化可在微流化床中進行。高壓均質化可在16,000至20,000 psi，或約18,000 psi下進行。可進行兩輪溶解以確保基本上所有細胞已溶解。溶解之細胞可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行30至50分鐘，或約40分鐘，且可產生第二離心塊。

【0263】 可移除上清液，且可將第二離心塊再懸浮於第二緩衝液中。第二緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第二緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第二緩衝液可進一步包含15 mM至25 mM EDTA，較佳20 mM EDTA。第二緩衝液可進一步包含2%至3%、較佳2.5% Trion X-100。第二緩衝液可進一步包含450 mM至550 mM、較佳500 mM NaCl。第二離心塊與第二緩衝液之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。再懸浮於第二緩衝液中之第二離心塊可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行15至25分鐘，或約20分鐘，且可產生第三離心塊。

【0264】 可移除上清液，且可將第三離心塊再懸浮於第三緩衝液

中。第三緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第三緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第三緩衝液可進一步包含15 mM至25 mM EDTA，較佳20 mM EDTA。第三離心塊與第三緩衝液之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。再懸浮於第三緩衝液中之第三離心塊可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行15至25分鐘，或約20分鐘，且可產生第四離心塊。

【0265】 可移除上清液，且可將第四離心塊再懸浮於第四緩衝液中。第四緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。第四緩衝液可在pH 7.5至8.5範圍內變化，較佳為pH 8.0。第四離心塊與第四緩衝液之重量比可為1:4至1:6，較佳1:5。再懸浮第四緩衝液中之第四離心塊可在6000至10,000 rpm，或約8000 rpm下離心。離心可進行35至55分鐘，或約45分鐘，且可產生第五離心塊。第五離心塊可含有包含IL-10遞送複合物之包涵體。包含IL-10遞送構築體之第五離心塊可在進一步使用之前冷凍。構築體可在-15℃至-25℃、較佳-20℃下冷凍。

【0266】 在**圖2A**之步驟**203**或**圖2B**之步驟**303**中，使用溶解溶液來溶解具有IL-10遞送構築體之包涵體。溶解溶液可包含離液劑。溶解溶液可包含濃度為5 M至8 M、6 M至7 M、約6.6 M或約6 M之離液劑。離液劑可包含鹽酸胍、脲或其組合。離液劑可包含胍之鹽酸鹽。溶解溶液可進一步包含Tris。溶解溶液可包含濃度為40 mM至60 mM，或約50 mM之Tris。溶解溶液可在pH 7至9或約8下。溶解溶液可添加至在細胞溶解之後獲得的包含10遞送構築體之離心塊。包含IL-10遞送構築體之離心塊與溶解溶液之比可為1:8至1:12或約1:10 (w/w)。可使溶解作用混合至少或大約60分鐘。

【0267】 在一些實施例中，如**圖2A**之步驟**204**中所示，IL-10遞送構築體係藉由亞硫酸分解劑或還原劑修飾。此類修飾可與步驟**203**中所描繪之包涵體溶解同時或在其之後進行。在一些情況下，在包涵體與溶解溶液接觸之前將亞硫酸分解劑或還原劑添加至溶解溶液。在此類情況下，溶解及亞硫酸分解/還原步驟可同時進行。在其他實施例中，包涵體首先溶解於溶解溶液中，且隨後添加亞硫酸分解劑或還原劑。換言之，可在IL-10遞送構築體已基本上溶解之後添加亞硫酸分解劑或還原劑。在一些實施例中，亞硫酸分解劑包含亞硫酸鈉。舉例而言，在一些實施例中，可包含將亞硫酸鈉添加至溶解溶液。在一些實施例中，將30 mM至50 mM、35 mM至45 mM、38 mM至42 mM或約40 mM亞硫酸鈉添加至溶解溶液。在一些實施例中，方法包含將包含亞硫酸鈉之溶解溶液培育25至35分鐘，或更佳約30分鐘。培育包含亞硫酸鈉之溶解溶液可在室溫下進行。連四硫酸鉀可接著添加至溶解溶液。可在添加亞硫酸鈉之後將連四硫酸鉀添加至溶解溶液。在一些實施例中，將23 mM至43 mM、28 mM至38 mM、31 mM至35 mM或約33 mM連四硫酸鉀添加至溶解溶液。可將連四硫酸鉀與溶解溶液混合55至65分鐘或約60分鐘。此混合及培育可在室溫下進行。相對於DTT用於破壞二硫鍵時，可在亞硫酸分解劑用於破壞二硫鍵時獲得二聚體形式之IL-10遞送構築體的更高產率。舉例而言，相比於DTT用於還原/破壞時在再摺疊之後獲得的產率，使用亞硫酸分解劑在再摺疊之後產生的二聚體形式之IL-10遞送構築體之產率可高至少2倍。舉例而言，當使用DTT IL-10處理遞送構築體以進行還原時，IL-10遞送構築體之所得產率之小於5%可呈二聚體形式，而使用亞硫酸分解劑處理IL-10遞送構築體可使得IL-10遞送構築體之所得產率之大於10%呈二聚體形式。

【0268】 在一些實施例中，**圖2A**中之步驟**204**為視情況存在的(或明確不存在的)。換言之，在一些實施例中，溶解之IL-10、IL-10遞送構築體或含有IL-10或IL-10遞送構築體之溶解之包涵體係在不用還原劑或亞硫酸分解劑處理或與其接觸的情況下處理(例如澄清、濃縮及/或遞送至再摺疊溶液)(**圖2B**)。換言之，在一些實施例中，包涵體(IB)係用離液劑溶解且隨後稀釋至再摺疊溶液(例如氧化還原混合液)中而不使包涵體經受還原劑或亞硫酸分解劑。

【0269】 方法可包含澄清經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體以產生澄清之IL-10遞送構築體(**圖2A**中之步驟**205**或**圖2B**中之步驟**304**)。澄清可包含在溶解及亞硫酸分解之後移除殘餘不溶性材料且可在後續下游純化步驟之前進行。澄清可包含深度過濾。澄清可包含初步澄清。初步澄清可包含經由標稱定額為0.5 μm至10 μm之過濾器過濾經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體。澄清可包含二次澄清。二次澄清可在初步澄清之後進行。二次澄清可包含經由過濾器，諸如標稱定額為0.2 μm至2 μm之過濾器過濾經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體。方法可進一步包含對經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體進行無菌過濾。無菌過濾可包含經由孔徑為0.1 μm至0.3 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。進行無菌過濾可在澄清之後進行。

【0270】 方法可包含在澄清與再摺疊步驟之間進行切向流過濾步驟。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含**圖2A**中之步驟**206**的第一切向流過濾(TFF-1)。方法可包含在經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體的澄清與再摺疊步驟之間進行切向流過濾步驟。在一些實施例中，當不使用亞硫酸分解劑時，方法不包含澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾

步驟(**圖2B**)。換言之，在一些實施例中，當步驟**205**亦不存在時，步驟**206**明確不存在(**圖2A**)。

【0271】 在一些情況下，相比於使用亞硫酸分解劑或還原劑之溶解，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化產生更高的IL-10遞送構築體二聚體百分比。在一些情況下，相比於藉由亞硫酸分解或還原劑之溶解，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化產生更高的IL-10遞送構築體產率。在一些情況下，相比於使用亞硫酸分解劑或還原劑之溶解，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化產生更少的IL-10遞送構築體HMW聚集體。

【0272】 此外，在一些實施例中，在不使用亞硫酸分解劑或還原劑之情況下的純化不需要澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟，其可使純化過程縮短約1或2天。相對於包括澄清與再摺疊步驟之間的亞硫酸分解及切向流過濾步驟的純化過程，不進行澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可防止損失10%至40%、10%至15%、15%至30%或30%至35%之經純化IL-10遞送構築體。

【0273】 澄清與再摺疊步驟之間的第一切向流過濾步驟可在澄清之後進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可在經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體之無菌過濾之後進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾。超濾可包含將IL-10遞送構築體濃縮至15 mg/mL至25 mg/mL、18 mg/mL至22 mg/mL或約20 mg/mL。超濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含透濾。透濾可在超濾之後進行。澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾及透濾(UF/DF)。透濾可包含第一

透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積。第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積可包含緩衝液。緩衝液可包含離液劑。緩衝液可包含3.5 M至4.5 M、較佳4 M離液劑。離液劑可為鹽酸胍。緩衝液可包含Tris。緩衝液可包含40 mM至60 mM、較佳50 mM Tris。緩衝液之pH可為7至8.5。透濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。

【0274】 方法可包含使經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體與再摺疊溶液接觸以產生再摺疊之IL-10遞送構築體(**圖2A**中之步驟**207**或**圖2B**中之步驟**305**)。經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體可在滲餘物中，該滲餘物在經溶解及/或還原之IL-10遞送構築體之澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得。再摺疊溶液可包含還原麩胱甘肽及氧化麩胱甘肽。還原麩胱甘肽與氧化麩胱甘肽之比(w/w)可為0.8:1至1.2:1，較佳1:1。還原麩胱甘肽與氧化麩胱甘肽之莫耳比可為0.8:2至1.1:2，較佳1:2。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.75 mM至1.5 mM、較佳1.0 mM還原麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含0.25 mM至0.75 mM、較佳0.5 mM氧化麩胱甘肽。在一些實施例中，再摺疊溶液包含精胺酸、蔗糖、Tris、EDTA或其組合。再摺疊溶液可包含900 mM至1.1 M、較佳1 M精胺酸。在一些實施例中，精胺酸為精胺酸-HCl。再摺疊溶液可包含200 mM至300 mM、較佳250 mM蔗糖。再摺疊溶液可包含75 mM至125 mM、較佳100 mM Tris。Tris之pH可為約8.5。再摺疊溶液可包含1.75 mM至2.25 mM、較佳2 mM EDTA。在一些實施例中，再摺疊溶液包含聚乙二醇(PEG)。在一些實施例中，0.1%至0.3%，較佳0.2% (w/w)之再摺疊溶液為聚乙二醇(PEG)。PEG可為PEG 3350。再摺疊溶液可包含約7.5

至約8.5之pH。再摺疊溶液可包含約8.0之pH。再摺疊溶液可包含約8.5之pH。在澄清與再摺疊步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可與再摺疊溶液在50至70分鐘、較佳60分鐘之時程內混合，以達到0.8 mg/mL至1.2 mg/mL、較佳1 mg/mL之IL-10遞送構築體的目標濃度。與再摺疊溶液之後續接觸可進行12小時至18小時。與再摺疊溶液之接觸可進行至少16小時。再摺疊溶液在接觸期間的溫度可為2℃至8℃，或約4℃。再摺疊溶液可在接觸之前預冷卻至2℃至8℃或約4℃的溫度。接觸可產生再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0275】方法可包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的第一無菌過濾。第一無菌過濾可包含經由孔徑為0.1 μm至0.3 μm、較佳0.2 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。再摺疊之IL-10遞送構築體之第一無菌過濾可在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之前進行。

【0276】在一些實施例中，IL-10遞送構築體二聚體可儲存於例如25℃下之緩衝液中兩天。此類緩衝液可包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl。相比於僅包含pH 7.0之10 mM磷酸鈉的緩衝液，當儲存於包含在pH 7.0之10 mM磷酸鈉中緩衝之鹽，諸如1× PBS、150 mM或200 mM NaCl之緩衝液中時，IL-10遞送構築體二聚體可更穩定。

【0277】方法可包含在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間進行切向流過濾步驟。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含**圖2A**中之步驟**208**之第二切向流過濾(TFF-2)或**圖2B**之步驟**306**之第一切向流過濾(TFF-1)。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間

的切向流過濾步驟可在第一無菌過濾之後進行。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾。超濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含透濾。透濾可在超濾之後進行。再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟可包含超濾及透濾(UF/DF)。透濾可包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積及第四透濾體積。第一透濾體積及第二透濾體積可包含冷緩衝液(例如2-8℃，或約4℃)。第三透濾體積及第四透濾體積可包含室溫緩衝液。冷緩衝液及室溫緩衝液可包含Tris及NaCl。Tris之濃度可為20 mM至30 mM，較佳25 mM。NaCl之濃度可為75 mM至125 mM，較佳100 mM。冷緩衝液及室溫緩衝液之pH可為7至8，較佳7.5。在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可保持在室溫下隔夜。在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可保持在2℃至8℃或約4℃下隔夜。在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可包含再摺疊之IL-10遞送構築體。

【0278】方法可包含進行再摺疊之IL-10遞送構築體的第二無菌過濾。第二無菌過濾可包含經由孔徑為0.1 μm至0.3 μm之過濾器過濾在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物。過濾器可為膠囊過濾器。再摺疊之IL-10遞送構築體之第二無菌過濾可在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後進行。

【0279】在一些實施例中，方法中之步驟，自再摺疊直至(且包括)

再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟係在2℃至8℃或3℃至5℃之溫度下進行。在一些實施例中，方法中之步驟，自再摺疊直至(且包括)再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟係在約4℃之溫度下進行。方法可包含對在再摺疊與陰離子交換(AEX)層析步驟之間的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物進行陰離子交換(AEX)層析(**圖2A**中之步驟**209**或**圖2B**中之步驟**307**)。進行AEX層析可包含將IL-10遞送構築體二聚體與陰離子交換管柱結合且隨後自陰離子交換管柱溶離IL-10遞送構築體二聚體。對IL-10遞送構築體之池進行AEX層析可由此產生IL-10遞送構築體之第一複數個溶離份。AEX層析可為Capto™ Q ImpRes。

【0280】第一複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比係使用例如尺寸排阻層析(SEC)，諸如尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)來測定。呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比可相比於第一臨限值。第一臨限值可為70%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%。較佳地，第一臨限值可為75%。含有大於臨限值之百分比之IL-10遞送構築體二聚體的任何溶離份可彙集至第一富集池中。

【0281】方法可包含對第一富集池進行陶瓷羥磷灰石(CHT)層析步驟(**圖2A**中之步驟**210**或**圖2B**中之步驟**308**)。對第一富集池進行CHT層析可由此產生呈二聚體形式之IL-10遞送構築體之第二複數個溶離份。在一些實施例中，第二複數個溶離份中之IL-10遞送構築體的濃度為約15 mg/mL至約25 mg/mL或約20 mg/mL。在一些實施例中，方法不包含陽離子交換層析。在一些實施例中，方法不包含凝膠過濾層析。

【0282】第二複數個溶離份中之各溶離份中呈二聚體形式之IL-10

遞送構築體的百分比係使用例如尺寸排阻層析(SEC)，諸如尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)來測定。呈二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比可相比於第二臨限值。第二臨限值可為至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。較佳地，第二臨限值可為80%。含有大於臨限值之百分比之IL-10遞送構築體二聚體的任何溶離份可彙集至第二富集池中。第二富集池中之IL-10遞送構築體的百分比可大於第一富集池中之IL-10遞送構築體的百分比。第二富集池可包含大於80%、大於85%或大於90%呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。

【0283】 方法可包含第二富集池之第一無菌過濾。第二富集池之第一無菌過濾可包含經由過濾器，諸如孔徑為0.1 μm至0.3 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。

【0284】 方法可包含在陶瓷羥磷灰石層析步驟之後進行切向流過濾步驟。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含**圖2A**中之步驟**211**之第三切向流過濾(TFF-3)或**圖2B**之步驟**309**之第二切向流過濾(TFF-2)。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含超濾。超濾可在10至20 psi、12至18 psi或約15 psi之跨膜壓(TMP)下進行。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含透濾。透濾可在超濾之後進行。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可包含超濾及透濾(UF/DF)。透濾可包含第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積。第一透濾體積、第二透濾體積、第三透濾體積、第四透濾體積及第五透濾體積可包含緩衝液。緩衝液可為凍乾緩衝液。緩衝液可包含鹽、增積劑及滲透劑。緩衝液可包含8 mM至12 mM、較佳10 mM鹽。緩衝液可包含1%至3%、較佳2%增積劑。緩衝液可包含

0.5%至1.5%、較佳1%滲透劑。鹽可為磷酸鉀。增積劑可為甘胺酸。滲透劑可為蔗糖。方法可包含第二無菌過濾。第二無菌過濾可在透濾之後進行。方法可包含將界面活性劑添加至緩衝液。界面活性劑可在第二無菌過濾之後添加。在將界面活性劑添加至緩衝液之後，緩衝液可包含0.2%至0.4%、較佳0.3%界面活性劑。界面活性劑可為泊洛沙姆。泊洛沙姆可為泊洛沙姆188。在一些實施例中，緩衝液與再摺疊之IL-10遞送構築體之混合物可為本文中前述之液體組合物。陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟可在第二富集池之第一無菌過濾之後進行。方法可包含進行第二富集池之第二無菌過濾。第二無菌過濾可包含經由過濾器，諸如孔徑為0.1 μm至0.3 μm，較佳0.2 μm之過濾器過濾。過濾器可為膠囊過濾器。第二無菌過濾可在陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟之後進行。第三切向流過濾之後獲得的滲餘物可在-70℃至-90℃、較佳-80℃下冷凍。在陶瓷羥磷灰石層析步驟之後的切向流過濾步驟之後獲得的滲餘物可為本文所述之液體組合物。在第三切向流過濾之後獲得的滲餘物可包含大於80%、大於85%或大於90%呈二聚體形式之IL-10遞送構築體。

【0285】 在一些情況下，方法可包含進行陽離子交換層析，例如用Sulfate 650F管柱。陽離子交換層析步驟可在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之後、在陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之前、或在陰離子交換層析步驟與陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟之間進行。如實例39及表61中所示，進行陽離子交換層析步驟，接著進行陰離子交換層析步驟及陶瓷羥磷灰石(CHT)純化步驟使得回收20%純度為96%的IL-10遞送構築體二聚體。

口服配方

【0286】包含高含量之二聚體形式之IL-10 (單獨或作為IL-10遞送構築體之一部分)的本文中之溶液可經進一步處理以用於經口投與。

【0287】首先，此類溶液可藉由不涉及濃縮溶液中之IL-10遞送構築體的方法乾燥，此類方法之實例包括凍乾(冷凍乾燥(FD))或噴霧乾燥(SD)，以產生IL-10/IL-10遞送構築體組合物之乾燥或固體形式。冷凍乾燥可使用Virtis Advantage歧管凍乾器，用Intellitronics軟體進行。含有冷凍治療蛋白配方之玻璃瓶可用氯丁橡膠凍乾塞子部分地塞住，且接著置放於與凍乾歧管連接之罐中及真空(例如1-100毫托或更小)中持續約12-48小時。凍乾組合物可用於生產膠囊或錠劑配方。在一些實施例中，凍乾組合物中大於80%、大於85%或大於90%之IL-10呈二聚體形式。

【0288】包含IL-10之配方可在本文所述之配方中遞送至小腸或結腸。該配方可經口或經直腸遞送。在一些實施例中，此類配方可促進構築體穿過腸上皮細胞障壁(例如經由胞吞轉運)，否則其可阻止達成IL-10之完全治療潛力。此外，IL-10經由經口途徑直接靶向遞送至胃腸組織可繞過在全身性投與之情況下經歷之副作用，且可轉變為更高黏膜濃度以及發炎及疾病之臨床上有意義的減輕。

【0289】***用於胃腸道中之靶向釋放的包覆口服配方***

【0290】本文涵蓋包含治療負載物及一或多種賦形劑之口服配方，其提供允許將任何負載物選擇性遞送至個體之胃腸(GI)道內之某一區域的改良釋放曲線。較佳地，口服配方經設計以在末端迴腸、近端結腸或遠端結腸中位點特異性地釋放治療負載物。**實例13**描述經設計以在胃腸道中位點特異性釋放之包覆口服配方。

【0291】本文涵蓋之負載物可為任何性質，包括治療、診斷及成

像。負載物可為遞送構築體之一部分。遞送構築體可包括與異源負載物偶聯之載體。負載物可直接或間接、共價或非共價偶聯於載體。當共價連接時，負載物可直接或經由間隔子連接至載體。儘管在一個實施例中，負載物為治療蛋白，諸如IL-10或IL-10遞送構築體(諸如本文所述之IL-10遞送構築體)，但本文中之揭示內容不限於任何治療蛋白、載體或負載物。

【0292】 向下胃腸道遞送負載物，諸如治療蛋白之口服配方可包含具有包衣之膠囊或錠劑，該包衣經設計以在小腸或結腸中發現之pH下溶解，小腸或結腸具有在約5.5至約8.0範圍內的pH。在一些實施例中，包衣經設計不溶解於胃之高度酸性pH中，該pH可在約1.5至約3.5之pH範圍內變化。

【0293】 本文中之口服配方可經設計以穿過胃而不在明顯程度上釋放負載物。可在包含負載物之膠囊或錠劑上之至少一個包衣完全或部分溶解之後出現負載物之釋放。可在膠囊或錠劑損壞，包括使得膠囊或錠劑可看起來完整之微觀損壞之後出現負載物之釋放。在一些實施例中，口服配方經設計以在胃中釋放小於約5%、小於約4%、小於約3%、小於約2%、小於約1%或0%之負載物。在一些實施例中，口服配方經設計以在小腸或結腸內之特定區域，諸如末端迴腸、近端結腸及遠端結腸中釋放負載物。末端迴腸或小腸遠端與結腸相交，且此位置處之發炎可通常與諸如克羅恩氏病之GI病症有關。在末端迴腸中位點特異性釋放具有消炎特性之治療負載物可因此為治療此類病症之期望方式。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.5至約7.0之溶液2至8小時後釋放約20%至100%之治療負載物。溶液可為處於適當pH下之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。溶液可為消化液。消

化液可為胃酸、腸液(intestinal juice/*succus entericus*)或其組合。消化液可包含消化酶。消化液可見於胃、小腸、結腸或其組合中。

【0294】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH值為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2至8小時後釋放80%至100%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放75%至100%、75%至85%或85%至95%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放至少80%、85%、90%或95%之治療負載物。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0295】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2至8小時後釋放80%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放75%至100%、75%至85%或85%至95%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放至少80%、85%、90%或95%之IL-10。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0296】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液約2至8小時後釋放50%至100%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放50%至95%、60%至70%或75%至90%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放至少60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%之治療負載物。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0297】 在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液約2至8小時後釋放50%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放50%至95%、60%至70%或75%至90%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放至少60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%之IL-10。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0298】 在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液約2至8小時後釋放20%至100%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放20%至80%或20%至30%之治療負載物。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放至少20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%之治療負載物。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0299】 在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液約2至8小時後釋放20%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放20%至80%或20%至30%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放至少20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%之IL-10。在一些情況下，暴露於溶液可在37℃下進行。

【0300】 口服配方可為固體。口服配方可包含凍乾組合物或噴霧乾燥組合物。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可包含治療蛋白及一或多種賦形

劑。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可為粉末。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可包含微米顆粒。微米顆粒之直徑可為約1 μm至約500 μm、約5 μm至約250 μm、約5 μm至約100 μm、約5 μm至約50 μm或約5 μm至約15 μm。凍乾組合物或噴霧乾燥組合物可包含顆粒。固體口服配方可為膠囊。膠囊可囊封凍乾組合物。固體口服配方可為錠劑。口服配方可呈單位劑型。

【0301】口服配方可包含約1 mg至約5 mg、約1 mg至約10 mg、約1 mg至約20 mg、約20 mg至約50 mg、約20 mg至約100 mg或約50 mg至約100 mg治療蛋白。口服配方可包含約1 mg、5 mg或20 mg治療蛋白。在一些實施例中，約32%至約42% (w/w)之凍乾組合物為治療蛋白。

【0302】一或多種賦形劑可包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：界面活性劑、滲透劑、增積劑、鹽或其組合。一或多種賦形劑可包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：磷酸鉀、甘胺酸、蔗糖及泊洛沙姆188。一或多種賦形劑可進一步包含壓實賦形劑。

【0303】在一些實施例中，一或多種賦形劑可為滲透劑。滲透劑可用於包含蛋白質之醫藥配方以改良蛋白質之穩定性及減少蛋白質聚集。滲透劑可為胺基酸(例如脯胺酸或甘胺酸)、甲胺(例如甜菜鹼或三甲胺-N-氧化物)或多元醇或糖(例如山梨糖醇或蔗糖)。滲透劑可為蔗糖、海藻糖、甘胺酸、甘露糖醇、組胺酸、右旋糖/聚葡萄糖、精胺酸、麥芽糖、山梨糖醇、牛膽素、甘胺酸甜菜鹼、肌胺酸、棉子糖、甘油、脯胺酸、果聚糖、L-麩胺酸、乳糖或其組合。滲透劑可為蔗糖。口服配方可包含重量比為約0.3:1至約0.7:1、約0.4:1至約0.6:1、約0.45:1至約0.55:1、約0.49:1至約0.51:1或更佳約0.5:1之滲透劑與治療蛋白。在一些實施例中，約15%

至約21% (w/w)之凍乾組合物為滲透劑。

【0304】 在一些實施例中，一或多種賦形劑可包括界面活性劑。界面活性劑可用於包含蛋白質之固體口服配方，諸如膠囊或錠劑，以增強固體口服配方之崩解及增加蛋白質之溶解度。界面活性劑可為聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20、泊洛沙姆188或其組合。口服配方可包含重量比為約0.1:1至約0.19:1、約0.12:1至約0.18:1、約0.14:1至約0.16:1或更佳約0.15:1之界面活性劑與治療蛋白。在一些實施例中，約4.5%至約6.5% (w/w)之凍乾組合物為界面活性劑。界面活性劑可為非離子共聚物。非離子共聚物可包含側接有兩條聚氧乙烯鏈之中心聚氧丙烯。非離子共聚物可為泊洛沙姆。相對於使用其他界面活性劑，諸如聚山梨醇酯，使用泊洛沙姆作為本文中所描述之組合物中之賦形劑可促進或維持IL-10或IL-10遞送構築體之二聚化。

【0305】 泊洛沙姆可包含分子量為1600 g/mol至2000 g/mol之聚氧丙烯。泊洛沙姆可包含70%至90%聚氧乙烯。泊洛沙姆可為泊洛沙姆188。在一些實施例中，界面活性劑不為聚山梨醇酯，諸如聚山梨醇酯80 (例如Tween 80)或聚山梨醇酯20 (例如Tween 20)。相對於包含聚山梨醇酯作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物，包含泊洛沙姆作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物可具有更大量的呈二聚體形式之IL-10。相對於包含聚山梨醇酯作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物，包含泊洛沙姆作為賦形劑之IL-10遞送構築體組合物可具有減少量的呈聚集體或單體形式形式之IL-10。

【0306】 一或多種賦形劑可包括鹽。鹽可為磷酸鉀、氯化鈉、氯化鉀、氯化鎂、硫酸鈉或其組合。鹽可為磷酸鉀。口服配方可具有重量比為

約0.03:1至約0.1:1、約0.05:1至約0.09:1、約0.06:1至約0.08:1或更佳約0.07:1之鹽與治療蛋白。在一些實施例中，約2%至約3% (w/w)之凍乾組合物為鹽。

【0307】 一或多種賦形劑可包括氫氧化鈉。口服配方可具有重量比為約0.03:1至約0.1:1、約0.05:1至約0.09:1、約0.06:1至約0.08:1或更佳約0.07:1之氫氧化鈉與治療蛋白。在一些實施例中，約2%至約3% (w/w)之凍乾組合物為氫氧化鈉。

【0308】 在一些實施例中，一或多種賦形劑可包括增積劑。增積劑可用於增加口服配方之尺寸以易於製造。增積劑可為澱粉、乳糖、糊精、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、棉子糖、海藻糖、甘胺酸、甘露糖醇或其組合。增積劑可為甘胺酸。口服配方可包含重量比為約0.7:1至約1.3:1、約0.8:1至約1.2:1、約0.9:1至約1.1:1或更佳約1:1之增積劑與治療蛋白。在一些實施例中，約32%至約42% (w/w)之凍乾組合物為增積劑。在一些實施例中，緩衝劑為滲透劑。

【0309】 凍乾組合物可儲存於約2℃至約8℃下。凍乾組合物可儲存於約-15℃至約-25℃下。凍乾組合物可在約2℃至約8℃與環境相對濕度下穩定至少12個月。在一些實施例中，當治療蛋白呈二聚體形式時，若在約2℃至約8℃下儲存一年之後，治療蛋白二聚體之量的減少為不超過1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%或25%，則凍乾組合物為穩定的。在一些實施例中，當治療蛋白呈二聚體形式時，若在約-15℃至約-25℃下儲存一年之後，治療蛋白二聚體之量的減少為不超過1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%或25%，則凍乾組合物為穩定的。在一些實施例中，將凍乾組合物壓實為錠劑或填充於膠囊中以產生本文所述之口服配方。

【0310】在某些實施例中，本文進一步描述包含治療蛋白及一或多種賦形劑之液體組合物，其可經凍乾以產生本文所述之凍乾組合物。治療蛋白可為如本文所述之IL-10遞送構築體。液體組合物可包含凍乾緩衝液及IL-10遞送構築體。液體組合物可包含15 mg/mL至25 mg/mL、較佳約20 mg/mL之IL-10遞送構築體。液體組合物可包含1.51 mg/mL至1.91 mg/mL、較佳約1.71 mg/mL之磷酸鉀。液體組合物可包含15 mg/mL至25 mg/mL、較佳約20 mg/mL之甘胺酸。液體組合物可包含8 mg/mL至12 mg/mL、較佳約10 mg/mL之蔗糖。液體組合物可包含2.5 mg/mL至3.5 mg/mL、較佳約3 mg/mL之泊洛沙姆188。液體組合物之pH可為約5.0至約pH 8.0，約6.0至約7.5，或約6.5至約7.5。該之pH可為約7.4至約7.6。

【0311】液體組合物可在約-80℃至約-60℃與環境相對濕度下穩定至少12個月。在一些實施例中，在4℃下7天之後，液體組合物中呈二聚體形式之治療蛋白之百分比的減少為不超過2%。液體組合物可經冷凍以產生冷凍之治療蛋白組合物。液體組合物可在約-85℃至約-15℃之溫度下冷凍。在一些實施例中，冷凍之治療蛋白組合物在凍乾之前解凍。

【0312】在一些實施例中，凍乾組合物囊封於膠囊中。膠囊可為000、00、0、1、2、3、4或5號膠囊。膠囊可為兩段式膠囊。膠囊可為羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊，亦稱為羥丙甲纖維素膠囊。

【0313】或者，可在壓縮力下壓縮凍乾組合物以產生錠劑。壓縮力可在1500磅-力(lbf)至4000 lbf或2000 lbf至3500 lbf範圍內。壓縮力可為1500 lbf、2000 lbf、2500 lbf、3000 lbf、3500 lbf或4000 lbf。錠劑之重量可為150 mg至1000 mg、150 mg至500 mg、200 mg至400 mg、150 mg至250 mg、175 mg至225 mg或190 mg至210 mg。錠劑之直徑可為0.2"至

0.4"、0.25"至0.35"或0.3"至0.25"。錠劑可包含1 mg至5 mg、1 mg至10 mg、1 mg至20 mg、20 mg至50 mg、20 mg至100 mg或50 mg至100 mg之IL-10遞送構築體。錠劑可包含約1 mg、約5 mg、約10 mg、約20 mg或約30 mg之IL-10遞送構築體。錠劑可包含4.5 mg至5.5 mg、9.5 mg至10.5 mg、19 mg至21 mg或29 mg至31 mg之IL-10或IL-10遞送構築體。錠劑可包含3 mg至9 mg、4 mg至8 mg或5 mg至7 mg濃度之IL-10或IL-10遞送構築體。錠劑可為圓形、長方形、卵形、圓形或任何其他適合之形狀。

【0314】 當口服配方為錠劑時，一或多種賦形劑可包括壓實賦形劑。一或多種賦形劑可包含1、2、3、4或大於4種壓實賦形劑。壓實賦形劑可為崩解劑、結合劑、潤滑劑或其組合。口服配方可包含重量比為約0.8:3至約1.2:3、約0.9:3至約1.1:3、約0.95:3至約1.05:3或更佳約1:3之前述凍乾組合物與壓實賦形劑。IL-10遞送構築體可包含約5%至約15% (w/w)之錠劑。在一些實施例中，壓實賦形劑並非液體組合物之一部分。在一些實施例中，凍乾組合物不包括壓實賦形劑。

【0315】 壓實賦形劑可包含崩解劑。崩解劑可促進口服配方之分散或分解。崩解劑可包含微晶纖維素(MCC)、矽化微晶纖維素(SMCC)、澱粉、乙醇酸澱粉鈉、維格姆、膨潤土、海藻酸、海藻酸鈣、交聯羧甲纖維素鈉 (croscarmellose sodium/crosslinked sodium carboxymethyl cellulose)、交聯聚維酮(交聯聚乙烯吡咯啶酮)或其組合。

【0316】 壓實賦形劑可包含結合劑。結合劑可將口服配方之組分保持在一起。結合劑可包含二醣、多醣、蛋白質或聚合物。二醣可為蔗糖或乳糖。乳糖可為單水合乳糖。多醣可為澱粉、纖維素或其衍生物。蛋白質

可為明膠。聚合物可為聚乙烯吡咯啶酮(PVP)或聚乙二醇(PEG)。

【0317】 壓實賦形劑可為潤滑劑。潤滑劑可減小口服配方中之粒子間摩擦及內聚力。潤滑劑可包含硬脂酸鎂、山嵛酸甘油酯、二山嵛酸甘油酯、硬脂醯反丁烯二酸鈉、硬脂酸、滑石、二氧化矽、硬脂酸鈣、碳酸鎂、氫化油、礦物油、聚乙二醇(PEG)、單硬脂酸甘油酯或其組合。潤滑劑可為非離子界面活性劑。非離子界面活性劑可為山嵛酸甘油酯。山嵛酸甘油酯為二山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，潤滑劑不為離子界面活性劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂醯反丁烯二酸鈉及月桂酸硫酸鈉。在一些實施例中，相對於離子界面活性劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂醯反丁烯二酸鈉或月桂酸硫酸鈉用於生產錠劑之情況，在錠劑生產中使用非離子界面活性劑，諸如山嵛酸甘油酯或二山嵛酸甘油酯使得錠劑之溶解曲線改良。換言之，使用非離子界面活性劑，諸如山嵛酸甘油酯或二山嵛酸甘油酯可產生如下配方：其中相對於使用離子界面活性劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂醯反丁烯二酸鈉或月桂酸硫酸鈉之對應配方，更高濃度之IL-10遞送構築體持續更長時段保持於二聚體形式。

【0318】 在一些實施例中，一或多種壓實賦形劑在壓實為錠劑或填充膠囊之前與前述凍乾組合物組合。在一些實施例中，壓實組合物可包含約6%至約10% (w/w)之凍乾組合物及約90%至約94% (w/w)之一或多種壓實賦形劑。在一些實施例中，壓實組合物可包含約5%至約15% (w/w)之凍乾組合物及約85%至約95% (w/w)之一或多種壓實賦形劑。一或多種接觸賦形劑可包含至少兩種崩解劑。

【0319】 在一些實施例中，在製造口服配方之過程期間形成顆粒。舉例而言，在一些情況下，使用粒化方法生產錠劑存在兩個相：顆粒內

(IG)相及顆粒外(EG)相。在顆粒內相中，凍乾組合物及第一子組之一或多種壓實賦形劑可與黏合劑摻合及粒化以產生摻合組合物，其可接著壓縮(例如藉由輥壓)及研磨為顆粒。在顆粒外相中，乾顆粒可接著與第二子組之一或多種壓實賦形劑摻合且壓縮為口服配方，諸如錠劑。

【0320】 顆粒內相中產生之顆粒可包含重量比為約7:1至約11:1、約8:1至約10:1或約8.5:1至約9.5:1之第一子組之一或多種壓實賦形劑與包含IL-10遞送構築體之凍乾粉末。在一些實施例中，第一子組之一或多種壓實賦形劑可包含至少兩種崩解劑。在一些實施例中，第一子組之一或多種壓實賦形劑可包含重量比為約21:1至約24:1、約22:1至約23.5:1或約22.3:1至約23:1之第一崩解劑與第二崩解劑。第一崩解劑可為矽化微晶纖維素(SMCC)或磷酸二鈣/微晶纖維素(DCP/MCC)。第二崩解劑可包含交聯聚維酮或交聯羧甲纖維素鈉。在一些實施例中，第一子組之一或多種壓實賦形劑包含潤滑劑。第一子組之一或多種賦形劑中之至少兩種崩解劑與潤滑劑之重量比可為約61:1至約81:1、約66:1至約76:1或約71:1至約73:1。潤滑劑可包含二山嵛酸甘油酯。潤滑劑可包含山嵛酸甘油酯。

【0321】 顆粒外相可包含重量比為約2:1至約6:1、約3:1至約5:1或約3.5:1至約4.5:1之顆粒內相中產生之顆粒與第二子組之一或多種壓實賦形劑。在一些實施例中，第二子組之一或多種壓實賦形劑可包含至少兩種崩解劑。在一些實施例中，第二子組之一或多種壓實賦形劑可包含重量比為約13.5:1至約24:1、約16:1至約21.5:1或約17.5:1至約19:1之第一崩解劑與第二崩解劑。第一崩解劑可為SMCC或DCP/MCC。第二崩解劑可包含交聯聚維酮或交聯羧甲纖維素鈉。在一些實施例中，第二子組之一或多種壓實賦形劑包含潤滑劑。第二子組之一或多種賦形劑中之至少兩種崩解劑

與潤滑劑之重量比可為約69:1至約89:1、約74:1至約84:1或約77:1至約81:1。潤滑劑可包含山嵛酸甘油酯。山嵛酸甘油酯可包含二山嵛酸甘油酯。在一些實施例中，壓實賦形劑可包含以下各者、基本上由其組成或由其組成：SMCC、交聯聚維酮及山嵛酸甘油酯。

【0322】在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約9:1至約14:1、約10:1至約13:1或約11:1至約12:1之一或多種壓實賦形劑與凍乾組合物。在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約8.8:1至約12.8:1、約9.8:1至約11.8:1或約10.4:1至約11.2:1之一或多種壓實賦形劑之第一崩解劑與凍乾組合物。在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約1.5:1至約2.5:1、約1.75:1至約2.25:1或約1.9:1至約2.1:1之凍乾組合物與一或多種壓實賦形劑之第二崩解劑。

【0323】在一些實施例中，口服配方可包含重量比為約5:1至約8.1:1、約5.5:1至約8.1:1或約6.2:1至約6.6:1之凍乾組合物與一或多種壓實賦形劑之潤滑劑。

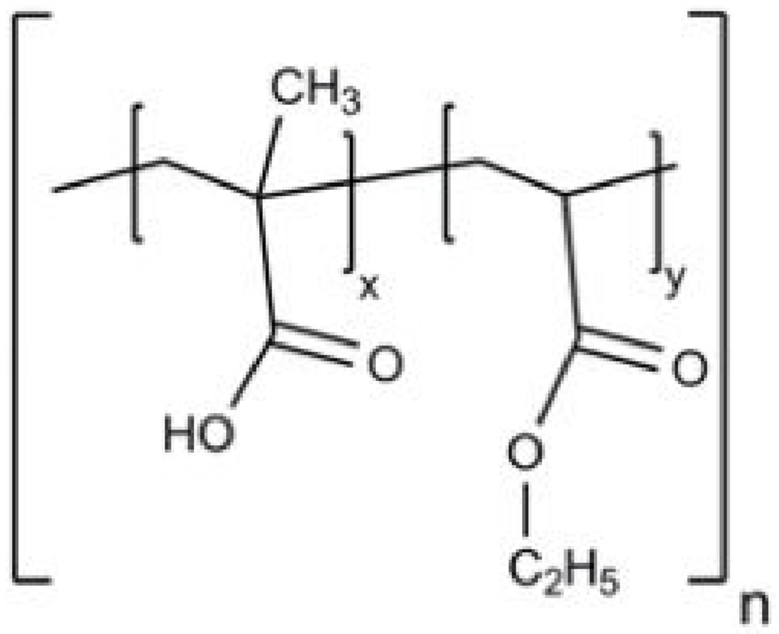
【0324】口服配方可包含第一包衣，其包含第一共聚物、第二共聚物或第一共聚物及第二共聚物之混合物。口服配方可包含乙酸丁二酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS或HPMC-AS)之第一包衣。第一包衣可具有基本上等同於1號膠囊上之20 mg至200 mg、20 mg至40 mg、50 mg至70 mg、115 mg至135 mg或175 mg至185 mg第一包衣的厚度。第一包衣可具有基本上等同於1號膠囊上之55 mg至65 mg第一包衣的厚度。第一包衣可具有基本上等同於0號膠囊上之20 mg至200 mg、20 mg至40 mg、50 mg至80 mg、115 mg至135 mg或175 mg至185 mg第一包衣的厚度。第一包衣可具有基本上等同於0號膠囊上之70 mg至80 mg第一包衣的厚度。第

一包衣之質量可為20 mg至200 mg、20 mg至40 mg、50 mg至80 mg、115 mg至135 mg或175 mg至185 mg。

【0325】 1號膠囊之表面積可為大致410 mm^2。0號膠囊之表面積可為大致500 mm^2。0.15 mg/mm^2之包衣厚度可等同於1號膠囊上之60 mg包衣重量或0號膠囊上之75 mg包衣重量。在一些實施例中，膠囊之包衣厚度為0.1 mg/mm^2至0.2 mg/mm^2，較佳為0.15 mg/mm^2。在一些實施例中，膠囊上之包衣厚度可為4 mg/cm^2至20 mg/cm^2、4 mg/cm^2至6 mg/cm^2、5 mg/cm^2至10 mg/cm^2或5 mg/cm^2至20 mg/cm^2。包衣厚度可為第一包衣之厚度。

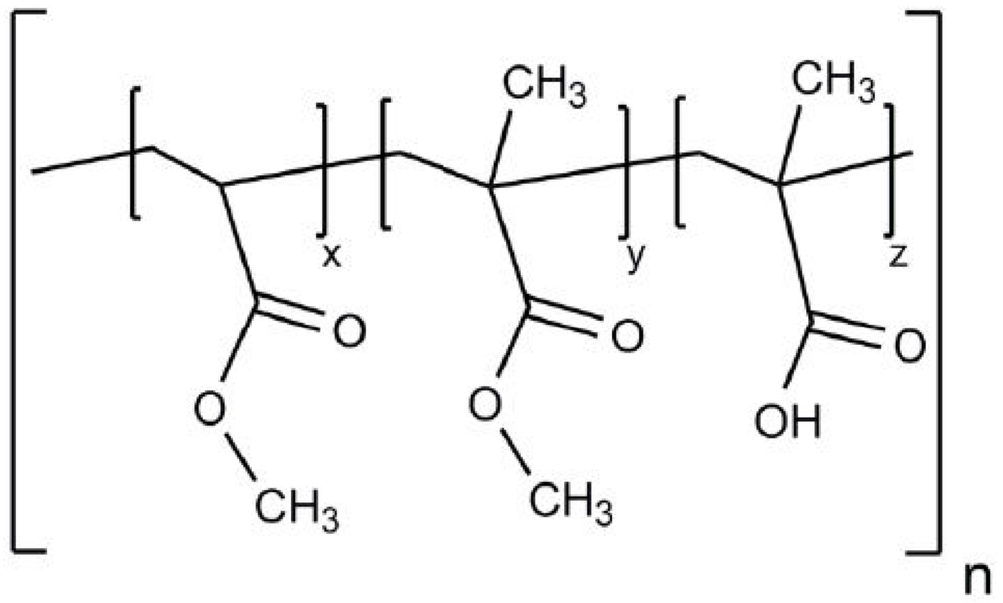
【0326】 在一些實施例中，錠劑之包衣厚度為0.1 mg/mm^2至0.2 mg/mm^2、0.1 mg/mm^2至0.5 mg/mm^2或0.1 mg/mm^2至1.0 mg mm^2，較佳0.15 mg/mm^2。在一些實施例中，錠劑上之包衣厚度可為4 mg/cm^2至20 mg/cm^2、4 mg/cm^2至6 mg/cm^2、5 mg/cm^2至10 mg/cm^2或5 mg/cm^2至20 mg/cm^2。包衣厚度可為第一包衣之厚度。

【0327】 第一共聚物可具有pH>5.5之個別標稱溶解。標稱溶解pH指示共聚物變得可溶之pH。第一共聚物可包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯。第一聚合物之重量平均分子量可為200,000 g/mol至450,000 g/mol，或250,000 g/mol至400,000 g/mol，或280,000 g/mol至370,000 g/mol，或300,000 g/mol至340,000 g/mol。第一聚合物可包含比率為0.8:1及1.2:1的第一共聚物中之游離羧基:酯基。第一共聚物可包含式I之聚合物，其中x、y及n各為大於或等於1。第一共聚物可包含Eudragit® L 30 D-55。



式I

【0328】第二共聚物可在pH>7.0處具有標稱溶解。第二共聚物可包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯。第二聚合物之重量平均分子量可為160,000 g/mol至400,000 g/mol，或200,000 g/mol至360,000 g/mol，或240,000 g/mol至320,000 g/mol，或260,000 g/mol至300,000 g/mol。第二聚合物可包含比率為0.8 :1及1.2:1之第二共聚物中之游離羧基:酯基。第二聚合物可包含式II之聚合物，其中x、y、z及n各為大於或等於1。第二共聚物可包含Eudragit® FS 30 D。



式II

【0329】第二共聚物可不同於第一共聚物。第一共聚物及第二共聚物之混合物之標稱溶解pH可不同於第一共聚物或第二共聚物之個別標稱溶解pH。舉例而言，第一共聚物及第二共聚物之混合物的標稱溶解pH可為第一共聚物與第二共聚物之標稱溶解之間的標稱溶解。第一包衣可包含

相對於第一共聚物之量等量的第二共聚物。第一包衣可包含相對於第一共聚物之量更大量的第二共聚物。第一共聚物與第二共聚物之重量比可為大約或介於50:50、45:55、40:60、35:65、30:70、25:75、20:80、15:85、10:90、5:95或0:100。Eudragit® L30D55: Eudragit® FS30D之重量比可為約50:50、45:55、40:60、35:65、30:70、25:75、20:80、15:85、10:90、5:95或0:100。

【0330】第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比可為0:100至100:0。第一包衣中之第一共聚物與共聚物共聚物之重量比可為45:55至55:45、25:75至35:65、15:85至25:75或15:85至0:100。

【0331】在一些實施例中，45:55至55:45之第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比與1號膠囊上40 mg至70 mg之等效包衣厚度使得治療負載物在末端迴腸中釋放。在一些實施例中，50:50之第一共聚物與第二共聚物之重量比與約0.15 mg/mm^2之包衣厚度使得治療負載物在末端迴腸中釋放。

【0332】在一些實施例中，15:85至25:75之第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比與1號膠囊上約118 mg至138 mg之等效包衣厚度使得治療負載物在遠端結腸中釋放。

【0333】在一些實施例中，15:85至25:75之第一包衣中之第一共聚物與第二共聚物之重量比與1號膠囊上40 mg至70 mg之等效包衣厚度使得治療負載物在近端結腸中釋放。在一些實施例中，20:80之第一共聚物與第二共聚物之重量比與約0.15 mg/mm^2之包衣厚度使得治療負載物在近端結腸中釋放。

【0334】第一包衣可進一步包含防黏劑、塑化劑、界面活性劑或其

組合。防黏劑可為單硬脂酸甘油酯。塑化劑可為檸檬酸三乙酯。界面活性劑可為聚山梨醇酯80。

【0335】 在一些實施例中，5%至15% (w/w)之第一包衣為防黏劑、塑化劑及界面活性劑之混合物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為第一共聚物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為第二共聚物。在一些實施例中，第一共聚物及第二共聚物與防黏劑、塑化劑及界面活性劑之混合物之重量比為8:1至10:1、8.5:1至9.5:1或8.8:1至9.2:1。

【0336】 在一些實施例中，5%至15% (w/w)之第一包衣為單硬脂酸甘油酯、檸檬酸三乙酯及聚山梨醇酯80之混合物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為包含甲基丙烯酸及丙烯酸乙酯之第一共聚物。在一些實施例中，40%至50% (w/w)之第一包衣為包含甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯及丙烯酸甲酯之第二共聚物。

【0337】 如先前所述，口服配方可包含乙酸丁二酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS或HPMC-AS)之第一包衣。HPMCAS之第一包衣可包含第一HPMCAS及第二HPMCAS之混合物。第一HPMCAS可在大於或等於6.8之pH下變得可溶。第二HPMCAS可在大於或等於6.0之pH下變得可溶。第一HPMCAS可包含HPMCAS-HF。第二HPMCAS可包含HPMCAS-MF。第一HPMCAS與第二HPMCAS之比可為約40:60至約60:40或約45:55至約55:45。

【0338】 在一些實施例中，口服配方可為如由**圖31A**表示之口服配方。口服配方**3200**可包含膠囊或錠劑，其中膠囊或錠劑含有包含治療蛋白及一或多種賦形劑之內部區**3201**。口服配方**3200**可包含第一包衣

3203。第一包衣**3203**可包含第一共聚物及第二共聚物之混合物。第一包衣**3203**可進一步包含防黏劑、塑化劑及界面活性劑。口服配方**3200**可進一步包含第二包衣**3202**。第二包衣**3202**可包含羥丙基甲基纖維素(HPMC)。第二包衣可密封膠囊之接縫。在一些實施例中，膠囊為羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊。口服配方**3200**可包含第三包衣**3204**。第三包衣**3204**可包含HPMC。在一些實施例中，第一包衣**3203**、第二包衣**3202**、第三包衣或其組合係藉由噴塗而塗覆至膠囊或錠劑。在一些實施例中，HPMC濃度為6.5%至8.5% (w/w)之HPMC溶液係噴霧包覆至膠囊或錠劑上，以塗覆第二包衣**3202**、第三包衣或第二包衣**3202**及第三包衣兩者。在一些實施例中，第二包衣**3202**在0號膠囊上包含9 mg至13 mg、10 mg至12 mg或10.5 mg至11.5 mg之HPMC。等同包衣重量之第二包衣**3202**可塗覆至其他膠囊型號。在一些實施例中，第三包衣**3204**在0號膠囊上包含9 mg至13 mg、10 mg至12 mg或10.5 mg至11.5 mg之HPMC。等同包衣重量之第三包衣**3204**可塗覆至其他膠囊型號。

【0339】在一些實施例中，口服配方可為如由**圖31B**表示之口服配方。口服配方**3205**可包含膠囊或錠劑，其中膠囊或錠劑含有包含治療蛋白及一或多種賦形劑之內部區3201。口服配方**3200**可包含第一包衣**3203**。第一包衣**3203**可包含第一共聚物及第二共聚物之混合物。第一包衣**3203**可進一步包含防黏劑、塑化劑及界面活性劑。在一些實施例中，口服配方**3205**不包含第二包衣或第三包衣。

【0340】口服配方之存放期可為至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。可如本文所述地藉由持續指定時段儲存錠劑、自錠劑移除包衣、溶解錠劑之內核及評估二聚體百分比來評估存放

期。

【0341】口服配方可經設計以在37℃下暴露於pH為約6.5至約7.0之溶液2至8小時後釋放約20%至100%之IL-10。溶液可為處於適當pH下之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液。溶液可為消化液。消化液可為胃酸、腸液(intestinal juice/*succus entericus*)或其組合。消化液可包含消化酶。消化液可見於胃、小腸、結腸或其組合中。IL-10可呈IL-10遞送構築體形式。

【0342】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2至8小時後釋放80%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放75%至100%、75%至85%或85%至95%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.9至約7.1，較佳pH為7.0之溶液2小時後釋放至少80%、85%、90%或95%之IL-10。

【0343】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液約2至8小時後釋放50%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放50%至95%、60%至70%或75%至90%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約6.4至約6.6，較佳pH為6.5之溶液2或3小時後釋放至少60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%之IL-10。

【0344】在一些實施例中，口服配方經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液約2至8小時後釋放20%至100%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放20%至80%或20%至30%之IL-10。口服配方可經設計以在暴露於pH為約5.9至約6.1，較佳pH為6.0之溶液2或3小時後釋放至少20%、

25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%之IL-10。

【0345】 在一些實施例中，口服配方可經設計以使得在暴露於pH為約6.5至7.0之溶液2小時後釋放之IL-10的20%至30%呈二聚體形式。在一些實施例中，口服配方可經設計以使得在暴露於pH為約6.5至7.0之溶液2小時後釋放之IL-10的至少15%、20%、25%或30%呈二聚體形式。在一些實施例中，口服配方可經設計以使得在暴露於pH為約6.5至7.0之溶液2小時後釋放之IL-10的不超過50%、60%、70%、80%或90%呈二聚體形式。在一些實施例中，在將口服配方浸沒至pH為7.0之溶液中之後，呈二聚體形式之IL-10的百分比為至少35%、40%、45%或50%。

【0346】 包含IL-10遞送構築體之口服配方可經調配以在與模擬腸液(SIF)/胰酶一起培育五分鐘之後具有至少15%保持二聚體形式之IL-10遞送構築體。胰酶分析包含在37℃下於PBS (100 μL)中將包含治療蛋白之口服配方與胰酶(10 μg)一起培育。

【0347】 口服配方可包含0.3 mg至10 mg、0.3 mg至5 mg、0.3 mg至3 mg、1 mg至3 mg、1 mg至5 mg、1 mg至10 mg、1 mg至20 mg、20 mg至50 mg、20 mg至100 mg或50 mg至100 mg之IL-10遞送構築體。口服配方可包含0.3 mg、1 mg、2 mg、3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg、10 mg或20 mg之IL-10遞送構築體。

【0348】 包含IL-10遞送構築體之口服配方可具有至少3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月之存放期。包含IL-10遞送構築體之口服配方可在指定溫度(例如2-8℃或室溫)下持續指定時段(例如至少1個月、3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月)保持穩定。舉例而言，包含IL-10遞送構築體之口服配方可具有足夠穩

定性以使得當持續指定時段(例如至少1個月、3個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月)儲存於指定溫度(例如2-8℃或室溫)下時，二聚體形式之IL-10遞送構築體的百分比減小不超過1%、2%、3%、4%或5%。在一些實施例中，口服配方足夠穩定以使得在經過該時段之後，口服配方中IL-10遞送構築體之二聚體的含量保持於大於80%、大於85%或大於90%。

【0349】 在某些實施例中，本文描述包含本文所述之口服配方之單位劑型中之至少一者的套組。單位劑型可存在於封裝、分配器裝置或瓶中。封裝可包含金屬或塑膠箔。封裝之實例可包括但不限於泡殼封裝。瓶可為高密度聚乙烯(HDPE)瓶。瓶可進一步包含感應封口。單位劑型可分開(例如在泡殼封裝之不同單元中)或共同(例如在諸如瓶之單一容器中組合)封裝於套組內。套組可進一步包含使用單位劑型治療引起發炎之病症的說明書。套組可包含與容器相關之注意事項，其呈調控藥品之製造、使用或銷售之政府機構指定形式。政府機構可為美國食品藥物管理局(U.S. Food and Drug Administration)。注意事項可為批准之產品插頁。

治療

【0350】 在某些實施例中，本文描述治療有需要之個體之疾病或病況的方法。個體可為哺乳動物。哺乳動物可為靈長類動物。靈長類動物可為人類。個體可為診斷患有疾病或病況、疑似患有疾病或病況或處於患有疾病或病況之風險下的個體。疾病或病況可為導致個體組織發炎之疾病或病況，亦稱為發炎性病症。引起發炎之疾病或病況可為特徵在於IL-10表現不足之疾病或病況。治療疾病或病況(例如發炎性病症)可包含向罹患、疑似罹患或復發疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之

IL-10或IL-10遞送構築體。

【0351】 如本文所用，術語「治療有效量」可意謂投與之組合物，例如本文所述之配方或口服配方中所含之例如IL-10或IL-10遞送構築體之量為足以達成預期目的，諸如治療疾病或病況，例如引起發炎之疾病或病況的量。在一些實施例中，向個體投與配方包含向個體投與治療有效量之配方。

【0352】 有需要之個體可為至少一種消炎劑難治性或耐受性的個體。消炎劑可為胺基水楊酸鹽。胺基水楊酸鹽可為5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪、柳氮磺胺吡啶或其組合。消炎劑可為皮質類固醇。皮質類固醇可為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。皮質類固醇可為潑尼松。消炎劑可為免疫抑制劑。免疫抑制劑可為硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤或其組合。消炎劑可為TNFα抑制劑。TNFα抑制劑可為阿達木單抗、賽妥珠單抗、依那西普、戈利木單抗、英利昔單抗或其組合。至少一種消炎劑可為Janus激酶(JAK)抑制劑。JAK抑制劑可為非戈替尼、優帕替尼、皮非替尼、托法替尼或其組合。至少一種消炎劑可為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。S1P受體拮抗劑可為奧紮尼莫、阿瑟利莫、伊拉斯莫或其組合。至少一種消炎劑可為整合素阻斷劑。整合素阻斷劑可為艾托珠單抗、那他珠單抗、維多珠單抗、阿布里單抗、卡洛斯特甲基或其組合。至少一種消炎劑可為IL-23抑制劑。IL-23抑制劑可為優西努單抗、密利基單抗、布拉奇單抗、古賽庫單抗、里森基單抗或其組合。至少一種消炎劑可為磷酸二酯酶4(PDE4)抑制劑。至少一種PDE4抑制劑可為阿普司特、西洛司特、羅氟司特、替托司特、咯利普蘭或其組合。至少一種消炎劑可為拉喹莫德。

【0353】在一些情況下，有需要之個體可為尚未用消炎劑治療之個體。在一些情況下，有需要之個體可為尚未用5-ASA治療之個體。在一些情況下，有需要之個體可為對5-ASA由部分或顯著反應之個體。在一些情況下，有需要之個體可為用IL-10遞送構築體及5-ASA治療之個體。

【0354】在一些實施例中，包含本文所述之IL-10遞送構築體的口服配方係經口投與至有需要之個體。在一些實施例中，包含本文所述之IL-10遞送構築體的配方係經直腸投與至有需要之個體。可持續至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天向個體投與包含IL-10遞送構築體之配方。可一天一次、一天兩次或一天三次地投與配方。有需要之個體可為人類。有需要之個體可為診斷患有引起發炎之疾病或病況、疑似患有該疾病或病況或處於患有該疾病或病況之風險下的個體。引起發炎之疾病或病況可為特徵在於IL-10表現不足之疾病或病況。引起發炎之疾病或病況可為潰瘍性結腸炎、發炎性腸病(IBD)、乳糜瀉、直腸炎、儲袋炎、克羅恩氏病、多發性硬化症(MS)、全身性紅斑性狼瘡症(SLE)、移植物抗宿主疾病(GVHD)、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎或牛皮癬。潰瘍性結腸炎可為輕度至中度潰瘍性結腸炎或中度至重度潰瘍性結腸炎。克羅恩氏病可為瘻管性克羅恩氏病。在一些實施例中，口服配方用於治療引起發炎之病症。口服配方可用於治療引起發炎之病症。方法可包含向個體投與包含IL-10及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之口服配方之劑量。向個體投與口服配方之劑量可產生免疫調節反應。

【0355】免疫調節反應可包含糞便鈣衛蛋白(FCP)之濃度相對於FCP基線之降低。糞便鈣衛蛋白為腸道發炎之生物標記。FCP濃度可測定自糞便樣品或結腸活檢體。可藉由免疫分析來測定FCP濃度。免疫分析可

為酶聯免疫分析(ELISA)。在一些實施例中，FCP濃度以毫克鈣衛蛋白/公斤糞便或微克鈣衛蛋白/公克糞便表示。FCP濃度之降低可為相對於FCP基線至少20%、30%、40%或50%之降低。FCP濃度之降低可為相對於FCP基線約50%至約80%之降低。在一些實施例中，FCP濃度降低至50 μg/g或更小。在一些實施例中，FCP濃度降低指示胃腸道發炎減輕。

【0356】 FCP基線可為投藥之前的個體或群體中之初始FCP濃度。初始FCP濃度可指示患有疾病。指示疾病之初始FCP濃度可為大於150 μg/g之FCP濃度。在一些實施例中，大於150 μg/g之FCP濃度指示患有潰瘍性結腸炎(UC)。在一些實施例中，FCP濃度相對於初始FCP濃度降低至少50%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【0357】 FCP基線可為安慰劑調節之FCP基線。安慰劑調節之FCP基線可為相對於投藥之前的初始FCP濃度，在向個體或群體投與安慰劑之後的FCP濃度之百分比變化。在一些實施例中，相對於安慰劑調節之FCP基線，用IL-10遞送構築體治療之個體或群體中之FCP濃度降低至少20%，且IL-10遞送構築體之口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【0358】 在一個說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與安慰劑之後增加至250 μg/g (表示25%增加)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至100 μg/g (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之FCP濃度可稱為：(i)當FCP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始FCP濃度時，FCP濃度降低50%，或(ii)當FCP基線為安慰劑調節之FCP基線時，FCP濃度降低75% (50%+25%)。

【0359】在另一說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與安慰劑之後降低至150 μg/g (表示25%降低)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於200 μg/g之FCP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至100 μg/g (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之FCP濃度可稱為：(i)當FCP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始FCP濃度時，FCP濃度降低50%，或(ii)當FCP基線為安慰劑調節之FCP基線時，FCP濃度降低25% (50%-25%)。

【0360】免疫調節反應可包含C反應蛋白(CRP)之濃度相對於CRP基線的降低。C反應蛋白(CRP)為全身性發炎之生物標記。CRP濃度可測定自血液樣品。CRP濃度可為血清CRP濃度。CRP濃度可藉由免疫分析或濁度分析來測定。免疫分析可為酶聯免疫分析(ELISA)。CRP濃度之降低可為相對於CRP基線至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%之降低。CRP濃度之降低可為相對於CRP基線約5%至約60%、約10%至約50%、約30%至約90%或約40%至約80%之降低。在一些實施例中，CRP濃度係降低至小於5 mg/L。在一些實施例中，CRP濃度降低指示全身性或胃腸道發炎減輕。

【0361】CRP基線可為投藥之前的個體或群體中之初始CRP濃度。初始CRP濃度可指示患有疾病。指示疾病之初始CRP濃度可為大於5 mg/L之CRP濃度。在一些實施例中，大於5 mg/L之CRP濃度指示大腸激躁症(IBD)。在一些實施例中，CRP濃度相對於初始CRP濃度降低至少40%，且口服配方之劑量為約1 mg至約3 mg。

【0362】CRP基線可為安慰劑調節之CRP基線。安慰劑調節之CRP

基線可為相對於投藥之前的初始CRP濃度，在向投與安慰劑之個體或群體投與安慰劑之後的CRP濃度之百分比變化。在一些實施例中，相對於安慰劑調節之CRP基線，用IL-10遞送構築體治療之個體或群體中之CRP濃度降低至少10%，且IL-10遞送構築體之口服配方之劑量為約3 mg。在一些實施例中，相對於安慰劑調節之CRP基線，用IL-10遞送構築體治療之個體或群體中之CRP濃度降低至少40%，且IL-10遞送構築體之口服配方之劑量為約1 mg。

【0363】 在一個說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與安慰劑之後增加至10 mg/L (表示25%增加)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至4 mg/L (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之CRP濃度可稱為：(i)當CRP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始CRP濃度時，CRP濃度降低50%，或(ii)當CRP基線為安慰劑調節之CRP基線時，CRP濃度降低75% (50%+25%)。

【0364】 在另一說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與安慰劑之後降低至6 mg/L (表示25%降低)，且投與IL-10遞送構築體之個體或群體開始於8 mg/L之CRP濃度且在投與IL-10遞送構築體之後降低至4 mg/L (表示50%降低)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體或群體之CRP濃度可稱為：(i)當CRP基線為投與IL-10遞送構築體之個體或群體在投藥之前的初始CRP濃度時，CRP濃度降低50%，或(ii)當CRP基線為安慰劑調節之CRP基線時，CRP濃度降低25% (50%-25%)。

【0365】 免疫調節反應可包含Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。Geboes評分系統為組織學反應之標準量度(Geboes等人 Gut. 2000年9月;47(3):404-9)。如本文所用，Geboes評分可為0-22分組織學評分系統，其中更高評分表示更嚴重疾病。Geboes評分基線可為投藥之前的個體或群體之初始Geboes評分。Geboes評分基線可為安慰劑調節之Geboes評分基線。安慰劑調節之Geboes評分基線可為在向個體或群體投與安慰劑之後的Geboes評分與在投與安慰劑之前的初始Geboes評分的差異。在一些實施例中，Geboes評分相對於安慰劑調節之Geboes評分基線降低至少2個單位，且口服配方之劑量為約1 mg至約30 mg。

【0366】 在一個說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與安慰劑後增加至12 (表示增加2個單位或20%)，且IL-10遞送構築體個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與IL-10遞送構築體後降低至5 (表示降低5個單位或50%)。在此實例中，投與IL-10遞送構築體之個體的Geboes評分可稱為：(i)當Geboes評分基線為投與IL-10遞送構築體之個體的初始Geboes評分時，降低5個單位或50%，或(ii)當Geboes評分基線為安慰劑調節之Geboes評分基線時，降低7個單位或70% (50%+20%)。

【0367】 在另一說明性實例中，投與安慰劑之個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與安慰劑後降低至8 (表示降低2個單位或20%)，且IL-10遞送構築體個體或群體開始於10之Geboes評分，其在投與IL-10遞送構築體後降低至5 (表示降低5個單位或50%)。在此實例中，患病個體之Geboes評分可稱為：(i)當Geboes評分基線為投與IL-10遞送構築體之個體的初始Geboes評分時，降低5個單位或50%，或(ii)當Geboes評分基線

為安慰劑調節之Geboes評分基線時，降低3個單位或30% (50%-20%)。

【0368】 在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP濃度相對於FCP基線之降低及CRP濃度相對於CRP基線之降低。在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP濃度相對於FCP基線之降低及Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。在一些實施例中，免疫調節反應包含CRP濃度相對於CRP基線之降低及Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。在一些實施例中，免疫調節反應包含FCP濃度相對於FCP基線之降低、CRP濃度相對於CRP基線之降低及Geboes評分相對於Geboes評分基線之降低。

【0369】 除了與隱窩結構破壞、糜爛及潰瘍相關的嗜中性浸潤至上皮細胞中以外，患有胃腸道發炎性病症之個體的結腸組織亦可展示固有層經單核細胞、嗜伊紅血球及組織細胞或其組合之浸潤。除了與隱窩結構破壞、糜爛及潰瘍相關的嗜中性浸潤至上皮細胞中以外，向個體投與IL-10遞送構築體亦可使得固有層經單核細胞、嗜伊紅血球及組織細胞或其組合之浸潤減少。

【0370】 在一些實施例中，IL-10遞送構築體之小於5%、小於4%、小於3%、小於2%或小於1%之IL-10進入血流。

【0371】 在一些實施例中，包含本文所述之IL-10遞送構築體的口服配方係經口投與至有需要之個體。可持續至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天向個體投與包含IL-10遞送構築體之配方。配方可一天投與一次。

【0372】 向個體投與約1 mg至約60 mg的治療有效量之口服配方之劑量可使得個體之IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度增加超過20%。在一些實施例中，IL-1Ra之基線血漿濃度為投藥之前的個體之

IL-1Ra之血漿濃度。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為超過30%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為30%至45%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約3 mg至約10 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為30%至35%。在一些實施例中，口服配方之劑量為約30 mg，且IL-1Ra之血漿濃度相對於IL-1Ra之基線血漿濃度之增加為40%至43%。口服配方之劑量可指口服配方中IL-10或IL-10遞送構築體的量。

【0373】 向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過1500 pg/mL、1000 pg/mL、900 pg/mL、800 pg/mL、700 pg/mL、600 pg/mL、500 pg/mL、400 pg/mL、300 pg/mL、200 pg/mL、100 pg/mL、50 pg/mL或10 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過1500 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過1000 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過500 pg/mL。向個體投與口服配方之劑量可使得個體中IL-10之血漿濃度為不超過100 pg/mL。

【0374】 向個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之血漿中IL-1Ra之濃度相對於IL-1Ra之基線含量增加至少5000 pg/mL。IL-1Ra之基線含量可為投藥之前的個體之血漿中之典型IL-1Ra濃度。IL-1Ra濃度可達到至少5000 pg/mL、6000 pg/mL、7000 pg/mL、8000 pg/mL、9000 pg/mL、10,000 pg/mL、11,000 pg/mL、12,000 pg/mL、15,000

pg/mL、20,000 pg/mL或25,000 pg/mL之最大值。IL-1Ra之濃度可達到1000 pg/mL至10,000 pg/mL、8000 pg/mL至12,000 pg/mL或25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。可在至少1、2、3或4小時之後達到IL-1Ra之最大濃度。可在投藥之後2至4小時、2至3小時或3至4小時達到IL-1Ra之最大濃度。在一個實例中，IL-1Ra濃度可在投藥後2.5小時至3.5小時達到25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。在另一實例中，IL-1Ra之濃度可在投藥後3.5小時至4.5小時達到8,000 pg/mL至12,000 pg/mL之最大值。

【0375】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可產生以下中之至少一者：(1)個體之血漿中小於50 pg/mL之峰值IL-10濃度，及(2)IL-10與表現CD3之細胞在個體之固有層中之共定位。峰值IL-10濃度可小於50 pg/mL、40 pg/mL、30 pg/mL、20 pg/mL、10 pg/mL、2.5 pg/mL、2.0 pg/mL、1.5 pg/mL或1.0 pg/mL。可在投藥之後1小時至5小時、1小時至3小時、2小時至3小時或3小時至5小時達到峰值IL-10濃度。表現CD3之細胞可為淋巴細胞。淋巴細胞可為T細胞。

【0376】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之結腸組織中IL-Ra與介白素1β (IL-1β)之表現比(IL-1Ra:IL-1β)增加。IL-1Ra:IL-1β之比可為至少1:1、1.5:1、2:1、2.5:1或3:1。IL-1Ra:IL-1β之比可為2:1至3:1。

【0377】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之血漿中之至少一種促炎性細胞介素的濃度不顯著增加。至少一種促炎性細胞介素可為干擾素γ (IFN-γ)、IL-

1β、介白素2 (IL-2)、介白素8 (IL-8)或其組合。向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得個體之血漿中之IL-1Ra的濃度增加。IL-1Ra濃度可在投藥後2.5小時至3.5小時達到25,000 pg/mL至28,000 pg/mL之最大值。

【0378】 向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方可使得：(a)個體之結腸組織中之介白素1受體促效劑(IL-1Ra)的表現增加；(b)結腸組織中之至少一種促炎性基因之表現降低；(c)個體之結腸組織中之至少一種抗炎性基因的表現增加；(d)個體之結腸組織中之至少一種組織修復基因的表現增加；(e)個體之結腸組織中之至少一種抗微生物基因的表現增加；或(f)其組合。在一些實施例中，向患有疾病或病況(例如發炎性病症)之個體投與治療有效量之包含IL-10之配方使得個體之結腸組織中之Il-1Ra與介白素1β之表現比(IL-1R:IL-1β)增加。IL-1R:IL-1β之比可為大於1:1、1.5:1、2:1、2.5:1或3:1。

【0379】 至少一種促炎性基因可為MHC-II、HPGDS、FCER1A、PLA2G2D、CCL13、FUT3、CCL28、UGT1A1、CCL20、NLRP1、TPH或其組合。至少一種抗炎性基因可為CD163、SCNN1G、STC1、HGF、SGK1、miR-24-2、SCNN1B、PTGDR、MTNR1A、ACE2、NOX2、BEST2、VNN2、LTB4R2、B2GALT5或其組合。至少一種組織修復基因可為SCNN1G、STC1、TIMP1、SCNN1B、BEST2、B3GALT5或其組合。至少一種抗微生物基因可為PI15、PI3、BDKRB1、CCI28、SERPINE2或其組合。

【0380】 在某些實施例中，本文進一步描述對發炎性病症得以緩解之個體預防發炎性病症復發之方法，其包含向個體投與包含IL-10及一或

多種醫藥學上可接受之賦形劑的配方。個體之發炎性病症可緩解了至少一個月、6個月、8個月、1年、2年、3年、4年或5年。

【0381】在某些實施例中，本文描述治療個體之發炎性病症之方法，該個體為至少一種消炎劑難治性或耐受性的，該方法包含向個體投與包含IL-10之配方。消炎劑可為胺基水楊酸鹽。在一些實施例中，胺基水楊酸鹽選自由以下組成之群：5-胺基水楊酸(5-ASA；美沙拉嗪)、4-胺基水楊酸(4-ASA)、巴柳氮、奧沙拉嗪及柳氮磺胺吡啶。消炎劑可為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為潑尼松。在一些實施例中，皮質類固醇為經口投與之皮質類固醇或靜脈內(IV)投與之皮質類固醇。消炎劑可為免疫抑制劑。在一些實施例中，免疫抑制劑選自由以下組成之群：硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及其組合。消炎劑可為TNFα抑制劑。在一些實施例中，TNFα抑制劑選自由以下組成之群：阿達木單抗、賽妥珠單抗、依那西普、戈利木單抗及英利昔單抗。至少一種消炎劑可為Janus激酶(JAK)抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：非戈替尼、優帕替尼、皮非替尼及托法替尼。至少一種消炎劑可為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)受體拮抗劑。在一些實施例中，S1P受體拮抗劑選自由以下組成之群：奧紮尼莫、阿瑟利莫及伊拉斯莫。至少一種消炎劑可為整合素阻斷劑。在一些實施例中，整合素阻斷劑選自由以下組成之群：艾托珠單抗、那他珠單抗、維多珠單抗、阿布里單抗及卡洛斯特甲基。至少一種消炎劑可為IL-23抑制劑。在一些實施例中，IL-23抑制劑選自由以下組成之群：優西努單抗、密利基單抗、布拉奇單抗、古賽庫單抗及里森基單抗。至少一種消炎劑可為磷酸二酯酶4 (PDE4)抑制劑。在一些實施例中，至少一種PDE4抑制劑選自由以下組成之群：阿普司特、西洛司特、羅氟司特、替

托司特及咯利普蘭。至少一種消炎劑可為拉喹莫德。在一些實施例中，每日向個體投與配方，持續至少5、7、10、12或14日。

組合療法

【0382】本文提供治療有需要之個體之發炎性疾病之方法，其包含投與IL-10治療劑與非IL-10免疫抑制劑之組合。在一些情況下，IL-10治療劑為口服治療劑。在一些情況下，在用口服IL-10治療劑治療之前開始用非IL-10免疫抑制劑治療。在一些情況下，用非IL-10免疫抑制劑治療與用口服IL-10治療劑治療同時開始。在一些情況下，個體先前已用非IL-10免疫抑制劑治療且具有不充分反應。在一些情況下，基於病史、家族病史、遺傳學或生物標記表現預測個體對非IL-10免疫抑制劑之反應不充分。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑不為介白素。

【0383】在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為抗整合素療法，例如維多珠單抗。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為Janus激酶抑制劑(JAK抑制劑)。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為IL-23拮抗劑及/或IL-12/IL-23拮抗劑。在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為神經鞘胺醇-1-磷酸(S1P)調節劑或神經鞘胺醇-1-磷酸受體調節劑。在其他情況下，非IL-10免疫抑制劑為IL-22或IL-22促效劑。

【0384】在一些情況下，非IL-10免疫抑制劑為TNFα抑制劑。在一些情況下，在用IL-10治療劑治療之前開始用TNFα抑制劑治療。在一些情況下，用TNFα抑制劑治療與用IL-10治療劑治療同時開始。在一些情況下，個體先前已用TNFα抑制劑治療且具有不充分反應。在一些情況下，基於病史、家族病史、遺傳學或生物標記表現預測個體對TNFα抑制劑之反應不充分。

【0385】 進一步提供治療個體之發炎性疾病之方法，其中個體對用TNFα抑制劑治療之反應不充分，該方法包含投與IL-10治療劑。在一些情況下，伴隨IL-10治療劑而繼續用TNFα抑制劑治療。

【0386】 在一些情況下，發炎性疾病可為腸或消化道疾病。在一些情況下，發炎性疾病可表現或存在於消化道遠端或與消化道之距離遙遠的組織中。在一些情況下，發炎性疾病可選自由以下組成之群：發炎性腸病、牛皮癬、斑塊型牛皮癬、化膿性汗腺炎、牛皮癬性關節炎、類風濕性關節炎、幼年特發性關節炎、僵直性脊椎炎、細菌性敗血症、克羅恩氏病、瘻管性克羅恩氏病、中度至重度潰瘍性結腸炎、輕度至中度潰瘍性結腸炎、潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎、缺血性結腸炎、改道性結腸炎、白塞氏症候群、不確定型結腸炎、胰臟炎、肝炎、儲袋炎、直腸炎、葡萄膜炎、移植物抗宿主疾病及上皮細胞損傷。在一些情況下，發炎性疾病為類風濕性關節炎。在一些情況下，發炎性疾病為發炎性腸病。在一些情況下，發炎性腸病為潰瘍性結腸炎。在一些情況下，發炎性疾病為克羅恩氏病。

【0387】 在一些情況下，IL-10治療劑可局部投與至疾病部位。舉例而言，可經口投與IL-10治療劑以治療消化道疾病，諸如潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病。在一些情況下，可經口投與IL-10治療劑以達成可治療消化道遠端之疾病的全身性劑量。舉例而言，可經口投與IL-10治療劑以治療類風濕性關節炎或牛皮癬。

【0388】 對治療劑之不充分反應可包含部分反應或無反應。在一些情況下，不充分反應為並非疾病完全治癒或完全緩解之反應。相比於治療前，對治療劑具有不充分反應之個體可在治療期間或治療之後具有較少症

狀或可具有嚴重度較輕的症狀。在其他情況下，對疾病具有不充分反應之個體可具有與治療之前相同數目的症狀或相同的症狀。在一些情況下，相比於治療前，對治療劑具有不充分反應之個體可在治療後具有更多症狀或更嚴重的症狀。

【0389】 在一些情況下，對治療劑具有不充分反應之患有類風濕性關節炎之個體可在用治療劑(例如單獨的抗TNFα抑制劑)治療後繼續具有關節炎之一或多種症狀。舉例而言，個體之一或多個關節可患有活動性疾病。活動性疾病可藉由螢光光學成像或磁共振成像來鑑別。對類風濕性關節炎治療具有不充分反應之個體可具有一或多個觸痛的關節，及/或一或多個腫脹的關節。可存在之其他症狀包括關節僵硬或無力、關節上的皮膚發紅、關節上有腫塊、熱紅、口乾、身體畸形或如坐針氈感。

【0390】 在一些情況下，對治療劑具有不充分反應之患有潰瘍性結腸炎之個體可在用治療劑(例如單獨的抗TNFα抑制劑)治療後繼續具有潰瘍性結腸炎之一或多種症狀。對潰瘍性結腸炎治療具有不充分反應之個體的改良梅歐臨床評分(MMS)可為約4分至約9分。個體之集中讀取MCS內視鏡分項評分為2級或更高。在一些情況下，個體之MMS直腸出血分項評分可為1分或更高。在一些情況下，個體可患有自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。潰瘍性結腸炎之其他症狀包括腹痛/不適、大便帶血或膿、發熱、體重減輕、頻繁復發的腹瀉、疲勞、食慾減退及裏急後重。

【0391】 在一些情況下，個體在用TNFα抑制劑治療後可具有不充分反應。在一些情況下，個體可在用TNFα抑制劑治療至少6週或至少12週之後對TNFα抑制劑具有不充分反應。

【0392】 TNFα抑制劑可為單株抗體。抗TNFα治療劑之實例包括英

利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(Humira)及戈利木單抗(Simponi)。在一些情況下，TNFα抑制劑為依那西普。在一些情況下，TNFα抑制劑不為依那西普。

【0393】 可藉由皮下注射，或藉由任何其他適合之方法投與TNFα抑制劑。舉例而言，可藉由皮下注射投與阿達木單抗。在一些情況下，可以每隔一週40 mg之劑量投與阿達木單抗。在一些情況下，一或多個初始劑量可高於維持劑量。舉例而言，阿達木單抗治療方案可包含160 mg之第一劑量，接著為約兩週後80 mg之第二劑量，接著為兩週後每隔一週40 mg之維持劑量。在一些情況下，阿達木單抗之初始劑量可為80 mg，接著為兩週後每隔一週40 mg之維持劑量。

【0394】 可藉由靜脈內輸注來投與TNFα抑制劑。舉例而言，可藉由靜脈內輸注來投與英利昔單抗。在一些情況下，可在至少兩小時之時段內藉由靜脈內輸注來投與TNFα抑制劑。在一些情況下，可以5 mg/kg之劑量投與英利昔單抗。在其他情況下，可以3 mg/kg之劑量，或以10 mg/kg之劑量投與英利昔單抗。在一些情況下，治療方案可包含更頻繁的初始劑量，接著為維持劑量。在一些情況下，治療方案可包含在0、2及6週，接著每8週投與TNFα抑制劑。

【0395】 TNFα抑制劑可由醫療專業人士投與或可提供給患者進行自投與。在一些情況下，TNFα抑制劑可在單次劑量預填充注射器中，或在單次劑量自動注射器中提供。舉例而言，阿達木單抗可在單次劑量HUMIRA Pen中提供。

【0396】 在一些情況下，可經口投與IL-10治療劑。在一些情況下，可與TNFα抑制劑大約同時投與IL-10治療劑。舉例而言，可在即將投

與TNFα抑制劑之前或緊接在其之後投與IL-10治療劑。在一些情況下，可與TNFα抑制劑在同一天，或在投與TNFα抑制劑之前的一天或之後的一天投與IL-10治療劑。舉例而言，可在0、2及6週，且隨後每8週投與IL-10治療劑及TNFα抑制劑。在另一實例中，可每兩週投與IL-10治療劑及TNFα抑制劑。

【0397】 在一些情況下，IL-10治療劑可為IL-10遞送構築體。

實例

【0398】 **實例1：IL-10遞送構築體設計**

【0399】 IL-10為抑制多種先天性及後天性免疫細胞之活化及效應功能的免疫調節細胞介素。設計了IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。此構築體為重組、均二聚融合蛋白，其中各單體由經甘胺酸及絲胺酸殘基(SEQ ID NO: 6)之胺基酸多肽間隔子(polyGlySer)連接之N端甲硫胺酸、cholix^{386}域(SEQ ID NO: 4)及重組人類IL-10 (rhIL-10)域(SEQ ID NO: 2)組成。cholix^{386}域為cholix之變異體的截短形式，衍生自霍亂弧菌、含有386個胺基酸之無毒突變體。構築體之分子量為125,796 Da，且等電點(pI)為5.49。

【0400】 cholix^{386}域促進經由囊泡胞吞轉運將SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體主動轉運通過上皮細胞到達局部胃腸道黏膜下層組織。經由經口途徑將rhIL-10直接靶向遞送至固有層可繞過全身性投與經歷之一或多個缺點且轉變為更高黏膜濃度以及發炎及疾病之臨床上有意義的減輕。

【0401】 如本文實例中所使用，當提及凍乾粉時使用藥物物質(DS)，且當提及膠囊或錠劑形式時使用藥品(DP)。

【0402】 **實例2：目標構築體之表現**

【0403】 藉由選殖至pET26(b)主鏈之Nde I及EcoR I位點中而構築含有目標構築體(SEQ ID NO: 5)之編碼序列(SEQ ID NO: 10)的質粒。由SEQ ID NO: 10編碼之序列為表現於細菌細胞中之密碼子改良序列。質體含有T7啟動子且賦予康黴素耐藥性。使用如下之熱休克轉形方法經目標構築體質體轉染BL21大腸桿菌細胞：將BL21細胞及目標構築體質體等分至管中且在冰上培育30分鐘。接著將管在水浴中於42℃±2℃下熱休克30至45秒。緊接在熱休克之後，將管置於冰中2至5分鐘。將培養基添加至各管中且將管在37℃下培育60分鐘。將轉形細胞接種至LB/Kan瓊脂盤上且在37℃下培育隔夜。接著自瓊脂盤收集單一集落，接種於4 mL LB培養基中，且在搖瓶中生長隔夜。將甘油儲備液(80%)添加至培養物中，接著將培養物填充至冷凍小瓶中且儲存於-80±10℃下。接著進一步製造pre-RCB (Research Cell Bank；培養物+甘油儲備液)以產生主細胞庫(MCB)。

【0404】 為了產生MCB，在搖瓶中擴增來自RCB之細胞直至積聚足夠細胞塊，將其藉由離心回收，再懸浮於冷凍保存培養基中，等分至300個冷凍小瓶中，且冷卻直至冷凍。將MCB在受控之存取GMP設施中儲存於-80±5℃下。根據cGMP程序及ICH指南Q5B及Q5D來製造及維護MCB。

【0405】 在搖瓶中擴增之後，將細胞轉移至生產用生物反應器中。在1500 L生物反應器中在康黴素存在下(出於選擇壓力)執行醱酵。生產醱酵由細胞生長期繼之以使用異丙基β-D-1-硫代半乳糖苷(IPTG)作為誘導劑之表現期組成，其中蛋白質在細胞內表現為不溶性包涵體。生產反應器係在製造程序中指定之設定pH、溫度及溶解氧含量下受控制：pH受磷酸及

氫氧化銨添加控制；溶解氧受空氣及氧氣流量控制。所有氣體穿過孔徑為0.22 μm或更小的膜過濾器。生產反應器含有具有界定組分之細菌生長培養基。在接種之前，此等成分根據書面標準操作程序進行滅菌。生產期為分批進料過程，其中添加基於葡萄糖之進料培養基以維持細胞生長及培養物活力。

【0406】 在生產結束時，藉由離心收集細胞，且細胞漿經進一步處理或冷凍以供日後處理。高壓均質化用於釋放含有產物之包涵體。接著將包涵體再懸浮、洗滌且藉由離心與其他細胞組分分離。將包涵體緊接著繼續處理或冷凍以供日後使用。將細胞漿及/或包涵體漿料在進一步使用之前儲存於-20±5℃下。

【0407】 **實例3：再摺疊最佳化**

【0408】 使用高濃度之鹽酸胍，一種強力離液劑進行包涵體(IB)溶解。在溶解之後，使用傳統再摺疊方法，用DTT還原且接著稀釋為氧化還原混合液之初步努力產生低產率之恰當摺疊二聚體(<5%二聚體)。使用亞硫酸分解之第二方法產生更高回收率且經實施。肽首先用亞硫酸鈉還原，且接著用連四硫酸鉀將游離硫氫基封端。在透濾以移除殘餘亞硫酸分解試劑之後，將蛋白質稀釋為氧化還原混合液，其允許蛋白質再摺疊及氧化。使用此方法，產率高約2倍(約10%二聚體)，但仍低於期望。進一步探究在滲透劑，諸如蔗糖以及其他水修飾劑，諸如甘油存在下的再摺疊效應。

【0409】 在改變再摺疊溶液之精胺酸濃度及目標構築體(蛋白質)濃度之後評估再摺疊效率(**表5；圖25A-25B**)。此實例中之表及圖中所示之再摺疊效率等效於所得再摺疊目標構築體之二聚體%，且係藉由尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)評估。在**圖28**中示出展示來自使用四種不同再摺疊溶液之二聚體%的例示性層析圖。在**圖29**中示出**圖28**之層析圖中所說明

之四種再摺疊溶液的再摺疊效率。

表5-在改變精胺酸(M)及目標構築體濃度(mg/mL)之九種再摺疊溶液中之組分的濃度

	精胺酸	蛋白質濃度
1	0.50	0.75
2	0.50	1.00
3	0.50	1.50
4	0.75	1.00
5	0.75	1.00
6	0.75	1.50
7	1.00	0.75
8	1.00	1
9	1.00	1.5

【0410】 在改變再摺疊溶液之pH及甘油濃度之後評估再摺疊效率(**表6；圖26A-圖26B**)。

表6-在改變甘油(mM)濃度及pH之九種再摺疊溶液中之組分的濃度

	精胺酸	蛋白質濃度	甘油	pH
1	0.75	1.00	0	7.5
2	0.75	1.00	10	7.5
3	0.75	1.00	30	7.5
4	0.75	1.00	0	8
5	0.75	1.00	10	8
6	0.75	1.00	30	8
7	0.75	1.00	0	8.5
8	0.75	1.00	10	8.5
9	0.75	1.00	30	8.5

【0411】 在改變再摺疊溶液之蔗糖濃度及PEG濃度之後評估再摺疊效率(**表7；圖27A-圖27B**)。

表7-在改變PEG%及蔗糖濃度(M)之九種再摺疊溶液中之組分的濃度

	精胺酸	蛋白質濃度	PEG 3350	蔗糖，M
1	0.75	1.00	0	0
2	0.75	1.00	0.1	0
3	0.75	1.00	0.5	0
4	0.75	1.00	0	0.25
5	0.75	1.00	0.1	0.25
6	0.75	1.00	0.5	0.25
7	0.75	1.00	0	0.5
8	0.75	1.00	0.1	0.5
9	0.75	1.00	0.5	0.5

【0412】 在改變再摺疊溶液之蔗糖、甘油及PEG濃度之後評估再摺疊效率(**表8**)。

表8-十種再摺疊溶液中之組分的濃度及所得再摺疊效率(二聚體%)

	精胺酸，M	蛋白質濃度，mg/ml	蔗糖，M	甘油，%	PEG 3350，%	二聚體(%)
1	1.00	1.00	0	0	0.2	17.38%
2	1.00	1.00	0.1	0	0	18.29%
3	1.00	1.00	0.25	0	0	18.16%
4	1.00	1.00	0	5	0.1	17.71%
5	1.00	1.00	0.1	5	0.2	19.00%
6	1.00	1.00	0.25	5	0.1	18.21%
7	1.00	1.00	0	10	0	16.30%
8	1.00	1.00	0.1	10	0.1	18.10%
9	1.00	1.00	0.25	10	0.2	16.61%
10	1.00	1.00	0.25	5	0	17.90%

【0413】 **實例4：再摺疊構築體之純化**

【0414】 在製程開發期間評估若干層析模式。陽離子交換(CEX)在相對較低pH下不成功，因為蛋白質將在低於目標構築體之pI的pH (pH 5.5)下沈澱。疏水相互作用層析(HIC)亦不成功，因為蛋白質似乎在結合所需之高鹽中不穩定。

【0415】 陰離子交換(AEX)效果良好，因為蛋白質在較高pH下穩定且以合理容量結合。評估來自不同供應商之若干AEX載體，其中Capto™ Q ImpRes給出最佳總效能，尤其就自兩種主要產物相關雜質、殘餘單體及聚集物種分離活性二聚體物種而言。作為拋光步驟，陶瓷羥磷灰石(CHT)係實施為混合模式正交步驟，以進一步減少產物及製程相關雜質。

【0416】 對再摺疊目標構築體進行AEX層析，接著進行CHT層析。兩個層析步驟之梯度溶離係用於初始臨床活動，其中將產生最佳化分步溶離之機會評估為臨床開發進展。在溶離期間，收集溶離份且藉由SE-HPLC分析各溶離份之目標構築體的二聚體含量。接著彙集含有高於指定臨限值(例如75%)之溶離份以便滿足所需二聚體含量百分比。在CHT步驟

之後，半成品經濃縮且使用UF/DF透濾為配方緩衝液。在**圖30**中示出主要製程中間物之SDS-PAGE分析，其表明二聚體純度在下游加工期間增加。

【0417】 **實例5：液體中間物之凍乾**

【0418】 為了產生含有IL-10遞送構築體之口服膠囊，將遵循實例4中所述之純化方案產生之純化液體中間物轉化為乾粉。凍乾係確定為產生粉末之適當方式，同時使聚集體形成最小化。

【0419】 藉由在透析為下文概述之若干組分的組合之後初步篩選目標構築體之凍融及剪切誘導之液體穩定性來執行建立凍乾緩衝液之配方開發：

1)界面活性劑：聚山梨醇酯80、20及泊洛沙姆188

2) pH範圍5至8

3)滲透劑：5%蔗糖

4)鹽：氯化鈉(NaCl)、氯化鉀(KCl)、氯化鎂($MgCl_2$)、硫酸銨(NH_4SO_4)及硫酸鈉(Na_2SO_4)。

【0420】 基於來自初步液體配方篩選之資料，確定泊洛沙姆188在剪應力下減少目標構築體之聚集，且150-200 mM之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)及NaCl亦表明增加之穩定性。

【0421】 基於來自初步液體配方篩選之結果的進一步測試，使用**表9**中之條件進行初步凍乾可行性研究。將已知在蛋白質凍乾中適用作非晶形增積劑之甘胺酸及甘露糖醇添加至此篩選，添加pH 7.0之組胺酸以提供7.0-7.5範圍內之pH之效應的更精細評估，且添加海藻糖作為將蔗糖作為滲透劑的一個選項。**圖21**及**圖22**展示在25℃下培育3天之前及之後(**圖21**)及在5個凍/融循環之前及之後(**圖22**)呈二聚體形式之目標構築體的百分

比。

表9-初步凍乾可行性研究中所用之條件的概述

緩衝液	增積劑	穩定劑
10 mM組胺酸，pH 7.0	-	150 mM NaCl
	2%甘胺酸	-
	2%甘胺酸	0.5% 蔗糖
	2%甘胺酸	0.5%海藻糖
	3%甘胺酸	-
	4%甘胺酸	50 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘胺酸	150 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘胺酸	50 mM NaCl，0.5%蔗糖
10 mM磷酸鈉，pH 7.5	-	150 mM NaCl
	2%甘胺酸	-
	2%甘胺酸	0.5%蔗糖
	2%甘胺酸	0.5%海藻糖
	3%甘胺酸	-
	4%甘露糖醇	50 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘露糖醇	150 mM NaCl，0.5%海藻糖
	4%甘露糖醇	50 mM NaCl，0.5%蔗糖

【0422】 此初步凍乾可行性研究表明就減少聚集而言，目標構築體在pH 7.5下，在蔗糖及甘胺酸之情況下更穩定。基於來自此初步研究之結果，使用**表10**中所列之配方進行第二凍乾篩選。

表10-第二配方緩衝液篩選之概述

					凍乾前(%)			凍乾後(%)		
緩衝液	緩衝劑	穩定劑	界面活性劑	pH	HMW	二聚體	單體	HMW	二聚體	單體
AMT-10 (起始物質)					2.6	89.2	8.2			
10 mM磷酸鈉	2%甘胺酸	0.5%蔗糖	0.3%泊洛沙姆	7.5	2.9	89.8	7.4	4.3	89.3	6.4
		1%蔗糖			2.96	90.1	6.9	4.1	89	6.9
		1%海藻糖			2.9	90.3	6.8	3.6	89.8	6.6
	4%甘露糖醇	蔗糖，1.3%精胺酸			3.1	90.1	6.8	3.9	89.5	6.6
		2.6%精胺酸			4.9	86.7	8.4	4.1	89.5	6.4
10 mM鉀	2%甘胺酸	1%蔗糖			3.15	90.3	6.6	3.7	89.8	6.4
		1%海藻糖			3.2	90.1	6.7	3.9	89.5	6.6
10 mM組胺酸	2%甘胺酸	1%蔗糖		7	2.8	90.9	6.3	3.5	89.9	6.6
		1%海藻糖			2.95	90.5	6.6	3.3	90.2	6.5

【0423】 根據此篩選，展現最佳穩定性之兩種配方為：

1) 10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖或1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5

2) 10mM組胺酸、2%甘胺酸、1%蔗糖或1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆，pH 7.0。

【0424】 使用此兩種配方，為了確保UF/DF步驟實現預期功能將且在凍乾過程開始時的冷凍將為可接受的，在如下**表11**中所概述之更高蛋白質濃度下進行最終液體配方凍/融篩選及短期穩定性研究。

表11-用於凍/融篩選之配方

配方
10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5
10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5
10 mM組胺酸、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.0
10 mM組胺酸、2%甘胺酸、1%海藻糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.0

【0425】 對於任何測試條件，濃度為20 mg/mL之目標構築體在凍/融期間或在4℃下於1週內不展示聚集之任何顯著增加。由10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188組成的pH為7.5之配方緩衝液經測定在2-8℃及25℃下於一週內具有最佳總體穩定性(參見**圖24C**及**圖24D**中之資料，盒及箭頭突出顯示最佳配方)。推薦將此配方在凍乾之前以緩衝液形式繼續用於UF/DF調配步驟中。來自凍/融實驗之資料展示於**圖23A**及**圖23B**中。來自短期穩定性研究之資料展示於**圖24A-圖24D**中。

【0426】 藉由解凍且將液體中間物分配至裝入凍乾器的托盤中來進行成批凍乾。凍乾循環期間之控制參數，諸如溫度及真空壓力係基於時間來執行。在完成該循環之後獲取過程內樣品。在置於第二LDPE襯墊內部之低密度聚乙烯(LDPE)第一襯墊中彙集及混合凍乾粉。第二襯墊經熱封，接著置於聚酯薄膜袋中，該袋亦經熱封。當凍乾時，目標構築體產生

白色至灰白色粉末。合併之凍乾粉為目標構築體藥物物質(DS)。

【0427】 **實例6：活體外評估包衣配方**

【0428】 不同配方類型可用於促進將活性醫藥成分(API)靶向遞送於其所需作用位點上，及保護API免受可影響其穩定性的胃腸道中存在之某些生理條件侵害。攝入後，API與可影響其穩定性的胃中之低胃pH及蛋白水解胃蛋白酶接觸。在穿過胃之後，API進入特徵為較高pH值的小腸。膽汁鹽及蛋白水解胰酶之分泌可對API之穩定性具有巨大影響。此外，蛋白水解酶之胃pH及濃度在進食及禁食狀態之間顯著變化。因此，此實例之目標為調查在穿過完整胃腸道期間，五種不同配方之崩解及其後續靶向咖啡鹼釋放。

【0429】 此實驗中所用之反應器設置由人類腸微生物生態系統模擬器(SHIME®)調適，其表示成人之胃腸(GI)道，如由以引用的方式併入本文中之Molly等人 (Appl Microbiol Biotechnol 39:254-258(1993))所描述。在此系統中，前兩個反應器模擬食物吸收及消化中之不同步驟，其中蠕動泵將界定量之進料以及胰汁及膽汁分別添加至胃及小腸區室，且在指定時間間隔之後清空各別反應器。後三個區室，具有恆定體積及pH控制之連續攪拌反應器模擬升結腸、橫結腸及降結腸。不同容器之滯留時間及pH經選擇以類似於胃腸道之不同部分中的活體內條件。

【0430】 在此實驗中，使用調適之SHIME®系統，其表示隨時間推移在相同反應器內之胃及小腸的生理條件(**圖3**)。為了模擬進食或禁食條件，將胃懸浮液添加至反應器中。此後，添加標準化酶及膽汁以模擬小腸條件。培育條件(pH概況、培育時間)經最佳化以類似於禁食或進食條件下之不同胃腸道區域中的活體內條件。

【0431】 *模擬胃及小腸之方案*

【0432】 在研究期間，在禁食條件下穿過胃及小腸期間測試膠囊溶解。

【0433】 在胃期內，培育在37℃下，在經由攪拌混合時，在pH 2.0處在45分鐘內發生(圖3)。相對於進食條件，添加低4倍含量的胃蛋白酶及磷脂醯膽鹼。作為背景介質，僅供應鹽及黏蛋白。在胃培育之t=0及45分鐘處進行取樣及目測評分。

【0434】 在小腸期內，在經由攪拌混合時，pH起初在5分鐘時段內自2.0自動增加至5.5，其後將介質之pH在第一個小時內自5.5增加至6.5，在第二個小時內自6.5增加至7.0，且在小腸培育之第三個小時內保持恆定於7.0之值(**圖5**)。將溫度控制在37℃下。關於胰酶，使用含有特定比之所有相關酶的原始動物胰臟提取物(胰酶)以及界定比之不同酶。在禁食條件下，添加相比於在進食條件下進行之實驗低5倍含量之胰酶。關於膽汁鹽，一般補充3.3 mM牛膽汁提取物，因為就牛磺膽酸鹽及甘膽酸鹽而言，牛膽汁比豬類動物更接近地匹配人類。

【0435】 *模擬結腸之方案*

【0436】 在此研究期間，收集一個供體之糞便樣品且儲存於-80℃下直至進一步用作結腸微生物源，以在穿過上胃腸道之後的所有結腸培育期間使用。使用相同結腸微生物因此允許比較在不同實驗期間獲得的結果。在取樣盒中捐獻糞便樣品之後，添加Anaerogen袋且立即將盒密封。Anaerogen袋中之粉末立即自取樣盒中移除所有氧氣。隨後，將厭氧PBS添加至糞便樣品且藉由在均質器(stomacher)中進行均質化來製備糞漿。糞漿經短暫離心以移除大顆粒。隨後，將等體積之低溫保護劑溶液添加至

糞便上清液中。在均質化之後，將防冷凍之糞漿在液氮中急凍且儲存於-80℃下。

【0437】 在開始實際結腸實驗之前，在生物反應器中預培育低溫保藏之糞便樣品以便獲得用於接種結腸培育物之完全代謝活性結腸背景微生物群。簡言之，在含有宿主及飲食源性基質之富集結腸培養基中接種2.5% (vol/vol)糞漿。經由用氮氣沖洗使容器厭氧且在37℃下培育24小時。因此，在24小時培育之後獲得完全建立及代謝活性的結腸微生物群。

【0438】 在胃/小腸實驗結束時獲取SIend (小腸末端或迴腸)之後，開始結腸培育。此藉由將含有宿主及飲食源性基質之200 mL新鮮結腸培養基添加至200 mL胃/小腸懸浮液來進行。藉由將300 mL預培育之糞便物質添加至生物反應器來獲得代謝活性內腔結腸微生物群之模擬。藉由用氮氣沖洗使容器厭氧且隨後在37℃下培育18小時。在結腸培育之0；0,5；1；1,5；2；3；4小時；及18小時之後進行膠囊之目測評分及反應器取樣。

【0439】 *膠囊崩解*

【0440】 在模擬胃腸道中轉運期間，根據以下評分進行膠囊之目視檢查：1：膠囊完整；2：膠囊受損但幾乎所有產品仍在膠囊中；3：膠囊受損且釋放所有產品；4：膠囊毀壞。

【0441】 實施HPLC-UV/Vis方法，該方法允許定量獲自反應器之樣品中的咖啡鹼濃度。簡言之，使用等濃度沖提分離方法(25%甲醇:75%水)在C18管柱上運行樣品。將管柱溫度控制在25℃下。每個樣品之總運行時間為7分鐘。注射體積為10 μL且UV/Vis偵測器係在272 nm下操作。使用外部標準物進行咖啡鹼定量。在管柱上注射之前，將樣品以9000 rpm離

心15分鐘。隨後，將上清液經由0.2 μm過濾器過濾至HPLC小瓶中。

【0442】 在實驗期間在禁食條件下測定各取樣點與其前一取樣點之間的咖啡鹼濃度之統計顯著差異，以展示隨時間之變化。就統計資料而言，由「$p<0.05$」或「*」論述及指示之所有資料的差異為顯著的，具有95%信賴區間，如使用斯圖登氏t檢驗(Student's t-test)所展現

【0443】 探究五種不同配方類型在穿過胃腸道期間之崩解(**表12**)。緊鄰五種配方之實驗，進行對照實驗以測定背景中之咖啡鹼濃度。向各反應器中添加一個膠囊且將膠囊安裝於膠囊沈降器中。所有實驗均以生物一式三份進行。

表12 - 測試之配方

膠囊標識	**Eudragit® L30D55: Eudragit® FS30D比**	**膠囊內含物**	**膠囊厚度**	**展示咖啡鹼釋放曲線之圖**
A	50 :50	20 mg SEQ ID NO: 5 10mg咖啡鹼	60 mg	圖5A
B	50 :50	20 mg SEQ ID NO: 5 10mg咖啡鹼	128 mg	圖5B
C	20 :80	10 mg rHSA 10mg咖啡鹼	60 mg	圖5C
D	20 :80	10 mg rHSA 10mg咖啡鹼	120 mg	圖5D
E	0 :100	10 mg rHSA 10mg咖啡鹼	60 mg	圖5E

【0444】 測定在對照實驗期間之不同取樣點處存在之咖啡鹼的濃度揭露此化合物不存在於胃腸道穿過實驗之胃、小腸及結腸期內。因此，在五種配方之實驗期間使用的背景介質不可對偵測自膠囊釋放之咖啡鹼產生干擾。

【0445】 具有1號膠囊上之60 mg包衣厚度及50:50之Eudragit®比L30D55:FS30D的膠囊1在穿過模擬禁食胃期間保持完全完整，由此保護

API免受胃培育期內存在之低pH條件侵害。膠囊在小腸培育之第一個小時內保持目測完整，在此期間，介質之pH自5.5之值增加至6.5。膠囊在小腸培育之第二個小時內變得受損，在此期間，pH自6.5之值增加至7.0之值。**圖5A**說明咖啡鹼自膠囊1之釋放。

【0446】 不管對膠囊之目測損害，大部分粉末保留於膠囊中，如由2小時小腸培育之後量測的低咖啡鹼量所證實。膠囊在小腸培育之第三個小時(7.0之穩定pH)內變得更受損，導致膠囊內部之主要部分的粉末經釋放，如由此取樣點處之咖啡鹼定量所顯見。在結腸培育期間，咖啡鹼之量保持相當恆定。觀測到少量增加且此主要歸因於在第2個重複實驗期間咖啡鹼自膠囊之不完全釋放。膠囊在結腸培育期結束時未完全毀壞，且膠囊之目視檢查揭露小部分的粉末仍存在於膠囊內。此解釋為何膠囊內存在的10 mg總劑量之咖啡鹼截至結腸培育結束幾乎完全釋放。因此，可推斷膠囊1促進API在小腸培育期末期的靶向遞送，其與胃腸道(GIT)之末端迴腸一致。

【0447】 具有1號膠囊上之128 mg包衣厚度及50:50之Eudragit® L30D55:FS30D比的膠囊2在穿過禁食胃期間保持完全完整(**圖5B**)。

【0448】 此外，相比於膠囊1 (相同Eudragit®比)，膠囊2增加之包衣厚度防止膠囊在穿過小腸培育期內變得受損，介質之pH在小腸培育期內自5.5之值增加至7.0。

【0449】 膠囊進入結腸環境使得膠囊在1.5小時培育之後產生目測損害，其使得在4小時結腸培育之後釋放少量咖啡鹼。延長之結腸培育對膠囊誘導進一步損害，導致大量的咖啡鹼在18小時結腸培育之後釋放至結腸腔中。在整個結腸培育期內，將介質之pH控制為高於5.8之值。因此，可

推斷相比於膠囊1，膠囊2之包衣厚度增加使得咖啡鹼延遲釋放。膠囊在穿過胃腸道之後未完全毀壞，指示膠囊之聚合物中之一者在穿過胃腸道期間存在之pH值下不溶解。因此，可推斷膠囊2促進API在結腸培育期末期之靶向遞送，其與胃腸道之遠端結腸一致。

【0450】具有1號膠囊上之60 mg包衣厚度及20:80之Eudragit® L30D55:FS30D的膠囊3在穿過禁食胃期間保持完全完整(**圖5C**)。儘管膠囊在穿過小腸期間未變得目測受損，但在3小時小腸培育之後偵測到少量咖啡鹼，指示膠囊發生不可偵測的微觀損害。膠囊在0.5小時結腸培育之後變得目測受損，其使得在4小時結腸培育之後，增加量的咖啡鹼自膠囊釋放。在4小時與18小時結腸培育之間，結腸介質中偵測之咖啡鹼的量進一步增加。膠囊在穿過整個胃腸道結束時未變得完全毀壞。因此，在用膠囊1及3進行之實驗期間獲得的資料之比較指示以L30D55為代價增加FS30D之百分比使得API在結腸培育期開始時靶向遞送，其對應於胃腸道之近端結腸。

【0451】具有1號膠囊上之120 mg包衣厚度及20:80之Eudragit® L30D55:FS30D比的膠囊4在穿過完整胃腸道期間保持目測完整(**圖5D**)。僅在第2及第3重複實驗期間偵測到少量咖啡鹼。因此，以L30D55為代價增加包衣厚度及FS30D之比防止API在上胃腸道及近端結腸中釋放。可假設內含物僅將在增加之pH下培育較長時間只好朝向遠端結腸釋放。

【0452】具有1號膠囊上之60 mg包衣厚度及0:100之Eudragit® L30D55:FS30D比的膠囊5在3小時小腸培育之後，在小腸懸浮液之pH等於7時變得目測受損(**圖5E**)。然而，幾乎所有粉末保持截留於膠囊內部，如由在小腸培育期結束時不存在可量測量之咖啡鹼所證明。在進入結腸

後，膠囊未變得進一步目測受損。僅在第3重複實驗運行期間，在18小時結腸培育之後偵測到足夠量的咖啡鹼。因此，可推斷在膠囊聚合物混合物中忽略L30D55致使在穿過上GIT及近端結腸期間不存在API之靶向遞送。可假設內含物僅將在增加之pH下培育較長時間只好朝向遠端結腸釋放。

【0453】 *結論*

【0454】 在本研究期間，評估五種不同配方在穿過胃、小腸及結腸期間的崩解。經由在專門時間點處之目測評分及經由測定在穿過胃腸道(GIT)期間自膠囊釋放之咖啡鹼的量來研究膠囊溶解。

【0455】 所有五種配方呈現不同溶解特徵，該等特徵係由其包衣厚度及Eudragit® L30D55:FS30D比所決定。當Eudragit® L30D55:FS30D比分別為50:50或20:80時，包衣厚度為60 mg之本研究之膠囊促進API在小腸培育結束時或結腸培育開始時的靶向遞送。將Eudragit® L30D55:FS30D比為50:50之膠囊的包衣厚度自60 mg增加至128 mg使得API在近端結腸培育末期靶向遞送。儘管膠囊1、2、3能夠提供API之靶向遞送，但此等膠囊在穿過GIT結束時未變得完全溶解，使得在結腸培育末期存在膠囊材料。膠囊4 (包衣厚度120，Eudragit® L30D55:FS30D比為20:80)及膠囊5 (包衣厚度60 mg且Eudragit® L30D55:FS30D比為0:100)在穿過上GIT及近端結腸期間不崩解，使得在當前實驗期間不存在API之靶向遞送。可假設內含物僅將在增加之pH下培育較長時間只好朝向遠端結腸釋放。

【0456】 **實例7：評估腸溶包衣**

【0457】 基於對包覆腸溶包衣之膠囊之研究批次進行的實驗來選擇腸溶包衣之組成。此等研究批次之組成概述於**表13**中。1號HPMC膠囊用

於所有批次。rHSA (重組人血清白蛋白)或物質粉末之填充重量為大約30 mg，因為各者之蛋白質含量為粉末重量的大約三分之一。包衣組合物包含標稱溶解pH為>5.5之Eudragit® L30D55及標稱溶解pH為>7之Eudragit® FS30D (Evonik GmbH產品資訊)的混合物。在大約6.5之pH值處的膠囊釋放對於提供足夠腸保護，同時允許在腸中釋放目標構築體係所需的。

表13-用於配方開發之膠囊的組成。將所有批次填充至1號HPMC膠囊。

Eudragit包衣組合物 (L30D55:FS30D之比)	腸溶包衣目標重量 (mg)	膠囊內含物
50:50 30:70 20:80 0:100	60 120 180	咖啡鹼(10 mg)，rHSA (10 mg) 咖啡鹼(10 mg)，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (10 mg)

【0458】 在兩個調查研究中用多批次包覆膠囊進行包覆評估。

【0459】 對於第一個研究，製備十二批含有咖啡鹼及重組人血清白蛋白(rHSA)之膠囊，其包含四種不同包衣組合物及三種不同包衣厚度之排列。包衣組合物包含按重量計比率為50:50至0:100之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D。

【0460】 此研究中包括咖啡鹼作為用於膠囊釋放之易於偵測的標記。rHSA被視為此研究中之目標構築體的適合之替代蛋白質，因為其使用與目標構築體藥物物質所用相同的凍乾緩衝液以凍乾組合物形式製備，蛋白質含量與目標構築體藥物物質大致相同，且凍乾組合物之物理形式為類似的。

【0461】 對於第二個研究，製備三批含有咖啡鹼及目標構築體之膠囊，其包含三種不同包衣厚度之包衣配方，該包衣配方含有等量之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D。

【0462】 將來自各研究批次之膠囊置於0.1 N HCl之攪拌溶液中至少60分鐘，接著轉移至指定、更高pH值下之緩衝溶液。此等條件意欲模擬暴露於胃之酸性環境，接著為通往腸時之大致中性pH。在各實驗中，對上清液定期取樣且測試已自膠囊釋放至溶液中之膠囊內含物的濃度。

【0463】 此等實驗之結果概述於下文。在任何情況下，任何包覆腸溶包衣之膠囊均不在1小時培育期內於0.1 N HCl中釋放內含物。因此，表

中呈現之資料僅表示在緩衝液培育期內的釋放。如所預期，所有評估之包衣均表明針對酸性環境之腸保護。

【0464】 *第一研究：包衣組成之選擇*

【0465】 腸溶包衣之組合物選自初步研究，該研究使用含有咖啡鹼作為釋放標記且使用rHSA作為目標構築體之蛋白質替代物的膠囊。Eudragit® L30D55與Eudragit® FS30D之比在50:50至0:100之間變化，以探究隨溶液pH而變的包衣組合物對膠囊釋放之影響。

【0466】 **表14-17**展示12組含有咖啡鹼及rHSA之包覆膠囊於pH 7.0緩衝液中之行為。將咖啡鹼及rHSA值標準化為100%以使膠囊達到最大釋放，資料未作其他調整。咖啡鹼及rHSA之釋放動力學基於膠囊包衣之重量及組成而變化，但對於各個別膠囊批次，兩種化合物之釋放為類似的。因此，咖啡鹼(小分子)及rHSA (蛋白質)提供關於在此等條件下之膠囊釋放的類似資訊。

表 14- 咖 啡 鹼 及 rHSA 自 包 覆 有 50:50 比 率 之 Eudragit® L30D55 及 Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	6	84	87	87	88	90	41	97	97	100	97	98
125	2	6	77	95	98	100	0	5	94	97	98	100
180	1	2	3	56	97	100	0	0	4	53	100	100

表 15- 咖 啡 鹼 及 rHSA 自 包 覆 有 30:70 比 率 之 Eudragit® L30D55 及 Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量 mg	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
61	15	95	96	98	99	100	24	98	98	98	98	100
118	1	4	82	91	95	100	0	3	92	95	98	100
182	0	1	3	55	93	100	0	0	0	74	94	100

表16-咖啡鹼及rHSA自包覆有20:80比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
56	5	87	97	97	100	98	7	96	98	97	99	100
120	1	2	7	78	95	100	0	0	2	89	98	100
177	1	1	1	5	56	100	0	0	0	2	87	100

表17-咖啡鹼及rHSA自包覆有0:100比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之rHSA釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
59	1	19	93	97	99	100	0	50	97	98	98	100
120	1	1	3	23	83	100	0	0	0	0	94	100
181	1	2	2	ND	2	18	0	0	0	0	0	45

【0467】對於此等膠囊批次，更大的腸溶包衣總重量與更慢的咖啡鹼及rHSA於pH 7.0緩衝液中開始釋放，及更長的達成完全釋放之時間相關。在pH 7.0緩衝液中之釋放與包衣組合物之間可見較不顯著的相關性。幾乎所有膠囊在測試過程於pH 7.0緩衝液中完全釋放其內含物，除了包覆有100:0比率之FS30D與L30D55的膠囊顯示釋放起始經延遲且較大包衣重量之釋放不完全。

【0468】**表18-19**概述相同膠囊在pH 6.5及pH 6.0緩衝液中之行為。僅呈現rHSA值，因為各膠囊之咖啡鹼釋放及rHSA之動力學再次類似。將rHSA值標準化為100%以使膠囊達到最大釋放，資料未作其他調整。**表18-19**中所示之包衣重量為目標包衣重量，但實際包衣重量與目標包衣重量相比改變不超過5 mg。

表18-rHSA自包覆有不同比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放，pH 6.5緩衝液

	rHSA在規定時間自規定包衣組合物之膠囊的釋放																	
包衣組合物	50:50 FS30D/L30D55						70:50 FS30D/L30D55						80:50 FS30D/L30D55					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	11	93	96	98	99	100	8	78	95	97	98	100	0	17	64	77	82	92
120	0	2	13	94	98	100	0	7	36	64	92	100	0	0	0	0	12	42
180	0	0	2	3	94	100	0	0	0	4	43	85	0	0	0	0	1	10

表19-rHSA自包覆有不同比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放，pH 6.0緩衝液

	rHSA在規定時間自規定包衣組合物之膠囊的釋放																	
包衣組合物	50:50 FS30D/L30D55						70:30 FS30D/L30D55						80:20 FS30D/L30D55					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	12	79	97	98	100	100	4	30	43	58	62	67	0	0	29	39	52	100
120	0	6	21	23	83	98	0	0	0	0	39	72	0	0	0	0	0	0
180	0	0	0	0	6	30	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0

【0469】 在任一緩衝液條件下，觀測到釋放動力學相對於包衣重量之明顯趨勢，其中增加的腸溶包衣總重量與更慢的rHSA釋放起始，及更長的達成完全釋放之時間相關。在pH 6.5及pH 6.0下，包衣組合物之趨勢亦為顯而易見的。含有較高比例之Eudragit® FS30D之包衣在較低緩衝液pH下顯示延遲的釋放起始，且在此等情況下，針對較大包衣重量觀測到不完全釋放或無釋放。在此等條件下，在pH 6.5或6.0下，針對包覆有100:0比率之FS30D與L30D55的任何膠囊均未觀測到釋放。

【0470】 因此，rHSA之釋放取決於腸溶包衣之重量及組成。60 mg之包衣重量與Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之50:50組成提供在此等條件下測試之膠囊的最快速釋放。

【0471】 *第二研究：包衣重量之選擇*

【0472】在第二研究中用含有目標構築體之膠囊繼續評估包衣重量。

【0473】**表20-22**展示含有咖啡鹼及目標構築體，具有50:50 Eudragit®聚合物L30D55及FS30D之不同包衣重量之三批膠囊的行為。檢查咖啡鹼及目標構築體於pH 7.0、pH 6.5及pH 6.0之緩衝液中的釋放。此等膠囊在0.1 N HCl中經受先前培育1小時，且未在任何情況下偵測到咖啡鹼或目標構築體釋放。將咖啡鹼及目標構築體值標準化為100%以使膠囊達到最大釋放，資料未作其他調整。ND指示由於樣品損失而不可確定資料點。

表20-咖啡鹼及目標構築體自包覆有50:50比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 7.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之AMT-101釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	13	100	97	97	98	100	8	81	81	81	78	75
128	0	3	60	95	98	100	0	0	60	81	81	ND
178	0	1	3	5	76	100	0	0	6	6	45	39

表21-咖啡鹼及目標構築體自包覆有50:50比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 6.5緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之AMT-101釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	5	22	97	98	98	100	0	60	72	72	73	70
128	0	1	6	36	81	100	0	0	0	32	41	39
178	0	0	0	2	11	37	0	0	0	0	0	5

表22-咖啡鹼及目標構築體自包覆有50:50比率之Eudragit® L30D55及Eudragit® FS30D之膠囊的釋放%，pH 6.0緩衝液

	規定時間處之咖啡鹼釋放						規定時間處之AMT-101釋放					
包衣重量(mg)	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時	1小時	2小時	3小時	4小時	6小時	8小時
60	3	16	56	88	98	100	7	13	18	18	17	17
128	0	0	3	8	51	88	0	0	0	0	6	6
178	0	0	0	2	11	34	0	0	0	0	0	0

【0474】 各膠囊之咖啡鹼及目標構築體開始釋放的時間為類似的。如更早對於rHSA膠囊可見，觀測到釋放動力學相對於包衣重量之明顯趨勢，其中增加的腸溶包衣總重量與咖啡鹼及目標構築體更晚開始釋放，及更長的達成完成釋放之時間相關。一般而言，目標構築體釋放達到比基於膠囊填充重量所計算更低的濃度。開始釋放之時間更早的膠囊一般達成更高的目標構築體濃度。將在將來的研究中探究低於目標構築體之預期釋放的原因。在開發之此早期階段，選擇快速釋放之包衣組合物以使目標構築體在膠囊釋放期間的潛在損失最小化。

【0475】 *腸溶包衣之選擇*

【0476】 基於研究膠囊研究，選擇包含Eudragit®聚合物L30D55及FS30D之50:50混合物的包衣組合物用於臨床膠囊表現。選擇1號膠囊上60 mg之目標包衣重量以提供針對胃酸之腸保護，但在達到中性pH環境時釋放膠囊內含物。1號膠囊上60 mg之包衣重量提供與選擇用於臨床表現之0號膠囊的75 mg包衣等效之包衣厚度。

【0477】 **實例8：活體外溶解資料**

【0478】 測試八種膠囊包衣配方(**表23**中之配方A-H)在改變之pH下的活體外溶解速率。第一個小時為酸階段，其中膠囊暴露於含有0.1 M鹽酸，pH為1.0之溶解介質。其餘的小時花費於緩衝液階段，其中膠囊暴露於含有檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液，pH為7.0、6.5或6.0之溶解介質。各膠囊在更換培養基時用塑膠刮勺移除。將膠囊置於150 mL玻璃燒杯內部，該燒杯具有以100 rpm攪拌之攪拌棒及設定於37℃下之加熱器。藉由量測UV吸光度來確定咖啡鹼之釋放%。藉由尺寸排阻層析(SEC)來確定IL-10遞送構築體之釋放% (**表24**)，且二聚體形式係偵測為單峰。記錄值係確定

自各別分析物之標準曲線。在SE-HPLC期間，多角度光散射(MALS)偵測與UV吸光度及折射率(RI)偵測之組合用於確定溶離峰之分子量。藉由280 nm處之吸光度執行偵測。

【0479】 Eudgragit包覆之膠囊經受1小時酸階段溶解，且接著經受緩衝液階段溶解。僅在緩衝液階段中測試不具有Eudragit包衣(僅具有HPMC包衣)之膠囊。在分析之整個持續時間內在100 rpm下攪拌溶解介質。在酸階段結束時、緩衝液階段之1小時、2小時、3小時、4小時、6小時及24小時處將樣品之500 μL等分試樣收集至0.22 μm乙酸纖維素Spin-X離心管過濾器(Costar目錄號8161)中。在15,000 ×g下進行離心2分鐘。接著將樣品之150 μL等分試樣轉移至HPLC小瓶中，且首先藉由SEC且接著藉由RP層析進行分析。

表23-檢查膠囊內含物之活體外溶解的膠囊配方

配方標識符	每一膠囊之目標構築體量(mg)	每一膠囊之咖啡鹼量(mg)	HPMC膠囊包衣(mg)	Eudragit® 組合物 (L30D55/FS30D)	Eudragit® 包衣重量增加	描述
A	10	10	10	50/50	60	參考組合物
B	10	10	10	50/50	30	薄Eudragit® 50/50
C	10	10	10	30/70	30	薄Eudragit® 30/70
D	10	10	10	30/70	60	標準30/70
E	10	10	10	30/70	90	標準30/70
F	10	10	10	30/70	120	厚30/70
G	10	10	60	50/50	30	增加HPMC
H	10	10	180	50/50	30	厚HPMC

表24-SE-HPLC方法

系統	具有PDA偵測器之Vanquish UHPLC系統
管柱	Waters ACQUITY UPLC Protein BEH SEC 200Å 1.7 μm，4.6×150 mm 零件編號：186005225
管柱溫度	25℃
自動進樣器溫度	4℃
移動相	100 mM磷酸鈉，150 mM氯化鈉，pH 7.0±0.1
分離模式	等度
流動速率	0.3 mL/min
總運行時間	10 min
偵測波長	215 nm，280 nm
注射體積	100 μL (或改變)

【0480】 量測膠囊配方A-B (**圖6A**)、膠囊配方C-F (**圖6B**)及膠囊配方G-H (**圖6C**)中之每一者在pH 7.0處釋放之咖啡鹼的%。量測膠囊配方A-B (**圖7A**)、膠囊配方C-F (**圖7B**)及膠囊配方G-H (**圖7C**)中之每一者在pH 6.5處釋放之咖啡鹼的%。量測膠囊配方A-B (**圖8A**)、膠囊配方C-F (**圖8B**)及膠囊配方G-H (**圖8C**)中之每一者在pH 6.0處釋放之咖啡鹼的%。

【0481】 量測膠囊配方A-B (**圖9A**)、膠囊配方C-F (**圖9B**)及膠囊配方G-H (**圖9C**)中之每一者在pH 7.0處釋放之目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖10A**)、膠囊配方C-F (**圖10B**)及膠囊配方G-H (**圖10C**)中之每一者在pH 6.5處釋放之目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖11A**)、膠囊配方C-F (**圖11B**)及膠囊配方G-H (**圖11C**)中之每一者在pH 6.0處釋放之目標構築體的%。

【0482】 亦測定呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖12A**)、膠囊配方C-F (**圖12B**)及膠囊配方G-H (**圖12C**)中之每一者在pH 7.0處釋放之呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。量測膠囊配方A-B (**圖13A**)、膠囊配方C-F (**圖13B**)及膠囊配方G-H (**圖13C**)中之每一者在pH 6.5處釋放之呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。量測膠囊

配方A-B (**圖14A**)、膠囊配方C-F (**圖14B**)及膠囊配方G-H (**圖14C**)中之每一者在pH 6.0處釋放之呈二聚體形式之經釋放目標構築體的%。

【0483】 **實例9：食蟹獼猴中之膠囊包衣研究**

【0484】 在雄性食蟹獼猴中測試八種膠囊包衣配方(**表25**中之配方A-H)。膠囊係以單次劑量投與，每隻動物2個膠囊，且用藥丸槍經口投與。在膠囊投與後8小時收集血漿樣品，且分析IL-10 (**圖15A**、**圖16A**及**圖17A**)、咖啡鹼(**圖15B**、**圖16B**及**圖17B**)及介白素-1受體拮抗劑(IL-1RA) (**圖15C**、**圖16C**及**圖17C**)。

表25-向食蟹獼猴投與之膠囊的配方

配方標識符	每一膠囊之目標構築體量(mg)	每一膠囊之咖啡鹼量(mg)	HPMC膠囊包衣(mg)	Eudragit® 組合物(L30D55/FS30D)	Eudragit® 包衣重量增加	描述	每隻動物之膠囊數目	N
A	10	10	10	50/50	62	參考組合物	2	3
B	10	10	10	50/50	31	薄 Eudragit® 50/50	2	3
C	10	10	10	30/70	31	薄 Eudragit® 30/70	2	3
D	10	10	10	30/70	62	標準30/70	2	3
E	10	10	10	30/70	92	標準30/70	2	3
F	10	10	10	30/70	123	厚30/70	2	3
G	10	10	60	50/50	31	增加HPMC	2	3
H	10	10	180	50/50	31	厚HPMC	2	3

【0485】 穩定咖啡鹼信號指示膠囊打開行為。膠囊打開時間及動力學(來自咖啡鹼)與活體外溶解資料的相關性良好。較薄包衣顯示最快速打開(50/50 Eudragit® L30D55/FS30D及30/70 Eudragit® L30D55/FS30D之30 mg包衣)。一些配方之全身性Il-10及IL-1RA含量升高。PK及生物標記信號之時程與咖啡鹼釋放時程資料的相關性良好。較薄包衣顯示全身性IL-10及IL-1RA之最顯著升高(50/50 Eudragit® L30D55/FS30D及30/70 Eudragit® L30D55/FS30D之30 mg包衣)。

【0486】 **實例10：開發具有改良特徵之粉末**

【0487】 低密度之凍乾組合物可具有不佳流動特徵。目標為開發具有增加之密度及改良之流動特性的凍乾組合物配方。將凍乾組合物與賦形劑摻合以改良膠囊填充或使得能夠進行錠劑調配。

【0488】 重組人血清白蛋白(rHSA)係用作填充用替代蛋白質。用與凍乾目標構築體相同的方法、組成及密度製得凍乾rHSA (lyo-rHSA)，其中每一膠囊之目標API為20 mg (等效於56 mg凍乾組合物)。

【0489】 Profill膠囊填充系統用於產生七種不同摻合物(**表26**)，包括凍乾藥物物質(僅含有凍乾rHSA)以及另外具有其他賦形劑，諸如甘胺酸及蔗糖之凍乾藥物物質。

表26 - Profill摻合物

混合物	目標填充重量(mg)	目標填充膠囊重量(mg)	可接受膠囊% ± 5%	可接受膠囊% ± 7.5%
100% lyo-rHSA	56.4	118.0	53	82
95% lyo-rHSA，5%甘胺酸	59.4	121.0	65	78
90% lyo-rHSA，10%甘胺酸	62.6	124.4	45	63
80% lyo-rHSA，20%甘胺酸	70.4	132.0	29	42
95% lyo-rHSA，5% 2:1蔗糖:甘胺酸	59.4	121.0	61	75
90% lyo-rHSA，10% 2:1蔗糖:甘胺酸	62.8	124.4	57	66
80% lyo-rHSA，10% 2:1蔗糖:甘胺酸	70.4	132.0	55	69

【0490】 總之，ProFill為使用粉末，諸如凍乾之IL-10遞送構築體填充膠囊的可行系統。亦可作出不需要添加賦形劑以藉由ProFill達成粉末填充的結論。另外，來自不滿足重量目標之膠囊的粉末可經回收及再循環。

【0491】 **實例11：目標構築體及壓實賦形劑之相容性篩選**

【0492】 在乾燥(粉末)狀態下評估各種錠劑賦形劑與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之相容性。

【0493】 將呈乾燥狀態之IL-10遞送構築體(使用先前判定為具有最

佳總體穩定性之配方緩衝液(10 mM磷酸鉀、2%甘胺酸、1%蔗糖、0.3%泊洛沙姆188，pH 7.5)開發之IL-10遞送構築體藥物物質，或DS，如實例5中所述)與各個別賦形劑摻合，且接著在分析之前在40℃下靜置培育72小時。各樣品之組成及分析概述描述於**表27**中。將IL-10遞送構築體DS及賦形劑(各為相等重量，1:3比率之API:賦形劑)置於加蓋之4 mL硼矽玻璃小瓶中且使用TURBULA®系統摻合2分鐘，接著將樣品在40℃下於加蓋之4 mL硼矽玻璃小瓶中靜置培育72小時。粉末摻合物接著用PBS復原為IL-10遞送構築體之0.5 mg/mL溶液。接著將樣品穿過0.2 μm過濾器，隨後進行SEC分析(**圖18**)。在粉末狀態下未觀測到與目標構築體不相容。

表27-乾混之IL-10遞送構築體/賦形劑粉末的組成及SEC分析

組成					SEC分析		
樣品編號	賦形劑	級別	重量(mg)	API重量(mg)	HMW	二聚體	單體
1	僅DS	NA	0	12	10.1	81.5	7.1
2	矽化微晶纖維素	Prosolv SMCC 90	36	12	11.7	82.4	5.9
3	交聯聚維酮	Kollidon CL	36	12	11.7	80.3	8
4	單水合乳糖	Ligamed	36	12	12.2	81.2	6.7
5	MCC	VIVAPUR	36	12	12.7	81.0	6.2
6	山嵛酸甘油酯	COMPRITOL	36	12	12.3	80.1	7.6
7	硬脂酸鎂	Ligamed	36	12	11.5	79.2	9.3
8	交聯羧甲纖維素鈉	VIVASOL GF	36	12	12.9	79.2	7.8
9	澱粉	Aldrich	36	12	12.5	80.8	6.7

【0494】 對於錠劑製造，使材料經受壓實及壓縮過程。對於具有潛在敏感之三級及四級結構的蛋白質藥物，出於蛋白質完整性保留，需要研究此等機械應力。

【0495】 針對錠劑形成之初始步驟評估IL-10遞送構築體之相容性。進行摻合及壓實過程。在各情況下進行輥壓及結塊，後續碾磨為顆粒。在**表28**中示出各配方之組成。為了探究賦形劑功能性及相容性，在三種配方中包括不同賦形劑。

表28-用於壓實/粒化之初始配方的組成；IG=顆粒內組合物；EG=顆粒外組合物。%值為w/w且為標稱值(未針對蛋白質含量校正)

	F1配方			F2配方			結塊/粒化配方		
組分	標識	IG (%)	EG (%)	標識	IG (%)	EG (%)	標識	IG (%)	EG (%)
活性成分	SEQ ID NO: 5	8.00	-	SEQ ID NO: 5	8.00	-	SEQ ID NO: 5	17.31	-
增積劑	SMCC	68.00	18.35	DCP/MCC	68.00	18.35	蔗糖	72.32	-
崩解劑	交聯聚維酮	3.00	1.00	交聯羧甲纖維素鈉	3.00	1.00	交聯聚維酮	3.24	1.94
潤滑劑	硬脂酸鎂	1.00	0.25	硬脂酸鎂	1.00	0.25	山嵛酸甘油酯	3.24	1.94

【0496】 在**表29**中示出來自2種預摻合配方(F1及F2)之結果。在2種力下進行輥壓，且將所得條帶分別粒化。材料在PBS中以0.65 mg/mL SEQ ID NO: 5復原且經0.2 μm過濾器(Advantec)過濾，隨後進行SEC分析。亦將樣品在40℃下培育兩週，隨後進行復原及分析。

表29-配方F1及F2在粒化過程期間的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度；在小規模裝置上以2種力輥壓。經由1.2 μm篩進行粒化。

	室溫(RT)二聚體純度		40℃二聚體純度	
中間物	F1	F2	F1	F2
藥物物質(DS)	75.9		78.6	
預摻合物	75.1	73.7	77.3	76.3
條帶(低力)	72.5	74.4	76.1	74.5
條帶(高力)	71.6	71.1	73.7	72.6
顆粒(低力)	74.3	74.6	74.5	72.6
顆粒(高力)	74.5	73.8	71.9	72.4

【0497】 F1及F2中間物之二聚體純度資料指示由此等加工步驟所致之差異極小，且40℃培育之後的值與初始樣品類似。儘管如此，相比於藥物物質，各過程中間物展示略微降低之二聚體純度。

【0498】 對於在結塊/粒化過程中產生之中間物進行相同分析(**表30**)。除了不同的壓實方法之外，結塊/粒化批料的黏合劑及潤滑劑組成不同。樣品二聚體純度在過程內樣品之間展示極小至無差異，且二聚體純度

相比於藥物物質僅略微下降。此表明結塊/粒化樣品之組成及方法維持IL-10遞送構築體完整性。

表30-結塊/粒化配方在粒化過程內的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度

中間物	藥物物質(DS)	篩分之DS	預混摻合物	最終摻合物	塊	顆粒
純度	81.2	79.5	79.4	80.4	79.3	78.9

【0499】 在PBS中復原之後，對所選過程中間物樣品進行穩定性評估(**圖95**)。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)溶液在實驗過程中在室溫下穩定，但當儲存於37℃下時展示顯著降解。大部分樣品展示與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) DS類似的溶液穩定性，但相比於來自結塊/粒化過程之樣品，F1及F2摻合物均展示較快降解。

【0500】 此等結果表明F1及F2配方之組分與SEQ ID NO: 5之相容性較差，或壓實過程可影響IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。

【0501】 為了鑑別F1/F2組合物中是否存在有害組分，針對與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在溶液中之相容性來評估個別賦形劑。將DS及單一賦形劑以0.3 mg/mL IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)懸浮於PBS中。將樣品在37℃下振盪培育5小時，定期抽取樣品用於SEC分析。結果展示於**圖96**中。

【0502】 大部分樣品展示與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) DS類似的降解，但在F1/F2組合物中用作潤滑劑之硬脂酸鎂的存在使得IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)降解速率顯著增加。值得注意的是，二山嵛酸甘油酯未對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度展示不良影響。

【0503】 硬脂酸鎂具有離子界面活性劑樣特性，而山嵛酸甘油酯為非離子界面活性劑。為了進一步表徵潤滑劑相容性，評估一系列額外潤滑

劑候選物。結果展示於**圖97**中。

【0504】 硬脂醯反丁烯二酸鈉(與硬脂酸鎂相關之脂肪酸鹽)使得IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之降解略微加速。具有強陰離子硫酸基團之月桂酸硫酸鈉在混合後立即降解IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。

【0505】 實例12：用於錠劑產生之壓縮力的篩選

【0506】 不同壓縮力用於產生F1錠劑(**表31**)及F2錠劑(**表32**)。亦在壓實為錠劑之後檢查目標構築體之二聚體純度。目標構築體蛋白質針對壓實及粒化為穩定的，儘管在最終錠劑形式中觀測到一些聚集(**圖19**)。亦在各種錠劑於pH 7.0下溶解之後評估二聚體回收(**圖20A-圖20D**)。

表31-F1錠劑特性

產品	壓縮力，lb.f	厚度，毫米	脆度篩選(n=1)，%(± 0.5%)	硬度，kp	崩解(片段)，37℃
IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，F-1錠劑來自最終摻合物批次#44A	2,000	4.04	0.0	18.4	2分鐘45秒：溶脹+侵蝕
	2,500	3.88	0.0	25.0	10分鐘：起初略微溶脹，接著緩慢侵蝕
	3,000	3.83	0.0	26.5	14分鐘30秒：緩慢侵蝕
	3,500	3.80	0.0	27.1	16分鐘：緩慢侵蝕

表32-F2錠劑特性

產品	壓縮力，lb.f	厚度，毫米	脆度篩選(n=1)，%(± 0.5%)	硬度，kp	崩解(片段)，37℃
IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，F-2錠劑來自最終摻合物批次#46A	2,000	3.74	0.0	14.4	1分鐘10秒：快速崩解為細粒
	2,500	3.61	0.0	16.2	10分鐘：略微溶脹 3分鐘：侵蝕
	3,000	3.49	0.0	20.4	5分鐘30秒：緩慢侵蝕
	3,500	3.49	0.0	20.4	7分鐘：緩慢侵蝕

【0507】 產生額外錠劑(F3)，其與F1錠劑類似，但替代硬脂酸鎂具有二山嵛酸甘油酯(**表33**)。由於硬脂酸鎂在將目標構築體溶解於溶液中的

不相容性而進行此取代。

表33-F3錠劑組合物F3

相	成分	級別	比例，%	每錠之質量，mg	以g為單位之量，針對15 g批料
IG	IL-10遞送構築體	n/a	8.000%	16	1.2000
	SMCC	Prosolv SMCC 90	68.000%	136	10.2000
	交聯聚維酮	Kollidon CL	3.000%	6	0.4500
	二山嵛酸甘油酯	Compritol 888 ATO	1.000%	2	0.1500
EG	SMCC	Prosolv SMCC 90	18.750%	37.5	2.8125
	交聯聚維酮	Kollidon CL	1.000%	2	0.1500
	二山嵛酸甘油酯	Compritol 888 ATO	0.250%	0.5	0.0375
	總核心重量		**100.000%**	**200**	**15.0000**

【0508】 **實例13：評估口服膠囊包衣配方在健康個體中之活體內效能**

【0509】 研究之主要目標為：使用閃爍攝影方法評估膠囊包衣配方之單一口服劑量的活體內效能，及使用閃爍攝影方法比較在進食及禁食狀態下之所選膠囊包衣配方之單一口服劑量的活體內效能。研究之次要目標為：提供關於膠囊包衣配方在經口投與之後的安全性之資訊。研究之探索性目標為：收集SmartPill®轉運穿過腸時各研究個體之禁食pH、溫度及壓力概況。

【0510】 *研究設計*

【0511】 此為健康個體中之單中心、開放標記、非隨機、連續、單劑量、四期、閃爍攝影成像研究。登記12個個體之單一組。各個體接受如**表34**中所概述之方案。施加至0號膠囊之膠囊包衣配方描述於**表35**中，且預測在迴腸、近端結腸(隨後+1)或遠端結腸(隨後+2)中出現IL-10遞送構築體之釋放。口服膠囊包衣配方以意圖用於經口投與之包覆腸溶包衣的0

號膠囊形式供應。此研究檢查膠囊包衣配方且不檢查SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體。此研究中之膠囊不含任何活性成分。在劑量之間存在3天最小清除期。在第3期之後，存在來自先前時期之安全性及閃爍攝影術資料的中期分析及審查期，以確定應選擇何種膠囊包衣配方在第4期中於進食狀態下投與。

表34-向健康患者投與之方案

時期	方案	測試產品(TP)劑量
1	A	膠囊包衣配方1，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下
2	B	膠囊包衣配方2，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下
3	C	膠囊包衣配方3，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下
4	D	膠囊包衣配方1、2或3，用NMT 1 MBq ^{111}In進行放射性標記，在禁食狀態下

^{111}In：銦-111，NMT：不超過；MBq：兆貝克

表35-用於閃爍攝影術研究之包衣配方

編號	腸溶包衣組成(L30D55/FS30D)	腸溶包衣厚度(mg)	HPMC厚度(mg)	預測之釋放
1	50/50	75	10	迴腸
2	30/70	75	10	隨後+1
3	20/80	40	10	隨後+2

【0512】 在第1期中進行給藥之前至多28天關於參與研究之合格性篩選個體。對於各治療期，合格的個體在給藥(第1天)之前一天的晚上入住臨床單位。個體在隔夜禁食最少10小時(方案A、B及C)之後或在高脂早餐(方案D)之後於第1天上午接受配方。在第1天在基於閃爍攝影成像要求適當的個體間時間間隔(例如大約10分鐘)下進行投與。基於數理邏輯來確定開始時間。個體保持駐留在臨床單位直至給藥後24小時。在各禁食方案期間，4個個體緊接在投與口服膠囊之後接受SmartPill®膠囊。各個體僅在一個方案中接受SmartPill；個體001至004在方案A中接受SmartPill®，

個體005至008在方案B中接受SmartPill®且個體009至012在方案C中接受SmartPill®。若仍自原位之SmartPill®擷取資料，則個體在下一給藥時刻不進行給藥。各產品投與之間存在最少3天的清除期。在所有時期中，與各放射性標記之測試產品(TP)一起投與99mTc-DTPA飲品，以提供胃腸道之輪廓以便能夠進行閃爍攝影分析。在最終劑量後5至7天將進行電話回訪以確保個體持續健康。

【0513】 *γ閃爍攝影術*

【0514】 對於所有方案，以規律時間間隔收集持續大約50秒之前雙同位素影像，直至給藥後24小時。來自經99mTc-DTPA放射性標記之飲品的影像僅用於提供胃腸道輪廓且不進行分析。進行定性閃爍攝影資料分析以確定以下參數：自膠囊之初始放射性標記釋放的時間及解剖位置，及自膠囊之完全放射性標記釋放的時間及解剖位置。放射性標記釋放之解剖位置由以下各者界定：胃、近端小腸、遠端小腸、升結腸(包括肝曲)、橫結腸(包括脾曲)及降結腸(包括乙狀結腸及直腸)。在完全放射性標記釋放之前，膠囊轉運穿過胃腸道之定性閃爍攝影評估係藉由分析以下參數來進行：胃排空時間及結腸到達時間。在完全放射性標記釋放之後，不評估另外的轉運參數。

【0515】 *pH遙測膠囊*

【0516】 在各禁食方案期間，四個個體緊接在投與TP之後接受SmartPill®膠囊。各個體僅在一個方案中接受SmartPill®。SmartPill®膠囊為市售以供醫師用於診斷目的之單次用可吸收膠囊。在可吸收膠囊上之感測器在膠囊於胃腸道之長度中行進時量測pH、溫度及壓力。經由434 MHz之振幅移位鍵控調製射頻信號將量測值自胃腸道內之膠囊傳輸至個體

佩戴之資料接收器且隨後在膠囊穿過後下載至膝上型電腦用於分析及審查。MotiliGI™軟體自動進行資料分析且以含有胃排空時間及運動指數的可列印報告提供給醫師。SmartPill®膠囊通常在幾天內穿過。

【0517】 經包覆安慰劑膠囊及SmartPill®之形狀、尺寸及重量不相同，因此，2個膠囊可能不在恰好相同的時間轉運穿過胃腸道。然而，SmartPill®提供允許表徵來自不同腸區域之pH、壓力及溫度資訊的資料。

【0518】 *結果*

【0519】 在投與膠囊包衣配方1之後，以給藥後2.675小時之平均值觀測到初始放射性標記釋放(**表36、表37；圖32A**)。在大致1.1小時後達成完全放射性標記釋放，平均時間為給藥後3.758小時(**表36、表37；圖32B**)。注意到崩解之解剖位置為高度可變的，對於初始釋放在胃至升結腸(AC)範圍內(**圖33A**)，且對於完全釋放在胃至降結腸(DC)範圍內(**圖33B**)。

【0520】 在投與膠囊包衣配方2之後，以給藥後4.903小時之平均值觀測到初始放射性標記釋放(**表36、表38；圖32A**)。與膠囊包衣配方1類似，在大約1.3小時後出現完全放射性標記釋放，平均時間為給藥後6.176小時(**表36、表38；圖32B**)。初始(**圖33A**)及完全(**圖33B**)崩解之解剖位置顯示較少變化，其中所有放射性標記釋放出現在遠端小腸(DSB)與AC之間。

【0521】 在投與膠囊包衣配方3之後，初始放射性標記釋放在比膠囊包衣配方2略微更早的時間(給藥後4.082小時處)出現(**表36、表39；圖32A**)。與膠囊包衣配方1及2類似，注意到在大約1.2小時後出現完全放射

性標記釋放，平均時間為給藥後5.308小時(**表36、表39；圖32B**)。崩解之解剖位置比膠囊包衣配方1之解剖位置更不可變，但比針對膠囊包衣配方2注意到的解剖位置更可變。初始釋放在近端小腸(PSB)至AC範圍內(**圖33A**)，而完全釋放在DSB至橫結腸(TC)範圍內(**圖33B**)。

表36-在投與口服膠囊包衣配方之後，健康志願者中之初始及完全放射性標記釋放之時間及位置的定性閃爍攝影參數。

	初始放射性標記釋放*(給藥後的小時數)	初始位置類別a (n)	完全放射性標記釋放*(給藥後的小時數)	完全位置類別[a] (n)	崩解持續時間(小時)
方案A 膠囊包衣配方1 (N=12)	2.675 (1.140)	胃(n=1) 胃/PSB (n=1) PSB (n=2) DSB (n=5) DSB/AC (n=1) AC (n=2)	3.758 (1.736)	胃(n=1) PSB (n=2) DSB (n=5) DSB/AC (n=1) AC (n=1) TC (n=1) DC (n=1)	1.083 (0.857)
方案B 膠囊包衣配方2 (N=12)	4.903 (1.298)	DSB (n=9) AC (n=3)	6.176 (2.289)	DSB (n=5) DSB/AC (n=2) AC (n=5)	1.273 (1.444)
方案C 膠囊包衣配方3 (N=12)	4.082 (1.769)	PSB (n=1) DSB (n=8) DSB/AC (n=1) AC (n=2)	5.308 (2.738)	DSB (n=8) AC (n=3) TC (n=1)	1.226 (1.454)

*平均值(±SD)

[a]由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

表37-在投與口服膠囊包衣配方1之後，健康志願者中之定性閃爍攝影參數(方案A)

個體編號	初始放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在初始釋放時的解剖位置[a]	完全放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在完全釋放時的解剖位置[a]	崩解持續時間(小時)
001	2.63	PSB	4.13	DSB	1.50
002	1.63	DSB	2.88	DSB	1.25
003	2.14	DSB	2.39	DSB	0.25
004	2.38	PSB	2.88	PSB	0.50
005	2.13	胃	2.38	胃	0.25
006	5.13	AC	7.88	DC	2.75
007	3.88	AC	4.13	AC	0.25
008	4.13	DSB/AC	5.88	TC	1.75
009	1.38	胃/PSB	1.63	PSB	0.25
010	2.88	DSB	4.13	DSB	1.25
011	1.89	DSB	4.15	DSB/AC	2.26
012	1.90	DSB	2.64	DSB	0.74
平均值	2.675		3.758		1.083
SD	1.140		1.736		0.857
中值	2.260		3.505		0.995
Min	1.38		1.63		0.25
Max	5.13		7.88		2.75
n=	12		12		12

[a] 由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

表38-在投與口服膠囊包衣配方2之後，健康志願者中之定性閃爍攝影參數(方案B)

個體編號	初始放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在初始釋放時的解剖位置[a]	完全放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在完全釋放時的解剖位置[a]	崩解持續時間(小時)
001	5.88	AC	6.13	AC	0.25
002	6.88	AC	11.50	AC	4.62
003	3.13	DSB	4.38	AC	1.25
004	4.14	DSB	4.40	DSB	0.26
005	6.14	DSB	6.89	DSB	0.75
006	5.88	DSB	9.53	DSB/AC	3.65

007	4.38	DSB	5.13	DSB	0.75
008	4.38	DSB	5.13	DSB	0.75
009	4.13	DSB	4.38	DSB/AC	0.25
010	3.88	DSB	4.13	DSB	0.25
011	3.39	DSB	5.38	AC	1.99
012	6.63	AC	7.13	AC	0.50
平均值	4.903		6.176		1.273
SD	1.298		2.289		1.444
中值	4.380		5.255		0.750
Min	3.13		4.13		0.25
Max	6.88		11.50		4.62
n=	12		12		12

[a] 由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

表39-在投與口服膠囊包衣配方3之後，健康志願者中之定性閃爍攝影參數(方案C)

個體編號	初始放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在初始釋放時的解剖位置[a]	完全放射性標記釋放(給藥後的小時數)	膠囊在完全釋放時的解剖位置[a]	崩解持續時間(小時)
001	5.63	DSB	5.63	DSB	0.00
002	3.64	DSB	3.88	DSB	0.24
003	8.50	AC	11.50	TC	3.00
004	5.38	DSB	8.50	DSB	3.12
005	3.88	DSB	4.63	DSB	0.75
006	3.38	AC	3.63	AC	0.25
007	4.15	DSB/AC	8.51	AC	4.36
008	1.88	DSB	3.38	DSB	1.50
009	3.65	DSB	4.14	AC	0.49
010	3.88	DSB	4.13	DSB	0.25
011	2.63	PSB	2.88	DSB	0.25
012	2.38	DSB	2.88	DSB	0.50
平均值	4.082		5.308		1.226
SD	1.769		2.738		1.454
中值	3.765		4.135		0.495
Min	1.88		2.88		0.00
Max	8.50		11.50		4.36
n=	12		12		12

[a] 由以下各者界定位置類別：胃、近端小腸(PSB)、遠端小腸(DSB)、升結腸(AC；包括肝曲)、橫結腸(TC；包括脾曲)、降結腸(DC；

包括乙狀結腸及直腸)。當不可能指定精確位置時，已使用關節位置類別。

【0522】 實例14：評估IL-10遞送構築體在喔唑酮誘導之Th2潰瘍性結腸炎小鼠模型中之功效

【0523】 發炎性腸病(IBD)、克羅恩氏病(CD)及潰瘍性結腸炎(UC)為特徵在於胃腸(GI)道發炎之慢性復發性病症。IBD患者遭受進行性及致衰弱症狀，該等症狀由遺傳貢獻、環境因素及由黏膜免疫系統引發的對內腔抗原之不當宿主發炎性反應的複合相互作用產生。

【0524】 細胞介素控制涉及建立及/或維持促炎性或抗炎性偏向之免疫反應的許多態樣，該偏向控制健康及疾病之許多態樣。沿著胃腸(GI)道，免疫調節細胞對多種環境刺激作出回應，且對回應於致病性抗原而引發促炎性信號級聯負責。上皮細胞及侷限於胃腸道之下層固有層的細胞對控制此組織之發炎狀態的多種細胞介素作出回應。在GI相關之IBD，包括UC及CD的情況下，促炎性路徑之活化似乎太容易出現，且解決此等事件以維持GI穩態係不足的。因此，IBD病況之發作、進展及消退係藉由促炎性及抗炎性細胞介素之平衡來調節。藉由經由環境損害之作用操縱GI相關之促炎性細胞介素，有可能建立再生IBD患者中觀測到的許多病理生理學態樣的臨床前動物模型。

【0525】 喔唑酮誘導之鼠類結腸炎表示評估IBD之潛在治療的可靠系統，其中環境損害用於激發急性發炎性病況。其特徵在於限於與潰瘍相關之黏膜表面層的混合嗜中性白血球及淋巴細胞浸潤。在此模型中，周邊預致敏之後為經直腸滴注半抗原化劑，喔唑酮。此致敏/活化方案引起Th2介導之免疫反應，該免疫反應之特點為組織介白素(IL)-4及IL-5分泌增

加，反映UC之區別性分子標誌。重要的是，喔唑酮暴露亦增加在發炎中起作用之其他組織細胞介素，包括趨化因子單核球趨化蛋白(MCP)-1、巨噬細胞發炎蛋白(MIP)-1β、生長因子顆粒球-群落刺激因子(G-CSF)及促炎性細胞介素腫瘤壞死因子(TNF)-α及IL-1α。促炎性細胞介素及趨化因子之全身濃度一般亦在IBD患者中升高；特定言之，TNF-α分泌可與疾病嚴重性相關。因此，血漿細胞介素之取樣可反映腸道發炎及藥物功效以及幫助闡明藥物之作用機制。

【0526】 此研究之目標為：(1)藉由評估研究終止時之多個生存期疾病參數(體重減輕、大便堅實度、隱血)、存活率、屍體剖檢後結腸形態(重量及長度)及結腸組織病理學來評估藉由經口管飼遞送之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)溶液預防小鼠之喔唑酮誘導之結腸炎的能力；(2)經由結腸TNF-α、NFκB、IL-4、CD4及Foxp3之免疫組織化學染色來評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於經分離腸組織中之消炎功效及機制；及(3)藉由使用Luminex及Meso Scale Discovery(MSD)平台量測細胞介素及趨化因子之血漿濃度來評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之消炎作用。

【0527】 *方法*

【0528】 雌性SJL/J小鼠係獲自The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine 04609 USA。在研究開始時，小鼠為7-8週齡，稱重為18-22 g。將小鼠維持在受控環境中，溫度為70-72°F，濕度為30-70%，且光循環為12小時光照及12小時黑暗。向小鼠任意提供TEKLAD 2018-Global 18%飼料及Arrowhead飲用水。使小鼠適應七天之時段。

【0529】 由Invitek Inc. (Hayward, CA)進行小鼠中之結腸炎誘導及

治療。小鼠在第-5天於一塊背側皮膚上用含3%喔唑酮(Sigma Aldrich, USA；目錄號：E0753)之100%乙醇預致敏且在第0天用含1%喔唑酮之40%乙醇進行直腸內刺激。對照小鼠(初始)用100%乙醇(第-5天)及40%乙醇(第0天)治療。在第-5天至第6天藉由經口管飼(10 mL/kg)IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (8.45 mg/kg)、胺基水楊酸鹽(5-ASA，100 mg/kg，溶解於水中；Sigma Aldrich, USA；目錄號：A3537)或IL-10遞送構築體之媒劑對照一天一次地治療小鼠。實驗設計及組編號概述於**表40**中。記錄每日體重及疾病參數(大便堅實度、隱血陽性)以產生疾病活動性指數(DAI)。在第7天於研究終止時收集血漿及結腸組織。在固定之前量測結腸重量及長度。

表40 - 實驗設計

組	描述	N	投與途徑	劑量(mg/kg)	劑量體積(ml/kg)	給藥頻率
1	對照，無喔唑酮(初始)	5	p.o.	n/a	10	q.d.，第-5至+6天
2	喔唑酮治療+經口管飼媒劑(媒劑)	10	p.o.	n/a	10	q.d.，第-5至+6天
3	IL-10遞送構築體	15	p.o.	8.45	10	q.d.，第-5至+6天
4	5-ASA	15	p.o.	100	10	q.d.，第-5至+6天

【0530】 由IDEXX Reference Laboratories, Inc進行近似近端、中段及遠端結腸之福馬林固定及石蠟包埋之橫切面的蘇木精及曙紅染色及其組織病理學評分。根據發炎、白血球浸潤、血管密度、結腸壁厚度、隱窩膿腫之存在及杯狀細胞及潰瘍之存在來評估結腸炎之存在及嚴重度評分。

【0531】 經治療小鼠之近端、中段及遠端結腸區域(各2個切片)之福馬林固定及石蠟包埋之橫切面由HistoTox (Boulder, CO)進行處理，以對小鼠NF-kB p65、TNF-α、IL-4、CD4、Foxp3進行IHC染色。使用

Visiopharm軟體，使用以下程序對數位切片影像進行影像分析。使用成像濾波器處理組織以將陽性染色與對比染色分離，接著使用定限方法對處理之影像進行分類，其中基於與陽性染色組織相關之像素值來確立臨限值。藉由分析經標記影像來確定陽性染色量的定量；藉由陽性組織之面積除以總組織面積以得到陽性量度來計算陽性%。

【0532】使用V-plex Proinflammatory Panel 1 Mouse Kit來定量血漿細胞介素。使用來自小鼠IL-1Ra/IL-1F3 DuoSet ELISA (R&D Systems #DY480)、抗生蛋白鏈菌素SULFO-TAG Labeled (MSD #R32AD-1)、Multi-Array 96 Plate Pack、SECTOR Plate MSD #L15XA-3及Read Buffer T (4×) (MSD #R92TC-2)之抗體對藉由夾心免疫分析來定量血漿IL-1Ra。在QuickPlex SQ 120盤讀取器(Meso Scale Discovery, Rockville, MD)上讀取樣品。

【0533】在Stanford University之Human Immune Monitoring Center進行Luminex分析。小鼠38 plex套組係購自eBiosciences/Affymetrix且根據製造商之建議伴以如本文所述之修改來使用。將珠粒添加至96孔盤且在Biotek ELx405洗滌器中洗滌。將樣品添加至含有混合抗體連接珠粒之盤且在室溫下培育1小時，接著在4℃下振盪隔夜培育。在定軌振盪器上以500-600 rpm進行低溫及室溫培育步驟。在隔夜培育之後，將盤在Biotek ELx405洗滌器中洗滌且接著在室溫下持續75分鐘振盪添加生物素標記之偵測抗體。如上地洗滌盤且添加抗生蛋白鏈菌素-PE。在室溫下培育30分鐘之後，如上地進行洗滌且將讀取緩衝液添加至孔中。一式兩份地量測各樣品。使用Luminex 200儀器以50個珠粒/樣品/細胞介素之下限讀取盤。將Radix Biosolutions之定製分析對照珠粒添

加至所有孔。

【0534】使用Prism 5.0 (Invitek資料)或Prism 7.0 (GraphPad Software, Inc.)進行統計分析。使用單因素變異數分析或雙因素變異數分析，接著使用包法隆尼(Bonferroni)、圖基(Tukey)或鄧尼特(Dunnett)事後測試來分析資料。P值<0.05係視為顯著。

【0535】*結果*

【0536】喔唑酮誘導之結腸發炎與體重顯著減輕及存活率降低相關(媒劑對照相對於初始對照組；**圖35**及**圖36**)。發現此體重減輕係藉由用5-ASA治療減弱(第4-7天之$p < 0.05$)；然而，未在接受IL-10遞送構築體之小鼠中偵測到統計差異(**圖35**)。相對於媒劑，IL-10遞送構築體治療提高存活率(3%增加)，而5-ASA治療使得存活率更顯著提高(10%)，(**圖36**)。未在任一組之間偵測到大便堅實度或隱血陽性(存在便血)之差異(資料未示出)。喔唑酮治療誘導經媒劑治療之小鼠中之結腸發炎，如由組織病理學嚴重度評分指示，該結腸發炎藉由用IL-10遞送構築體治療減輕($p < 0.05$；媒劑相對於IL-10遞送構築體)，但未藉由用5-ASA治療減輕(**圖37**)。喔唑酮治療亦顯著增加媒劑組中之結腸重量，其藉由IL-10遞送構築體及5-ASA之存在改善(分別為$p < 0.01$及$p < 0.001$)，(**圖38A**)。相比於經媒劑治療之動物，針對隱血陽性(**圖38B**)、大便堅實度(**圖38C**)及疾病活動性指數(**圖38D**)觀測到用遞送構築體治療之改善。觀測到巨噬細胞群落刺激因子1 (MCSF，**圖38E**)、IL12 p70蛋白(**圖38F**)及IL-3 (**圖38G**)之治療介導之血清含量增加抑制。

【0537】NFκB為在發炎中起主要作用之轉錄因子；經由NFκB之信號傳導調節促炎性細胞介素IL-1β、IL-6及TNF-α。為了理解IL-10遞送構

築體之局部效應，藉由IHC在結腸切片中分析TNF-α、NF-kB、IL-4、CD4及Foxp3之蛋白質表現(**圖39A-圖39E**)。由喔唑酮誘導之發炎(由媒劑治療組表示)產生朝向結腸中表現CD4之細胞之數目增加的趨勢。此資料指示存在較大數目之活化CD4+ T細胞，其可包括Th2效應細胞，該等細胞為此模型中之發炎的主要驅動因子。亦發現媒劑組中之Foxp3表現增加(356%，相對於初始動物)。然而，如同5-ASA，用IL-10遞送構築體治療不對探究之蛋白質中之任一者的表現引發任何顯著效應。

【0538】 為了進一步評估IL-10遞送構築體功效及理解其作用機制，使用Luminex陣列來測定38個趨化因子、生長因子、抗炎性細胞介素及促炎性細胞介素之循環濃度。相比於未暴露於喔唑酮之動物(初始組)，喔唑酮誘導之結腸炎(媒劑組)不引起此等分子之血漿含量的統計顯著變化。然而，觀測到相比於初始組，患有喔唑酮誘導之結腸炎的動物中之促炎性細胞介素IL-6及IL-23之血漿含量增加的趨勢(**圖40A-圖40B**)；此等細胞介素之血漿含量在IBD中升高。

【0539】 在5-ASA及IL-10遞送構築體治療之情況下觀測到喔唑酮誘導促炎性細胞介素IL-6及IL-23之趨勢的抑制(**圖40A-圖40B**)。相比於媒劑對照組，防治性IL-10遞送構築體治療使得血漿IL-23及IL-6濃度分別降低73%及33%。

【0540】 使用MSD電化學發光免疫分析之高靈敏度來確定在發炎中起關鍵效應或調節作用之10種細胞介素及趨化因子的血漿濃度(**圖41A-圖41J**)。喔唑酮誘導結腸炎產生除了IL-5之外的所有細胞介素之含量增加的趨勢，但無任一者達到統計顯著性(可能由於媒劑對照組中觀測到的高變化性)。相對於媒劑對照組，IL-10遞送構築體顯著降低IL-1β及IL-2之表

現($p < 0.05$)且展現抑制IL-4 (62%)、IL-6 (61%)、IL-12p70 (65%)及嗜中性白血球趨化KC/GRO (51%)誘導的趨勢。

【0541】 *論述*

【0542】 此活體內功效研究評估藉由經口管飼投與之8.45 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)預防(防治性治療模式)由半抗原噁唑酮引起之化學誘導結腸炎發展的能力。IL-10遞送構築體治療在此模型中展現功效，如由對結腸重量及組織病理學嚴重度評分之有益效應所證明，結腸重量及組織病理學嚴重度評分為藉由在小鼠中誘導結腸炎之此模型先前確立之相關病理性疾病指數。不受任何特定理論束縛，此等觀測結果可能歸因於IL-10遞送構築體對固有層之直接效應。

【0543】 在分子含量下，噁唑酮增加結腸內表現CD4及FoxP3之T細胞的數目。然而，此噁唑酮誘導之結腸發炎模型未引發一般與UC中之免疫反應相關的趨化因子及細胞介素之顯著級聯。不存在穩定反應可歸因於治療組內存在高變化性。

【0544】 *結論*

【0545】 總之，結果共同表明以8.45 mg/kg (mpk)口服給藥溶液形式遞送之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的防治性治療能夠抑制小鼠中之噁唑酮誘導之結腸炎，如由UC之臨床症狀評估。儘管經口遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對結腸內之免疫表現圖譜不具有明顯效應，但亞慢性給藥確實引發與腸道發炎相關之全身促炎性細胞介素的顯著及趨向性抑制。

【0546】 實例15 - IL-10遞送構築體在噁唑酮及葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導之潰瘍性結腸炎之鼠類模型中的劑量-反應功效

【0547】 DSS誘導之實驗性結腸炎小鼠模型採用在飲用水中遞送具有抗凝劑特性之化學結腸炎原。損害導致大腸之上皮單層受損且促炎性腸內含物分散至皮下組織中。此IBD研究模型由於其快速性及再現性而流行，且該模型可經操縱以取決於DSS濃度及投與頻率而引發急性、慢性及復發性IBD模型。

【0548】 實例13表明IL-10遞送構築體在防治性給藥時的治療潛能；8.45 mg/kg IL-10遞送構築體之口服給藥溶液針對預防結腸炎發展顯示中等功效，如藉由多個疾病參數所量測。

【0549】 在此實例中，噁唑酮及DSS誘導之結腸炎模型均用於評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之劑量-反應功效。將消炎劑5-ASA包括於研究內以充當抑制噁唑酮誘導之發炎的陽性對照。5-ASA由於其相對有效性、安全性及高耐受性已廣泛用於臨床以治療輕度至中度UC。免疫抑制劑環孢靈(CsA)用作DSS研究中之陽性對照；此治療在臨床上頻繁用於治療克羅恩氏病(CD)。

【0550】 為了評估吾人之給藥溶液的目標接合，將IL-1受體拮抗劑(IL-1Ra)評估為IL-10遞送構築體之候選藥效學生物標記。由上皮細胞、免疫細胞及脂肪細胞分泌，IL-1Ra結合IL-1受體但不能誘導信號傳導，因此拮抗IL-1介導之發炎。藉由活體內評估多個疾病參數來評估IL-10遞送構築體防治性治療之功效。另外，亦評估IL-10遞送構築體對隨著腸道發炎而改變的細胞介素及趨化因子之循環濃度的效應。

【0551】 此研究之目標為：(1)藉由評估多個生存期疾病參數(體重減輕、大便堅實度、隱血)、存活率、屍體剖檢後結腸形態(重量及長度)及結腸組織病理學來評估噁唑酮誘導之鼠類結腸炎中之IL-10遞送構築體

(0.3、1、3及9 mg/kg)的劑量-反應；(2)藉由評估生存期及屍體剖檢疾病參數及組織學來評估對DSS-結腸炎模型中之IL-10遞送構築體(0.3、3、10、30 mg/kg)的劑量反應；(3)藉由使用Luminex及MSD平台量測細胞介素及趨化因子之血漿濃度來評估IL-10遞送構築體之消炎功效及機制；及(4)藉由測定IL-1Ra之組織基因表現及血漿濃度及pSTAT3之組織濃度來評估潛在IL-10遞送構築體誘導之藥效學生物標記。

【0552】 *方法*

【0553】 將小鼠維持在受控環境中，溫度為70-72°F，濕度為30-70%，且光循環為12小時光照及12小時黑暗。向小鼠任意提供TEKLAD 2018-Global 18%飼料及Arrowhead飲用水。使小鼠適應七天之時段。

【0554】 進行小鼠中藉由噁唑酮之結腸炎誘導及防治性治療。7-8週齡之雌性SJL/J小鼠在第-5天於一塊背側皮膚上用噁唑酮於100%乙醇中之3%溶液(Sigma Aldrich, USA；目錄號：E0753)預致敏且在第0天用1%噁唑酮於40%乙醇中之溶液進行直腸內刺激。在第-5天至第6天用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (0.3、1、3及9 mg/kg)、胺基水楊酸鹽(5-ASA，100 mg/kg；Sigma Aldrich, USA；目錄號：A3537)或媒劑對照(含10 mg/mL大豆胰蛋白酶抑制劑之200 mM碳酸氫鈉；IL-10遞送構築體配方緩衝液)之給藥溶液一天一次地經口治療動物。初始小鼠經預致敏且僅用乙醇刺激。記錄每日體重及疾病參數(大便堅實度、隱血陽性)以產生疾病活動性指數(DAI)。在第7天於研究終止時收集血漿及結腸組織。此研究係在非GLP條件下進行且根據INVITEK方案及INVITEK標準操作程序進行。噁唑酮治療之實驗設計及組編號概述於**表41**中。

【0555】 鼠類結腸炎之DSS誘導係由Bolder BioPATH, Inc. (CO,

USA)進行。在第0天至第7天在飲用水中向雌性C57BL6/J小鼠(8-10週齡)任意給與2.5%聚葡萄糖硫酸鈉(w/v) (Spectrum，批次號2DC0020)。在第7天，用水替換DSS，且維持動物直至第10天。在第0天開始直至第10天向小鼠經口投與(q.d.) IL-10遞送構築體(0.3、3.0、10或30 mg/kg)、媒劑對照(含10 mg/mL大豆胰蛋白酶抑制劑之200 mM碳酸氫鈉；用於IL-10遞送構築體之配方緩衝液)或陽性對照環孢靈A (Teva，批次號4R506001)(其在Kolliphor EL (Sigma，C5135，批次號BCBP4773V)及1%羧甲基纖維素(CMC:BBP，批號2017，批次號3)中以75 mg/kg製備)，在第10天於給藥後4小時將其處死以收集血漿及組織。DSS治療之實驗設計及組編號概述於**表42**中。

表41-噁唑酮組及治療資訊

組	**描述**	**N**	**投與途徑**	**劑量 (mg/kg)**	**劑量體積 (mL/kg)**	**給藥頻率**
A	對照，無噁唑酮(初始)	5	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
B	噁唑酮+經口管飼媒劑(媒劑)	10	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
C	5-ASA (陽性對照l)	15	p.o.	100	10	q.d.，第-5至+6天
D	IL-10遞送構築體(9.0 mg/kg；藍色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
E	IL-10遞送構築體(3.0 mg/kg；綠色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
F	IL-10遞送構築體(1.0 mg/kg；紅色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天
G	IL-10遞送構築體(0.3 mg/kg；紫色)	15	p.o.	N/A	10	q.d.，第-5至+6天

表42-DSS組及治療資訊

組	描述	N	投與途徑	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (mL/kg)	給藥頻率
1	初始	5	n/a	n/a	n/a	n/a
2	媒劑	10	PO	n/a	10	q.d.，第0-10天
3	CsA	10	PO	75	10	q.d.，第0-10天
4	IL-10遞送構築體	10	PO	0.3	10	q.d.，第0-10天
5	IL-10遞送構築體	10	PO	3	10	q.d.，第0-10天
6	IL-10遞送構築體	10	PO	10	10	q.d.，第0-10天
7	IL-10遞送構築體	10	PO	30	10	q.d.，第0-10天

【0556】對於噁唑酮及DSS結腸炎研究，由Bolder BioPath (Boulder, CO)進行近似近端、中段及遠端結腸之福馬林固定及石蠟包埋之橫切面的蘇木精及曙紅染色。對於各區域，切割兩個等距切片且包埋於石蠟中。個別地評估各切片，且對於近端、中段、遠端及總結腸之值分別求平均值。藉由水腫、發炎、腺損失、糜爛、黏膜厚度及增生之存在盲法評估組織病理學，以得到加總評分。亦確定發炎性細胞浸潤之存在及淋巴聚集體計數及直徑。

【0557】在Stanford University之Human Immune Monitoring Center進行Luminex分析。小鼠38 plex套組係購自eBiosciences/Affymetrix且根據製造商之建議伴以如本文所述之修改來使用。將珠粒添加至96孔盤且在Biotek ELx405洗滌器中洗滌。將樣品添加至含有混合抗體連接珠粒之盤且在室溫下培育1小時，接著在4℃下振盪隔夜培育。在定軌振盪器上以500-600 rpm進行低溫及室溫培育步驟。在隔夜培育之後，將盤在Biotek ELx405洗滌器中洗滌且接著在室溫下持續75

分鐘振盪添加生物素標記之偵測抗體。如上地洗滌盤且添加抗生蛋白鏈菌素-PE。在室溫下培育30分鐘之後，如上地進行洗滌且將讀取緩衝液添加至孔中。一式兩份地量測各樣品。使用Luminex 200儀器以50個珠粒/樣品/細胞介素之下限讀取盤。將Radix Biosolutions之定製分析對照珠粒添加至所有孔。

【0558】自喔唑酮發炎及經治療小鼠之接近遠端結腸區段(距直腸1-2 cm)提取RNA。RNA純度在260/280之吸光度比下確認為1.9-2.15且在260/230之吸光度比下確認為>1.7。使用RNeasy Mini Kit (Qiagen，#74106)及iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad，#1708891BUN)將RNA樣品逆轉錄為cDNA。使用Applied Biosystems PowerUp SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific，#A25777)在技術重複中進行小鼠*IL-1Ra*、*IL-1*β及*GAPDH*之RT-PCR分析。在**表43**中列出引子序列。轉錄物表現標準化為內部對照GAPDH之轉錄物表現，且使用ΔΔ-CT法計算倍數變化。

表43 - RT-PCR引子序列

引子名稱	序列	**SEQ ID NO:**
ms IL-1Ra-F	GCTCATTGCTGGGTACTTACAA	SEQ ID NO: 14
ms IL-1Ra-R	CCAGACTTGGCACAAGACAGG	SEQ ID NO: 15
ms IL-1β-F	CACAGCAGCACATCAACAAG	SEQ ID NO: 16
ms IL-1β-R	GTGCTCATGTCCTCATCCTG	SEQ ID NO: 17
ms GAPDH-F	TGTGTCCGTCGTGGATCTGA	SEQ ID NO: 18
ms GAPDH-R	CCTGCTTCACCACCTTCTTGA	SEQ ID NO: 19

【0559】使用V-plex Proinflammatory Panel 1 Mouse Kit來定量血漿細胞介素。使用來自小鼠IL-1Ra/IL-1F3 DuoSet ELISA (R&D Systems #DY480)、抗生蛋白鏈菌素SULFO-TAG Labeled (MSD #R32AD-1)、Multi-Array 96 Plate Pack、SECTOR Plate MSD #L15XA-3及Read Buffer T (4×) (MSD #R92TC-2)之抗體對藉由夾心免疫分析來定量血漿

IL-1Ra。在QuickPlex SQ 120盤讀取器(Meso Scale Discovery, Rockville, MD)上讀取樣品。

【0560】Human IL-10 Base套組(MSD #K151AOA-4)用於量測血漿中之rhIL-10。此免疫分析中之抗人類IL-10捕捉及偵測抗體對不與小鼠IL-10反應，但與人類IL-10反應。在使用之前將MSD Small Spot IL-10盤與稀釋劑41 (25微升/孔)一起在室溫下振盪培育30分鐘。對照及樣品用彙集之CD-1小鼠血漿(BioIVT，定製訂單)稀釋2倍，且亦在小鼠血漿中製備校準標準物。添加標準物、稀釋樣品及對照(25微升/孔)，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用磷酸鹽緩衝鹽水伴以Tween-20 (PBST)洗滌3次，且將25微升/孔之1× SULFO TAG抗人類IL-10抗體(在稀釋劑45中製備)添加至盤中。將盤在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，添加150微升/孔之2×MSD讀取緩衝液，且在MSD Sector Imager 600盤讀取器中讀取盤。

【0561】使用Prism 5.0 (Invitek資料)或Prism 7.0 (GraphPad Software, Inc.)進行統計分析。對於喔唑酮研究，使用單因素變異數分析或雙因素變異數分析，接著使用包法隆尼、鄧尼特或圖基事後測試來分析資料。分析DSS-資料，使用單因素變異數分析，接著使用鄧尼特事後測試來分析參數資料，或使用克拉斯卡-瓦立斯測試(Kruskal-Wallis test)與鄧恩事後測試來分析非參數資料。P值<0.05係視為顯著。

【0562】*結果：喔唑酮誘導之結腸炎*

【0563】喔唑酮誘導之結腸發炎導致顯著體重損失(至多15%)及存活率降低(**圖42**及**圖43**)。消炎劑5-ASA自損害後6天開始顯著減少喔唑酮誘導之體重減輕($p < 0.05$)。最高濃度(1、3及9 mg/kg)之IL-10遞送構築體

產生改善體重減輕之趨勢。在治療組之間未偵測到對反映大便堅實度及隱血陽性之DAI的顯著效應(**圖44**)。

【0564】 另外，喔唑酮誘導結腸長度減小及結腸重量增加，如由結腸重量/長度比增加反映(**圖45**)。藉由用5-ASA治療改善此增加；然而，IL-10遞送構築體在測試之任一劑量下均對結腸重量或長度不具有統計顯著效應。

【0565】 按照1-4之等級(1=極小，2=輕度，3=中度，4=顯著)對七個發炎參數(黏膜/黏膜下層發炎、糜爛、腺損失、增生、水腫、透壁性發炎、漿膜發炎)評分，以評估近端、中段及遠端結腸之組織病理學。基於此等七個參數之加總評分(組織學評分)，發現對於所有治療組，組織病理學在遠端結腸中最顯著且在近端結腸中最少(**圖46**)。當相比於媒劑對照時，所有測試劑量之IL-10遞送構築體均不在近端、中段或遠端結腸中誘導組織學評分之任何變化。

【0566】 除了總疾病參數以外，亦藉由評估38種生長因子、趨化因子及細胞介素之循環濃度來評估IL-10遞送構築體功效(**圖47A-圖47LL**)。喔唑酮治療誘導顆粒球群落刺激因子(GCSF，亦稱為群落刺激因子3或CSF3；**圖47A**)之血漿濃度增加，及朝向巨噬細胞趨化MIP1α (**圖47L**)及生長因子顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子(GMCSF；**圖47B**)及巨噬細胞集落刺激因子(MCSF；**圖47C**)增加的趨勢，其分別調動嗜中性白血球及巨噬細胞之釋放及分化。用陽性對照、5-ASA或IL-10遞送構築體進行之防治性預治療減少喔唑酮誘導之GCSF/CSF3增加。MSCF亦在IL-10遞送構築體之最高劑量下減少。亦針對MIP1α觀測到朝向減少的趨勢(**圖47L**)。用IL-10遞送構築體治療緩和了由喔唑酮誘導的LPS誘導性CXC趨化因子

(LIX，**圖47I**)、白血病抑制因子(LIF，**圖47E**)及IP10 (CXCL10，**圖47H**)含量的變化。

【0567】除了影響先天免疫細胞以外，細胞介素亦控制效應T細胞功能。與消炎效應一致，IL-10遞送構築體預治療(9.0 mg/kg劑量)預防產生IL-12及IL-17，其分別為Th1及Th17細胞之關鍵效應子。用IL-10遞送構築體治療使得IL-3 (9.0 mg/kg劑量；**圖47S**)、IL-4 (9.0 mg/kg；**圖47T**)、IL-28 (3.0及9.0 mg/kg；**圖47EE**)及IL-31 (0.3 mg/kg；**圖47FF**)之濃度降低至接近基線含量。相比於媒劑對照，IL-13 (**圖47Y**)及IL-15 (**圖47Z**)之血漿濃度展現朝向IL-10遞送構築體介導之降低的趨勢。除了促炎性細胞介素以外，噁唑酮(僅媒劑治療)指示朝向內源性IL-10 (**圖47JJ**)及免疫抑制性細胞介素TGF-β (**圖47LL**)分泌增加的趨勢。針對發炎之此明顯逆反應與觀測到的UC結腸組織中之TGF-β增加一致。IL-10遞送構築體治療(3.0 mg/kg)相對於媒劑減少TGF-β且改善此朝向增加內源IL-10分泌之趨勢。對於分析之許多細胞介素，在噁唑酮治療之後未顯著誘導血漿濃度。此外，當觀測到噁唑酮誘導之增加時，5-ASA在許多測試參數中未有效地使細胞介素之表現返回至基線(初始)含量。

【0568】另外使用MSD 10-plex促炎性圖評估暴露於噁唑酮誘導之結腸炎及用IL-10遞送構築體進行防治性治療之小鼠的全身性細胞介素濃度。相對於初始對照，患有噁唑酮誘導之結腸炎的經媒劑治療之小鼠中之血漿IFN-γ及IL-5減少，但相對於量測之其他細胞介素，此等組之間不存在顯著差異(**圖48A-圖48J**)。觀測到IL-1β及IL-6之表現回應於噁唑酮損害而增加的趨勢。然而，此反應為藉由遞送陽性對照、5-ASA或IL-10遞送構築體而減弱。由於不存在實質性噁唑酮誘導之發炎性反應，IL-10遞送

構築體治療之效應不易於判讀；然而，對於分析之任何細胞介素均未偵測到媒劑治療與IL-10遞送構築體之間的顯著差異。

【0569】 藉由分析IL-1Ra (由IL-10增強之IL-1β拮抗劑)之表現來評估IL-10遞送構築體於全身循環及結腸組織中之功效。IL-1Ra之循環量在喔唑酮損害或用5-ASA或IL-10遞送構築體治療之後未顯著改變(**圖49A**)，可能是由於資料變化性及低統計功效。然而，IL-10遞送構築體治療誘導朝向增加IL-1Ra之劑量依賴性趨勢。在接近遠端結腸組織中，9 mg/kg之最高劑量的IL-10遞送構築體治療展現強化IL-1Ra之mRNA表現的趨勢(**圖49B**)。亦由IL-1Ra/IL-1β比增加來反映此結果(**圖49D**)。

【0570】 *結果：硫酸葡聚糖鈉(DSS)誘導之結腸炎*

【0571】 此實例檢查當此中鏈長度脂肪酸結合劑存在於飲用水中時，IL-10遞送構築體構築體抑制由葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導的特徵在於發炎、水腫及黏膜壞死之輕度至中度多灶性結腸炎的能力。持續10日每日一次向小鼠經口給與媒劑(作為陰性對照)或SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體(0.3-30 mg/kg)以誘導DSS誘導之結腸炎(**圖50A**)。每日給與75 mg/kg環孢靈A (CsA)之小鼠係用作該模型之陽性對照而非治療比較物。在研究之生存期部分期間，SEQ ID NO: 5之遞送構築體顯著減少DSS誘導之體重減輕(**圖50B**)。DSS損害引起媒劑組中約10%之體重減輕(或與體重增加之初始組相差約17%)，(**圖50C**)。用CsA治療部分減少DSS誘導之體重減輕($p < 0.05$)，如在最高測試劑量(30 mg/kg)之IL-10遞送構築體的情況下所觀測。在任一治療組中均不存在死亡。亦將體重減輕、大便堅實度及糞便隱血(評分0-3)之個別評分加總以得到DAI(0-9範圍內)。相對於媒劑組在第7天時3.8 (及初始組0)之加總評分，IL-10遞送構築體治療組之評分在

4.0至4.3範圍內，無劑量相關性，且因此不支持藉由IL-10遞送構築體改善疾病活動性指數(DAI) (第10天之評分不可用)，(**圖51**)。結腸長度在IL-10遞送構築體之兩個最高劑量(10及30 mg/kg；相比於媒劑之$p < 0.05$)下之顯著改善指示IL-10遞送構築體依賴性治療效果的存在(**圖52**)。

【0572】 基於發炎、腺損失、糜爛及增生(各為最大5分)對結腸組織學進行評分，且在彙總評分中將此等評分加總。所有四個參數均在DSS損害之後於中段及遠端結腸中顯著增加(相對於初始之$p < 0.05$)。CsA治療緩和四個量測參數之加總評分，但用IL-10遞送構築體治療未展示任何顯著改善(**圖53**)。亦定量五個額外參數(水腫、嗜中性白血球浸潤、黏膜厚度、淋巴聚集體及淋巴聚集體尺寸)。與疾病自遠端至近端結腸傳播一致，針對若干參數，組織病理學在遠端結腸中最嚴重且在用媒劑治療之近端結腸中可忽略。相對於媒劑，IL-10遞送構築體(30 mg/kg)治療顯著改善中段區域中之水腫寬度(**圖54**)、黏膜厚度(**圖55**)及增生(**圖56**)。CsA未展示DSS損害之後的任何明顯治療效果，除了嗜中性白血球評分得以改善(相對於媒劑之$p < 0.05$)。此等組織學結果因此指示輕度的局部藥物功效。

【0573】 在DSS研究中之最終劑量之後4小時於循環中偵測到可變濃度之IL-10遞送構築體。相比於用0.3及3 mg/kg之劑量的IL-10遞送構築體治療之動物中之媒劑治療的背景濃度，rhIL-10之含量(藉由抗rhIL-10捕捉抗體來偵測)在高10-300倍範圍內(**圖57A**)；然而，此效應在較高IL-10遞送構築體劑量下喪失。此外，在低IL-10遞送構築體劑量下，rhIL-10之濃度高於IL-10遞送構築體(用抗cholix捕捉抗體測定)指示存在IL-10遞送構築體裂解產物，其將與GI環境中普遍的蛋白酶活性一致。用IL-10遞送

構築體進行防治性治療似乎在任何測試劑量下均不影響IL-1Ra之血漿濃度(**圖57B**)。

【0574】 *論述*

【0575】 在此等研究中，評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在噁唑酮及DSS模型中預防發炎性結腸炎發展的功效。在兩個研究中，均觀測到多個生存期及屍體剖檢參數改善的趨勢。在DSS損害之後，IL-10遞送構築體之兩個最高劑量(10及30 mg/kg)下之結腸長度改善證明了IL-10遞送構築體依賴性治療效果。DSS研究中不存在死亡，而存活率在噁唑酮治療之後降低了高達30%，表明噁唑酮方案誘導嚴重得多的結腸炎模型。

【0576】 DSS模型之顯著特徵為生物複本之間的組織病理學更一致；相比於噁唑酮模型，DSS模型之組內變化性似乎減小。在DSS模型中，最高劑量(30 mg/kg)下之IL-10遞送構築體在中段結腸但不在遠端結腸中有效地減小三個組織學參數，亦即水腫寬度、黏膜厚度及增生。

【0577】 在呈現之劑量-反應噁唑酮研究中，藉由IL-10遞送構築體介導之循環細胞介素濃度的變化來表明功效。GCSF (或CSF3)之血漿濃度對噁唑酮損害作出反應而增加，且此反應藉由用5-ASA或IL-10遞送構築體進行防治性預治療而減輕。用IL-10遞送構築體(9.0 mg/kg劑量)進行預治療亦預防產生IL-12及IL-17，其為Th1及Th17細胞之關鍵效應子。另外，IL-10遞送構築體使得MCSF (9.0 mg/kg劑量)、IL-3 (9.0 mg/kg)、IL-4 (9.0 mg/kg)、IL-28 (3.0 mg/kg及9.0 mg/kg)及IL-31 (0.3 mg/kg)之濃度降低至接近基礎(初始)含量。許多分析之細胞介素的血漿濃度在噁唑酮治療之後未顯著改變。當存在噁唑酮誘導之增加時，陽性對照5-ASA在許多測試參數中未有效地使細胞介素之表現返回至基線含量。因此，在不

存在藉由5-ASA穩定減少發炎性細胞介素的情況下，可質疑此藥劑作為對照治療之適合性。另外，此喔唑酮誘導之發炎模型可能不足以在此等小鼠中觸發實質性全身細胞介素反應。

【0578】 9 mg/kg之最高劑量的IL-10遞送構築體治療展現強化IL-1Ra之mRNA表現的趨勢及結腸組織中之IL-1Ra/IL-1β比增加的趨勢。先前臨床資料已表明IL-1Ra/IL-1β之比與IBD嚴重度逆相關，且IL-10可恢復IL-1Ra/IL-1β比。此等結果證明了IL-10遞送構築體在此模型中之治療功效。

【0579】 *結論*

【0580】 總而言之，在喔唑酮及DSS誘導之發炎性結腸炎的情況下，此報導中呈現之資料指示用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療展現治療功效，如藉由活體內發炎參數的改善所量測。在喔唑酮研究中，藉由用IL-10遞送構築體治療降低IL-12、IL-17及IL-28之循環濃度，其伴隨著結腸組織中之IL-1Ra/IL-1β比增加的趨勢。

【0581】 實例16-在長尾獼猴中經口投與單劑量之IL-10遞送構築體

【0582】 選擇非人類靈長類動物(NHP)長尾獼猴作為測試評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之臨床前功效、藥理學活性及藥物動力學的模型系統。由於人類與諸如長尾獼猴之NHP之間的顯著遺傳相似性，NHP一般表示比小鼠更適當的人類模型，因為NHP更密切地模擬人類生物學及免疫學。將10 mg咖啡鹼添加至IL-10遞送構築體膠囊係用於此研究中以探究膠囊打開。

【0583】 此研究之目標為：(1)評估藉由口服膠囊以多個含量(1、4、20.5及82 mg)單次給藥對長尾獼猴中之IL-10遞送構築體(如藉由總IL-

10及確立之生物標記IL-1Ra所量測)之藥物動力學概況的影響；(2)評估促炎性細胞介素IFNγ、IL-1β、IL-2、IL-6、IL-8及TNFα對藉由膠囊向長尾獼猴投與之IL-10遞送構築體之多個含量(1、4、20.5及82 mg)之單次經口劑量的反應；及(3)藉由監測給藥之長尾獼猴中之咖啡鹼(如包括於前述經口給藥膠囊中)的血漿含量來探究膠囊效能。

【0584】 *方法*

【0585】 將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)及咖啡鹼按重量計填充至1號Capsugel V-Cap羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊中，用於經口投與。接著在盤式噴霧塗佈機中用三層聚合物連續包覆膠囊。第一層及第三層為HPMC之薄包衣，第一層密封將膠囊殼聚集在一起的褶痕，且第三層使膠囊彼此的黏著最小化。第二包衣由Eudragit® (Evonik Industries AG)腸溶丙烯酸聚合物FS 30 D及L 30 D-55之50:50混合物構成，經設計以在pH 6.5處溶解且允許膠囊打開。所述測試物品及其對應批次號之概述呈現於**表44**中。

表44-測試物品之概述

名稱	描述
1 mg IL-10遞送構築體膠囊	1號包覆腸溶包衣之膠囊，含有1 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)+10 mg咖啡鹼
20.5 mg IL-10遞送構築體膠囊	1號包覆腸溶包衣之膠囊，含有20.5 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)+10 mg咖啡鹼

【0586】 將MSD Small Spot IL-10盤在使用之前用PBST洗滌3次。在稀釋劑2 (MSD目錄號R51BB)中製備標準物，且將樣品在稀釋劑2中稀釋2倍。將標準物及稀釋樣品添加至分析盤且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST及1× SULFO TAG抗huIL-10洗滌3次。將抗體添加至盤中，隨後在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且在MSD Sector Imager 600盤讀取器中讀取盤。

將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0587】IL-1Ra分析之目的為量測NHP血漿中之內源性IL-1Ra。此夾心免疫分析中之抗體對與人類及NHP IL-1Ra兩者反應。樣品使用由人類IL-1Ra校準劑(在5.5-4021 pg/mL範圍內，加上0 pg/mL)製備之8點標準曲線定量。將生物素標記之抗NHP IL-1Ra捕捉抗體添加至MSD Small Spot抗生蛋白鏈菌素盤中且在室溫下振盪培育一小時。在彙集之血漿中製備表示低(16 mg/mL)、中(160 mg/mL)及高濃度(3245 pg/mL)之對照，在稀釋劑43 (MSD目錄號R50AG)中製備標準物(校準劑9摻合物)，且將樣品在稀釋劑43中稀釋10倍。將標準物、對照及稀釋樣品添加至分析盤，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST洗滌3次，且將1× SULFO TAG抗IL-1Ra抗體添加至盤。將盤在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且使用MSD Sector Imager 600盤讀取器讀取盤。將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0588】為了定量血漿咖啡鹼含量，採用LC-MS/MS偵測系統。25 µL基質等分試樣係用25 µL之2.00 µg/mL咖啡鹼-三甲基-$^{13}C_3$內標工作溶液強化。經由支撐液體萃取(SLE)來分離分析物。將一部分溶離液轉移且在氮氣流下在大約45℃下蒸發，且將剩餘的殘餘物用500 µL水/乙腈(95:5，v/v)復原。經由HPLC與MS/MS偵測，使用陽離子電噴霧及逆相層析來分析最終萃取物。使用類似運行之校準對照來測定咖啡鹼濃度。

【0589】使用購自MSD之多重套組來評估細胞介素組(IFNγ、IL-1β、IL-2、IL-6及IL-8)。此組中之分析為夾心免疫分析。MSD盤在獨立及預定義之點上用捕捉抗體預塗佈，且針對使用來自MSD之細胞介素混

合物(Proinflammatory Panel 1 (人類)校準劑摻合物)製備的8點標準曲線來定量樣品。標準物包括0 pg/mL及此等濃度範圍：IFNγ (0.37-1500 pg/mL)、IL-1β (0.14-589 pg/mL)、IL-2 (0.36-1490 pg/mL)、IL-6 (0.18-721 pg/mL)及IL-8 (0.14-553 pg/mL)。

【0590】 將MSD盤(用捕捉抗體預塗佈)在使用之前用PBST洗滌3次。在稀釋劑2 (MSD目錄號R51BB)中製備標準物，且將測試樣品在稀釋劑2中稀釋2倍。將標準物及稀釋樣品添加至分析盤，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST洗滌3次，且將1× SULFO TAG偵測抗體之混合物添加至盤。將盤在室溫下振盪培育2小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且使用MSD Sector Imager 600盤讀取器讀取盤。將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0591】 TNFα免疫分析之目的為定量血漿中之NHP TNFα濃度。此免疫分析中之抗體對與人類及NHP TNFα兩者反應。使用由在5.6-4052 pg/mL之濃度範圍內且包括0 pg/mL之人類TNFα校準劑製備的8點標準曲線來定量樣品。

【0592】 將生物素標記之抗NHP TNFα捕捉抗體添加至MSD Small Spot抗生蛋白鏈菌素盤中且在室溫下振盪培育一小時。在彙集血漿中製備對照，在稀釋劑43 (MSD目錄號R50AG)中製備標準物，且將測試樣品在稀釋劑43中稀釋2倍。將標準物、對照及稀釋樣品添加至分析盤，且將盤在室溫下振盪培育2小時。將盤用PBST洗滌3次，且將1× SULFO TAG抗huTNFα抗體添加至盤。將盤在室溫下振盪培育1小時。在洗滌步驟之後，將2× MSD讀取緩衝液添加至盤之孔中，且使用MSD Sector Imager 600盤讀取器讀取盤。將各分析物之偵測下限定義為高於背景2.5個標準差。

【0593】分析血漿樣品之總IL-10、IL-1Ra、咖啡鹼含量及一組促炎性細胞介素。分析LLOQ為：總IL-10=0.3 pg/mL；IL-1Ra=78 pg/mL；及咖啡鹼=25 ng;mL。IL-10之血漿濃度可指天然存在之IL-10及附加至載體之IL-10 (例如本文所述之IL-10遞送構築體中之IL-10)的血漿濃度。

【0594】由Valley Biosystems (West Sacramento, CA)進行非初始成年雄性長尾獼猴中之多個固定劑量下之IL-10遞送構築體給藥。成年NHP用含有固定劑量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)及10 mg咖啡鹼(1、4、20.5及82 mg)的膠囊經口治療。劑量組描述於**表45**中。

表45-劑量組之概述

組	N	途徑	測試物品	SEQ ID NO: 5 劑量	每隻動物之劑量	咖啡鹼劑量
A	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	20.5 mg	一個 20.5 mg之膠囊	10 mg
B	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	82 mg	四個 20.5 mg之膠囊	40 mg
C	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	1 mg	一個1 mg之膠囊	10 mg
D	每組6隻	經口管飼	IL-10遞送構築體+10 mg咖啡鹼	4 mg	四個1 mg之膠囊	40 mg

【0595】對動物禁食直至3小時血液樣品收集之後，此時給與食物。為進行給藥，對動物進行手動約束且將牙墊置於頜間。將含有給藥膠囊之藥丸槍插入至口腔背面且釋放膠囊。至多連續投與4個膠囊且給與少量水以誘導吞咽。一旦確認劑量投與，便移除牙墊且釋放頭部。

【0596】在給藥前及給藥後0.5、1、2、3、4、5、6、7、8及24小時在K_2EDTA管中收集來自各動物之血液樣品。在2小時樣品收集之後使動物返回至居住籠。在身體約束之後，經由使用頭靜脈、股靜脈或隱靜脈之直接靜脈穿刺收集血液樣品，將其加工為血漿且在-60℃下冷凍儲存直

至裝運。

【0597】 *結果*

【0598】 所有給藥組之血漿中之總IL-10的濃度-時間曲線呈現於**圖58**中。在藉由膠囊以82 mg (4×20.5 mg膠囊)經口投與IL-10遞送構築體之後，總IL-10之血漿濃度在給藥後2小時之Tmax處達到1.34 pg/mL之Cmax。以20.5 mg (1×20.5 mg膠囊) IL-10遞送構築體給藥亦產生給藥後2小時之Tmax，與顯著低於82 mg劑量之Cmax (0.45 pg/mL)。1 mg (1×1 mg膠囊)及4 mg (4×1 mg膠囊)劑量之Tmax比更高劑量更晚(分別為4小時及3小時)，且值得注意的是，1 mg劑量之Cmax高於4 mg劑量之Cmax (分別為0.39相對於0.27 pg/mL)。在給藥後6小時，總IL-10之血漿濃度返回至基線含量。

【0599】 所有給藥組之血漿中之IL-1Ra的濃度-時間曲線呈現於**圖59**中。在經口給與82 mg IL-10遞送構築體之後，NHP IL-1Ra血漿濃度在給藥後3小時處達到26,367 pg/mL之Cmax。跨越較低劑量含量(1、4及20.5 mg)未針對Cmax觀測到劑量反應關係。對於所有劑量組，IL-1Ra之血漿濃度截至給藥後24小時的時間點返回至基線含量。

【0600】 在如**表45**中所指定之IL-10遞送構築體/咖啡鹼膠囊的單次劑量之後，NHP中之咖啡鹼的血漿濃度呈現於**圖60**中。應注意，1 mg (1×1 mg膠囊)及20.5 mg (1×20.5 mg膠囊)給藥組中之動物各接受1×10 mg劑量之咖啡鹼，而投與4mg (4×1 mg膠囊)及82mg (4×20.5 mg膠囊)劑量之動物各接受4×10 mg劑量之咖啡鹼。此解釋相比於1及20.5 mg給藥組(分別為1352 ng/mL及800 ng/mL)，針對4及82 mg給藥組(分別為6117 ng/mL及3793 ng/mL)所見之咖啡鹼的顯著更高C_{max}。在給藥後2-3小時可

觀測到咖啡鹼吸收(表明膠囊打開)且所有劑量在Tmax均為給藥後4小時。

【0601】 投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊與血漿IFNγ (**圖61A**)、IL-1β (**圖61B**)、IL-2 (**圖61C**)、IL-8 (**圖61D**)或IL-6含量(**圖61E**)之任何一致趨勢不相關，但針對血漿IFNγ、IL-2、IL-6及IL-8觀測到個別時間點之離群值的高變化性及對平均值的顯著影響。TNFα之類似定量展示所有樣品之呈信號形式之誘導均不低於偵測極限(資料未示出)。

【0602】 另外，在投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊之後評估IL-10、IL-1Ra及IFN-γ之血漿含量，將其相比於靜脈內投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (**圖104A-圖104C**)。經由包覆腸溶包衣之膠囊向非人類靈長類動物經口遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在不顯著誘導IFN-γ的情況下增加IL-1Ra。

【0603】 *論述及結論*

【0604】 IL-10遞送構築體之全身濃度(如藉由總IL-10所量測)在所有劑量含量(1、4、20.5及82 mg)下增加至顯著高於基線含量，且在劑量投與之六小時內返回至基線含量。總IL-10暴露似乎不存在明顯劑量關係，而IL-10遞送構築體之最高劑量(82 mg)產生最高C_{max}。在所有給藥組中，在無明顯劑量關係的情況下藉由IL-10遞送構築體投與誘導IL-1Ra，而對於總IL-10，IL-10遞送構築體之最高劑量(82 mg)產生最高C_{max}。

【0605】 血漿咖啡鹼濃度係用作膠囊打開及效能之標記。在給藥後2-3小時可觀測到咖啡鹼吸收(表明膠囊打開)且所有劑量在Tmax均為給藥後4小時。

【0606】 投與IL-10遞送構築體膠囊與血漿IFNγ、IL-1β、IL-2、IL-6或IL-8含量之任何一致趨勢不相關。

【0607】 **實例17-固有層中之細胞靶向**

【0608】 平均體重為約250 g之雄性成年(7-8週齡)威斯塔大鼠用於進行活體內研究，該研究檢查IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之固有層中之細胞靶向。大鼠使用吸入之異氟醚麻醉且藉由吸入之CO_2安樂死。

【0609】 藉由切開大約4 cm腹部切口以接近小腸之空腸中段區域而啟動實驗。在進行切開之後，使用1 mL注射器經由27規格針頭將50 μl IL-10遞送構築體之製備溶液(通常以約1 mg/mL)注射至無食物的腸腔區域中。用標記來標記鄰近於注射部位之腸系膜且將腸傳回至腹腔，將切口用夾鉗封閉。

【0610】 在特定時間，取回注射之腸，以手術方式分離且用4℃等張PBS沖洗。將洗滌、切除之樣品在4℃下固定(含4%多聚甲醛之PBS)隔夜，隨後經由分級系列之乙醇/水溶液脫水且在氯仿中培育隔夜。

【0611】 將脫水組織浸入蠟中、切片且安裝在聚離胺酸載玻片上且經加工以使用檸檬酸鈉進行抗原修復。之後，將切片用含0.2% Triton-X100之PBS滲透，隨後在PBS中洗滌三次且用2% BSA+2%血清阻斷已產生二級抗體之動物。將一級抗體在含1% BSA、0.1% Triton-X100之PBS中稀釋且在4℃下於加濕空氣中培育隔夜。將螢光二級抗體在含1% BSA、0.1% Triton-X100之PBS中稀釋且在室溫下培育2小時，隨後加工用於共聚焦顯微法。有時收集注射部位處大約1 cm之腸區段用於生物化學研究。

【0612】 藉由免疫螢光使用共聚焦顯微鏡檢查特定細胞類型之蛋白質。分別用IL-10之多株抗體(pAb)或單株抗體(mAb)或載體域之pAb或mAb追蹤IL-10遞送構築體組分(載體，在本文中亦稱為「cholix」，及IL-

10)，以允許與可用的pAb或mAb共定位(**表46**)。

表46-pAb及mAb之概述

目標	pAb/mAb	物種反應性	宿主	IHC之稀釋度(P)	標記之細胞	目錄號
載體	pAb		兔	1/500		
IL-10	pAb	人類	山羊	1/25		Ab10775
CD11c					樹突狀細胞	
CD19	mAb	小鼠	小鼠		B細胞	Ab25177
CD34	mAb	小鼠，人類	小鼠	1/500	內皮細胞	Ab187282
CD3	mAb	大鼠	小鼠		T細胞	Ab185763

【0613】 IL-10遞送構築體與腸上皮細胞中之LAMP1陽性溶酶體展示極少或無共定位，但在固有層之細胞內聚集，與將此蛋白質導引至溶酶體的最終消耗一致(**圖62**)。進行1分鐘脈衝，接著進行時程研究，其截至15分鐘證實大量的IL-10遞送構築體到達固有層且進入由此構築體之載體組分靶向之細胞中。

【0614】 CD11c抗原標記大鼠空腸之固有層內的一個稀疏細胞(例如樹突狀細胞)集。IL-10遞送構築體不與CD11c抗原在任何顯著程度上共定位(**圖63**)。有趣的是，接近腸上皮細胞之頂表面的囊泡共標記CD11c及IL-10，表明載體蛋白與含有此抗原之囊泡區室之間的相互作用。

【0615】 IL-10遞送構築體未能與固有層內之少數CD19陽性細胞(例如B淋巴細胞)共定位(**圖64**)。

【0616】 IL-10遞送構築體未能與固有層內之少數CD34陽性細胞(例如內皮細胞)共定位(**圖65**)。

【0617】 IL-10遞送構築體與CD3抗原展現顯著共定位，表明載體蛋白顯著靶向至固有層內之T淋巴細胞(**圖66**)。另外，與上皮內淋巴細胞一致之細胞亦為共定位位點。

【0618】 小鼠空腸之固有層內之細胞展示與針對大鼠觀測相同的靶向結果中的一些。然而，此等研究之複雜性為人類IL-10經小鼠IL-10受體

識別之能力，在一些情況下導致兩種潛在細胞走向。

【0619】 總之，IL-10遞送構築體中用於促進將人類IL-10胞吞轉運穿過腸上皮細胞之載體似乎接近固有層內之所選細胞群體。此等靶向細胞內之載體的走向似乎與最可能為溶酶體之LAMP1陽性區室相交，表明其在固有層內之明顯局部破壞。T淋巴細胞似乎為固有層內存在之最大細胞類型，其由IL-10遞送構築體中所用之載體靶向。

【0620】 **實例18-比較錠劑與膠囊**

【0621】 為了評估自IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊之藥物釋放，及將效能與錠劑之效能比較，在各種包衣條件(自僅HPMC包衣至不同重量增加之Eudragit包衣)下獲得IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)膠囊。

【0622】 相比於具有腸溶包衣之膠囊，僅具有HPMC包衣之膠囊展示顯著更高的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度及濃度。儘管如所預期，Eudragit包衣之存在引起IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之延遲釋放，但對二聚體純度及活性藥物釋放量的影響與針對相同溶解條件下之HPMC包覆錠劑獲得的結果形成對比(**圖68**)。檢查1號HPMC膠囊的溶解，該膠囊含有20 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)且包覆有改變量(約10 mg至約35 mg)之50:50包衣重量比的Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D。Eudragit包衣延遲自膠囊釋放IL-10遞送構築體，但對IL-10遞送構築體二聚體純度(二聚體%)具有負面效應(**圖68**)。在4型溶解裝置(流通模式)上，在pH 7.0溶解緩衝液中於37℃下量測溶解。用於此等測定之活體外溶解測試為此項技術中之若干標準測試之一，尤其用於延釋錠劑，例如參見USP <711> Dissolution或Ph. Eur. 2.9.3。在

USP裝置4 (流通池裝置，開放模式，在pH 7.0溶解緩衝液中於37℃下)中進行IL-10遞送構築體之測試。將個別錠劑置於裝置中且在指定時間(例如10、20、30及60分鐘)進行取樣。藉由自通向廢物瓶之管道收集流通溶液來進行取樣。將樣品溶液在SEC HPLC分析之前保持於冰上之小瓶中。在各時間點處，測定流體樣品中之IL-10遞送構築體之濃度(例如藉由經驗證之HPLC方法)，由此准許計算已自錠劑釋放之量。

【0623】 相比之下，對於錠劑，Eudragit包衣在不影響IL-10遞送構築體二聚體純度(二聚體%)之情況下延遲IL-10遞送構築體自錠劑之釋放(**圖69**)。錠劑為F3錠劑配方，IL-10遞送構築體濃度為6 mg，用HPMC噴霧包覆，且接著具有50:50之Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D的包衣重量比。檢查兩種不同的Eudragit包衣重量(8 mg及20 mg)。在4型溶解裝置(流通模式)上，在pH 7.0溶解緩衝液中於37℃下量測溶解。

【0624】 對於具有不同量之包衣的錠劑及膠囊計算IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放量(**圖70**)。藉由SEC定量相關雜質(HMW聚集體及LMW單體)。活性物(二聚體)及雜質之求和得到自配方釋放之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)相關物質的總量。獲得之結果進一步指示錠劑與膠囊之間就IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放而言的效能差。

【0625】 一般而言，塗覆錠劑展示與未包衣錠劑類似的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放。自錠劑釋放之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)相關物質的總量一般接近錠劑中之IL-10遞送構築體的量，但在較高塗覆含量下觀測到一定蛋白質損失。另外，當考慮溶解研究過程中之所有材料時，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體之相對二聚體純度為所有錠劑之總釋放材料的大約50%。Eudragit塗覆膠囊展示相對較低比

例及量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體釋放，其中將大部分蛋白質鑑別為HMW聚集體。釋放之總蛋白質亦減少，大概由於高級聚集時形成之不溶性物種。

【0626】 亦可在此模型中確定非活性組分，諸如高分子聚集體及單體之程度。在**圖70**之左側展示之錠劑溶解組中，未包衣錠劑用作參考，且包衣組合物在50:50 (FS:L30D)至80:20 (FS:L30D)之間變化，遞增包衣重量增加為8 mg、13 mg及20 mg。

【0627】 錠劑相對於膠囊之效能改善可由各配方內之API的形式、溶解過程之性質及/或Eudragit之相對量產生。

【0628】 包覆腸溶包衣之錠劑上之包衣重量可顯著小於膠囊，其由於給定API重量之較低表面積(壓縮錠劑相對於填充至膠囊之粉末)，且亦由於錠劑表面幾何結構，無膠囊帽與主體之間的接合部，使其更易於針對給定重量獲得均一錠劑包衣。錠劑可使用較低包衣厚度。因此，由於較小表面積及/或較小厚度，相對於膠囊，錠劑可具有每一IL-10遞送構築體之量較少的聚合物(例如Eudragit)。

【0629】 另外，膠囊溶解之性質可對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放有害。囊封之IL-10遞送構築體可相對鬆散地安置在來自膠囊主體內之粉末內。在經由溶解膠囊初始接近流體時，實質(例如全部)量之蛋白質可經潤濕。此類快速潤濕可引起聚集或另外破壞二聚體結構。相比之下，在錠劑中，IL-10遞送構築體可在不溶性基質中摻合及壓縮，該基質不在初始流體接觸時立即完全潤濕，而是在比膠囊溶解更長的時段內崩解及溶解。此可降低錠劑溶解期間聚集的傾向且增加維持呈活性二聚體形式之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的可能性。

【0630】 實例19-在4型溶解裝置中比較包衣錠劑與無包衣錠劑

【0631】 假設相對於無包衣錠劑，在包衣錠劑溶解時觀測到的較低IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度可反映在經溶解Eudragit聚合物及IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之溶液中的同時存在，因為先前已展示此組合引起IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體損失。然而，此不可反映錠劑溶解之活體內情況，因為在經口投與之後於胃腸道中，包衣材料與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之接觸可為更有限的。替代地，隨著錠劑沿腸移動，包衣材料可在完全釋放藥物之前自錠劑核心逐漸移除，因此將包衣材料與蛋白質分離。

【0632】 用USP溶解4型裝置實施活體外流通方法(**圖98**)以更好地預測胃腸道中之藥物釋放。相比於2型裝置(在不具有活動流之攪拌腔室中進行溶解)，4型儀器可以「開放模式」操作，藉此遞送恆定入流量之溶解介質以維持無限下沉條件(亦即，無蛋白質或錠劑組分之局部積聚)。

【0633】 使用開放模式(流通)之4型裝置藉由活體外溶解來評估經包覆及未包覆之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑(**圖69**)。如所預期，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之釋放隨著增加包衣重量而延遲，但釋放曲線(二聚體含量)不受包衣影響，展示各錠劑類似的初始二聚體純度及降解速率(**圖69**)。

【0634】 包衣錠劑亦展示延遲釋放，但IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體含量相比於無包衣錠劑大幅減少，大概係由於IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)與Eudragit聚合物不相容。吾人預期4型儀器提供更代表經包覆IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑於胃腸道中之行為的環境，且因此應更好地模擬活體內效能。

【0635】 除了監測IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體純度以外，亦在4型溶解期間獲得各時間點處之藥物釋放量(**圖98**)。各錠劑展示類似的藥物釋放持續時間，其中增加包衣量延遲藥物溶解。此等資料表明一旦錠劑崩解開始，釋放過程便以類似方式進展，其中不管包衣厚度，一旦移除包衣材料，包衣錠劑核心便經歷相同表面水合及崩解過程。因此，由腸溶包衣提供之延遲釋放特徵對錠劑核心中之藥物品質展示極小(若存在)影響。

【0636】 塗佈有不同Eudragit配方之第二組錠劑展示類似溶解行為(圖**99**)，進一步支持IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之釋放不受4型裝置中之此等條件下的包覆顯著影響。

【0637】 **實例20-錠劑之HPMC-AS包衣**

【0638】 亦評估Eudragit包衣之替代物。出於類似的pH反應特性，及弱離子結構特徵而選擇AQOAT® (Shin-Etsu)乙酸丁二酸羥丙甲纖維素(HPMCAS)。此等特徵與Eudragit之強離子結構形成對比，且可使得在藥物錠劑包衣及藥物釋放過程期間與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)結構完整性更好地相容。進行相容性之初步篩選。將Eudragit L30D-55及FS 30D相比於AQOAT®產品AS-HF及AS-MF，據報導該等產品分別在pH 6.8及pH 6.0處變得可溶。如藉由二聚體含量所量測的與各種包衣劑一起在PBS中培育之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之二聚體純度展示於**表47**中。與AS-HF及AS-MF一起培育展示IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之極少或無降解，指示藉由此類HPMC-AS衍生物顯著改善藥物相容性。

表47-包衣材料與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之相容性；與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)蛋白質一起在PBS中培育2小時，藉由SEC方法

分析結構完整性

組分	二聚體	單體	HMW
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO:5)	88.1	8.8	3.2
Eudragit FS30D	45.8	12.2	42.0
Eudragit L30D55	12.6	45.2	42.1
HPMCAS-HF	86.2	11.5	2.3
HPMCAS-MF	88.3	8.7	3.0

【0639】藉由4型裝置上的溶解來評估包覆有50:50 AS-HF及AS-MF之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑(**圖100，圖101**)。發現釋放材料之初始二聚體純度與藥物物質(凍乾之IL10遞送構築體)基本上相同，指示HPMCAS塗層對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之二聚體純度幾乎無影響。與錠劑包衣厚度相關之釋放延遲(展示初始延遲之後類似的釋放速率，且與未包衣錠劑類似)進一步指示包衣材料在錠劑崩解期間無負面效應。

【0640】當相比於Eudragit包覆之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑時，HPMC-AS包覆錠劑展示基本上等效或改良之釋放概況，如由藥物純度、降解速率及活體外藥物暴露(二聚體濃度之AUC)所表徵。此藉由2型裝置上之溶解測試進一步說明(**圖102，圖103**)。相對於4型溶解裝置中之測試，包衣與IL-10遞送構築體之間的不相容性之影響在此類背景下變得更明顯。實際活體內釋放可能與4型溶解裝置所採用之條件更類似。儘管如此，在兩種情況下，HPMC-AS包衣均顯示優於Eudragit包衣之有利藥物穩定性概況。

【0641】相對於溶解時間繪製IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)釋放之二聚體純度及濃度。在2型溶解裝置上，包衣重量增加之錠劑與更長的釋放延遲相關。藥物濃度在初始崩解之後20-30分鐘達到最大累積濃度，與在4型裝置上之溶解中觀測到的崩解在包衣經初始破壞之後的類似

時間間隔內完成相關聯。

【0642】 總體而言，相對於Eudragit，HPMCAS包衣材料展現與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體之優良化學相容性。就兩種常用活體外溶解模型中之二聚體純度及暴露而言，HPMCAS包覆之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)錠劑顯示基本上等效或改良之釋放概況。流通模型上之兩階段溶解確認塗層為pH反應性的，因為其在較低pH下穩定且在高pH下變得不穩定以用於藥物釋放。HPMCAS包衣在低pH下對IL-10遞送構築體提供保護。發現在低pH下藉由包衣保護藥物有效，因為溶解測試中之藥物暴露在具有或不具有酸處理之情況下保持相同。

【0643】 實例21-在非人類靈長類動物中經由用乙狀結腸鏡進行泛結腸投與來評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之藥物動力學及藥效動力學

【0644】 進行此非GLP研究以探究經由用乙狀結腸鏡進行泛結腸投與而投與1、3或10 mg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之單次劑量的雄性食蟹獼猴(n=3隻/組)中之PK及PD。IL-10遞送構築體溶液(對於低、中及高劑量組，濃度分別為0.1、0.3及1.0 mg/mL)係經由經直腸途徑使用乙狀結腸鏡及與噴嘴連接之注射器以360°噴霧模式投與。藉由乙狀結腸鏡收集系列活檢樣品(給藥前、給藥後0.25、0.5、0.75、8及24-28小時)。收集給藥前0分鐘至給藥後24-28小時的系列血漿樣品以用於分析IL-10遞送構築體。

【0645】 *總IL-10及IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之血漿濃度*

【0646】 在投藥之15分鐘內於血漿中偵測到由經由乙狀結腸鏡直接遞送至結腸之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之單次劑量產生的暴露(藉

由總IL-10濃度測定)(**圖71A**)。在所有三個劑量組(1、3及10 mg)中，總IL-10暴露隨著劑量而增加，且t_{max}在遞送之一小時內出現(**圖71A**)。除了總IL-10分析以外，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度係藉由抗cholix^{386}捕捉抗體以及抗人類IL-10偵測抗體確定。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度(**圖71B**)比3 mg及10 mg劑量下之IL-10濃度低10倍(**圖71A**)。各組間未展現IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之劑量依賴性反應。相比於總IL-10，較低血漿IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度暗示循環IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)可由IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之裂解或另外加工之型式構成，其中cholix^{386}域(SEQ ID NO: 4)不再結合至rhIL-10。

【0647】 *在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後的IL-1Ra之血漿濃度*

【0648】 在所有三個劑量(1、3及10 mg)下觀測到IL-1Ra之血漿濃度的誘導。相比於1 mg，回應於3及10 mg劑量而在較高濃度下偵測到IL-1Ra(**圖71C**)；然而，偵測到高組內變化性且未觀測到明顯劑量依賴性反應。在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之較高濃度下不存在劑量依賴性效應表明IL-1Ra之IL-10誘導在10 mg劑量處飽和。總IL-10在大約0.5-1小時處達到峰值(**圖71A**)，且最大血漿IL-1Ra濃度隨後在3-4小時處(**圖71C**)。儘管動物之間的暴露及IL-1Ra產量的變化相當大，但總IL-10及IL-1Ra偵測之相對動力學表明IL-1Ra誘導可由IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)介導。

【0649】 *IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後的促炎性細胞介素之血漿濃度*

【0650】 結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)不引起促炎性細胞介素IFN-γ、IL-1β、IL-2或IL-8之全身濃度的增加，但在3及10 mg組中適度地誘導IL-6 (**圖72**)。

【0651】 在結腸組織(**圖105C**)及全身循環(**圖105A**)中偵測藉由總IL-10濃度評估的自單次劑量之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之暴露，該構築體經由乙狀結腸鏡直接遞送至結腸。亦藉由全身循環中之IL-1Ra濃度來評估暴露(**圖105B**)。在組織中偵測到總IL-10之劑量依賴性增加，其在15分鐘之第一取樣時間點處達到峰值。除了總IL-10分析以外，亦測定結腸組織中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的濃度。組織IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度不在各組中展示明顯劑量依賴性(**圖105D**)。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)濃度在1及10 mg劑量之後15分鐘增加，在組內偵測到高變化性。

【0652】 *在泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後結腸組織中之IL-1Ra濃度*

【0653】 評估在以1、3及10 mg劑量泛結腸遞送IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後NHP之結腸組織中的IL-1Ra濃度。在基線處在結腸組織中偵測到高濃度之內源IL-1Ra，且IL-1Ra濃度不回應於IL-10遞送構築體而進一步強化(**圖73**)。

【0654】 *在泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後組織中之STAT3磷酸化*

【0655】 STAT3磷酸化為IL-10受體活化之後的早期下游事件。在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後的若干時間點(15、30及45分鐘、8小時及24小時)於結腸組織樣品中研究STAT3磷酸化。在所有測試劑

量下在IL-10遞送構築體治療之後觀測到較高比率之結腸組織pSTAT3/STAT3，其指示結腸STAT3活化(**圖74**)。

【0656】 *在泛結腸投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後結腸組織溶解物中之促炎性細胞介素濃度的分析*

【0657】 未觀測到結腸組織中之促炎性細胞介素誘導；然而，有證據表明IL-6之血漿濃度隨著IL-10遞送構築體治療而增加(**圖75**)。

【0658】 針對以下各者分析各組織時間點處之結腸活檢體：IL-10遞送構築體、總IL-10、IL-1Ra、可溶性細胞介素之局部濃度；STAT3之活化；及投與IL-10遞送構築體之後的基因表現。IL-10遞送構築體治療上調多種消炎基因，尤其包括CD163、miR24-2及NOX1，其在耐受原性M2巨噬細胞之分化或功能中起作用。另外，STC1、MTNR1A及VNN2編碼抑制NFkβ信號傳導路徑之蛋白質，該路徑為調節關鍵促炎性細胞介素之路徑。IL-10遞送構築體治療下調藥物代謝酶CYP1A1之表現；然而，治療之前的12小時禁食可影響CYP1A1表現(**圖76**)。IL-10遞送構築體投與減少多種促炎性基因，包括MHCII及PLA2G2D，其藉由樹突狀細胞及巨噬細胞表現。此與IL-10抑制此等細胞之活化或朝向促炎性免疫表型分化的能力一致。另外，IL-10遞送構築體下調CCL20及CCL13，其分別為募集巨噬細胞及先天免疫細胞之化學引誘劑(**圖77**)。在IL-10遞送構築體治療下，多種促炎性基因亦上調，包括基質金屬蛋白酶：MMP1、MMP3及MMP19 (**圖78**)。重要的是，與IL-10之調節功能一致，IL-10遞送構築體亦增加基質金屬蛋白酶抑制劑TIMP1，以及其他組織修復(**圖79**)及抗微生物基因(**圖80**)。

【0659】 實例22-評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在潰瘍性結

腸炎之小鼠模型中之效應

【0660】 進行此研究以探究在鼠類噁唑酮誘導之潰瘍性結腸炎模型中用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)經口治療之功效。小鼠中之噁唑酮誘導之結腸炎構成與人類潰瘍性結腸炎中所述之發炎的組織病理學特徵及分佈具有類似性之UC動物模型，且可用於篩選潛在治療劑。

【0661】 健康幼齡雌性SJL/J小鼠用局部施加之200 μl噁唑酮(4-乙氧基亞甲基-2-苯基-2-噁唑啉-5-酮)於100%乙醇中之3% (w/v)溶液預致敏。在預致敏之後五天，小鼠用150 μL含1%噁唑酮之40%乙醇進行直腸內刺激。對照小鼠在第-5天用100%乙醇預致敏，接著直腸內投與150 μL之40%乙醇(無噁唑酮)。小鼠在第-5天至第+6天一天一次(q.d.)地藉由經口管飼給與IL-10遞送構築體、5-ASA (100 mg/kg，15隻小鼠)或媒劑，持續總共12個劑量。IL-10遞送構築體係以四種不同劑量提供：9 mg/kg、3 mk/kg、1 mg/kg及0.3 mg/kg。各治療組中具有15隻小鼠，媒劑治療組中具有10隻小鼠，且初始對照組中具有5隻小鼠。

【0662】 將血液樣品收集至含有EDTA之微量採血管(BD 365974)中且在室溫(RT)下在500 RCF下離心10分鐘。上清液經收集且轉移至清潔管中且在13,000 RCF RT下再離心10分鐘。將血漿樣品等分為兩個80-100 μL規模等分試樣且儲存於-80℃下。來自各存活小鼠之空腸及迴腸經移除且用冷PBS清除所有糞便內含物且將大約1 cm之每一部分速凍。來自各存活小鼠之結腸(負盲腸)經移除且用冷PBS清除所有糞便物質。記錄結腸長度及重量。沿結腸長度之不同點(區域1近端、區域2中段、在區域2與4之間的區域3及區域4遠端)自結腸切割樣品，且將其保存在10%中性福馬林緩衝液中24小時且接著轉移至70% EtOH。將此等樣品切片且藉由蘇木精

及曙紅染色或免疫螢光來染色。將相同結腸之區域3速凍。

【0663】 用IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療使得結腸組織病理學改善。**圖81A**展示初始結腸之蘇木精及曙紅染色，而**圖81B**展示來自小鼠之結腸區段，該小鼠用噁唑酮治療以誘導疾病病況，但在治療期接受媒劑。結腸組織病理學在**圖81C**中改善，該圖展示來自用IL-10遞送構築體(8.5 mg/kg)治療之代表性噁唑酮誘導小鼠的區段。

【0664】 用經口IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療降低發炎性標記IL-4 (**圖82A**)、IL-6 (**圖82B**)、IL-1β (**圖82C**)、IL-17A (**圖82D**)、IL-10 (**圖82E**)、MIP1α (**圖82F**)及GCSF/CSF3 (**圖82G**)之表現。使用單因子變異數分析與圖基氏事後測試進行統計分析。

【0665】 用經口IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療誘導組織及循環生物標記的上調。**圖84**展示在用IL-10遞送構築體治療後，IL-1Ra之全身表現以劑量依賴型方式提高(劑量在x軸上以mg/kg展示)。用9 mg/kg IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)治療相比於媒劑提高IL-1Ra之結腸表現(**圖85A**)，相比於媒劑降低IL-1β之結腸表現(**圖85B**)，且使IL-1Ra與IL-1β之比增加約2.5倍(**圖85C**)。用IL-10遞送構築體治療使得磷酸化STAT3 (pSTAT3)與總STAT3之比在小腸組織中增加約2倍，且在結腸組織中增加約3倍(**圖86**)。

【0666】 實例23-評估在未發炎小鼠之結腸組織中IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對STAT3之效應。

【0667】 為了評估在未發炎結腸組織中經口IL-10遞送構築體對STAT3之效應，向小鼠投與媒劑、IL-10遞送構築體(1 mg/kg)或重組人類IL-10 (rhIL-10，0.9 mg/kg，與IL-10遞送構築體之劑量為等莫耳劑量。

藉由ELISA MSD來分析總STAT3及磷酸化STAT3 (pSTAT3)。**圖83A**展示用IL-10遞送構築體治療使得pSTAT3與總STAT3之比增加大約50%，而rhIL-10治療不顯著改變pSTAT3與總STAT3之比。

【0668】 為了評估在未發炎結腸組織中經口IL-10遞送構築體對IL-1Ra之效應，向小鼠投與媒劑、IL-10遞送構築體(10 mg/kg)或重組人類IL-10 (rhIL-10，3 mg/kg，與IL-10遞送構築體之劑量為等莫耳劑量。藉由ELISA MSD來分析全身性IL-1Ra。**圖83B**展示全身性IL-1Ra之含量在用IL-10遞送構築體治療之小鼠中增加約3倍，而用rhIL-10治療不顯著增加全身性IL-1Ra含量。

【0669】 實例24-評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)對非人類靈長類動物之免疫穩態及傷口癒合的效應。

【0670】 為了評估IL-10遞送構築體對促炎性及抗炎性標記之效應，藉由具有噴嘴之結腸乙狀結腸鏡將IL-10遞送構築體遞送至雄性長尾獼猴(約5至約8 kg)。IL-10遞送構築體係以白蛋白中調配之1 mg、3 mg及10 mg劑量投與。用IL-10遞送構築體治療降低促炎性標記之表現(**圖87**)、提高抗炎性標記之表現(**圖88**)且提高與組織修復及傷口癒合相關之生物標記的表現(**圖89**)。

【0671】 實例25-評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)於非人類靈長類動物中之藥物動力學及藥效動力學

【0672】 為了比較不同遞送途徑，如下地向長尾獼猴投與IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)：以1 mg (N=6)或5 mg (N=6)經口、以0.2 mg/kg皮下(N=3)或以0.05 mg/kg靜脈內(N=3)。對於經口投與，在0號包覆腸溶包衣之膠囊中調配IL-10遞送構築體。對於靜脈內或皮下投與，將

其調配為DS凍乾配方中之液體。相比於皮下或靜脈內投與，用IL-10遞送構築體經口治療產生最小全身IL-10含量(**圖90A**)。全身IL-1Ra含量展示於**圖90B**中。用IL-10遞送構築體經口治療將IL-1Ra/IL-10比在1 mg處增加至約15,000:1，且對於3 mg劑量增加至大於20,000:1，而自皮下或靜脈內投與可見極小效應(**圖91**)。

【0673】 **實例26-評估界面活性劑**

【0674】 探究在經受剪應力之前及之後，界面活性劑對IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之二聚化的效應。更特定言之，將各種界面活性劑添加至包含IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之溶液，且在經受剪應力之前，及在以800 rpm連續渦旋4小時之後測試所得溶液。考慮以下界面活性劑：(1)對照(1× PBS，無界面活性劑)，(2)聚山梨醇酯80 (PS80)，0.1%於1× PBS中，(3)聚山梨醇酯20 (PS20)，0.1%於1× PBS中，及泊洛沙姆188 (F68)，0.3%於1× PBS中。

【0675】 在渦旋後，目測檢查溶液。無界面活性劑之樣品略微混濁，而具有界面活性劑之樣品在渦旋之後澄清。在渦旋之後評估溶液之濁度(340-360 nm)。在無界面活性劑之情況下，吸光度在340-360 nm範圍內增加(**圖92**)，且亦在0.1% PS20下觀測到吸光度增加。

【0676】 在渦旋之前(**圖93**)及之後(**圖94**)對IL-10遞送構築體配方進行SEC-HPLC (**表48**)。對於IL-10遞送構築體之所有樣品，此等結果均未展示渦旋之前及之後的顯著變化。然而，聚山梨醇酯80展示(IL-10遞送構築體之) HMW聚集體及單體在渦旋之前增加，指示對IL-10遞送構築體之一定不穩定效應。另外，聚山梨醇酯20在渦旋之前展示最大量之單體，指示IL-10遞送構築體出現一定解離。總之，0.3%之界面活性劑F68 (泊洛沙

姆188)似乎在剪應力下使1× PBS中之IL-10遞送構築體穩定。

表48-藉由渦旋之前及之後的SEC-HPLC評估的呈單體、二聚體及聚集體(HMW)形式之IL-10遞送構築體%

SEC(%)	在渦旋之前				在渦旋之後			
	對照	0.3%F68	0.1%PS80	0.1%PS20	對照	0.3%F68	0.1%PS80	0.1%PS20
HMW	0.57	0.49	3.47	0.9	0.82	0.81	3.43	0.94
二聚體	93.6	94	87.3	82.5	92.5	93.5	86.6	82.9
單體	5.81	5.5	9.2	16.65	6.73	5.66	10	16.17

【0677】 **實例27 - pSTAT3之活體內評估**

【0678】 進行小鼠之活體內研究，其中針對刺激小鼠IL-10受體及增加固有層內之細胞中之STAT3磷酸化(pSTAT3)的能力來評估人類IL-10在胞吞轉運之後的生物活性。此等研究表明經顯示，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5) (且並非單獨的無載體分子之IL-10)選擇性地轉運穿過上皮細胞，且能夠在轉運穿過上皮細胞之後增加固有層內之細胞的STAT3磷酸化。另外，腸組織中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)暴露增加且全身暴露減至最小。

【0679】 腔內注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)增加固有層內之細胞的STAT3磷酸化。rhIL-10及pSTAT3之組織定位係藉由將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)腔內注射至Balb/C小鼠之空腸中之後約10分鐘的免疫螢光共聚焦顯微法來偵測(**圖107**)。大量的rhIL-10 (SEQ ID NO: 5)運輸穿過腸上皮細胞。另外，在腸上皮細胞之底外側表面處及pSTAT3陽性的固有層內存在淋巴細胞樣細胞群體。pSTAT3磷酸化隨時間推移之增加展示於**圖108**中。

【0680】 在不同鼠類模型中證實將IL-10遞送構築體運輸穿過腸上皮細胞，如由共聚焦顯微法所示(**圖109**)。

【0681】 將小鼠之整個腸分離且加工為「瑞士卷」，且藉由免疫螢

光共聚焦顯微法來偵測pSTAT3之定位(**圖110**)。在經口管飼之後經由偵測沿固有層之STAT3磷酸化而表明沿腸之長度(在所有腸區段中，包括結腸)的IL-10活性，指示免疫信號傳導路徑活化。

【0682】 實例28-在發炎性腸病之T細胞轉移模型中腔內注射SEQ ID NO: 5

【0683】 進行此研究以檢查載體蛋白將rhIL-10自腸腔轉運至發炎腸組織之黏膜下層區域中的潛力。使用T淋巴細胞(T細胞)轉移模型，因為其為在小鼠中誘導慢性結腸炎之公認模型，且呈現許多在IBD患者中觀測到的必需免疫標誌。經由腔內注射至遠端迴腸及近端、中段及遠端結腸中而向九隻BALB/c小鼠及十二隻SCID小鼠(包括具有結腸炎樣發炎模型之九隻)給與20 μl測試物品。向健康BALB/c小鼠及患有誘導結腸炎之SCID小鼠投與159皮莫耳IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，向健康BALB/c小鼠及患有誘導結腸炎之SCID小鼠投與159皮莫耳rhIL-10，且向健康BALB/c小鼠以及健康及誘導結腸炎SCID小鼠(n=3隻/組)投與PBS媒劑。各組中，兩隻小鼠在腔內注射之後10分鐘終止，且一隻在腔內注射之後40分鐘終止。收集腸組織及血清。收集之組織經固定、包埋、切片及H&E染色以進行發炎性狀態的組織學評估。對由腸組織及血清製備之溶解物進行ELISA分析以量測rhIL 10 (**圖106A-圖106D**)。

【0684】 組織之組織病理學評估在結腸之所有層級下於所有SCID T細胞轉移小鼠中確認發炎。

【0685】 相比於僅注射rhIL-10之小鼠，注射IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之小鼠在10分鐘暴露時間點處之rhIL-10之ELISA量測值顯著更高(**圖106A-圖106B**)。此外，相比於未發炎組織，IL-10遞送構築體(SEQ

ID NO: 5)更有效地轉運至發炎組織中。在正常腸組織中，IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)吸收相比於僅注射rhIL-10之小鼠高2至5倍。在發炎組織中，在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)注射之後量測之rhIL-10含量比在僅rhIL-10之後量測之含量高大約10倍(**圖106B**)。在IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與之後偵測到的重組人類IL-10係在暴露時間後40分鐘於大部分組織中偵測，但相比於發炎組織，似乎在健康更穩定(**圖106C-圖106D**)。

【0686】 IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，但並非rhIL-10投與以時間依賴性方式產生在健康動物之血清中偵測的適度高rhIL-10。在發炎動物中，自IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)及rhIL-10腔內注射均偵測到血清中極小量之rhIL-10，指示發炎腸組織中之一定輕度非特異性滲漏。

【0687】 健康小鼠相對於患病小鼠之全身暴露差異可歸因於腸『下沉效應(sink effect)』，其描述IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)可靶向之疾病病況中的浸潤免疫細胞數目較高。如由腸黏膜及黏膜下層中之組織病理學觀測到的許多浸潤白血球將IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)/rhIL-10限制於固有層，同時限制全身暴露。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)投與使得rhIL-10於結腸組織中之腸吸收增強，其證明cholix^{386}促進將rhIL-10胞吞轉運穿過上皮細胞。

【0688】 實例29 - 1a期臨床研究

【0689】 IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)經設計以評估增加健康男性個體之IL-10遞送構築體之單次口服劑量的安全性及耐受性、藥物動力學及藥效動力學(A部分)。在研究之B部分中，在潰瘍性結腸炎(UC)患者中之多遞增劑量之IL-10遞送構築體之後，收集關於安全性及耐受性、

藥物動力學、藥效動力學及早期臨床反應的早期資料(B部分)。

【0690】 主要目標為評估單遞增劑量及多遞增劑量之IL-10遞送構築體在健康成年志願者及患有活動性UC之患者中之安全性及耐受性。研究之其他目標為評估：IL-10遞送構築體之藥物動力學(PK)及藥效動力學(PD)、評估針對IL-10遞送構築體之抗藥物抗體的發生率、評估血漿及組織中之IL-10遞送構築體之潛在PD生物標記(僅B部分)、基於PD反應評估IL-10遞送構築體向結腸組織之遞送及評估在治療兩週之後患有活動性UC之患者中之IL-10遞送構築體的臨床活性。

【0691】 *1a期試驗設計*

【0692】 A部分由健康男性志願者中之單遞增劑量(SAD)遞增組成。進行由經口投與之單遞增劑量組成的六組。在各劑量含量下，在第1天登記6個個體，以2:4隨機分至接受單次劑量之安慰劑或IL-10遞送構築體。選擇之劑量為1 mg、3 mg、10 mg、30 mg、60 mg及120 mg。

【0693】 *初步1a期資料*

【0694】 A部分之結果確認IL-10遞送構築體為安全及良好耐受的。出現總共3個不良事件，12個安慰劑患者中具有1個且總共24個活動性IL-10遞送構築體患者中具有2個。所有事件均為輕度、自限制不良事件。來自所有劑量(1-120 mg)之藥物動力學分析的結果確認IL-10遞送構築體為腸選擇性的，因為在血液中未偵測到藥物。

【0695】 臨床前模型已將周邊IL-1Ra產生鑑別為將IL-10接合至黏膜淋巴細胞中之IL-10R的標記。為了確定IL-10遞送構築體是否主動轉運穿過上皮細胞內層進入固有層及是否能夠與淋巴細胞相互作用，評估IL-1Ra誘導含量。

【0696】 結果確認IL-10遞送構築體能夠誘導IL-1Ra表現(**圖111**)。在60及120 mg處損失免疫調節活性(IL-1Ra誘導)與IL10生物學一致。

【0697】 **實例30 - 1b期臨床研究**

【0698】 在14天之治療內，在患有活動性UC之成年患者中之多遞增劑量(MAD)之IL-10遞送構築體之後，收集關於安全性、耐受性、藥物動力學、藥效動力學及初始臨床反應的資料。將IL-10遞送構築體及賦形劑(甘胺酸、蔗糖、泊洛沙姆188及磷酸鉀)之凍乾組合物添加至0號HPMC膠囊中以製備劑量濃度為1 mg、5 mg及20 mg之三個不同批次。將具有50:50重量比之Eudragit® L30D55:Eudragit® FS30D的包衣以14.8至16.0 mg/cm^{2}之厚度及大約76 mg之重量塗覆至各膠囊。使用類似包覆之空膠囊產生安慰劑膠囊。

【0699】 *1b期試驗設計*

【0700】 如**圖112**中所示，1b期試驗由患有活動性UC之成年患者中的MAD遞增組成向總共四組給與1 mg、3 mg、10 mg或30 mg之IL-10遞送構築體，該四組3:1隨機分至接受持續十四日每日一次投與之IL-10遞送構築體或安慰劑。試驗目標為經由內視鏡檢、組織學、生物標記及血清樣品來評估IL-10遞送構築體之安全性及UC疾病活動性之任何變化。在基線及治療之第14天處獲得大便樣品及結腸活檢體以基於Geboes評分系統之盲法集中讀取來評估糞便鈣衛蛋白以及組織學。糞便鈣衛蛋白UC研究中之臨床反應的客觀標記，且Geboes評分系統為組織學反應之量度。此實例之Geboes評分系統使用0-22分組織學評分系統，其中更高評分表示更嚴重疾病。

【0701】 *初步1b期資料已表明經口IL-10遞送構築體具有良好耐受*

性

【0702】 1b期試驗之結果表明觀測到患有UC之患者對經口IL-10遞送構築體具有良好耐受性。**表49**展示觀測到總共23個TEAE，包括四個安慰劑患者中之三個，及12個活動性IL-10遞送構築體患者中之20個。1b期試驗之不良事件包括鼻咽炎及與潛在UC症狀，諸如腹痛、腹瀉及噁心相關的不良事件。所有不良事件均為自限制及輕度至中度的，其中無不良事件需要提早中止治療。重要的是，不同於先前研究中全身遞送之IL-10，未觀測到治療引發之貧血或血小板減少症AE。

表49-在活動性個體及安慰劑中觀測到的治療引發之不良事件(TEAE)

	1 mg (n=3)	3 mg (n=3)	10 mg (n=3)	30 mg (n=3)	所有活動性 (n=12)	安慰劑 (n=4)
TEAS之數目 (% pts)	2 (67%)	7 (67%)	5 (67%)	6 (67%)	20 (67%)	3 (50%)

【0703】 *臨床反應之初步結果*

【0704】 糞便鈣衛蛋白(FCP)為患有UC之患者之疾病活動性的臨床標記。大於150 μg/g之FCP值與活動性發炎相關。如**圖113**中可見，給與1 mg及3 mg IL-10遞送構築體在僅給藥14天之後引起44%及27%之安慰劑調節之平均FCP減少。全身遞送IL-10之先前臨床研究展示活性在較高劑量下降低，亦在IL-10遞送構築體之10 mg及30 mg劑量下觀測到該降低。

【0705】 C反應蛋白(CRP)為全身性發炎之生物標記。在1及3 mg下，當與安慰劑相比時，在基線CRP為大於5 mg/L之UC患者中觀測到CRP含量之更大降低(**圖114**)。根據設計，IL-10遞送構築體為GI選擇性蛋白質且在全身循環中未偵測到。然而，CRP含量降低表明用經口GI選擇性IL-10遞送構築體治療UC患者產生局部腸以及全身免疫調節活性，其有助於使得能夠治療周邊發炎適應症。

【0706】 Geboes組織學評分系統為併有免疫細胞(淋巴細胞及嗜中性白血球)浸潤至固有層及上皮細胞中以及隱窩結構及破壞，及潰瘍及糜爛之存在的系統。當添加各分量時，總分可在0 (正常)至22(嚴重發炎及組織破壞)範圍內。為了評估IL-10遞送構築體對GI黏膜之活性，在基線處且接著在給藥14天之後獲得結腸活檢體，且由盲化、集中讀取之GI病理學家來評估Geboes評分。當相比於0% (2/10)安慰劑患者時，IL-10遞送構築體在60% (6/10)活動性IL-10遞送構築體患者中降低Geboes評分(**圖115**)。

【0707】 **圖116**展示來自UC患者之給藥前及治療後組織學影像，在1b期試驗中給與該患者10 mg IL-10遞送構築體，其中Geboes評分自15分改善為3分(使用22分量表)，其中較高評分指示較嚴重疾病活動性。給藥前影像展現UC患者在基線處在其結腸中具有隱窩破壞及發炎性細胞浸潤，其在用IL-10遞送構築體治療14天之後於治療後影像中消退。

【0708】 實例31：比較具有或不具有亞硫酸分解之IL-10遞送構築體的純化

【0709】 使用如**圖2A**中所述之包括亞硫酸分解步驟中方法或**圖2B**中所述之類似方法自包涵體純化IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)，但圖2B之方法不包括澄清與再摺疊步驟之間的亞硫酸分解及切向流過濾步驟。兩種方法中之再摺疊均在4℃下進行。兩種方法中所用之再摺疊溶液均含有1 mM還原麩胱甘肽、0.5 mM氧化麩胱甘肽、1 M精胺酸-HCl、250 mM蔗糖、100 mM Tris pH 8.5 (在4℃下)及2 mM EDTA。IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體含量係在再摺疊之後但在使用獲自Tosoh Biosciences之TSKgel SW3000 4 μm，4.6/300進行AEX層析之前的超濾/透濾步驟之後藉由SEC-HPLC表徵(**表50**)，且在藉由Capto Q ImpRes®

(GE)層析圖進行AEX層析之後進一步表徵(**表51-52**)。

表50-各種形式(高分子量聚集體、二聚體及單體)之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)的百分比

方法類型*	聚集體%	二聚體%	單體%
SIB之亞硫酸分解(TFF-2在室溫下持續20小時)	68	17	8
無SIB之亞硫酸分解(2× UF/DF在4℃下)	36	27	22
無SIB之亞硫酸分解(2× UF/DF在室溫下持續66小時)	57	22	11

*圓括號中包括之*為再摺疊與AEX層析之間的TFF步驟的描述*

表51 - Capto Q層析之後的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)產率

方法類型	Capto Q負載(mg)	UFDF濃度(mg/mL)	Capto Q池體積(mL)	Capto Q產率	二聚體純度(%)
SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	1680	1.85	270	151	74
無SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	1680	1.68	270	262	84

表52 - Capto Q層析之後的IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體回收

方法類型	Capto Q負載中之二聚體含量(%)	Capto Q總蛋白質回收(%)	Capto Q二聚體回收(%)	二聚體純度(%)
SIB之亞硫酸分解(平均3個)	20	17	55	82-83
SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	16.5	9	54.5	74
無SIB之亞硫酸分解(97 mL Capto Q)	25	15.6	62.4	84

【0710】 實例32：比較具有或不具有亞硫酸分解之IL-10遞送構築體的純化

【0711】 此實例展現將由SEQ ID NO: 5中所闡述之胺基酸序列組成之遞送構築體活體內胞吞轉運穿過威斯塔大鼠之完整極化腸上皮細胞。資料表明遞送構築體快速且有效地將IL-10負載物轉運穿過極化腸上皮細

胞，進入固有層中。

【0712】使用雄性威斯塔大鼠來測試活體內胞吞轉運。使用12/12小時光/暗循環在每籠圈養3-5隻雄性威斯塔大鼠，且當該等雄性威斯塔大鼠在置放於研究時為約225-275 g (大致6-8週大)。在日間階段期間使用非回收協定進行實驗，該非回收協定使用持續異氟醚感覺缺失。進行暴露空腸中段區域之4-5 cm腹部中線切開。在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中製備呈3.86×10^{-5} M之遞送構築體的儲備溶液，其中藉由使用29規格針頭進行腔內注射(ILI)來投與50 μL (每250 g大鼠)。隨後用永久性標記來標記注射部位腸系膜。在研究終止時，將所捕獲之標記腸片段之3-5 mm區域分離且處理以用於顯微評估。根據1986年之英國動物(科學程序)法案、1986年之歐洲共同體委員會指示(86/609/EEC)進行活體內實驗。

【0713】具有SEQ ID NO: 5之遞送構築體的胞吞轉運活性結果展示於**圖117A-圖117C**中。資料展示顯微影像表明在將具有SEQ ID NO: 5中闡述之序列的遞送構築體內腔施加至大鼠空腸之後的不同時間點處，將IL-10負載物轉運穿過威斯塔大鼠之極化腸上皮細胞。遞送構築體(SEQ ID NO: 5)包括具有SEQ ID NO: 4 (且進一步包括N端甲硫胺酸)之cholix載體，其經由具有SEQ ID NO: 6中所闡述之胺基酸的間隔子偶聯至具有SEQ ID NO: 2中所闡述之胺基酸的IL-10負載物。綠色螢光指示存在IL-10 (經由用抗IL-10抗體染色)。藍色螢光指示標記DNA之DAPI染色，且紅色螢光指示可在胞吞轉送期間與cholix源性載體共定位(例如在上皮細胞之核上區域中)之CK-8 (細胞角蛋白-8)的存在。白色箭頭#1突出顯示上皮細胞之頂端膜，且白色箭頭#2突出顯示上皮細胞之基底膜。

【0714】**圖117A**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中

所闡述之序列的遞送構築體之後一分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。資料展示，IL-10負載自頂端轉運至基底位點以及轉運至固有層中早在施加遞送構築體之後1分鐘發生。白色箭頭#3指示IL-10存在於固有層中。

【0715】 **圖117B**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後五分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。資料展示在內腔施加遞送構築體之後5分鐘存在於固有層(參見例如白色箭頭#3)中之增加量的經轉運IL-10負載物。

【0716】 **圖117C**展現在向大鼠空腸內腔施加具有SEQ ID NO: 5中所闡述之序列的遞送構築體之後十分鐘IL-10之胞吞轉運的程度。資料展示在內腔施加遞送構築體之後10分鐘存在於固有層(參見例如白色箭頭#3)中之甚至更高量的經轉運IL-10負載物。

【0717】 此資料表明具有SEQ ID NO: 4中闡述之序列(且進一步包括N端甲硫胺酸)之cholix源性載體能夠快速且有效地將IL-10負載物(SEQ ID NO: 2)活體內轉運穿過完整極化腸上皮細胞，如藉由早在內腔施加遞送構築體(SEQ ID NO: 5)之後1分鐘固有層中存在IL-10負載物所表明。在此實驗之過程中，在固有層中偵測到增加量之經轉運IL-10。

【0718】 實例33：SEQ ID NO: 5之遞送構築體的元件在活體外具功能活性

【0719】 此實例提供cholix源性載體(SEQ ID NO: 4)將IL-10負載物(SEQ ID NO: 2)轉運穿過腸上皮細胞之能力的功能評估，使用在活體外於半透膜上培養之人類小腸細胞的極化、匯合單層來驗證(**圖118**)。儘管分子量大得多，但遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在比重組人類IL-10 (rhIL-10)更大的程度上轉運穿過此等單層，表明SEQ ID NO: 5之cholix源性載體保

留其經歷頂端至基底(A→B)胞吞轉運之能力。隨後在活體外測試遞送構築體(SEQ ID NO: 5)以確保融合蛋白之IL-10元件具生物活性。經工程化以表現涉及IL-10信號轉導之兩種受體(IL-10RA及IL-10RB)且由於配位體誘導之受體二聚化而呈現發光事件之U2OS骨肉瘤細胞株係用於測試增加劑量之遞送構築體、單獨的cholix源性載體及單獨的rhIL-10。相比於rhIL-10之91.53 pM，遞送構築體之EC50為971.4 pM (圖**119**)，而單獨的cholix源性載體不誘導IL-10R二聚化。為了評估下游效力，使用小鼠巨噬細胞J774.2細胞來檢查遞送構築體、rhIL-10或cholix源性載體誘導信號轉導及轉錄活化因子3 (STAT3)之磷酸化的潛力。相比於此分析中之hIL-10之商業製劑的40.98 pM，SEQ ID NO: 5之遞送構築體展現263.6 pM之EC50 (**圖120**)。值得注意的是，相比於hIL-10之2.19%，遞送構築體具有約1.47%之減小幅度的pSTAT3/總STAT3。最後，用SEQ ID NO: 5之遞送構築體預治療人類外周血單核細胞(PBMC)引起分泌之腫瘤壞死因子α (TNFα，**圖121**)之劑量依賴性減少，且引起HLA-DR (**圖122**)，但不引起分泌之IL-6 (**圖123**)之表面表現，其通常由內毒素(脂多醣)治療誘導。共同地，此等資料展示經由GS多肽序列間隔子將hIL-10與SEQ ID NO: 4之cholix源性載體結合產生保留到達腸固有層內之細胞及活化該區室中之IL-10受體信號傳導路徑所需之特性的嵌合體。

【0720】 實例34：SEQ ID NO: 5之遞送構築體在活體內胞吞轉運

【0721】 此實例提供SEQ ID NO: 5之遞送構築體是否可經歷有效活體內胞吞轉運之評估，其藉由使用在經口管飼PBS、rhIL-10或遞送構築體之後40分鐘分離之大鼠腸組織檢查pSTAT3誘導。來自經PBS治療之動物之組織的免疫螢光顯微法未能展現固有層或腸上皮細胞中存在針對hIL-

10或pSTAT3誘導之任何免疫反應性(**圖124**)。在一些情況下，rhIL-10治療之動物在腸上皮細胞中但未在固有層內之細胞中展現pSTAT3誘導；未在組織內偵測到hIL-10 (**圖125**)。此觀測結果與小鼠中之以下發現一致：腸上皮細胞可在產生與及維持障壁功能相關之某些條件下於其頂表面處表現IL-10受體。自用SEQ ID NO: 5之IL-10遞送構築體治療之動物分離的組織展現大量hIL-10及許多對於固有層內之pSTAT3呈陽性之細胞(**圖126**)。為了定量測試物品如何影響腸IL-10信號轉導路徑，進行影像分析：收集高通量影像批次，相對於固有層定位藉由上皮，且接著藉由細胞特徵分段。所得分段圖案允許產生施加至組分資料之二進制圖，從而得到核pSTAT3+細胞之腸道絨毛分佈評分(**圖127**)。用SEQ ID NO: 5之遞送構築體處理之組織展示比自PBS或rhIL-10治療之動物收集之腸組織中所觀測更大的固有層內之細胞及腸上皮細胞中之pSTAT3誘導。

【0722】此實例亦評估SEQ ID NO: 5之遞送構築體是否可轉運穿過發炎之腸組織。藉由轉移CD4+ CD45RBhigh T細胞誘導之結腸炎的小鼠模型係以ILI格式使用，其中將約160皮莫耳之IL-10遞送構築體或rhIL-10在PBS中投與至結腸之遠端迴腸或近端、中段或遠端區域(**圖128**)。腸組織之組織病理學顯微評估在結腸之所有層級下確認發炎，但在迴腸中未確認。在ILI之後10分鐘，相比於rhIL-10治療，遠端迴腸組織對於SEQ ID NO: 5之遞送構築體含有高約5倍的hIL-10含量；在發炎組織中，相比於rhIL-10治療，在SEQ ID NO: 5之遞送構築體之ILI之後量測的hIL-10含量高約10倍(**圖128**)。相對於未發炎之遠端迴腸，在發炎之結腸中觀測到的hIL-10之較高組織含量可能歸因於此等組織之障壁特性的差異。在ILI之後40分鐘檢查之組織表明經由SEQ ID NO: 5之遞送構築體遞送之hIL-10

反映在10分鐘處獲得之資料，其中在未發炎之遠端迴腸中觀測到較大相對吸收(資料未示出)。重要的是，未在全身循環中觀測到hIL-10 (**圖128**)。

【0723】 進行分析以確保SEQ ID NO: 5之遞送構築體之遺傳結構保留應由cholix源性載體賦予之A-B胞吞轉運特性，該載體涉及在不靶向至極化腸上皮細胞中之溶酶體降解路徑之情況下的受體介導之吸收及囊泡運輸。SEQ ID NO: 5之遞送構築體之融合蛋白之cholix衍生載體及hIL-10元件在A-B胞吞轉運期間保持在一起且保持在固有層內，允許hIL-10之定位精確描述SEQ ID NO: 5之遞送構築體的分佈(圖129)。儘管Rab7+囊泡(界定晚期內體)存在於腸上皮細胞之頂端及基底囊泡區室中，但與遞送構築體之共定位主要出現於頂端囊泡區室中(**圖130**)。亦在腸上皮細胞之頂端及基底區室中觀測到Rab11+囊泡(界定再循環內體)，但與Rab7相反，共定位大多出現於基底囊泡區室中(**圖131**)。相比於固有層中之細胞內的Rab7，SEQ ID NO: 5之遞送構築體在更大程度上與Rab11共定位(**圖130**及**圖131**)。

【0724】 已展示MAN1 (凝集素，甘露糖結合1)蛋白涉及cholix胞吞轉運，該蛋白為內質網-高基體中間區室(ERGIC)之居住者且已知涉及蛋白質及脂質之分選或再循環。SEQ ID NO: 5之遞送構築體亦在A-B胞吞轉運期間與再分佈LMAN1共定位(**圖132**)：在1分鐘處，當遞送構築體剛剛進入內腔膜時，LMAN1定位於頂室中；在5分鐘處，LMAN1及一些內化的SEQ ID NO: 5之遞送構築體存在於與ERGIC分佈相關的核上區域中；截至10分鐘，SEQ ID NO: 5之遞送構築體及LMAN1在基底室中廣泛地共定位；且截至15分鐘，LMAN1在整個腸上皮細胞中之再分佈及與SEQ ID NO: 5之遞送構築體共定位的程度最大化。LMAN1再分佈至基底

室之時序與在固有層內之非極化細胞中最終偵測到hIL-10的存在一致，在固有層中，hIL-10與LMAN1不相關。與SEQ ID NO: 5之遞送構築體A-B胞吞轉運相關的LMAN1之此再分佈與針對cholix先前所觀測相同。

【0725】 已顯示cholix進入之A-B胞吞轉運路徑與Rab7+及LAMP1+囊泡相交；儘管此等為晚期內體及溶酶體之標記，但cholix似乎不運輸至腸上皮細胞內之溶酶體樣結構。為了針對SEQ ID NO: 5之遞送構築體檢查此點，進行LAMP1及遞送構築體共定位之時程(**圖133**)。在ILI後1分鐘處於極化腸上皮細胞中觀測道有限的LAMP1/遞送構築體共定位，其中此等共定位之程度在完成遞送構築體之A-B胞吞轉運所需的15分鐘時程內不增加。固有層內之非極化細胞中的LAMP1+結構在ILI後1分鐘及5分鐘處不展示與SEQ ID NO: 5之遞送構築體的共定位。然而，在ILI後10分鐘及15分鐘處，在固有層內之非極化細胞中存在廣泛LAMP1/遞送構築體共定位。共同地，此等資料表明SEQ ID NO:5之遞送構築體的A-B胞吞轉運在10-15分鐘時程內完成，且涉及頂室Rab7+囊泡、基底室Rab11+囊泡、LMAN1再分佈及避免與針對cholix A-B胞吞轉運先前所觀測類似的腸上皮細胞中之溶酶體命運。最終，遞送構築體係遞送至固有層內之一大部分細胞內的溶酶體樣結構，其為將限制遞送構築體在A-B胞吞轉運之後的全身分佈的結果。

【0726】 實例35：固有層中之巨噬細胞藉由SEQ ID NO: 5之遞送構築體活化

【0727】 在確定SEQ ID NO: 5之遞送構築體在活體內具生物活性之後，使用免疫螢光顯微法來探究遞送構築體之細胞靶標。hIL-10遞送至固有層之論證展示於小鼠空腸組織樣品連同pSTAT3誘導及免疫細胞標記中

(**圖67**)。在經口管飼之後的此40分鐘時間點處，在腸上皮細胞之基底區域中及固有層內之線性組織中觀測到hIL-10，該等線性組織與乳糜管及/或血管一致。鄰近於所偵測hIL-10之區域在固有層內之許多細胞中展現強pSTAT3表現，且在極化腸上皮細胞之一些細胞核中展現含量低得多的表現。觀測到固有層內之適中比例的CD3+細胞與pSTAT3共定位：此區室內存在之許多CD3+細胞對於pSTAT3不呈陽性，且存在許多對CD3不呈陽性之pSTAT3+細胞(**圖134**)。然而，使用巨噬細胞特異性標記F4/80，吾人觀測到與pSTAT3之廣泛共定位(**圖135及圖136**)。F4/80及pSTAT3標記之額外實例係在獲自小鼠之小腸(**圖137**)及結腸(**圖138**)的組織樣品(在管飼給與SEQ ID NO: 5之遞送構築體之後獲得)中突出顯示，與固有層內之巨噬細胞細胞群體的廣泛IL-10活化一致。結果表明SEQ ID NO: 5之遞送構築體在A→B胞吞轉運之後最終靶向至CD3+ T淋巴細胞，可能經由由其cholix源性載體元件驅動之相互作用，而巨噬細胞由hIL-10元件廣泛地靶向。

【0728】 實例36：小鼠之循環IL-1Ra及全身hIL-10回應於經口管飼SEQ ID NO: 5之遞送構築體而增加

【0729】 IL-1β之發炎作用係藉由稱為IL-1Ra之特定受體拮抗劑的存在來調節。增加之血清IL-1Ra含量可由IL-10誘導，其可在不存在促炎性狀態的情況下發生。理解了與多少生物活性遞送構築體自胃釋放到達小腸及何時釋放以及其在經口管飼之後於固有層內之吸收及作用時序相關的不確定性，吾人檢查IL-1Ra在未發炎小鼠中之功能作為IL-10遞送構築體之作用的生物標記。

【0730】 經口管飼10 mg/kg SEQ ID NO: 5之遞送構築體產生早在1小時於全身循環中偵測到的約50 pM hIL-10，其在4小時處增加至約700

pM (**圖139**)。遠端小腸(**圖140**)及結腸(**圖141**)組織中之hIL-10偵測在1及2.5小時處不顯著升至高於基線，但在4小時處展示具有高變化性的略微增加；小腸溶解物中之hIL-10比結腸溶解物中高約10倍。血清IL-1Ra含量在4小時處顯著增加(**圖142**)。此等結果表明IL-1Ra誘導之起始出現於經口管飼之後2.5-4小時之間，在遠端小腸及結腸組織中觀測到hIL-10之組織含量之可偵測增加的大約相同時間。此結果表明在遞送構築體於遠端小腸及結腸組織中經吸收之後幾乎立即誘導IL-1Ra，或此誘導在經口管飼之後於上小腸中幾乎快速吸收遞送構築體之後的幾小時出現。為了測試此問題，將遞送構築體直接沈積至非人類靈長類動物模型中之結腸黏膜的內腔表面上。

【0731】 實例37：在向非人類靈長類動物(NHP)結腸內噴灑SEQ ID NO: 5之遞送構築體之後的IL-1Ra誘導

【0732】 局部噴霧方法用於將1、3或10 mg (總劑量) SEQ ID NO: 5之遞送構築體投與至健康、禁食之非人類靈長類動物(食蟹獼猴)之結腸黏膜(近端、中段及遠端)的內腔表面上。此使用具有連接噴嘴之結腸鏡達成。以此方式，可在特定局部劑量下獲得關於IL-1Ra誘導之起始及持續時間的精細資訊。IL-1Ra之循環量在結腸噴霧之後2-3小時以表明此反應在最低測試劑量下接近飽和的方式增加(**圖147**)。結腸組織活檢體中之pSTAT3誘導的分析展示針對此事件之起始及恢復至基線的預期時程，該事件與SEQ ID NO: 5之遞送構築體在內腔施加之後約15分鐘到達固有層相關(**圖148**)。偵測之pSTAT3/總STAT3變化性與此活體內模型中之組織捕捉及穩定性挑戰一致。量測組織遞送構築體含量具有類似組織捕捉及穩定性挑戰，展示所收集組織樣品之低量及可變量(**圖143**)。重要的是，儘管

可在結腸組織中偵測到SEQ ID NO: 5之遞送構築體，但遞送構築體之血清含量低於分析偵測極限(**圖145**)，與此材料在腸固有層中之保留一致。由於IL-10可誘導細胞產生更多IL-10，吾人亦尋找誘導之IL-10。在結腸內噴灑SEQ ID NO: 5之遞送構築體之後的15分鐘內，觀測到組織IL-10含量之劑量依賴性及瞬時增加(**圖144**)。IL-10之血清含量亦以劑量依賴性方式增加至藉由結腸噴霧給藥之遞送構築體的量(**圖146**)；此等增加之血清含量儘管仍在皮莫耳範圍內，但比結腸組織中觀測之血清含量更耐久。重要的是應注意，由於人類及NHP IL-10之類似性，所示之ELISA值亦可包括在某種程度上與遞送構築體分子之載體域分離的hIL-10。儘管此無法排除，但無其他資料支持此作為結果，且似乎可能的是大部分(若非全部)量測之組織及血清IL-10表示NHP源。

【0733】 實例38：針對處理期間之二聚體穩定性的鹽篩選

【0734】 進行各種鹽及鹽濃度篩選以評估IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)在各種液體介質中之穩定性。以表53中所指示之鹽及鹽濃度，在20 g/Lin 10 mM磷酸鈉，pH 7.0下用遞送構築體製備配方。藉由尺寸排阻HPLC如先前所指示地評估以二聚體形式、單體形式及高分子量聚集體(HMW Agg)存在之IL-10遞送構築體的百分比。表53展示緊接在調配之後及在25℃下培育2天之後的結果。表54展示在所評估配方之初始時間點處之其他鹽濃度的結果，150 mM 1× PBS及200 mM NaCl展示最高穩定性。對於Na_2SO_4及NH_4SO_4考慮較高濃度(資料未示出)。然而，在緩衝液交換期間，可見IL-10遞送構築體沈澱。

表53-不同鹽配方中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體百分比

配方	t0			25C，2天		
	HMW Agg	二聚體	單體	HMW Agg	二聚體	單體
起始物質	3.5	88.8	7.7	5.1	86.76	8.2
NaCl 150mM	3.7	91.3	5.0	6.3	83.9	9.8
NaCl 200mM	2.8	91.7	5.4	5.7	84.3	9.97
NaCl 250mM	3.6	91.4	4.97	5.5	84.3	10.1
KCl 50mM	3.5	91.6	4.9	7.0	84.1	8.9
KCl 100mM	3.9	91.5	4.6	7.8	81.5	10.6
KCl 150mM	3.1	91.6	5.3	6.3	83.9	9.8
$MgCl_2$ 25mM	9.6	85.6	4.8	40.8	52.8	6.4
$MgCl_2$ 50mM	8.5	87.2	4.3	31.9	60.5	7.5
$MgCl_2$ 75mM	7.2	86.2	6.6	23.0	67.9	9.0
Na_2SO_4 250mM	3.3	90.9	5.7	5.0	82.5	12.5
Na_2SO_4 500mM	4.2	90.9	4.9	6.7	83.4	9.9
NH_4SO_4 250mM	3.2	89.6	7.1	6.1	79.6	14.3
NH_4SO_4 500mM	3.5	89.7	6.8	8.5	74.1	17.4

表54-不同鹽配方中之IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)二聚體百分比

緩衝液	鹽	濃度	HMW Agg	二聚體	單體
起始物質			3.1	92.3	4.6
10mM磷酸鈉	NaCl	150mM	3.3	91.8	4.9
		500mM	2.7	92.0	5.2
		1M	2.8	91.6	5.6
	Na_2SO_4	25mM	3.1	91.7	5.2
		50mM	2.9	91.9	5.1
		75mM	3.4	91.4	5.2
	NH_4SO_4	25mM	4.1	90.5	5.4
		50mM	2.9	91.9	5.2
		75mM	3.2	91.5	5.3
		100mM	3.2	91.0	5.8

【0735】 實例39：針對IL-10遞送構築體用S-650F陽離子交換管柱

比較不同純化條件

【0736】使用與**圖2B**中所述類似的方法自包涵體純化IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。在4℃下在含有1 mM還原麸胱甘肽、0.5 mM氧化麸胱甘肽、1 M精胺酸-HCl、250 mM蔗糖、100 mM Tris pH 8.5 (在4℃下)及2 mM EDTA之再摺疊溶液中進行再摺疊。使用表55-57中所述之三種流程鏈中之每一者純化IL-10遞送構築體(SEQ ID NO: 5)。表56中之用於CHT結合/溶離步驟之緩衝液A亦可包含25 mM Tris，pH7.5、300 mM NaCl、5.0 mM NaPi、0.5 mM CaCl2。使用之管柱描述於表58中。

【0737】表55：流程鏈1

管柱	緩衝液A	緩衝液B	樣品製備	管柱平衡	管柱洗滌	溶離
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5，1M NaCl	2×UFDF (25 mM Tris pH7.5，150 mM NaCl)	15% B	15% B	15-40% B，16 CV
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0，1M NaCl	用 40 mM NaPi pH7.0 進行1/1稀釋	20% B	20% B	20-45% B，10 CV
CHT (FT- 模式)	80 mM NaPi pH7.0	200 mM NaPi pH7.0	添加 1 M NaPi pH7.0 直至最終60 mM (X L × 0.0417)	0% B	100% B	FT-模式

【0738】 表56：流程鏈2

管柱	緩衝液A	緩衝液B	樣品製備	管柱平衡	管柱洗滌	溶離
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5，1M NaCl	2xUFDF (25 mM Tris pH7.5，150 mM NaCl)	15% B	15% B	15-40% B，16 CV 梯度溶離
CHT (結合/溶離)	25 mM Tris pH7.5，150 mM NaCl	200 mM NaPi pH7.0	無	0% B	0% B	30%B 2CV 梯度溶離
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0，1M NaCl	用水1:1稀釋	20% B	20% B	20-45% B，10 CV 梯度溶離

【0739】 表57：流程鏈3

管柱	緩衝液A	緩衝液B	樣品製備	管柱平衡	管柱洗滌	溶離
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0，1M NaCl	2xUFDF (NaPi pH7.0，200 mM)	20% B	20% B	階段梯度 (45% B)，2-3 CV
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5，1M NaCl	用 75 mM Tris pH7.5進行1/2稀釋	15% B	15% B	15-40% B，16 CV
CHT (FT-模式)	40 mM NaPi pH7.0	200 mM NaPi pH7.0	添加 1 M NaPi pH7.0 直至最終60 mM (X L × 0.064)	0% B	100% B	FT-模式

【0740】 表58：管柱

管柱	DBC	起始量(5 L再摺疊)	管柱體積
Capto Q ImpRes	16 g/L	5 g (20 cm h)	320 mL
S-650F	20 g/L	200 mg (20 cm h)	41 mL
CHT	20 g/L	200 mg (20 cm h)	106 mL

【0741】 在各步驟之後，且在各流程鏈之後評估IL-10遞送構築體

之產率、回收率及純度。表59展示流程鏈2與對照流程之間的比較。

【0742】 表59：流程鏈2 (PT2)與對照之間的比較

名稱	流程	產率	純度	回收率
PT2	Capto Q ImpRes CHT步驟B/E 80 mM NaPi S-650F	26 mg	78.5%	1%
對照	Capto Q ImpRes CHT梯度B/E	68 mg	78.2	1.5%

【0743】 表60：不同流程鏈之比較

流程鏈	層析	純度	回收率	內毒素
對照*	Capto Q CHT (線性溶離)	*85%	-	*8 EU/mg
PT1	Capto Q S-650F CHT (FT模式)	92%	24%	8.9 EU/mg
PT2	Capto Q CHT (分佈溶離) S-650F	91%	24%	5 EU/mg
PT3	S-650F Capto Q CHT (FT模式)	96%	20%	0.4 EU/mg

* 基於歷史資料

【0744】 表60展示三種不同流程鏈，及無S-650F管柱之對照流程鏈的比較。具有S-650F陽離子交換管柱純化之所有三種流程鏈均使得IL-10遞送構築體之純度較高。流程鏈2及3產生比對照流程更低的內毒素含量。出人意料的是陽離子交換樹脂適用於IL-10遞送構築體之純化，因為陽離子交換樹脂帶負電，且因此結合至具有正電荷之蛋白質。此處，IL-10遞送構築體具有5.49之計算等電點(pI)，且因此預期在陽離子交換層析中傳統使用之條件下具有負電荷。然而，出人意料地，IL-10遞送構築體結合至陽離子交換樹脂。

【0745】 IL-10遞送構築體結合至硫酸鹽-650F樹脂之可能的解釋為

儘管IL-10遞送構築體之計算pI為5.49，但各域(cholix及IL-10)維持其自身獨特特性且具有與總構築體之pI顯著不同的局部pI。舉例而言，IL-10之計算pI為8.1且在工作條件(例如pH 7)下，IL-10遞送構築體將具有結合至陽離子交換樹脂之帶正電IL-10域。

實例40：在對於抗TNF療法展現不充分(部分)反應的患有活動性類風濕性關節炎之成人中的隨機雙盲安慰劑控制探索性藥物試驗。

【0746】 IL-10被視為先天及後天免疫系統之主調節因子，因為其不僅抑制炎性體，且亦抑制發現與開始於巨噬細胞活化及分泌IL-1、IL-6、TNFα、MMP-1/2之RA相關的許多發炎事件，同時減少發炎之全身性病徵及T調節細胞之發育。

【0747】 經口遞送IL-10遞送構築體將IL-10局部遞送至GI黏膜免疫系統，同時避免藥物之高全身含量。將IL-10局部遞送至GI黏膜亦可能夠實現全身免疫調節。在免疫細胞穿過GI黏膜時調節免疫細胞活性可引起有效全身免疫調節，因為彼等細胞接著在整個身體中運動。因此，將IL-10靶向遞送至GI黏膜免疫系統可能夠引起有效免疫調節以在增強之安全性下治療例如類風濕性關節炎個體。

【0748】 此研究評估持續12週經由IL-10遞送構築體向個體每日經口遞送IL-10之安全性及耐受性，該個體患有活動性類風濕性關節炎，對TNF抑制劑僅展現部分反應。該研究亦藉由疾病活動性評分28 (DAS-28)(CRF)、簡化疾病活動性指數(SDAI)及臨床疾病活動性指數(CDAI)之變化來評估持續12週每日用IL-10遞送構築體經口治療的生物活性。另外，該研究檢查IL-10遞送構築體之藥物動力學及藥效學效應，且檢查IL-10遞送構築體之免疫原性。該研究亦在持續12週經由IL-10遞送構築體每

日經口遞送IL-10之後藉由健康評估調查表-殘疾指數(HAQ-DI)來評估生活品質(QOL)。

【0749】 此為大約18個個體之隨機雙盲安慰劑對照研究，該等個體患有活動性類風濕性關節炎，對抗TNF療法具有不充分(部分)反應。個體以2:1比率隨機分至持續12週接受IL-10遞送構築體或安慰劑。研究群體包含患有活動性類風濕性關節炎、對TNF療法具有不充分(部分)反應之成年個體。

【0750】 若個體符合以下納入標準，則將其包括於研究中。個體在簽署知情同意書時為≥18歲且<75歲。根據1987美國風濕病學會(ACR)或2010 ACR/歐洲風濕病防治聯合會(EULAR)標準，個體診斷患有類風濕性關節炎(RA)。個體已接受批准劑量之抗TNF生物治療，且投與≥12週但僅具有部分反應。生物製劑治療史應限於阿達木單抗、英利昔單抗、戈利木單抗、依那西普(包括生物仿製藥)之中的1或2種抗TNF劑。在篩選期，個體具有至少一個展示活動性疾病之關節(根據MRI/FOI)及兩個或更多個觸痛關節(在28個關節中)及2個或更多個腫脹關節 個體能夠繼續抗TNF之穩定劑量方案直至完成或直至研究中止。在篩選期，個體具有≥0.6毫克/分升(dL)之C反應蛋白(CRP)含量或≥28毫米/小時(mm/hr.)之紅血球沈降速率(ESR)。個體之體重為≥30公斤(kg)且≤100 kg。要求個體自願簽署參與此研究之書面同意書。所有個體充分瞭解參與研究之條件，能夠理解，且必須願意及能夠遵守方案之所有態樣。

【0751】 若個體具有任何可表明提高的風險或可能的混淆因素之病史，則將其自研究排除。若個體患有除類風濕性關節炎或休格連氏症候群以外的發炎性關節炎病症，或若個體診斷患有IV級類風濕性關節炎(根據

ACR 1991全局功能狀態分類修訂標準(Revised Criteria for the Classification of Global Functional Status))，則將其自研究排除。若個體最近接受免疫球蛋白製劑、血液產品或活疫苗，則亦將其排除。若個體具有嚴重過敏史(休克或類過敏症狀)，則將其自此研究排除。若個體具有癌症或免疫缺陷史，或癌症或免疫缺陷之當前病況，則亦將其排除。亦可排除具有傳染病史或當前患有傳染病之個體。個體必須未懷孕或處於哺乳期，且必須同意在試驗持續時間內及之後的一段時間使用高效避孕方法。若個體具有在研究人員或助理研究人員看來將損害參與者安全地完成研究之能力的醫學病況或伴隨醫學病況之任何病史，則將其自此研究排除。

結果量度

【0752】臨床監測個體，包括藉由身體檢查、血液學、化學、EKG及尿檢。臨床功效係藉由若干不同量度來評估。疾病活動性評分28(DAS-28)為數學計算之連續、複合指標，其向以下分量中之每一者給與差異性權重：觸痛關節計數(28個關節)、腫脹關節計數(28個關節)、急性期反應物及關節炎之患者全局評估。簡化疾病活動性指數(SDAI)量測腫脹及觸痛關節(肩、肘、手腕、手之掌骨指骨關節及近端指骨關節)之數目，疾病活動性及CRP之患者及醫師全局評估。CDAI與SDAI相同但略去CRP值。HAQ-DI評估在過去一週內患者在八個日常生活活動領域中經歷的困難程度：穿衣及梳洗、起床、進食、行走、衛生、伸展、抓握及其他活動。DAS28 (病例報告表)、SDAI及CDAI全部在基線、第2、4、8及12週時評估；評估身體機能變化的健康評估調查表-殘疾指數(HAQ-DI)將在基線及第4、8、12及16 (最後一個劑量之後4週)時評估。

【0753】IL-10遞送構築體及IL-10之血清含量係在基線及第1天於

給藥後4、8及24小時以及第2、4、8、12及16週評估。

【0754】評估之藥效學標記包括單核球HLA-DR表現；血清IL-1Ra、CRP、血清澱粉狀蛋白A、VCAM-1、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2、ESR、EGF及VEGF-α：在基線及第1天-於24小時處及第2、4、8、12及16週獲得。在第12及16週評估抗IL-10遞送構築體含量之總計/效價。

【0755】將監測個體安全性且若個體經歷不良事件或嚴重不良事件，或臨床顯著的實驗室變化，則將其自研究移除。

【0756】關於隨時間推移之變化，及在完成療法時及完成後4週治療在以下各者中考慮功效：

1. DAS-28 (病例報告表)、SDAI及CDAI；

2. DAS-28小於2.6之個體的比例；

3. 相比於基線之HAQ-DI；及

4. 急性期反應物(CRF、ESR)之變化。

【0757】繪製及考慮IL-10遞送構築體及血清IL-10含量相比於基線之變化：第1-8天及24小時及第2、4、8及12週。關於單核球HLA-DR表現、血清IL-1Ra、血清澱粉狀蛋白A、VCAM-1、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2、EGF及VEGF-α將生物標記之變化相比於基線：基線及第1天-於8及24小時處及第2、4、8及12週。將第12及16週時之抗藥物抗體發生率相比於基線。陽性結果可為相比於單獨的TNFα抑制劑，上述參數中之任一者藉由組合療法之增量收益。

實例41：探索性醫學試驗-潰瘍性結腸炎TNF部分反應者

【0758】此研究旨在評估IL-10遞送構築體在患有中度至重度活動

性潰瘍性結腸炎之患者中的功效及安全性，該等患者為抗腫瘤壞死因子α抗體治療之部分反應者。

【0759】 此研究評估持續12週每日經由經口IL-10遞送構築體向患有中度至重度潰瘍性結腸炎之個體遞送IL-10的安全性及耐受性，該等個體對於TNF單株抗體抑制劑僅展現部分反應。該研究亦藉由改良梅歐評分、MMS分量表及組織病理學之變化來評估持續12週每日經由經口IL-10遞送構築體遞送IL-10之臨床活性。此研究檢查IL-10遞送構築體之藥物動力學及藥效學效應，以及其免疫原性。

【0760】 此為在大約12個患有中度至重度潰瘍性結腸炎之個體中的開放標籤研究，該等個體對抗TNF療法具有不充分(部分)反應。個體接受對應於SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的IL-10遞送構築體持續12週，同時繼續其抗TNF療法之穩定劑量，且持續額外4週追蹤安全性。

【0761】 研究群體係獲取自患有活動性中度至重度潰瘍性結腸炎(改良梅歐評分為4-9，不包括GPA，且集中讀取梅歐內視鏡分項評分為2或3)之成年個體，該等個體對抗TNF單株抗體療法具有不充分(部分)反應。

【0762】 藉由以下合格性標準來評估潛在個體。對於納入，所有患者必須提供書面知情同意書；且為18-75歲。

【0763】 根據美國胃腸病學會指南，個體診斷患有UC。個體在篩選時患有中度至重度活動性UC，其定義為：4-9分的改良梅歐臨床評分(MMS)及2級或更高的集中讀取MCS內視鏡分項評分，及1分或更高的MMS直腸出血分項評分，及自肛外緣延伸15 cm或更大的疾病。允許之伴隨藥物治療的穩定劑量包括：在D1給藥之前≥2週之穩定經口皮質類固醇(亦即，≤20毫克/天之潑尼松，≤9毫克/天之布地奈德)；在研究經允許期

間根據研究人員之判斷逐漸減少的經口皮質類固醇；在D1給藥之前≥2週之穩定經口5-胺基水楊酸劑量；在D1給藥之前≥2週之穩定益生菌劑量；及在D1給藥之前≥2週之穩定止瀉藥。患者必須接受針對UC之抗腫瘤壞死因子α療法且在D1給藥之前展現不充分(部分)反應，或必須在篩選之前未用抗TNF療法治療；允許之抗TNF包括英利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(humira)及戈利木單抗(Simponi)，但排除依那西普。

【0764】 先前用環孢靈或他克莫司治療之患者必須在D1給藥之前中止療法≥4週。局部皮質類固醇及局部5-胺基水楊酸製劑必須在D1給藥之前已停藥≥2週。非類固醇消炎藥(NSAID)必須在D1給藥之前已停藥≥4週。托法替尼或其他Janus激酶(JAK)抑制劑必須在D1給藥之前已停藥≥2週。具有生殖潛力之女性必須在登記之前具有陰性妊娠測試結果。具有生殖潛力之男性及女性必須願意自研究開始至研究藥物之最終劑量之後≥3個月使用高效避孕方法。生育控制之高效方法定義為產生低失效率(小於1%每年)之方法。

【0765】 若個體具有以下GI相關排除標準中之任一者，則將其自此研究排除：不確定型結腸炎(IBD-U)或疑似克羅恩氏病、任何結腸切除術史、存在迴腸造口術或結腸造口術、結腸黏膜發育不良或短腸症候群之病史或跡象。

【0766】 若個體具有以下一般健康相關排除標準中之任一者，則將其自此研究排除：懷孕或哺乳期、在研究人員看來不能遵守研究方案、近5年之發育不良或惡性腫瘤史(除了完全切除之皮膚基底細胞癌或鱗狀細胞癌或子宮頸原位癌)、根據研究人員判斷之肝硬化或活躍酒精濫用、控制不佳的糖尿病(HbA1c>8.0%)、顯著篩選ECG異常或腎功能受損。自此研

究排除在醫學檢查中具有在研究人員看來將損害患者安全性或資料品質的當前或先前臨床顯著疾病、醫學病況或發現之跡象的個體。

【0767】 臨床監測個體，包括藉由身體檢查、血液學、化學、EKG及尿檢。臨床功效係藉由若干不同量度來評估。評估在第12週具有臨床緩解之患者的比例。臨床緩解定義為0/1之內視鏡分項評分、0之直腸出血分項評分及0或1之大便頻率分項評分與自基線降低至少1點。臨床緩解亦可定義為：大便頻率=0，大便出血=0；0或1之內視鏡檢評分，大便頻率分項評分亦可為大便頻率分項評分自基線(試驗開始)降低至少1點以達成大便頻率分項評分=0或1。

【0768】 評估具有內視鏡反應之患者的比例。內視鏡反應定義為0或1之改良梅歐臨床評分內視鏡分量表評分。將使用Geboes或Robarts組織病理學指數系統評估組織學活動級別自基線之變化。組織學治癒定義為組織學級別=0。

【0769】 IL-10遞送構築體及IL-10之血清含量係在基線及第1天、第2、4、8及12週評估。

【0770】 評估之藥效學指標包括單核球HLA-DR表現；血清IL-1Ra、CRP、ESR、糞便鈣衛蛋白變化、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2及IFNg，其在基線及第1天及第2、4、8、12及16週獲得。

【0771】 在基線及第8、12及16週評估抗IL-10遞送構築體含量之總計/效價。藉由光學顯微術、免疫組織化學、流式細胞測量術及基因陣列來檢查基線及治療期末期之結腸活檢體。

【0772】 監測個體安全性，且若個體經歷不良事件或嚴重不良事件，或臨床顯著的實驗室變化，則將其自研究移除。

【0773】 關於隨時間推移之變化，及在4、8及12週及完成後4週時在以下各者中考慮治療功效：

1. 改良梅歐評分之變化；

2. 大便出血分量表之變化；

3. 大便頻率分量表之變化；

4. 內視鏡檢分量表之變化；

5. 急性期反應物(CRF、ESR)之變化；及

6. 組織病理學評分(Geboes或Robarts)之變化。

【0774】 繪製及考慮IL-10遞送構築體及血清IL-10含量相比於基線之變化：第1天-8及24小時及在第2、4、8及12週。在基線及第1天-於8及24小時處及第2、4、8及12週針對以下各者考慮生物標記相比於基線之變化：單核球HLA-DR表現血清IL-1Ra、IL-1、IL-6、TNFα、MMP1/2、EGF及VEGF-α。將第12及16週時之抗藥物抗體發生率相比於基線。特異性染色將用於藉由免疫化學及/或流式細胞測量術及基因陣列使浸潤發炎細胞及結腸上皮細胞中之HLA-DR表現可視化。陽性結果可為相比於單獨的TNFα抑制劑，上述參數中之任一者藉由組合療法之增量收益。

【0775】 儘管本文已展示及描述本發明之較佳實施例，但熟習此項技術者將明白，此類實施例僅藉助於實例提供。本領域中熟習此項技術者現將在不背離本發明之情況下想到許多變化、改變及取代。應瞭解，本文所述之本發明實施例之各種替代方案均可用於實踐本發明。預期以下申請專利範圍界定本發明之範圍，且因此涵蓋此等申請專利範圍及其等效物之範圍內的方法及結構。

【符號說明】

【0776】

1:通道/箭頭

2:通道/箭頭

3:通道/箭頭

4:通道

5:通道

6:通道

7:通道

8:通道

9:通道

10:通道

11:通道

12:通道

13:通道

14:通道

15:通道

16:通道

17:通道

18:通道

19:通道

20:通道

100: 均二聚體

101: IL-10

102: 間隔子

103: 結合域

104: 易位域

200:例示性方法

201: 步驟

202: 步驟

203: 步驟

204: 步驟

205: 步驟

206:步驟

207:步驟

208:步驟

209:步驟

210:步驟

211:步驟

300:例示性方法

301:步驟

302:步驟

303:步驟

304:步驟

305:步驟

306:步驟

307:步驟

308:步驟

309:步驟

3200:口服配方

3201:內部區

3202:第二包衣

3203:第一包衣

3204:第三包衣

3205:口服配方

ST0:胃培育期

SI0:小腸培育期

SI0, 5:小腸培育期

SI1:小腸培育期

SI1, 5:小腸培育期

SI2:小腸培育期

SI3:小腸培育期

ST45:胃培育期

A:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

B:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

C:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

D:膠囊包衣/配方/再摺疊溶液

E:膠囊包衣

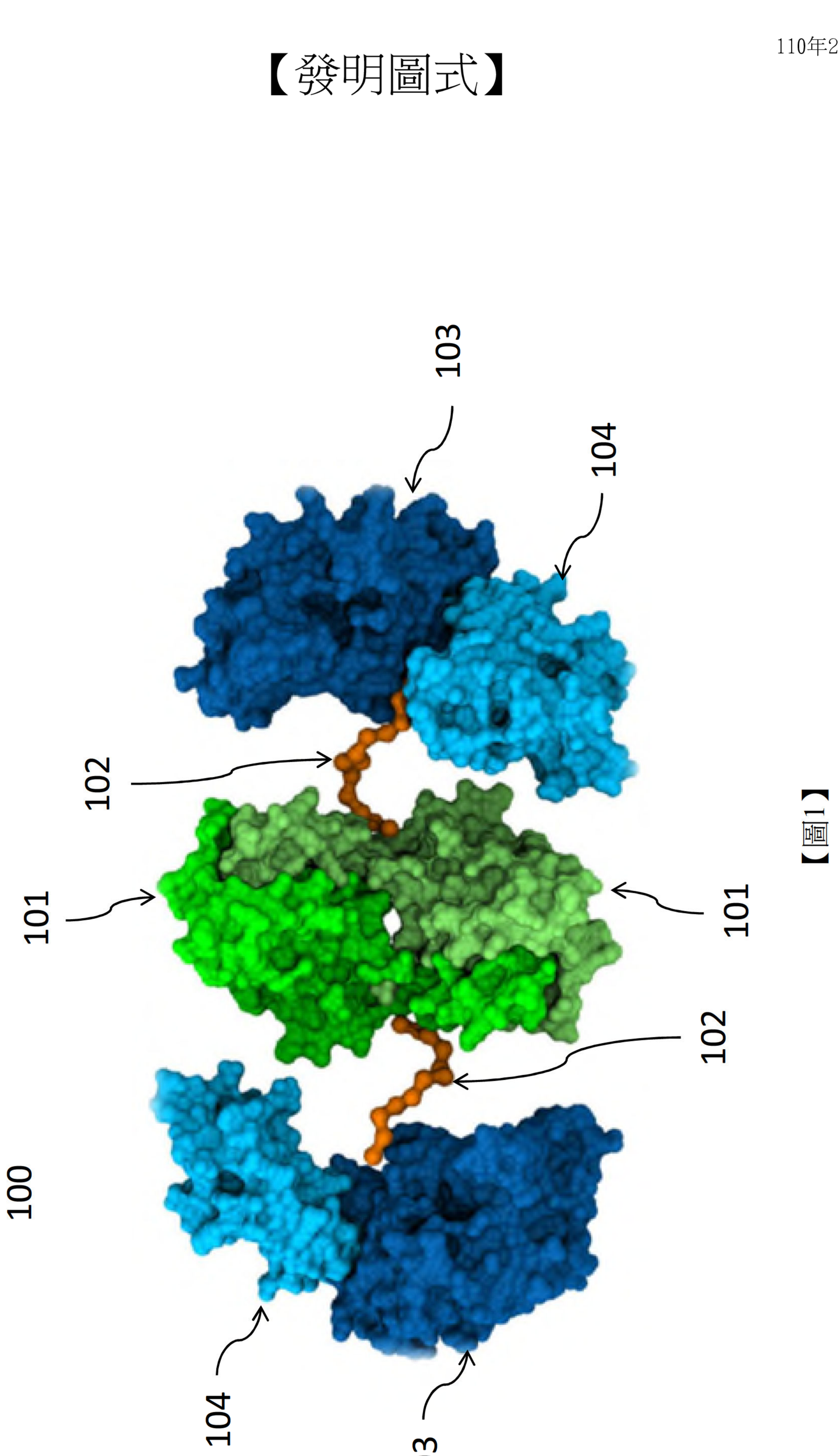
F:膠囊包衣

G:膠囊包衣/杯狀細胞

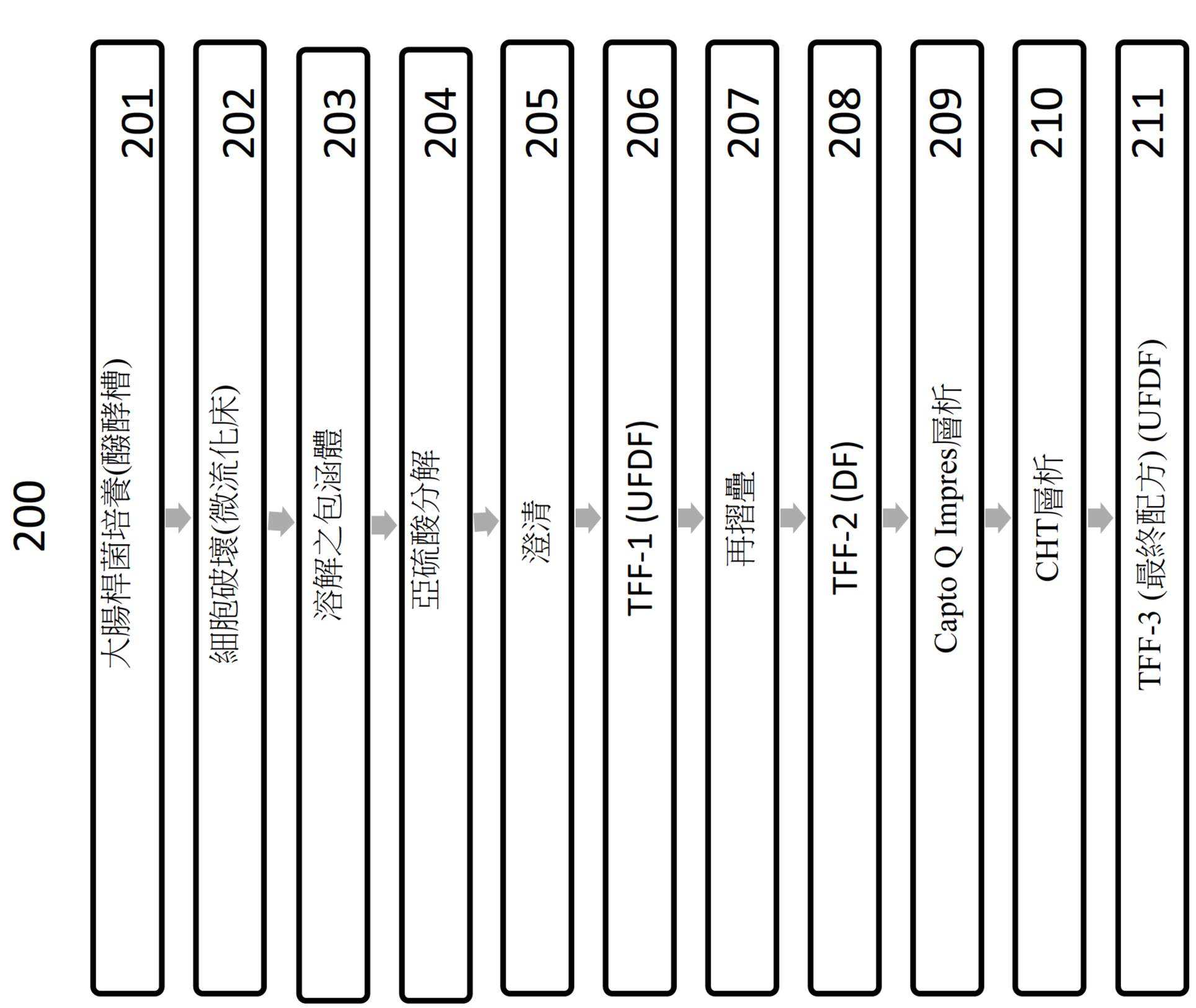
H:膠囊包衣

l-p:固有層

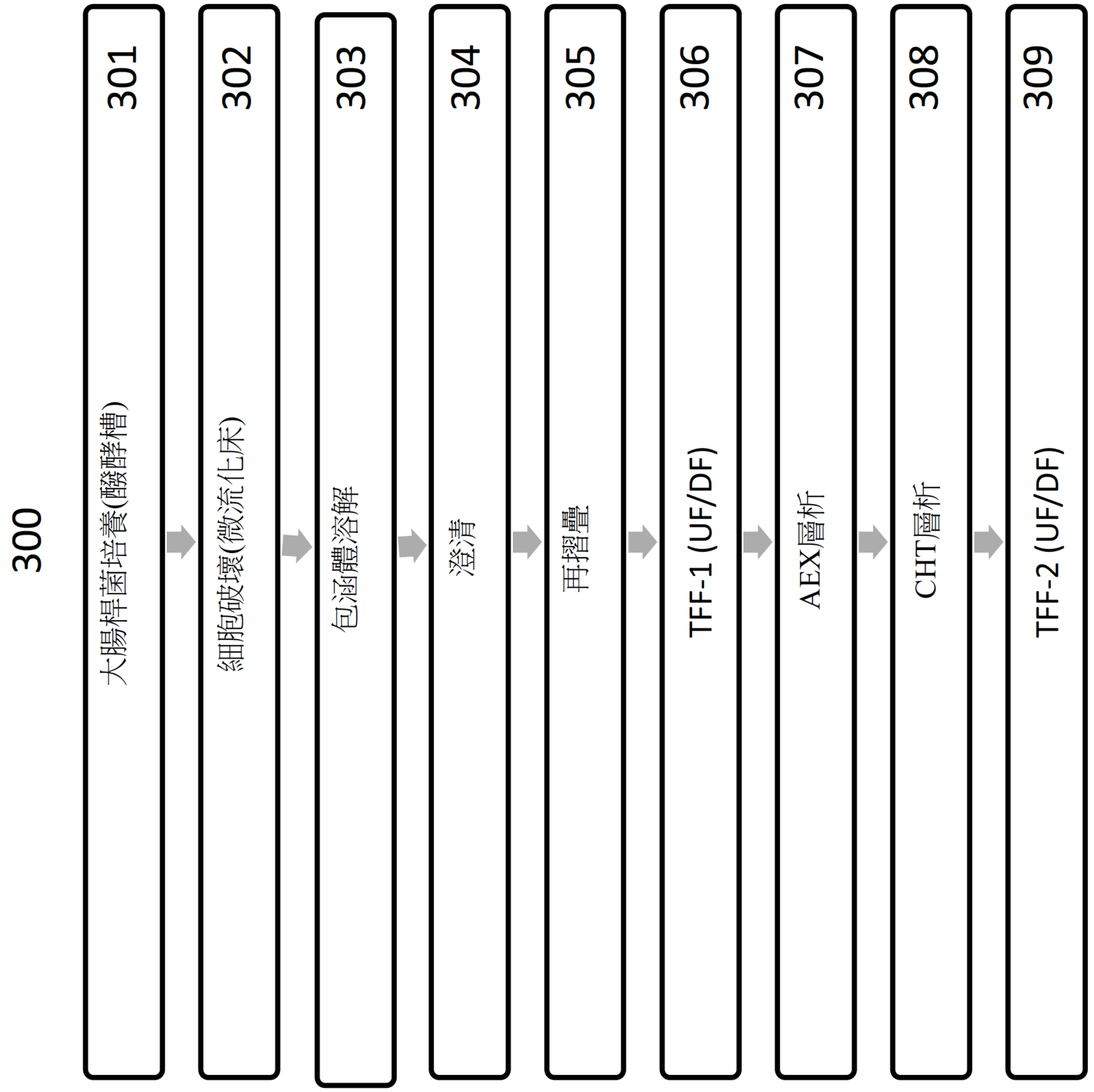
【發明圖式】



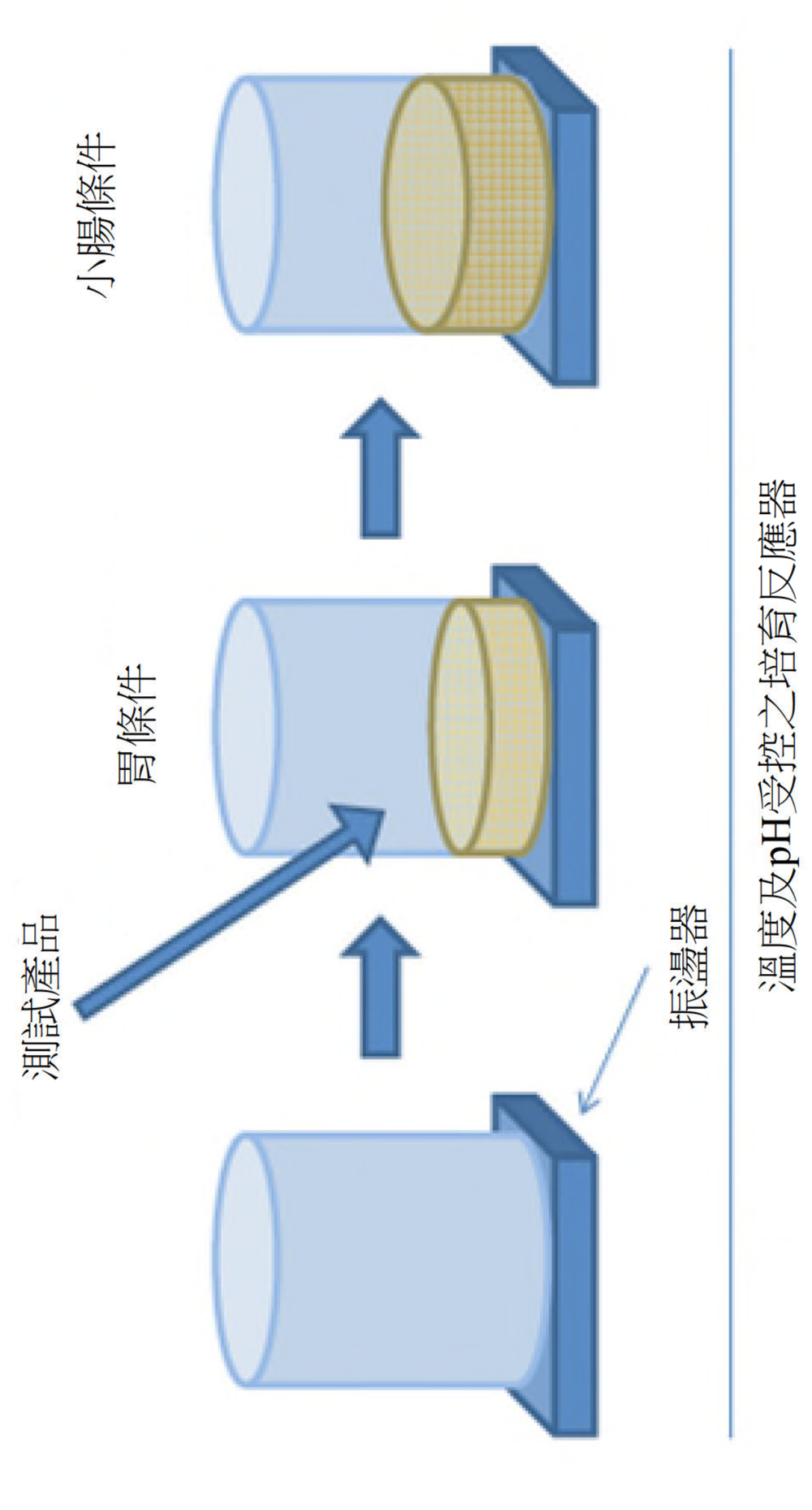
【圖1】


200
大腸桿菌培養(醱酵槽) 201
細胞破壞(微流化床) 202
溶解之包涵體 203
亞硫酸分解 204
澄清 205
TFF-1 (UFDF) 206
再摺疊 207
TFF-2 (DF) 208
Capto Q Impres層析 209
CHT層析 210
TFF-3 (最終配方) (UFDF) 211

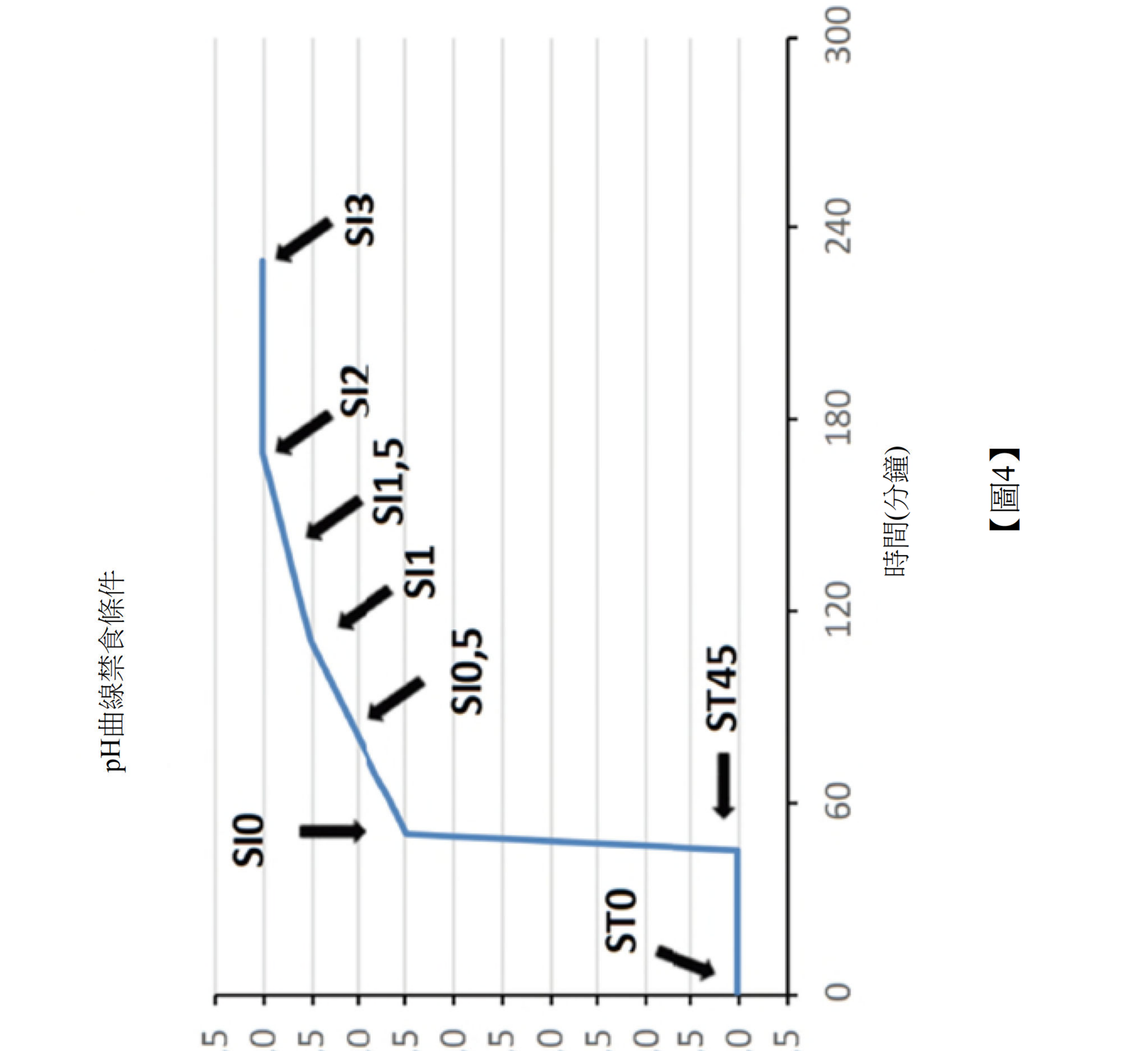
【圖2A】


300
大腸桿菌培養(醱酵槽)
301
細胞破壞(微流化床)
302
包涵體溶解
303
澄清
304
再摺疊
305
TFF-1 (UF/DF)
306
AEX層析
307
CHT層析
308
TFF-2 (UF/DF)
309

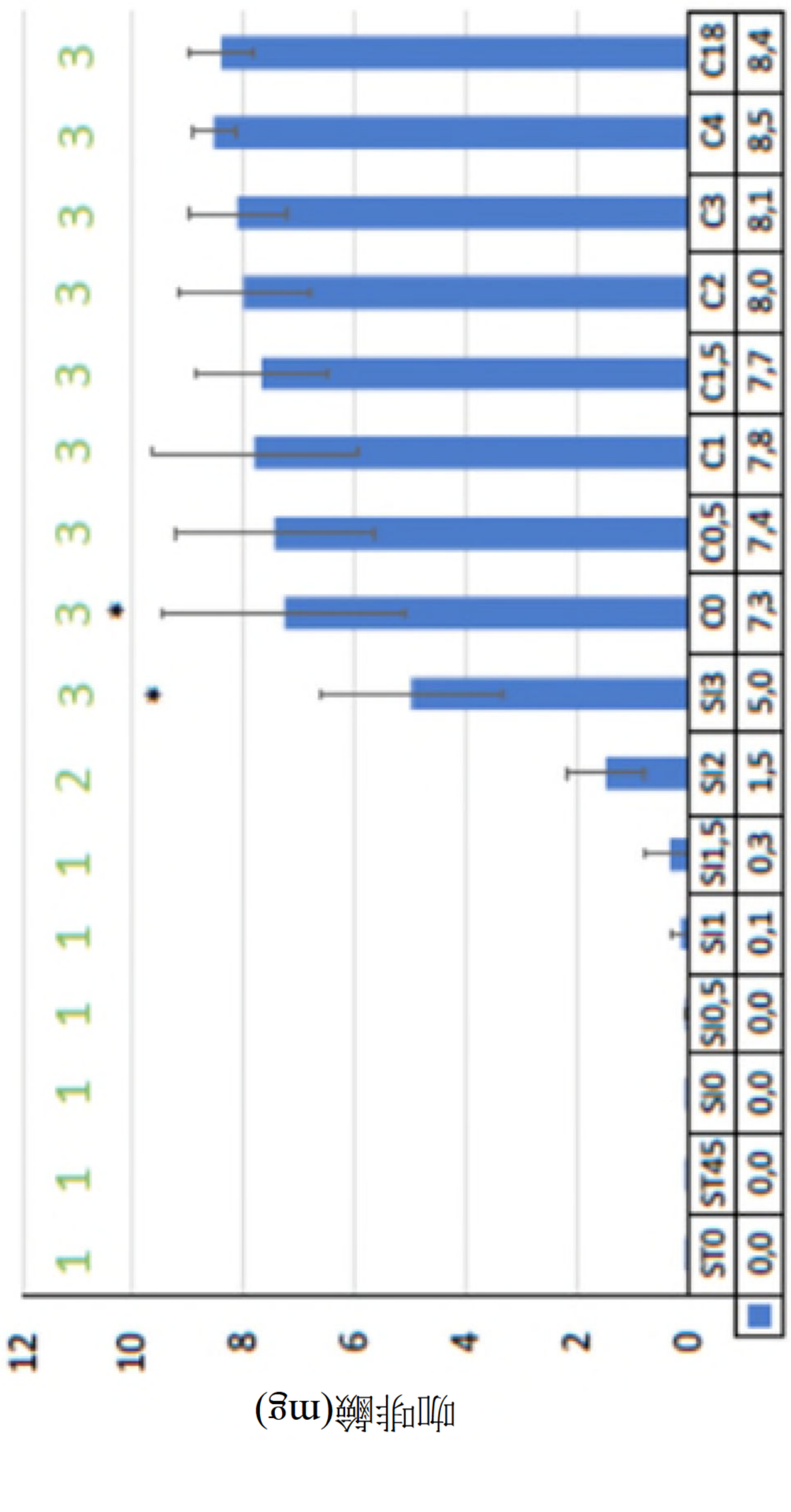
【圖2B】



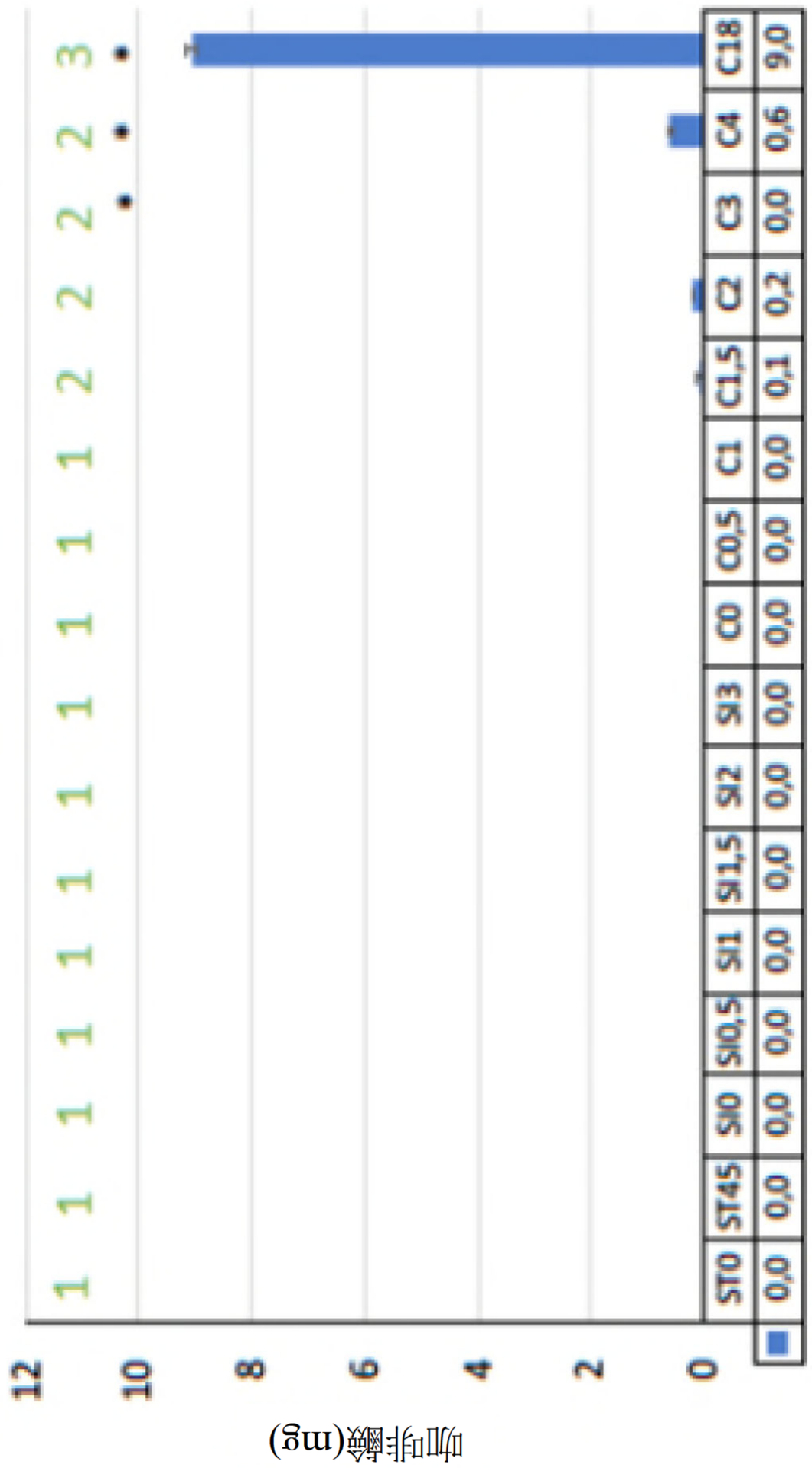
【圖3】

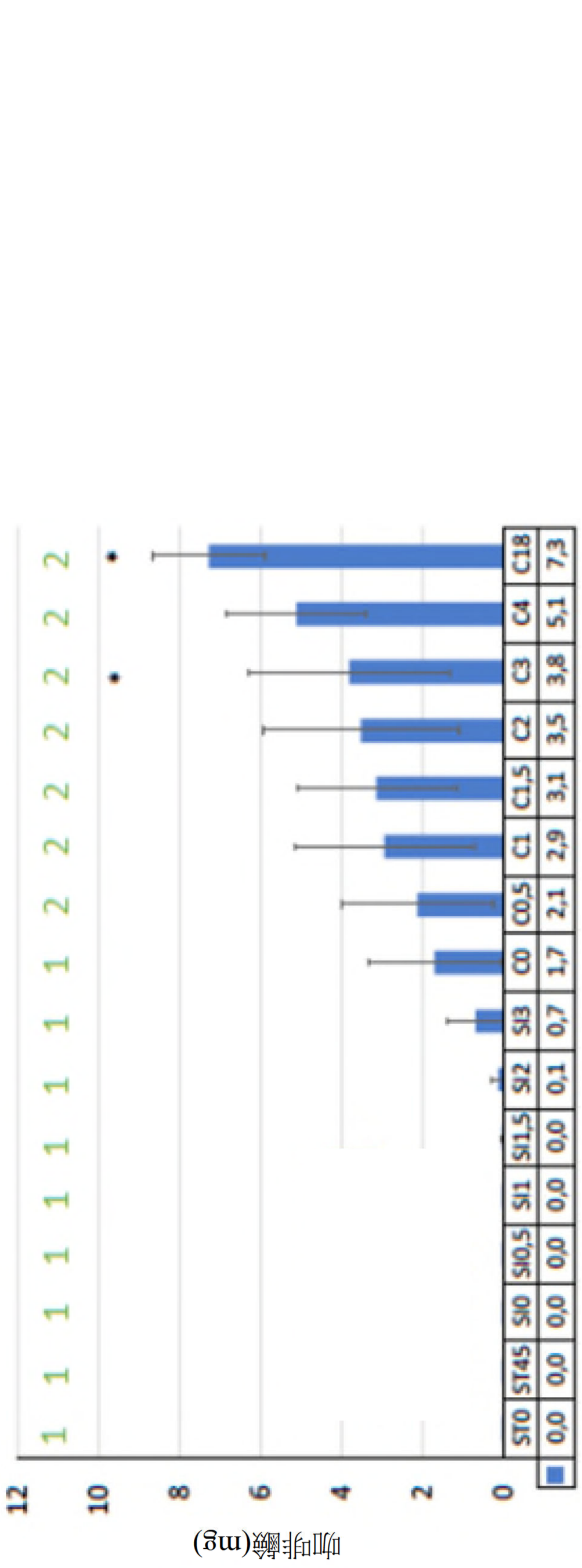

pH曲線禁食條件
SI0
SI1,5
SI2
SI3
SI0,5
SI1
ST0
ST45
7,5
7,0
6,5
6,0
5,5
5,0
4,5
4,0
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
pH
0
60
120
180
240
300
時間(分鐘)

【圖4】

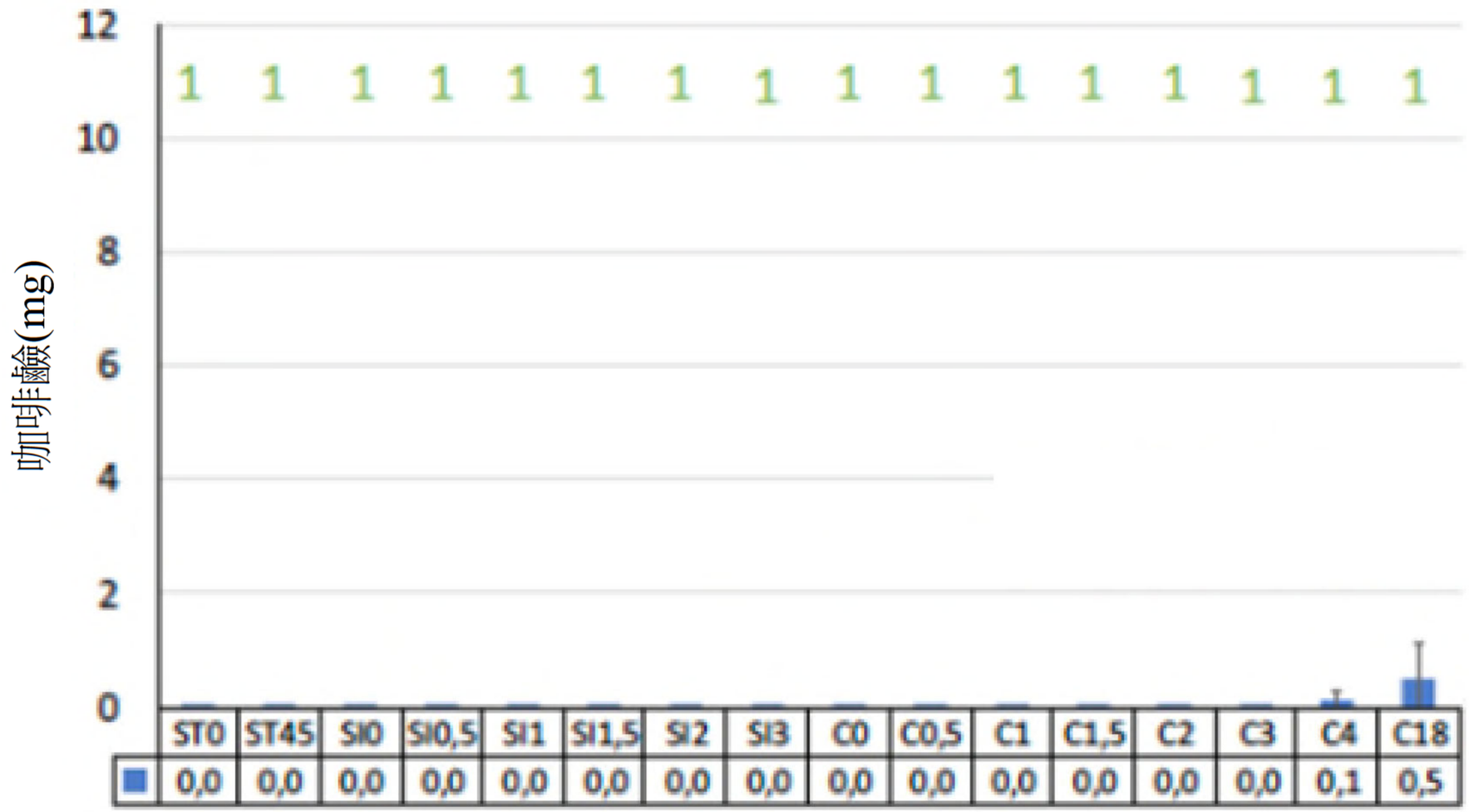

咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0,0 0,0 0,0 0,0 0,1 0,3 1,5 5,0 7,3 7,4 7,8 7,7 8,0 8,1 8,5 8,4

【圖5A】

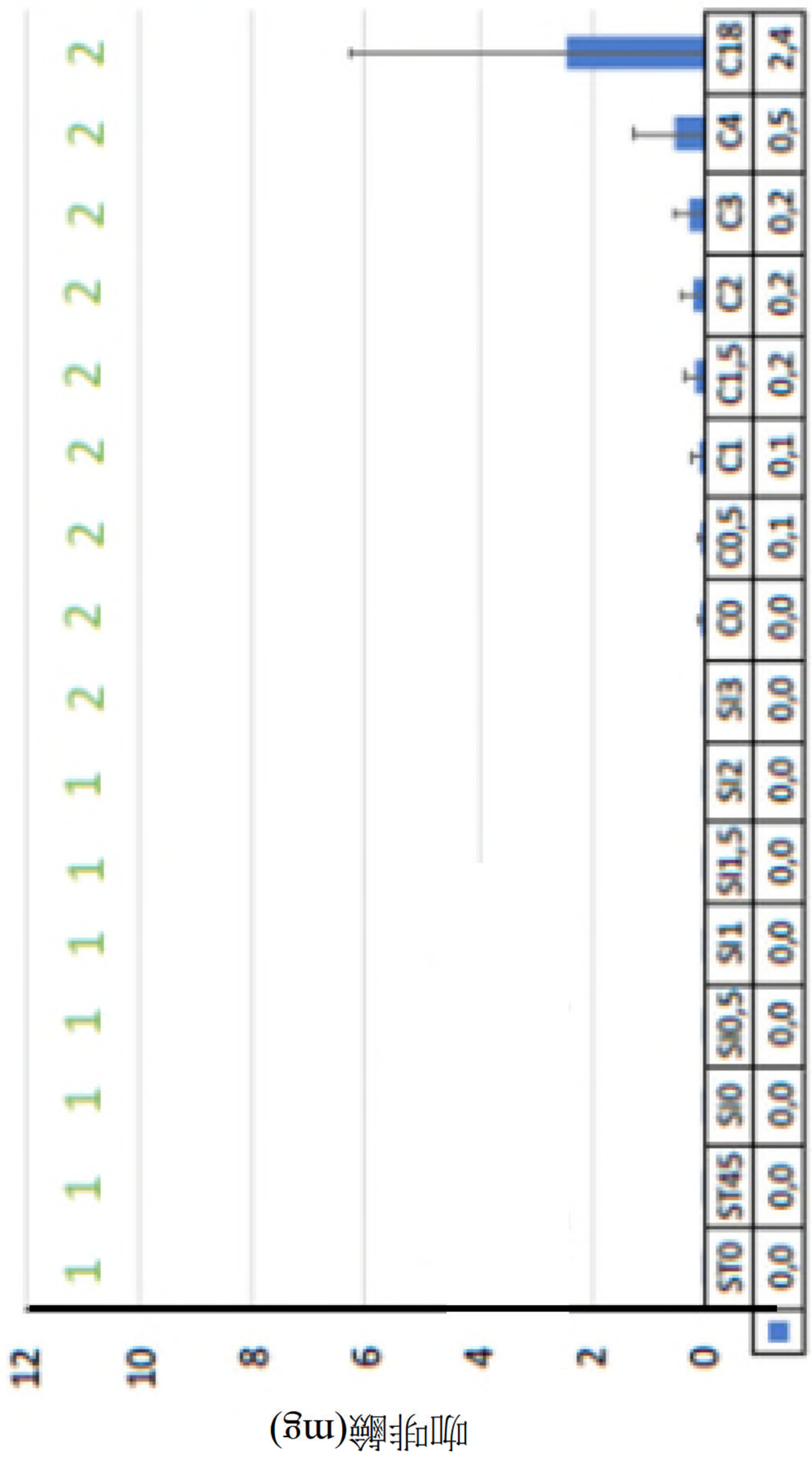

咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
1 1 1


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0'0 0'0 0'0 0'0 0'0 0'0 0'1 0'7 1'7 2'1 2'9 3'1 3'5 3'8 5'1 7'3

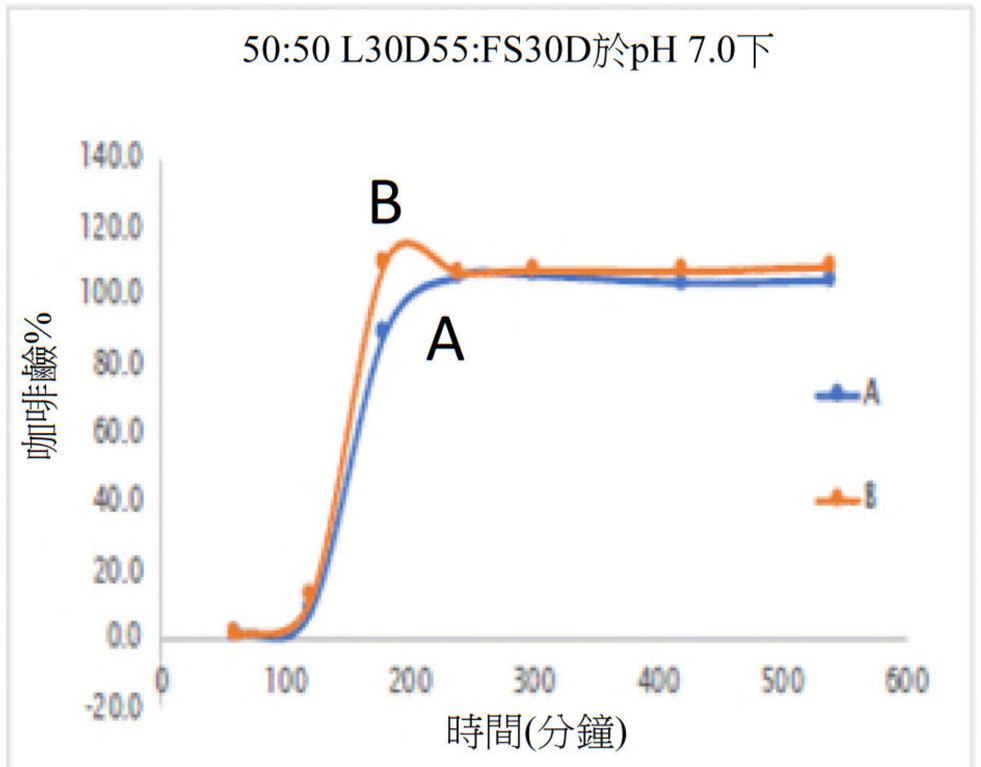
【圖5C】


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
ST0 ST45 SI0 SI0,5 SI1 SI1,5 SI2 SI3 C0 C0,5 C1 C1,5 C2 C3 C4 C18
0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 0,1 0,5

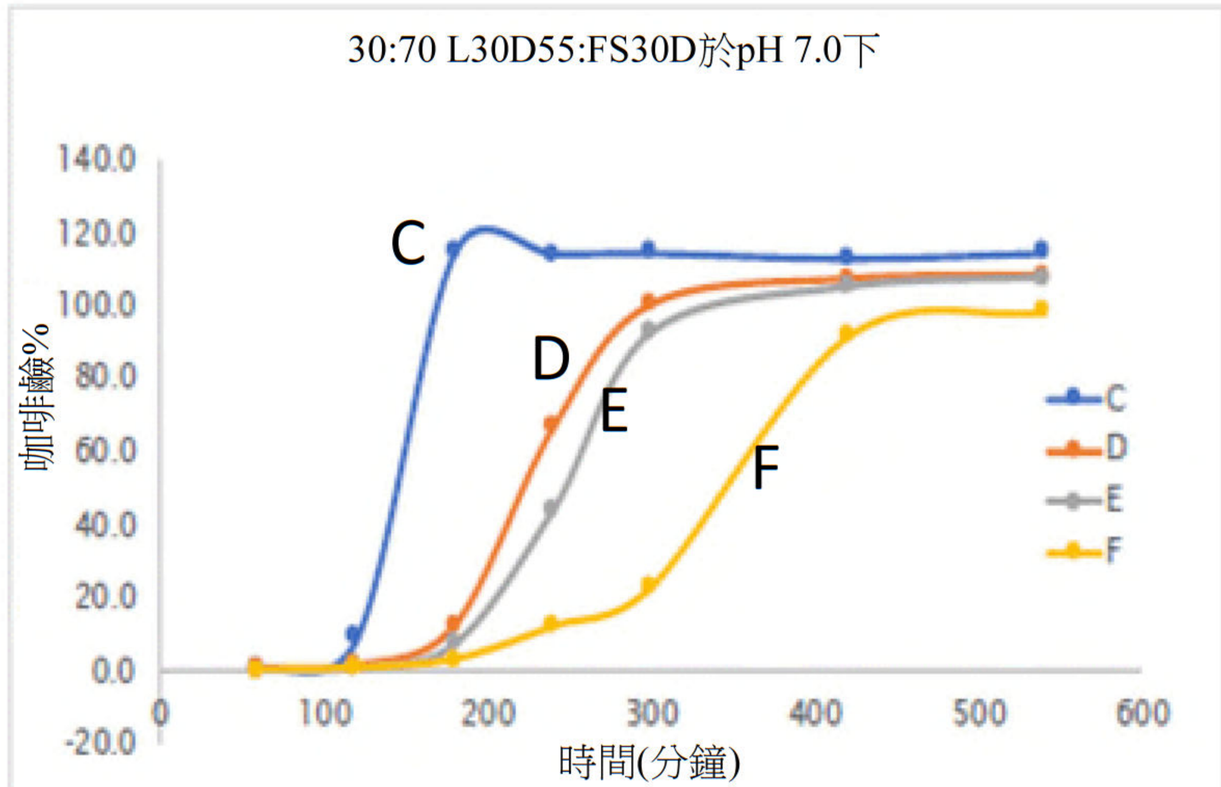
【圖5D】


咖啡鹼(mg)
12
10
8
6
4
2
0
S10 S14 S5 S6 S3 S1 S1 S1 S2 S3 C0 C0.5 C1 C1.5 C2 C3 C4 C18
0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.0 0.1 0.1 0.2 0.2 0.2 0.5 2.4

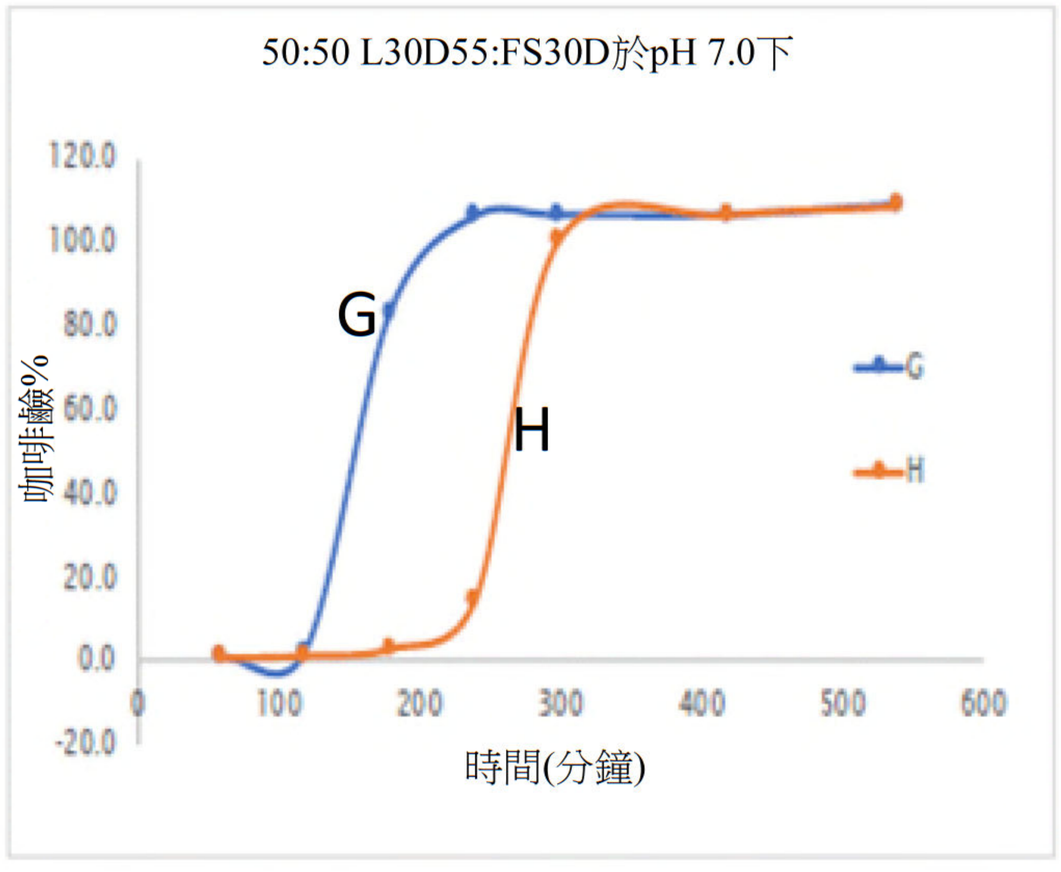
【圖5E】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
A
B
A
B

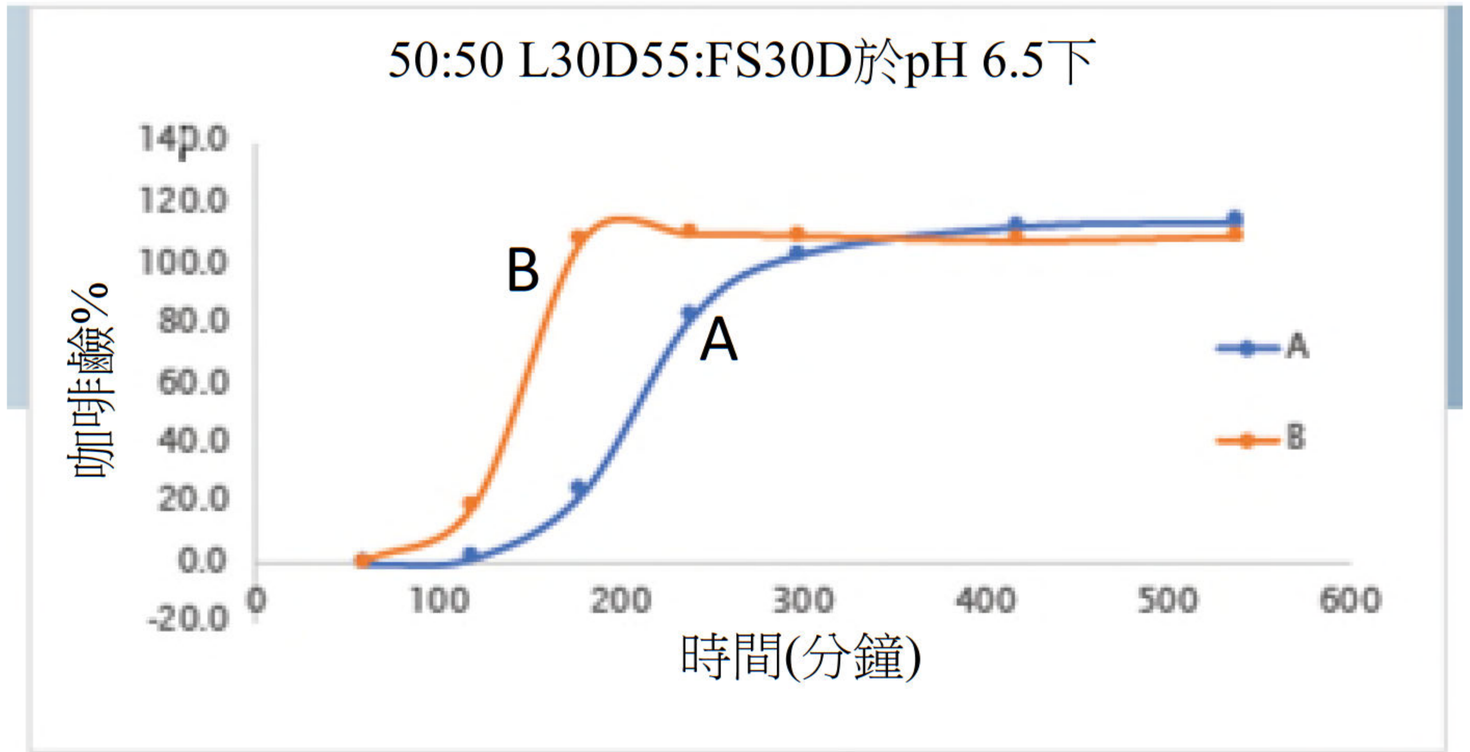
【圖6A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 7.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
C
D
E
F
C
D
E
F

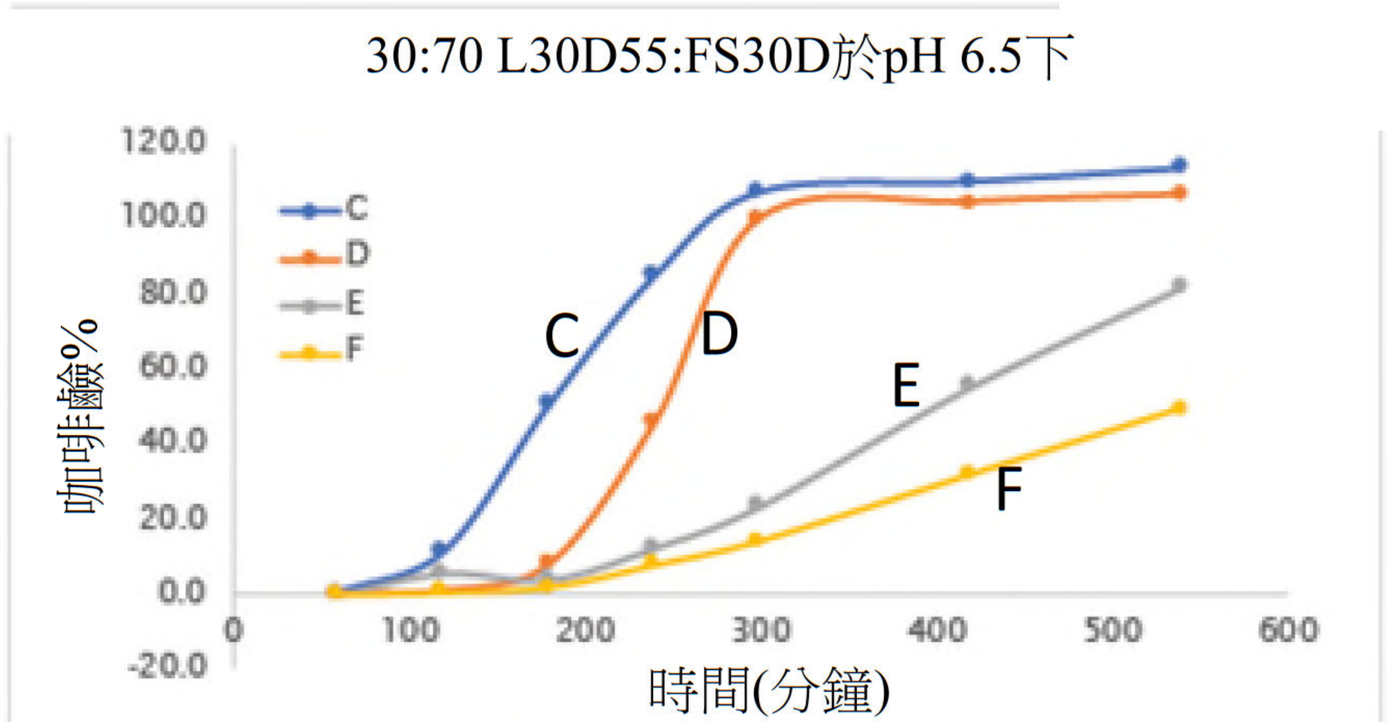
【圖6B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
G
H
G
H

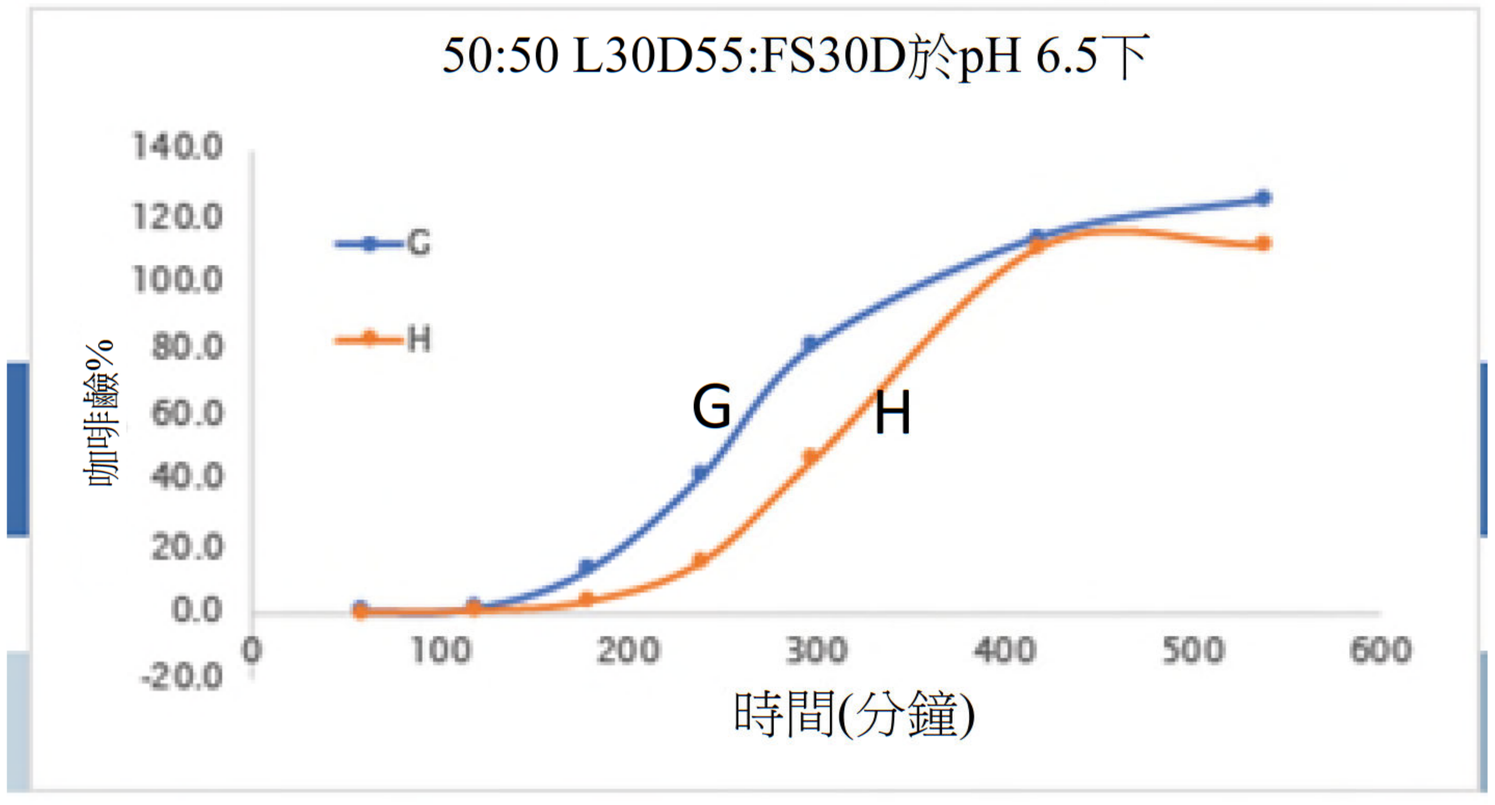
【圖6C】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.5下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
A
B

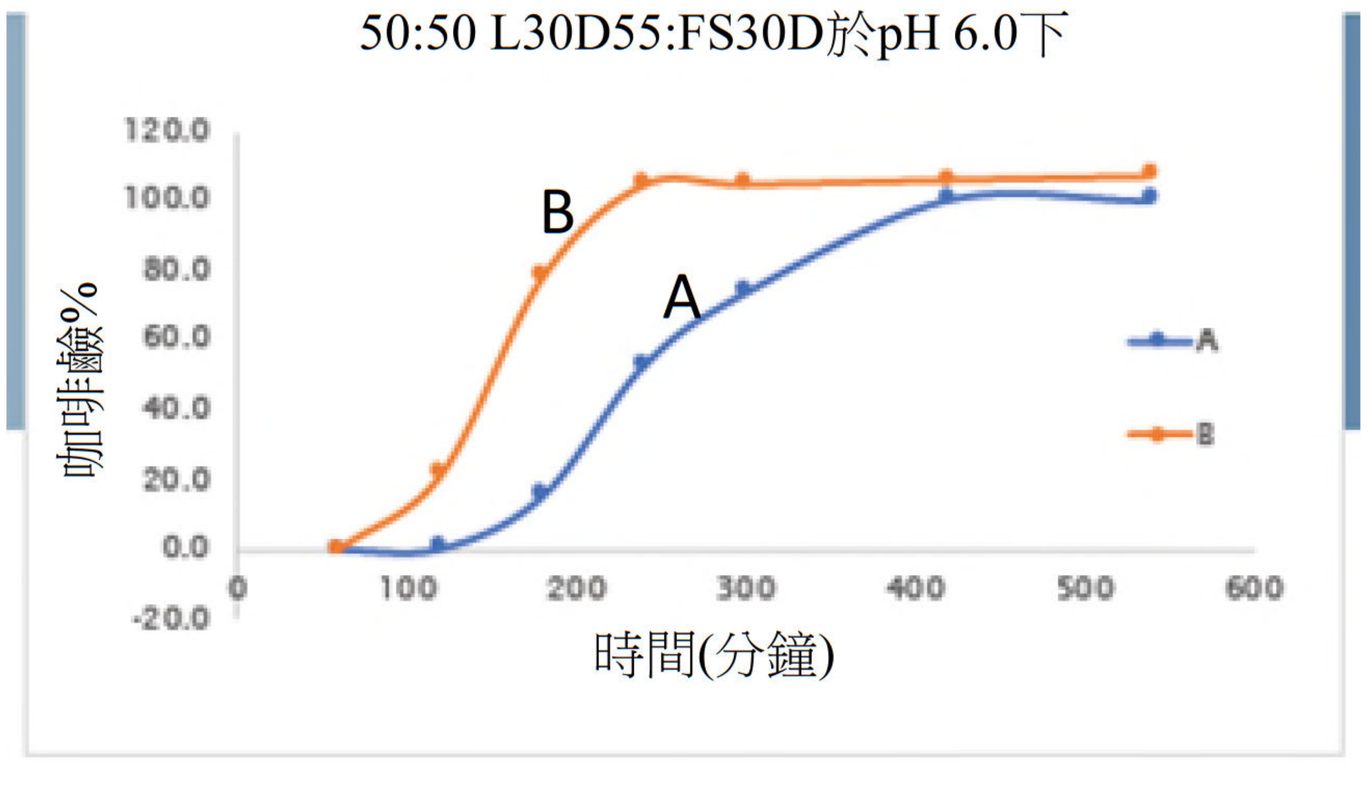
【圖7A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 6.5下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
C
D
E
F

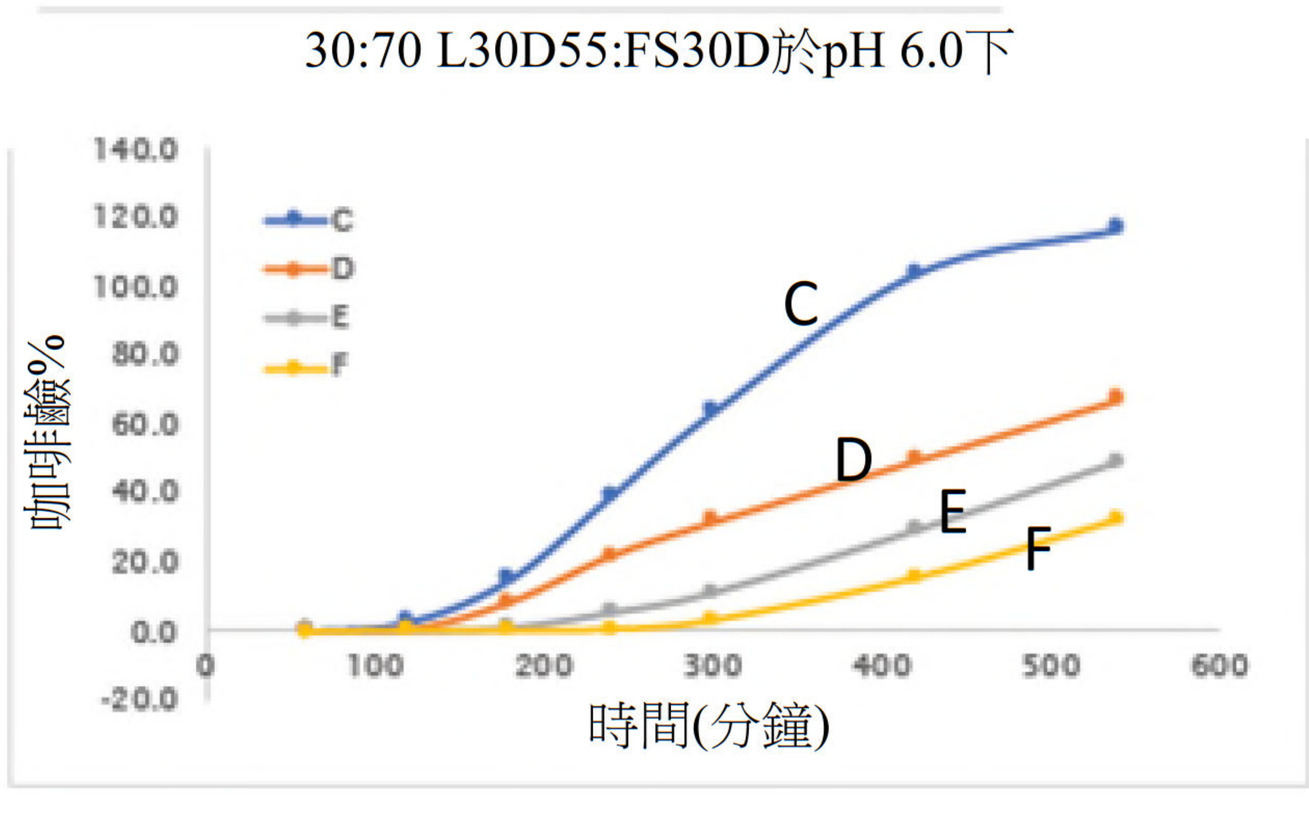
【圖7B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.5下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
G
H

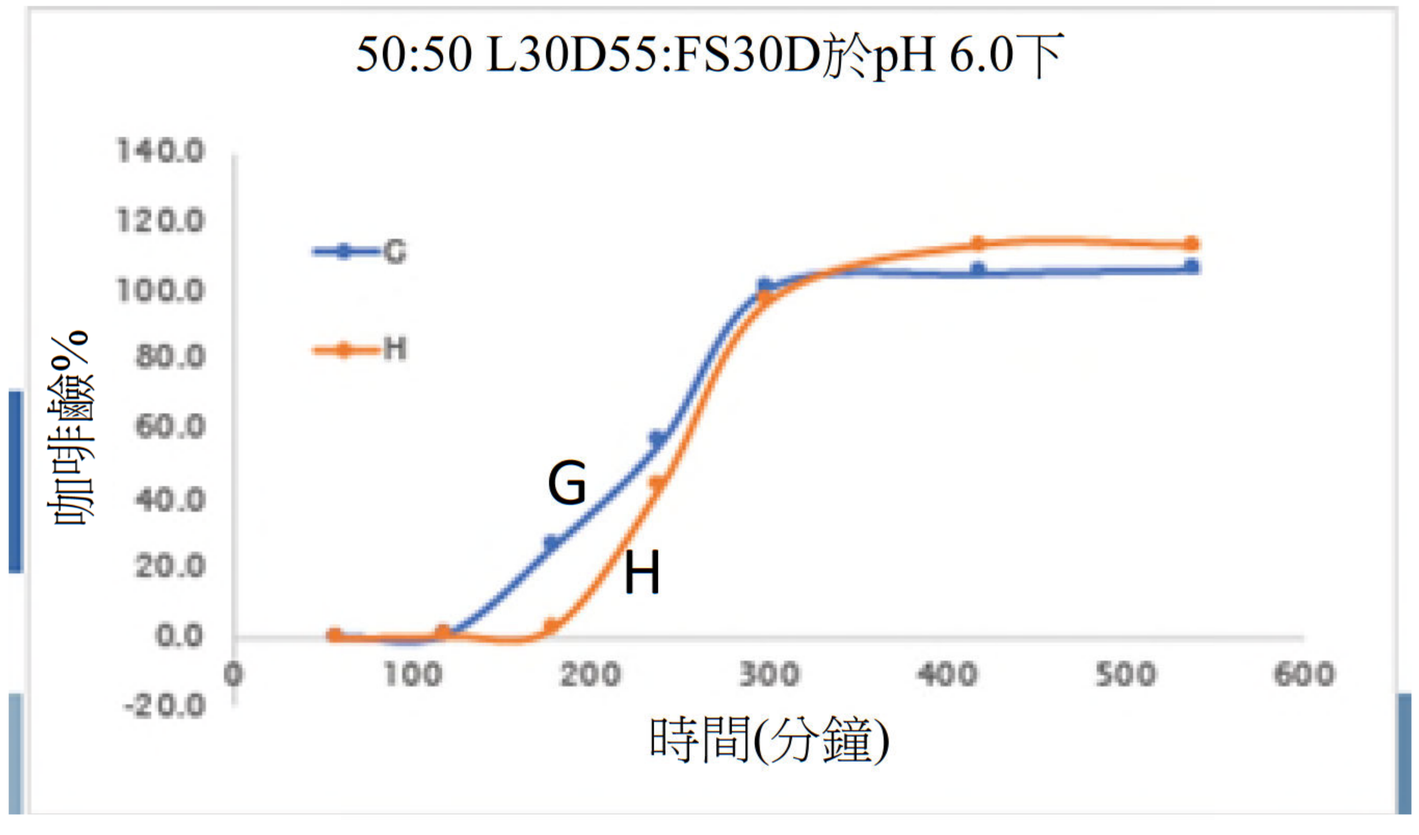
【圖7C】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
A
B
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

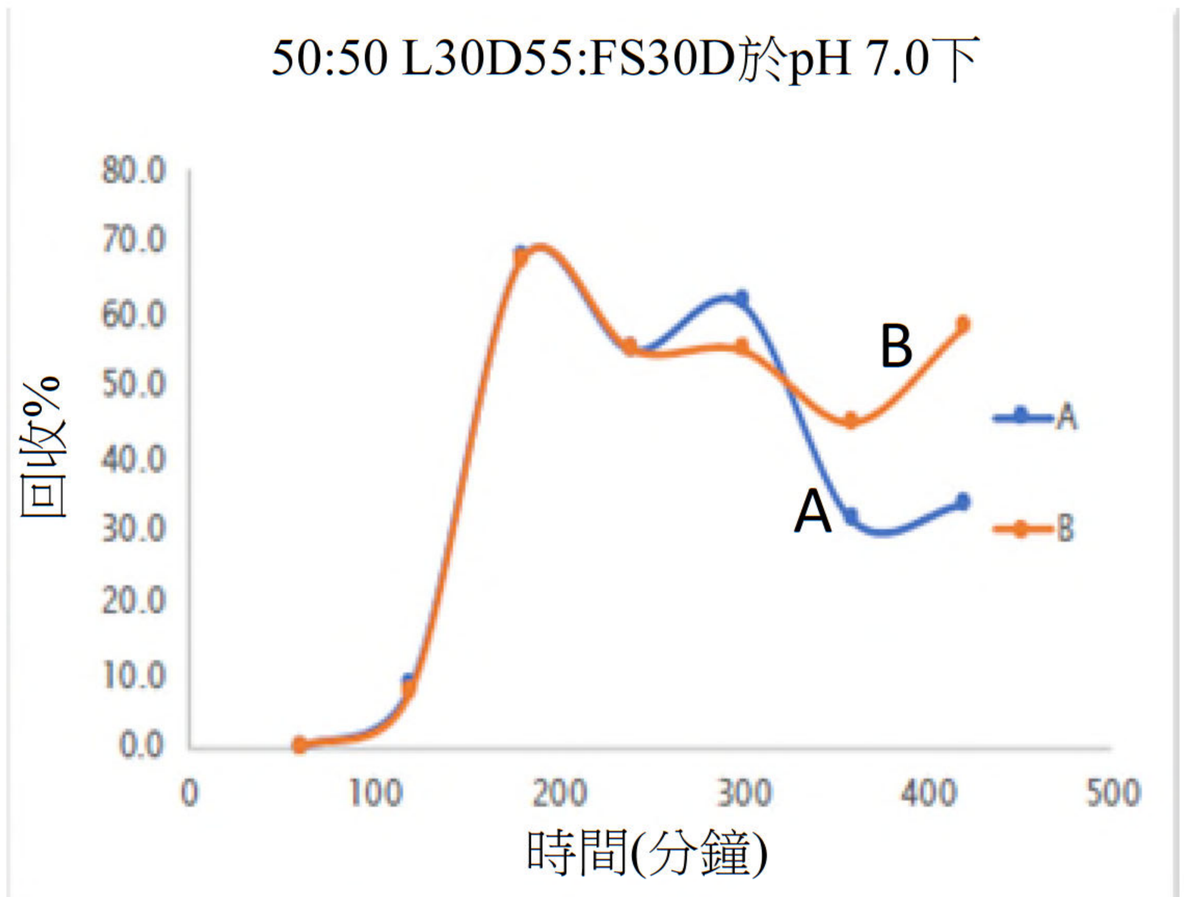
【圖8A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 6.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
C
D
E
F
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

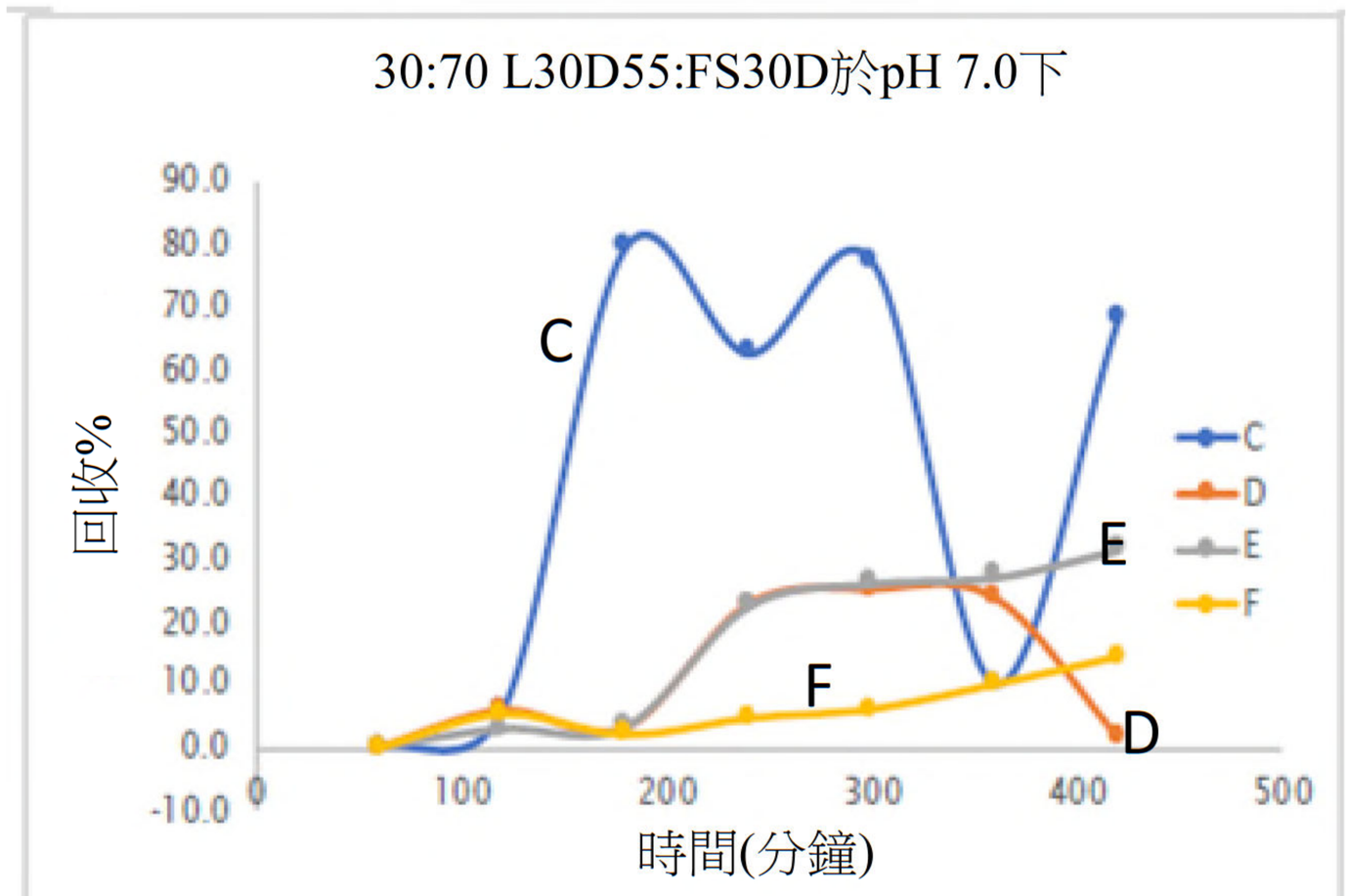
【圖8B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 6.0下
咖啡鹼%
時間(分鐘)
G
H
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500
600

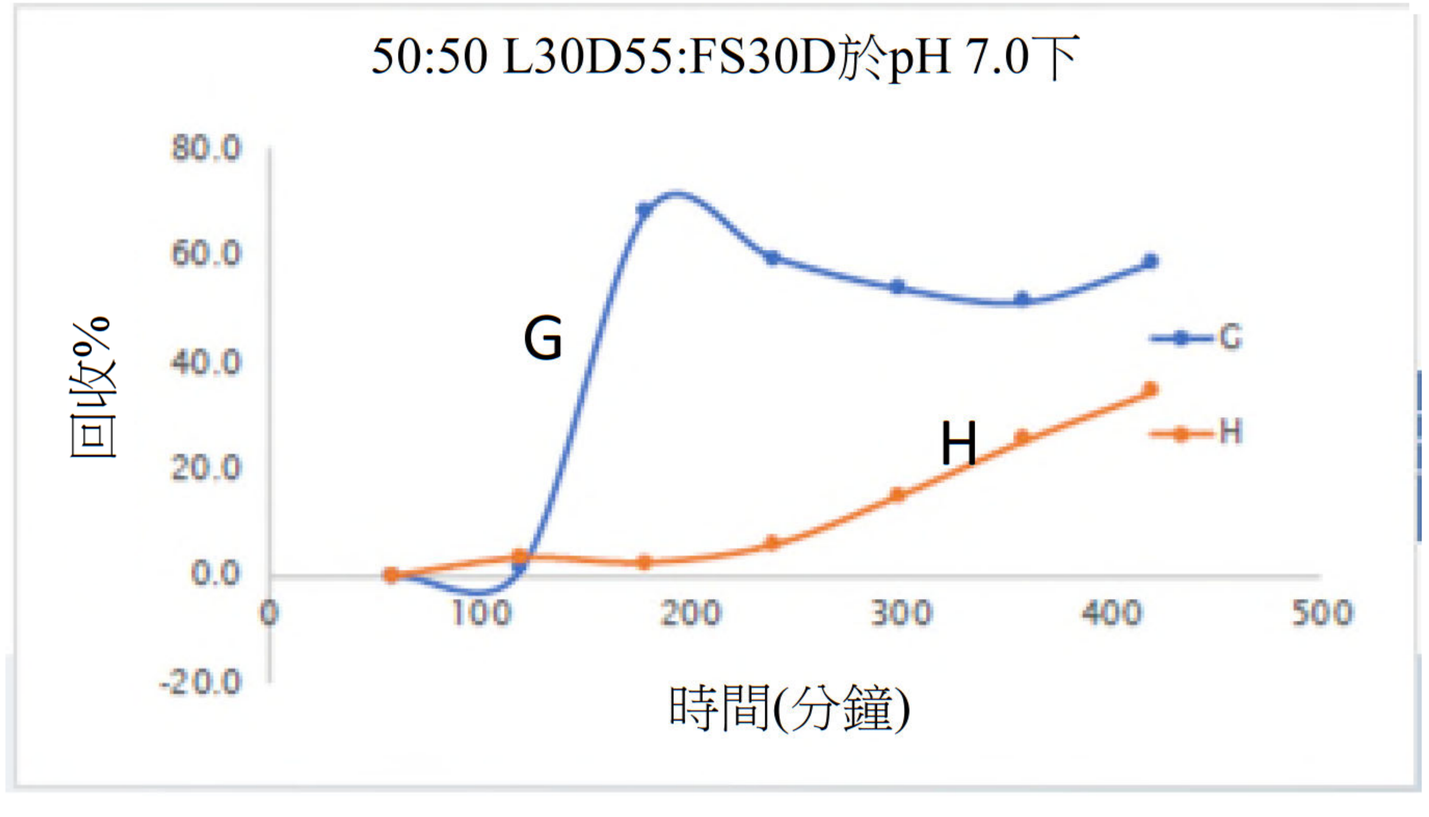
【圖8C】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
回收%
時間(分鐘)
A
B
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
0
100
200
300
400
500

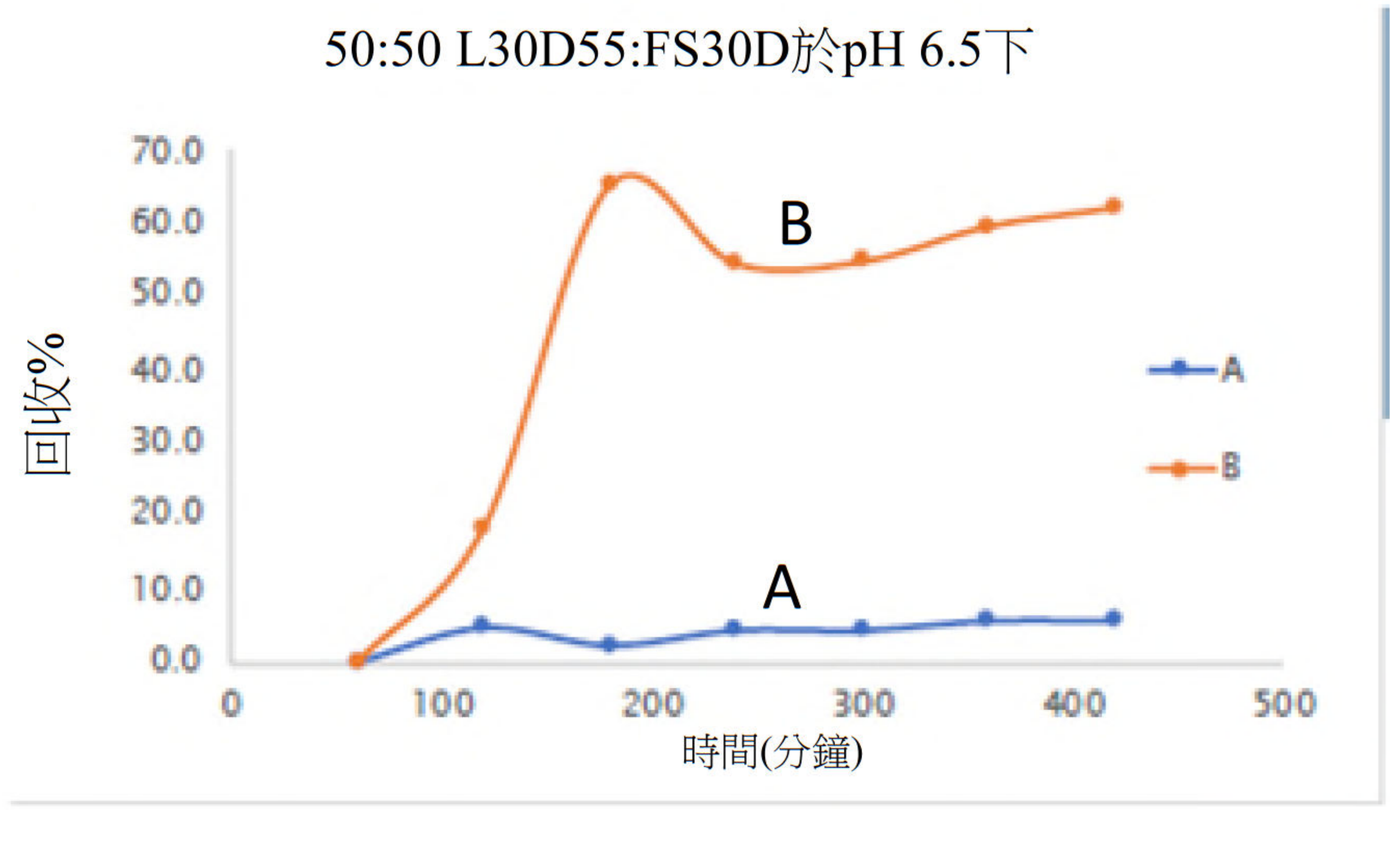
【圖9A】


30:70 L30D55:FS30D於pH 7.0下
回收%
時間(分鐘)
C
D
E
F
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
-10.0
0
100
200
300
400
500

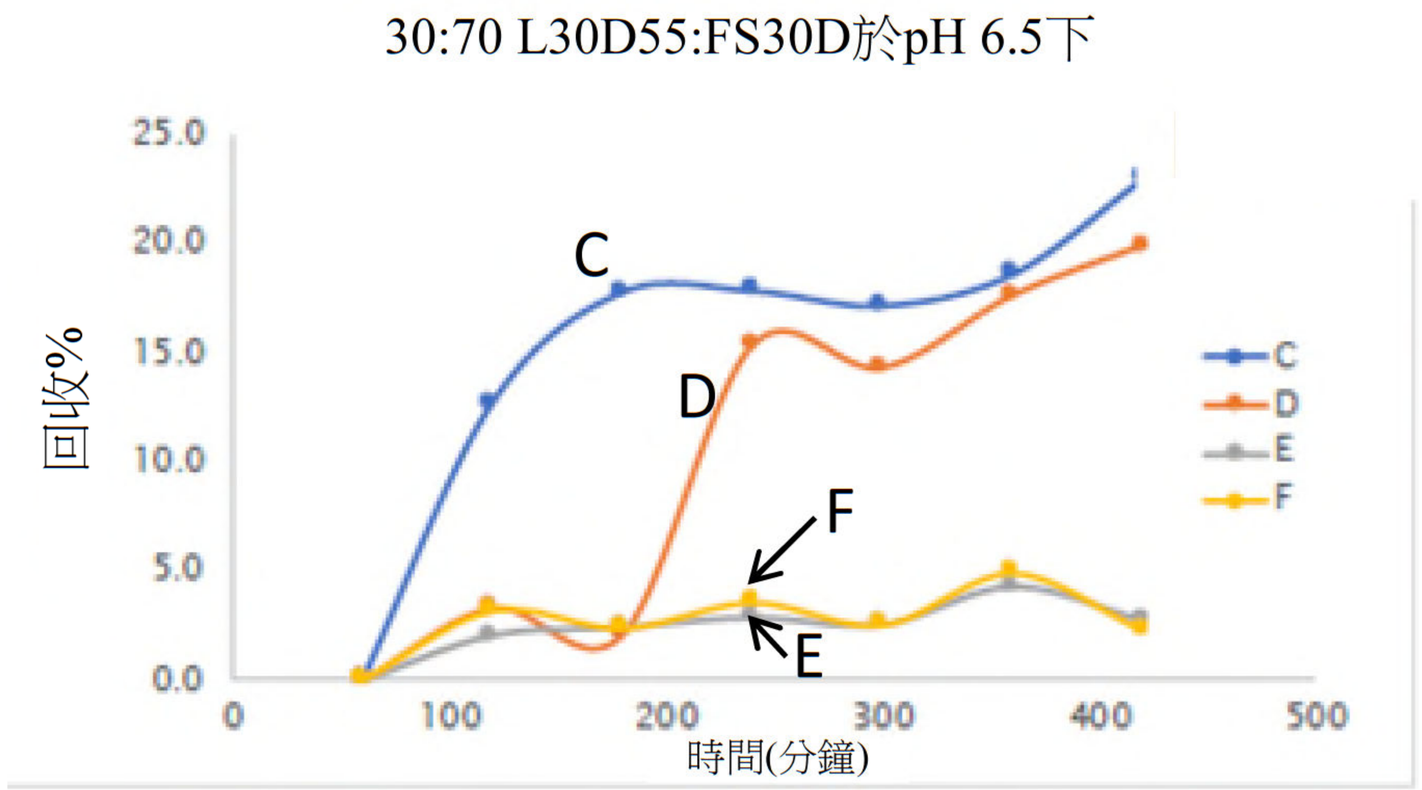
【圖9B】


50:50 L30D55:FS30D於pH 7.0下
回收%
時間(分鐘)
G
H
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
-20.0
0
100
200
300
400
500

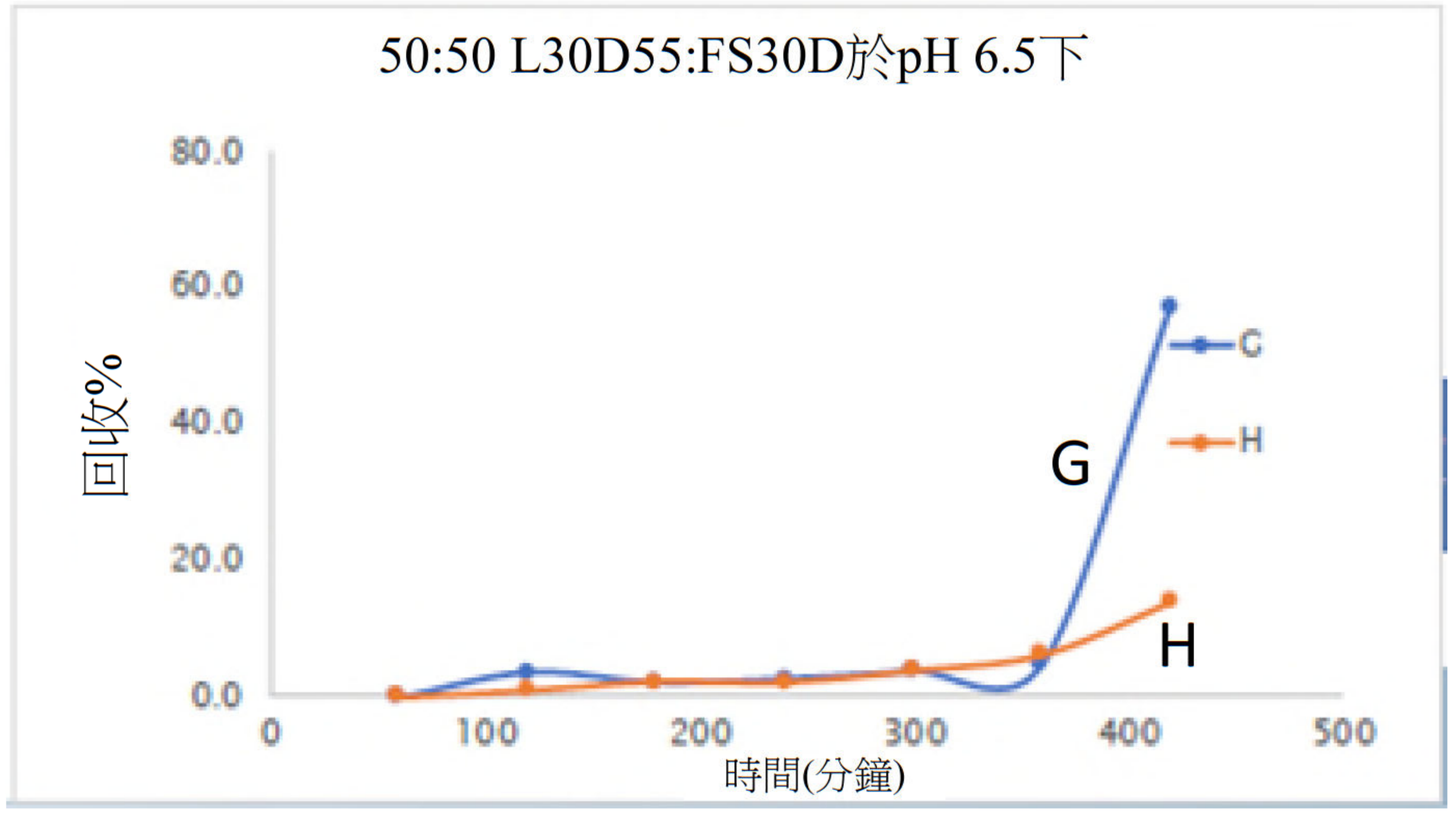
【圖9C】



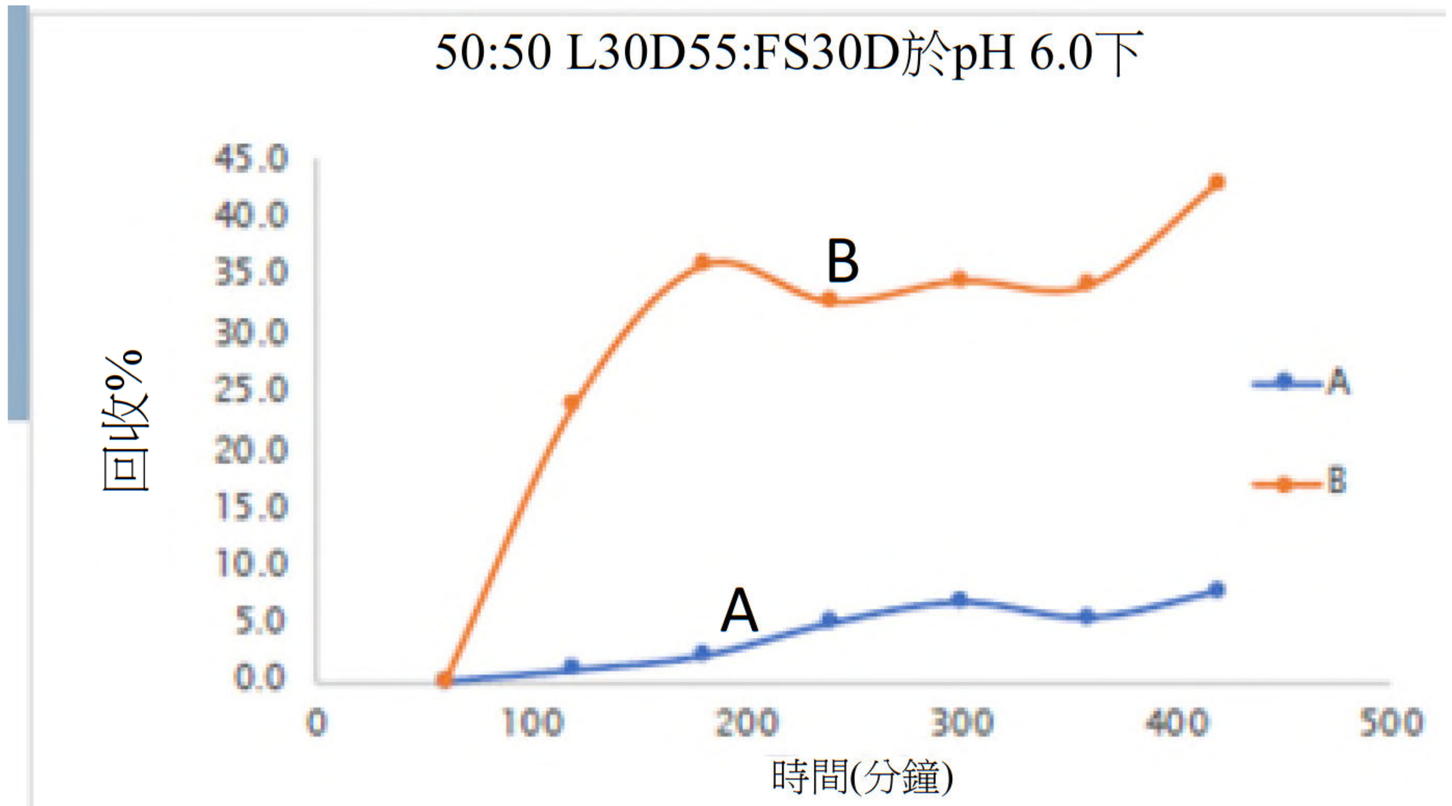
【圖10A】



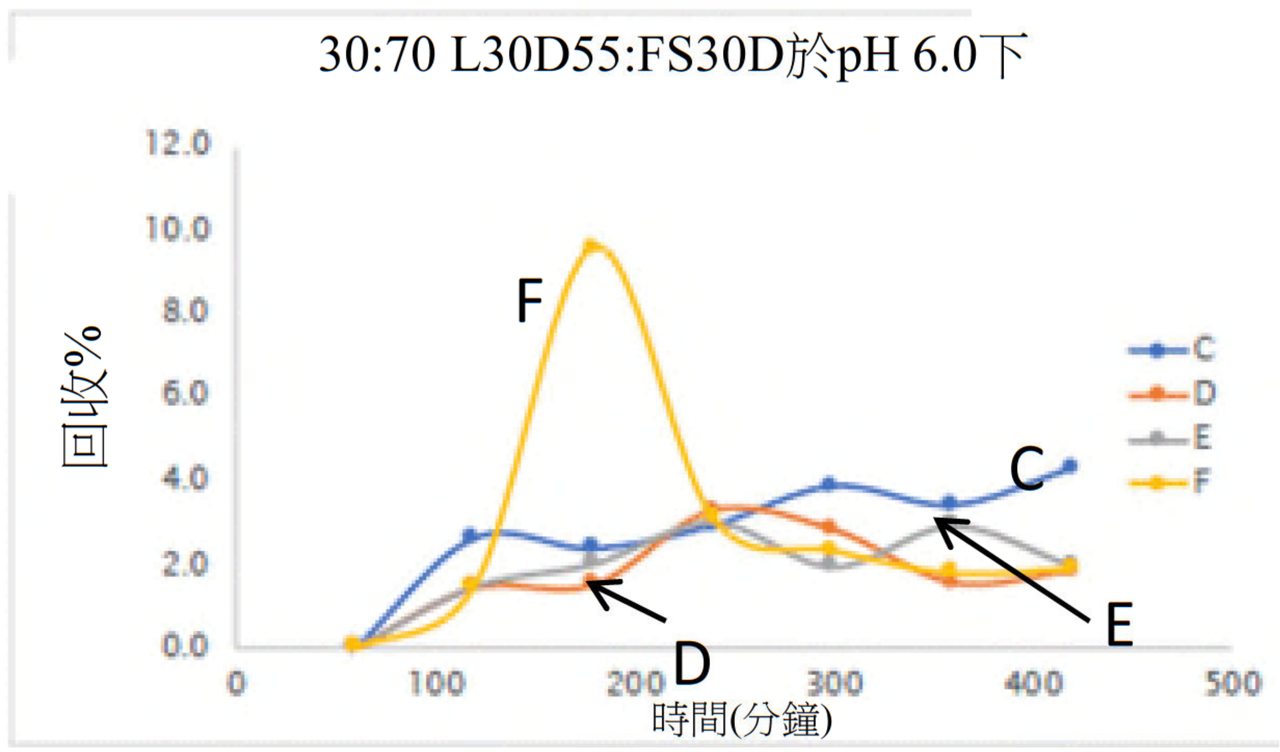
【圖10B】



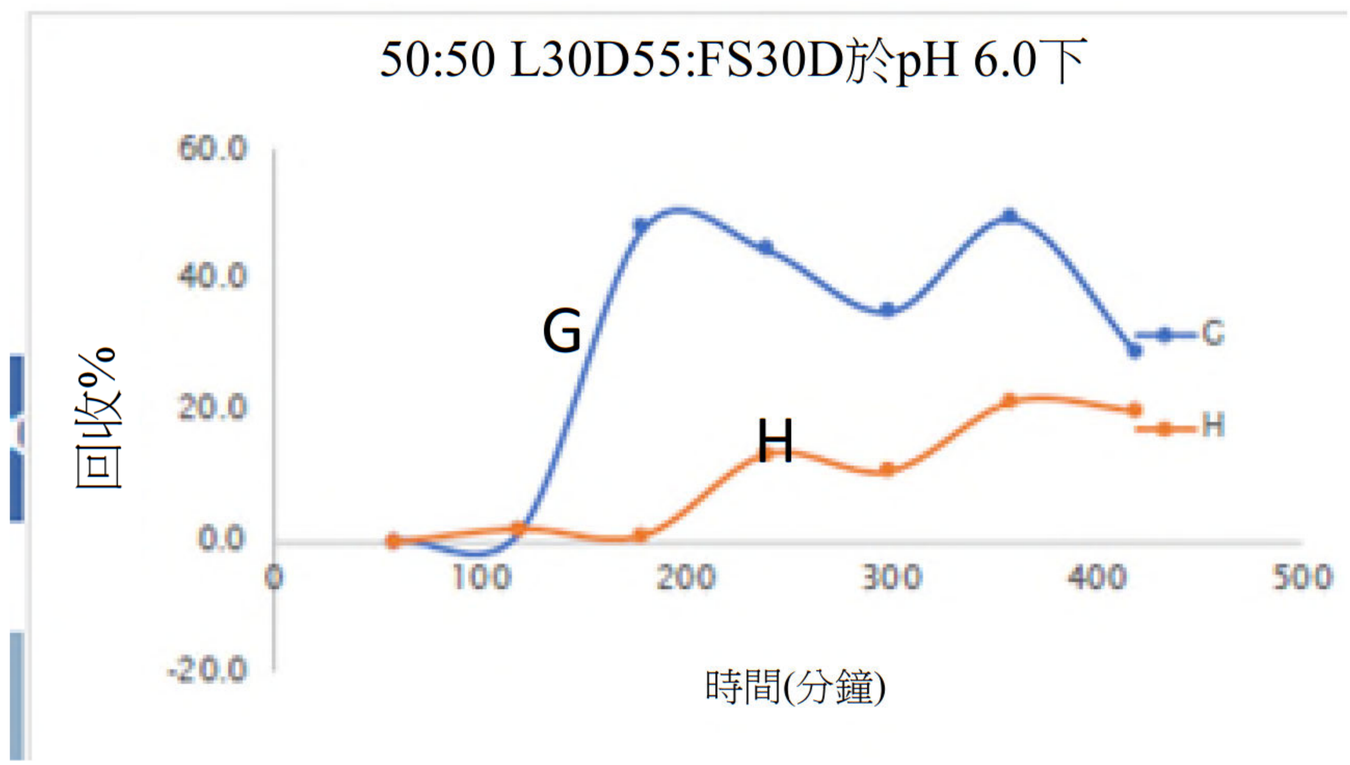
【圖10C】



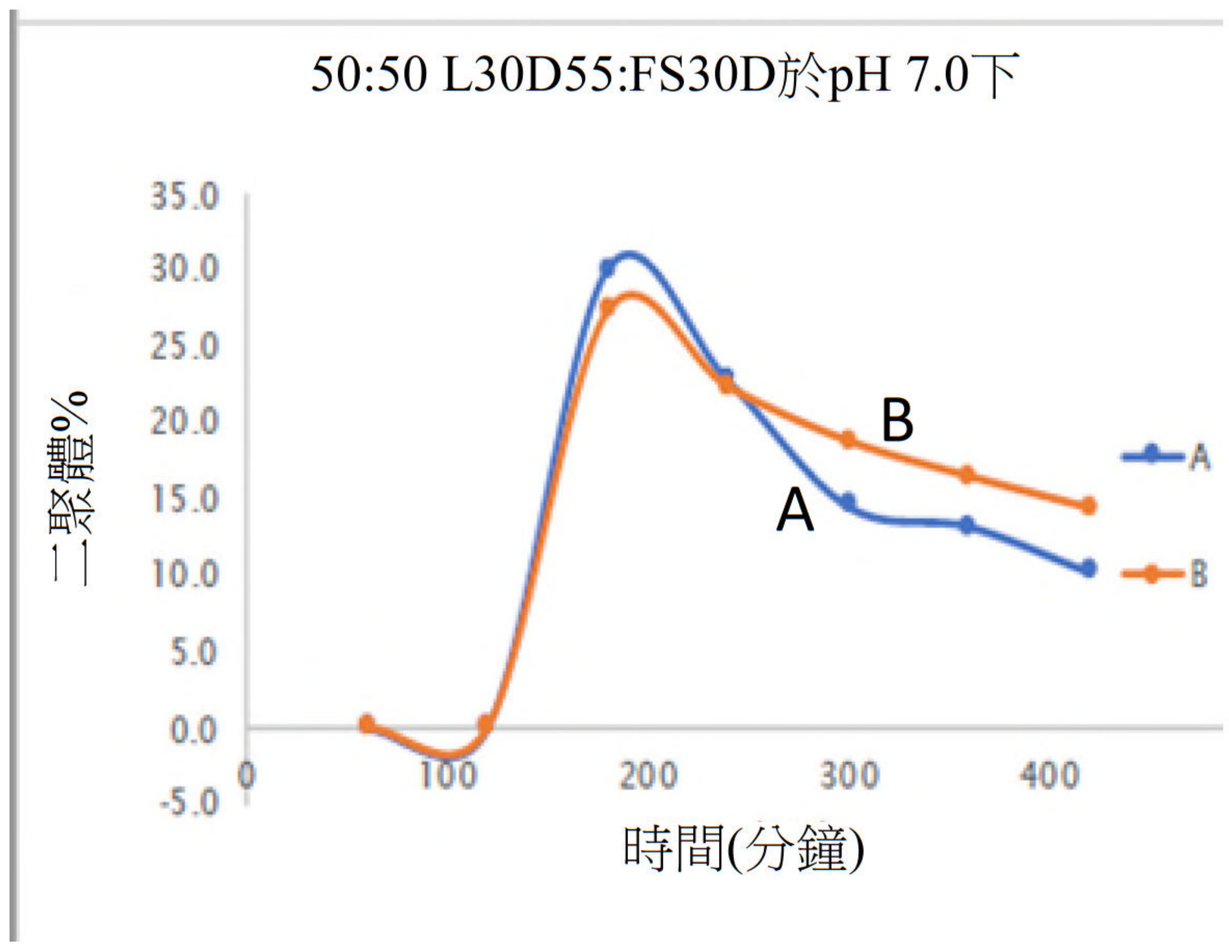
【圖11A】



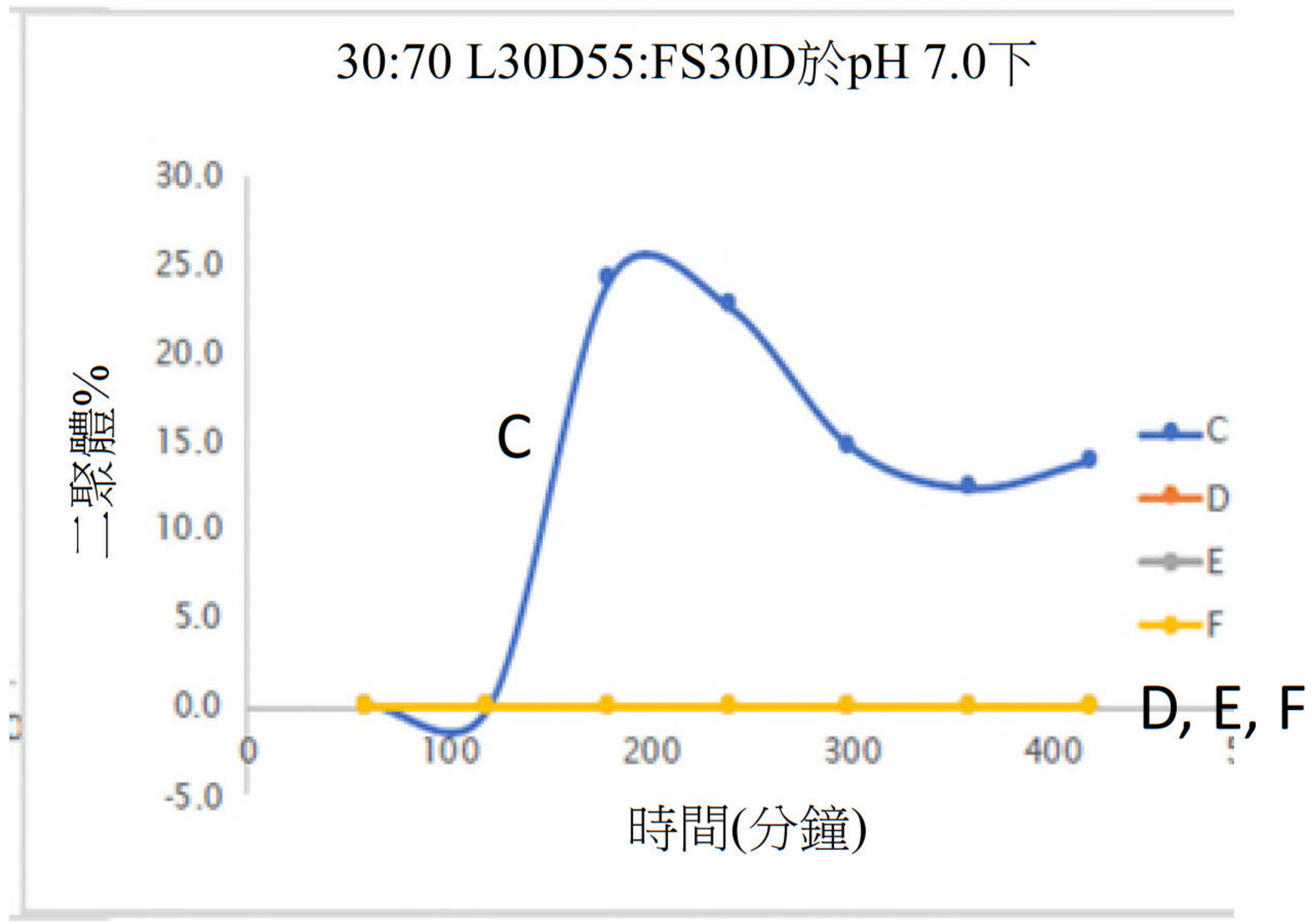
【圖11B】



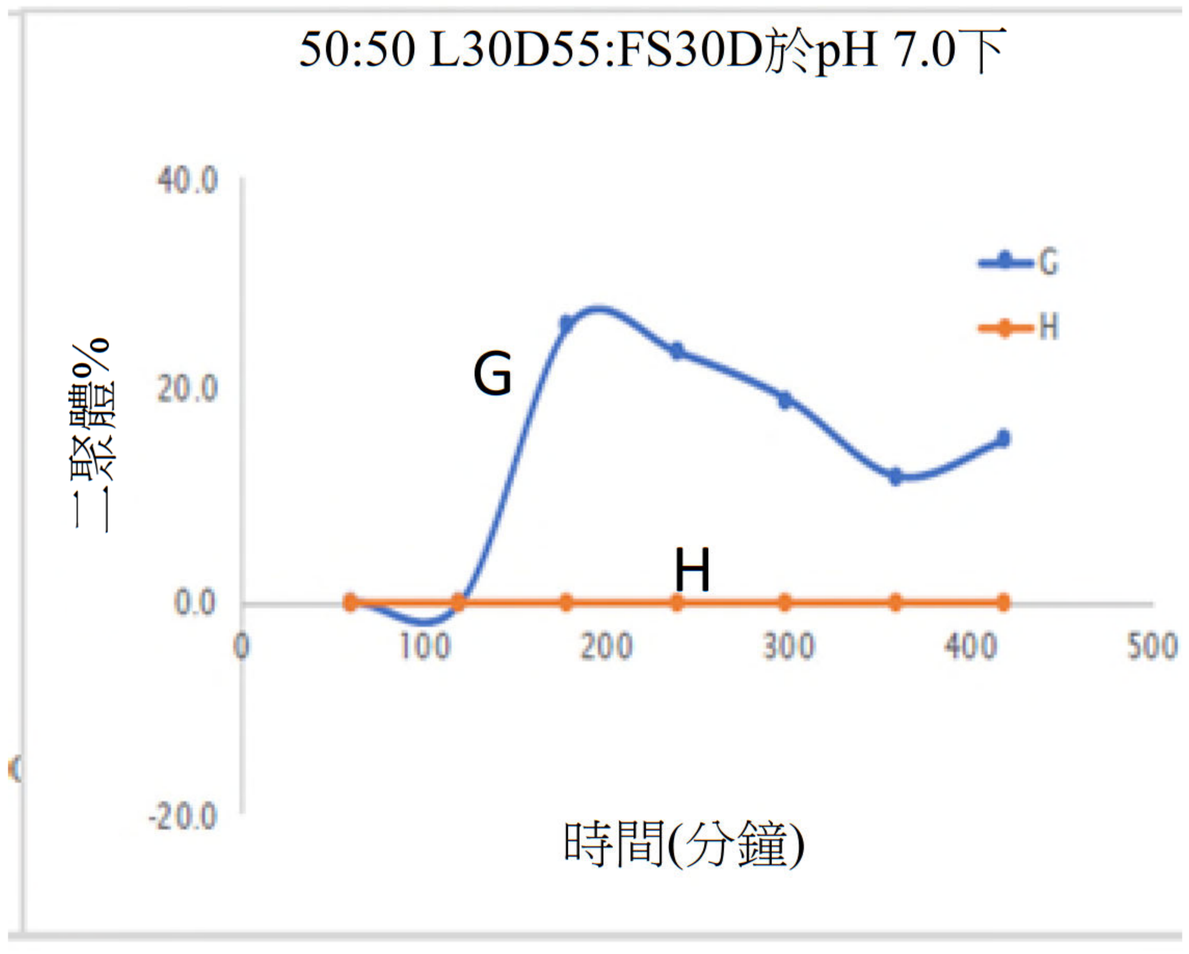
【圖11C】



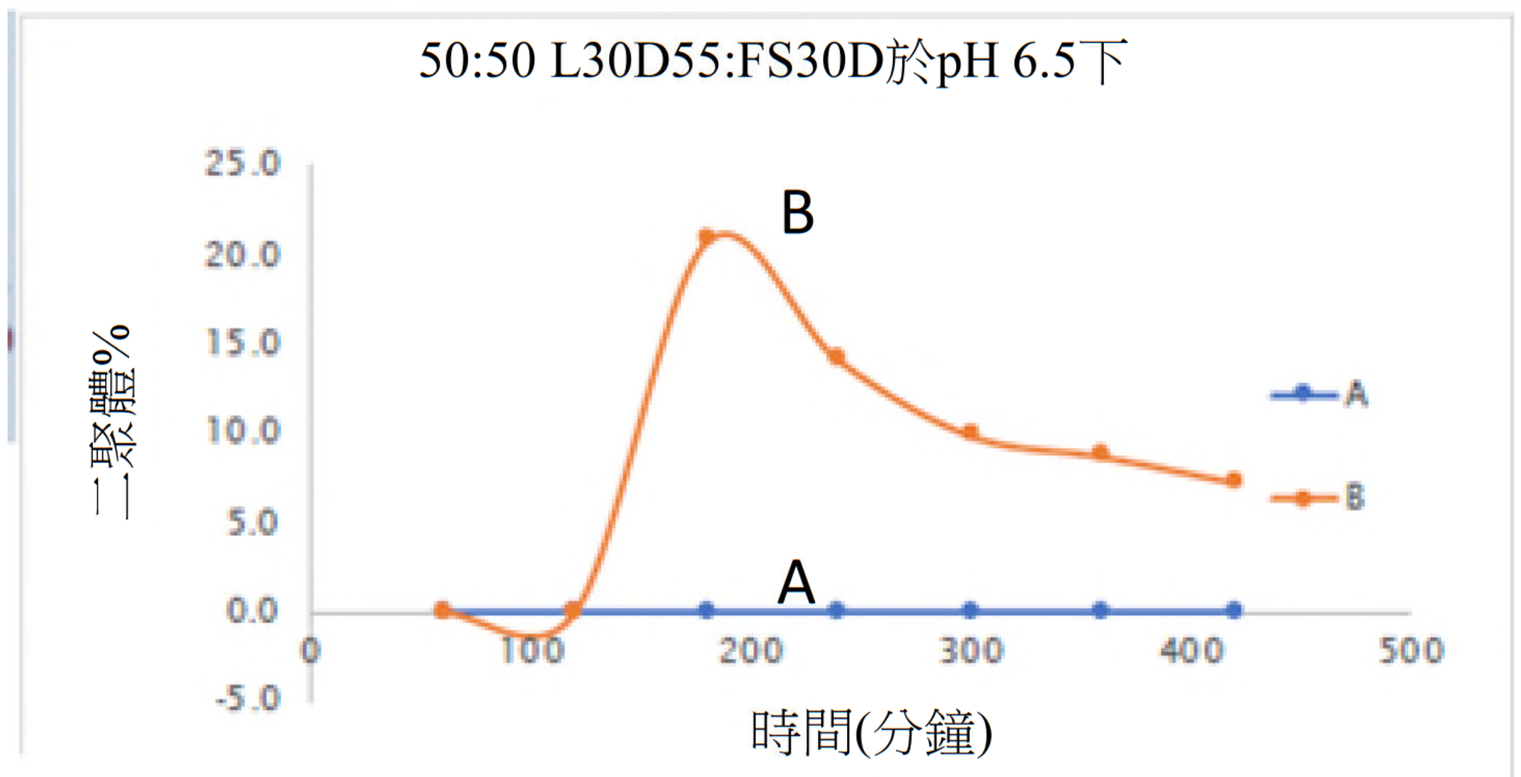
【圖12A】



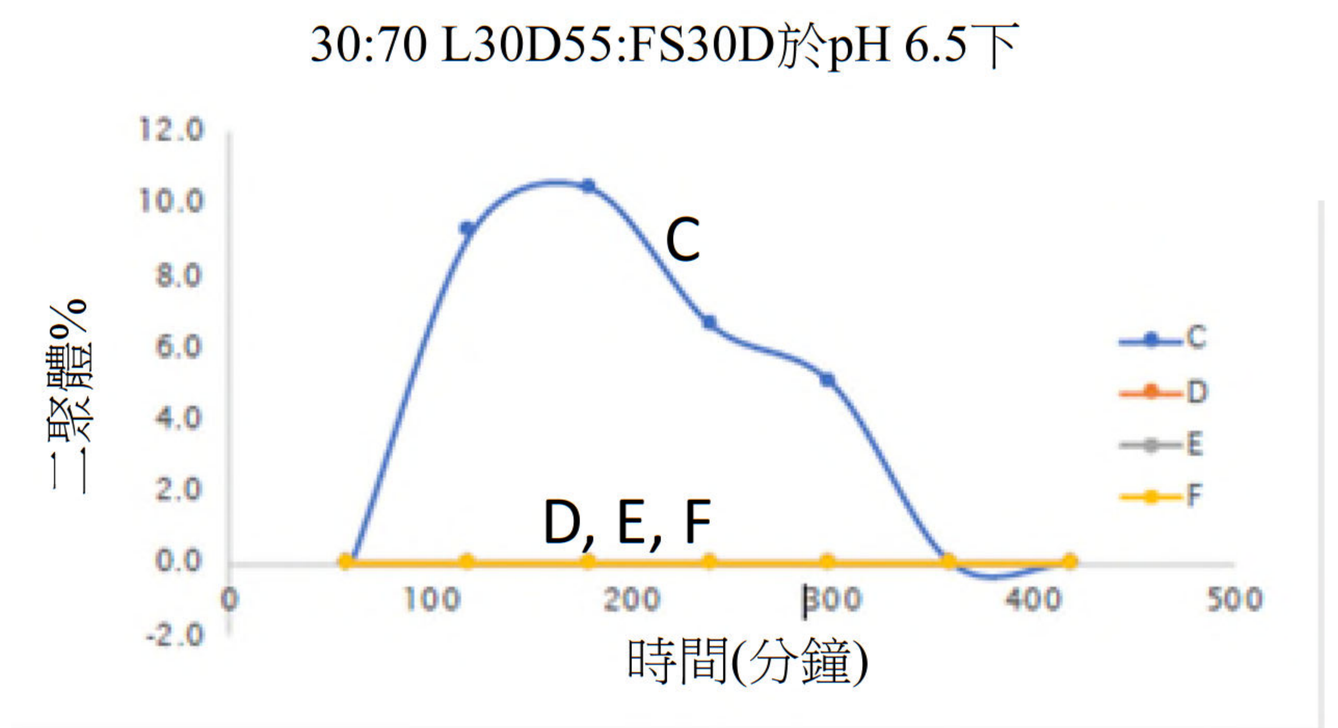
【圖12B】



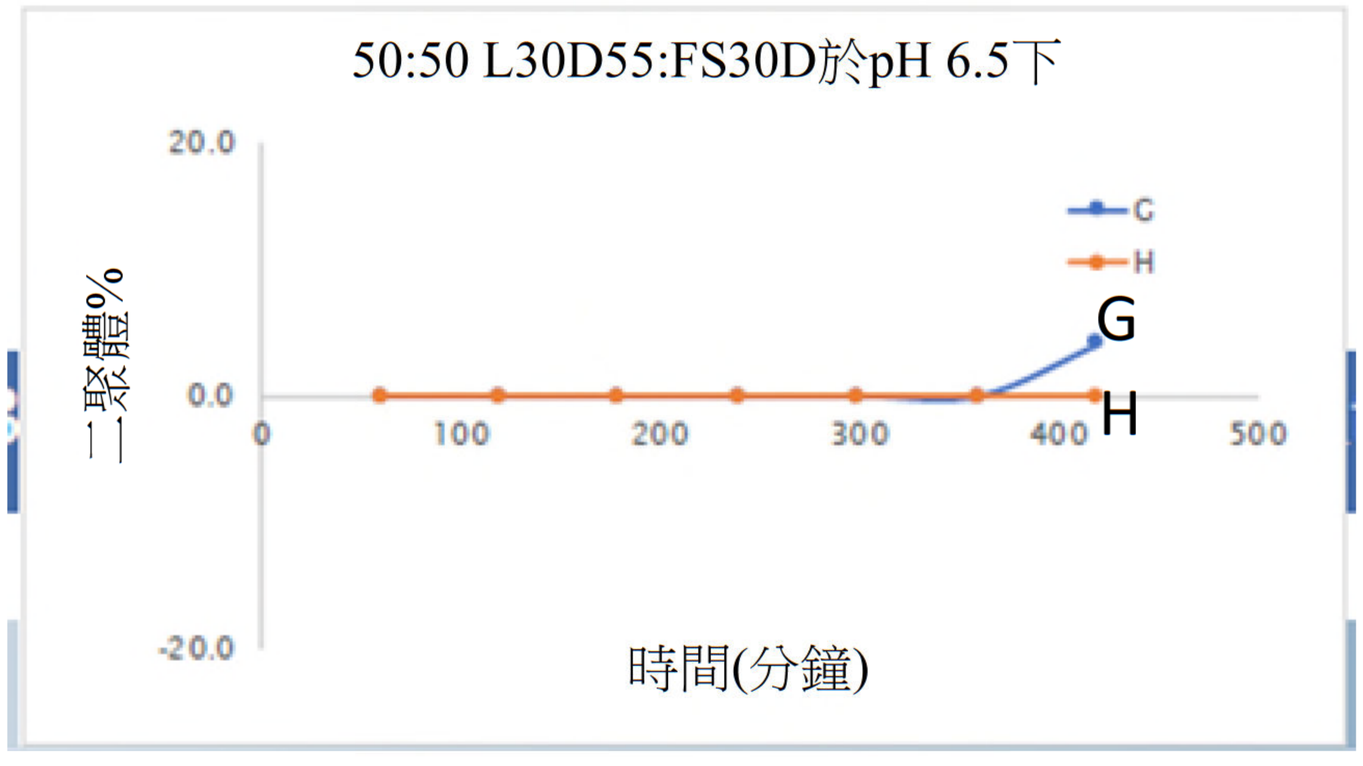
【圖12C】



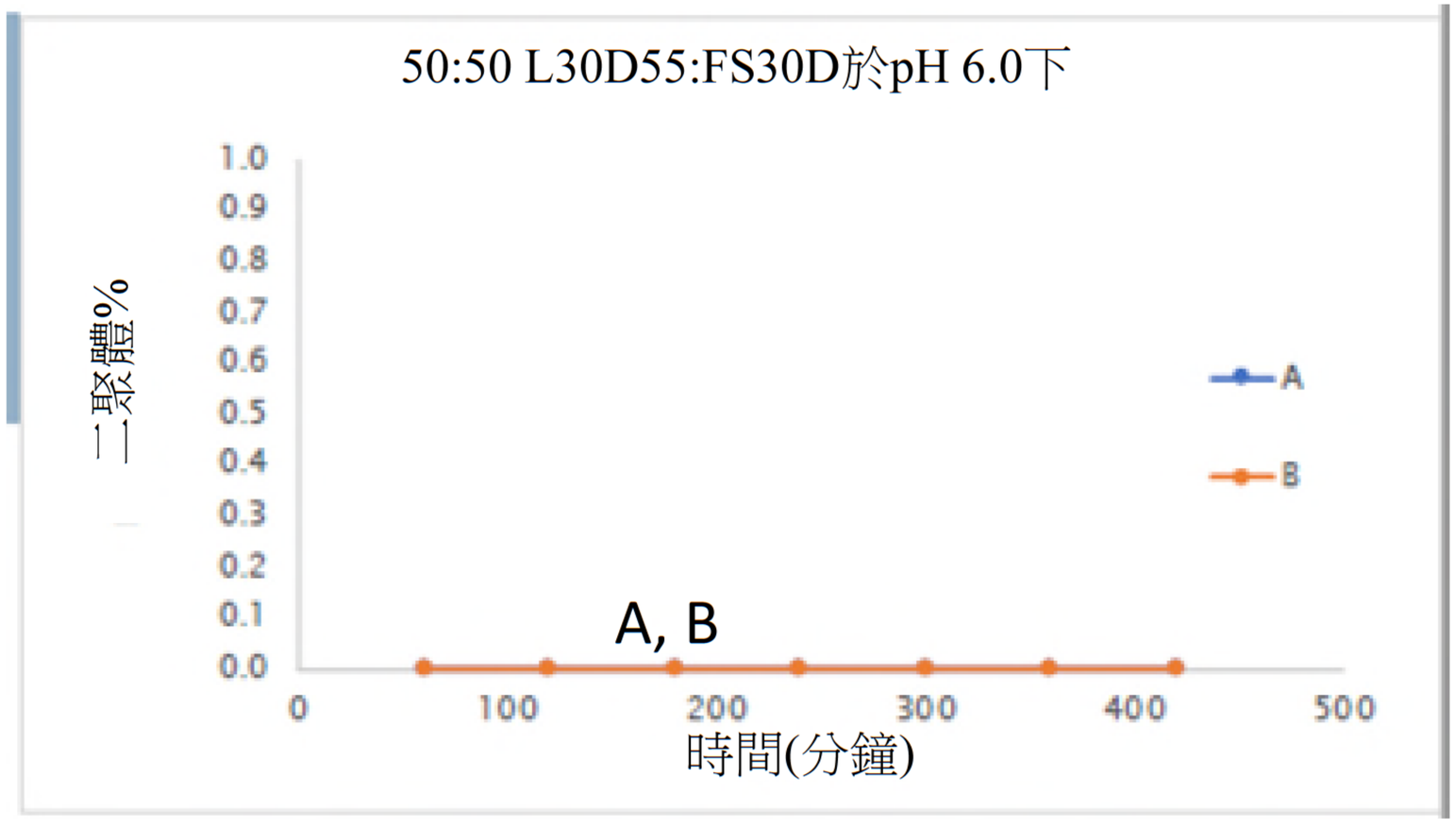
【圖13A】



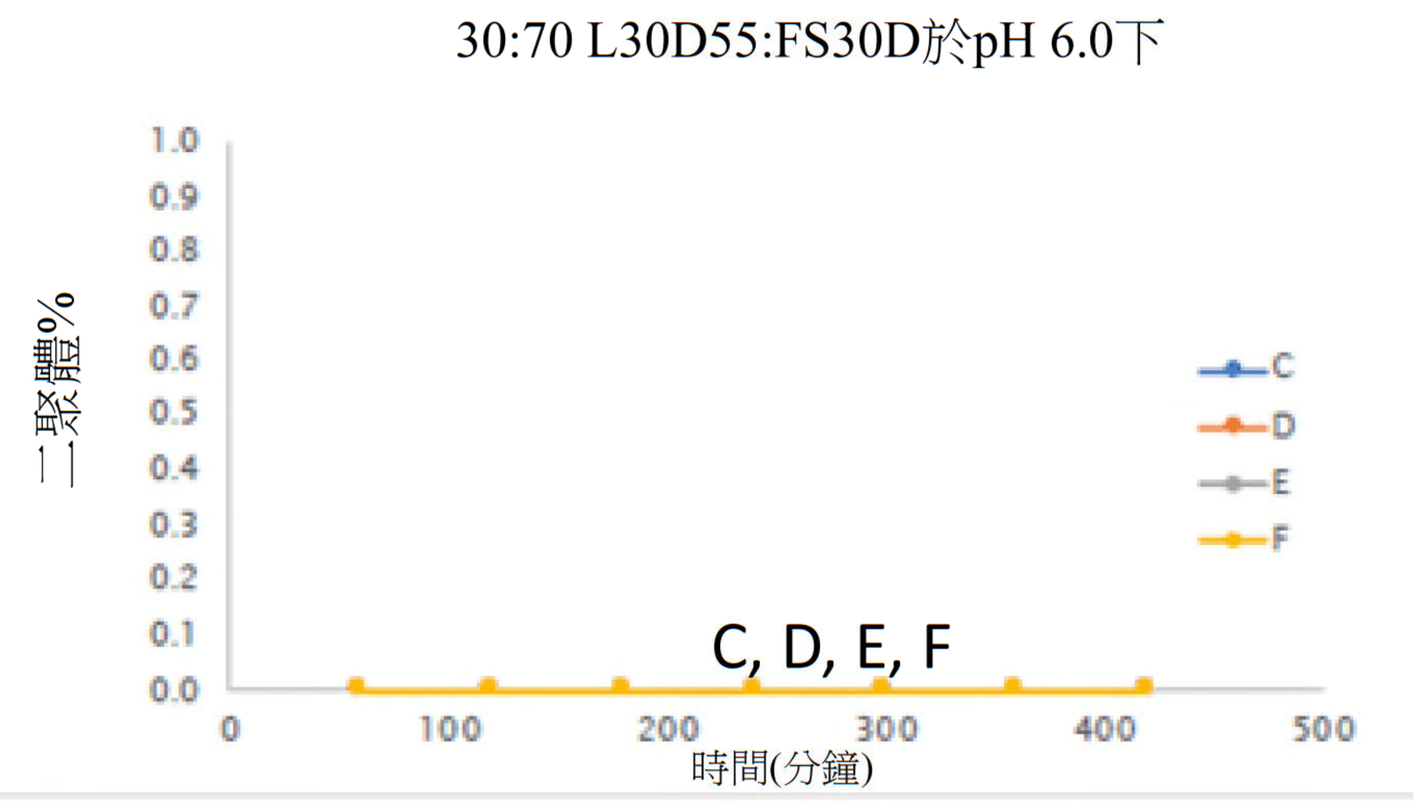
【圖13B】



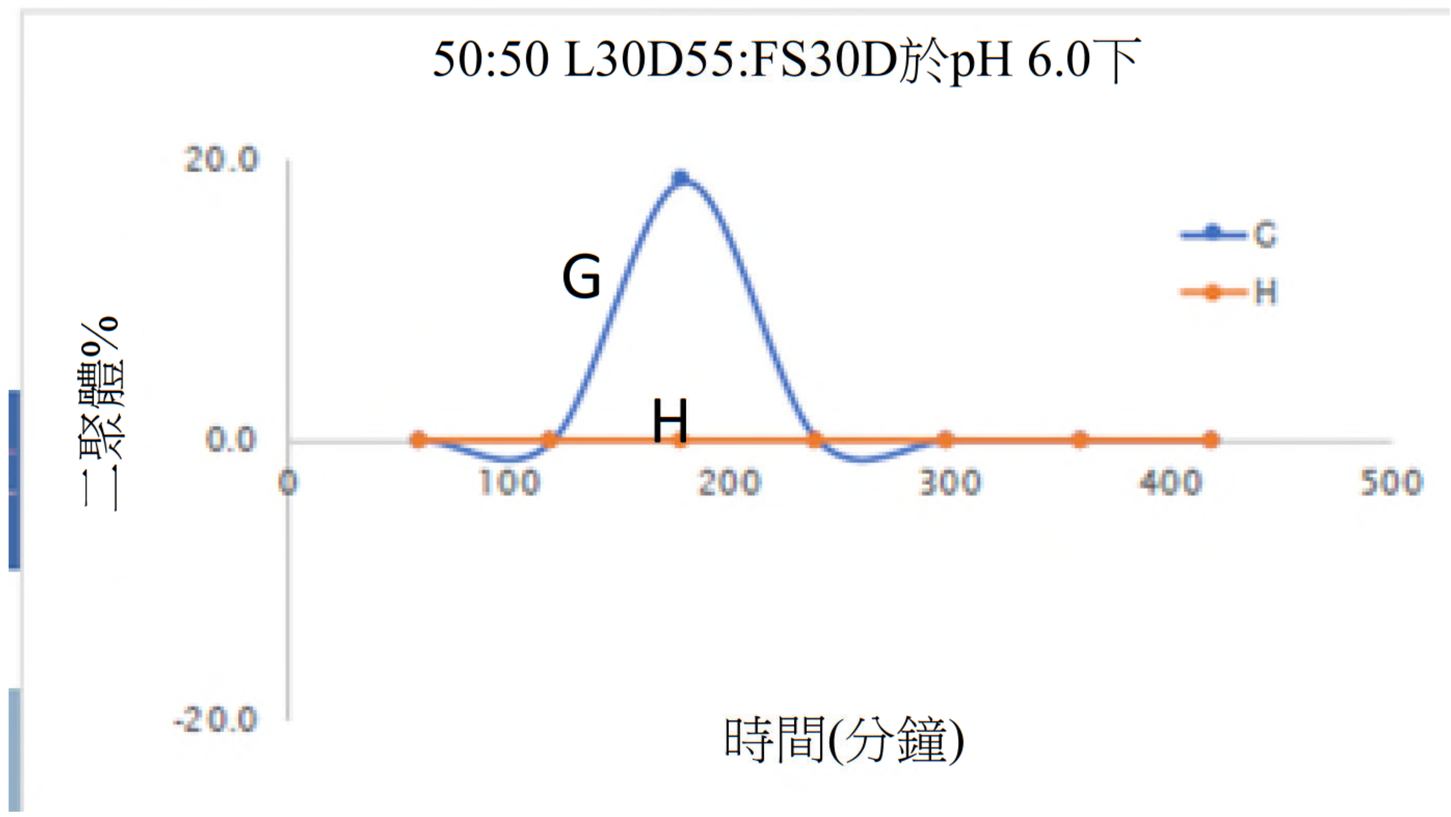
【圖13C】



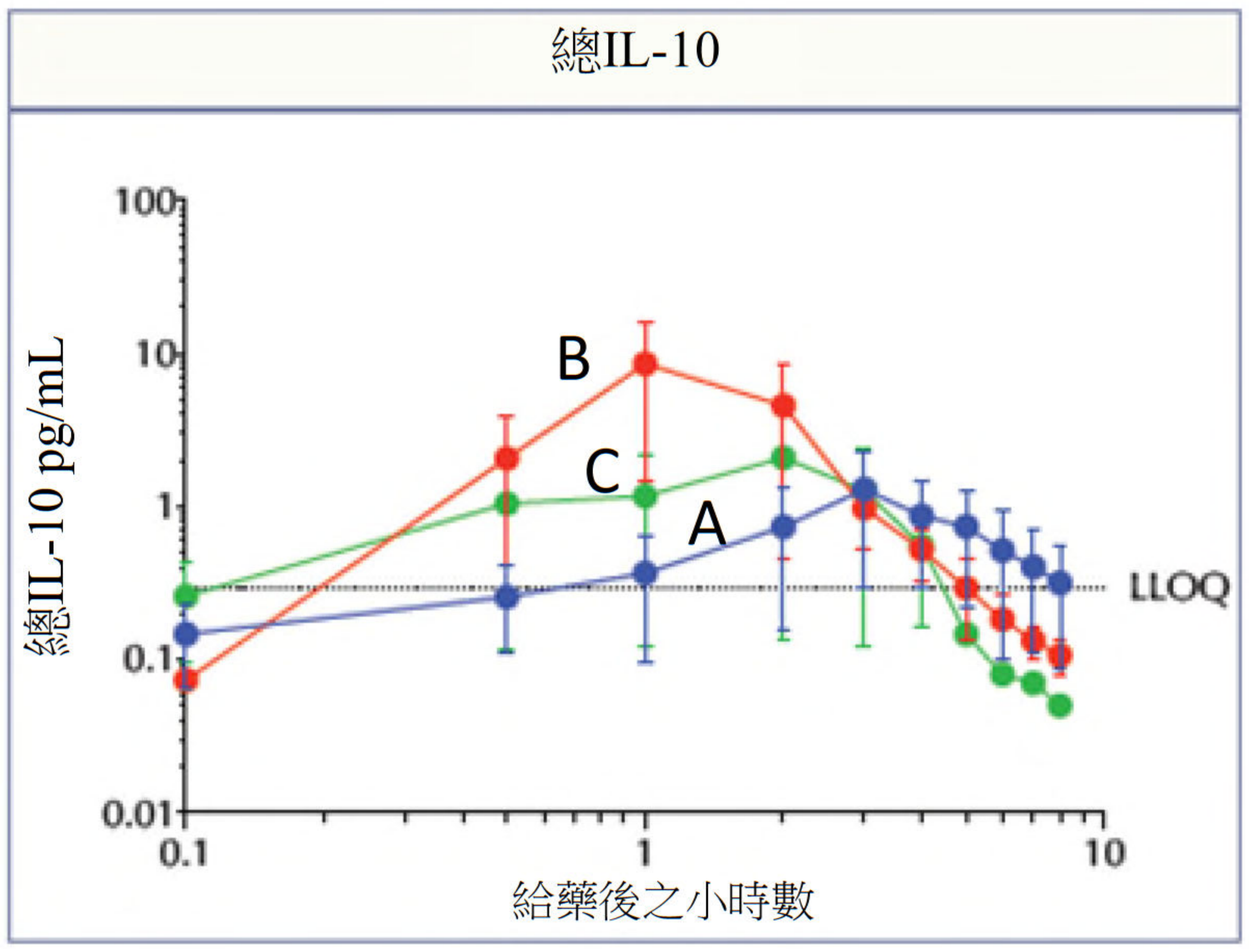
【圖14A】



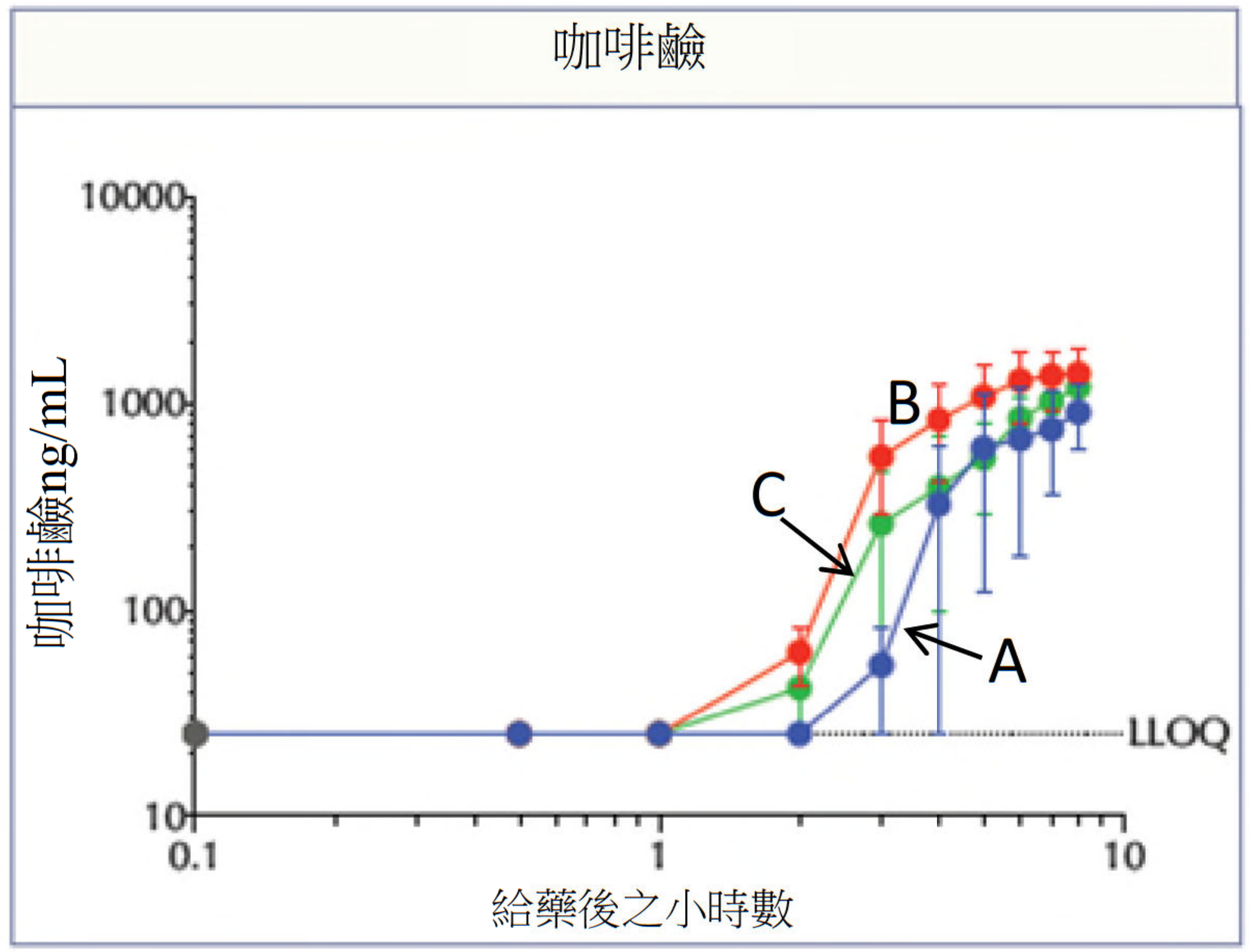
【圖14B】



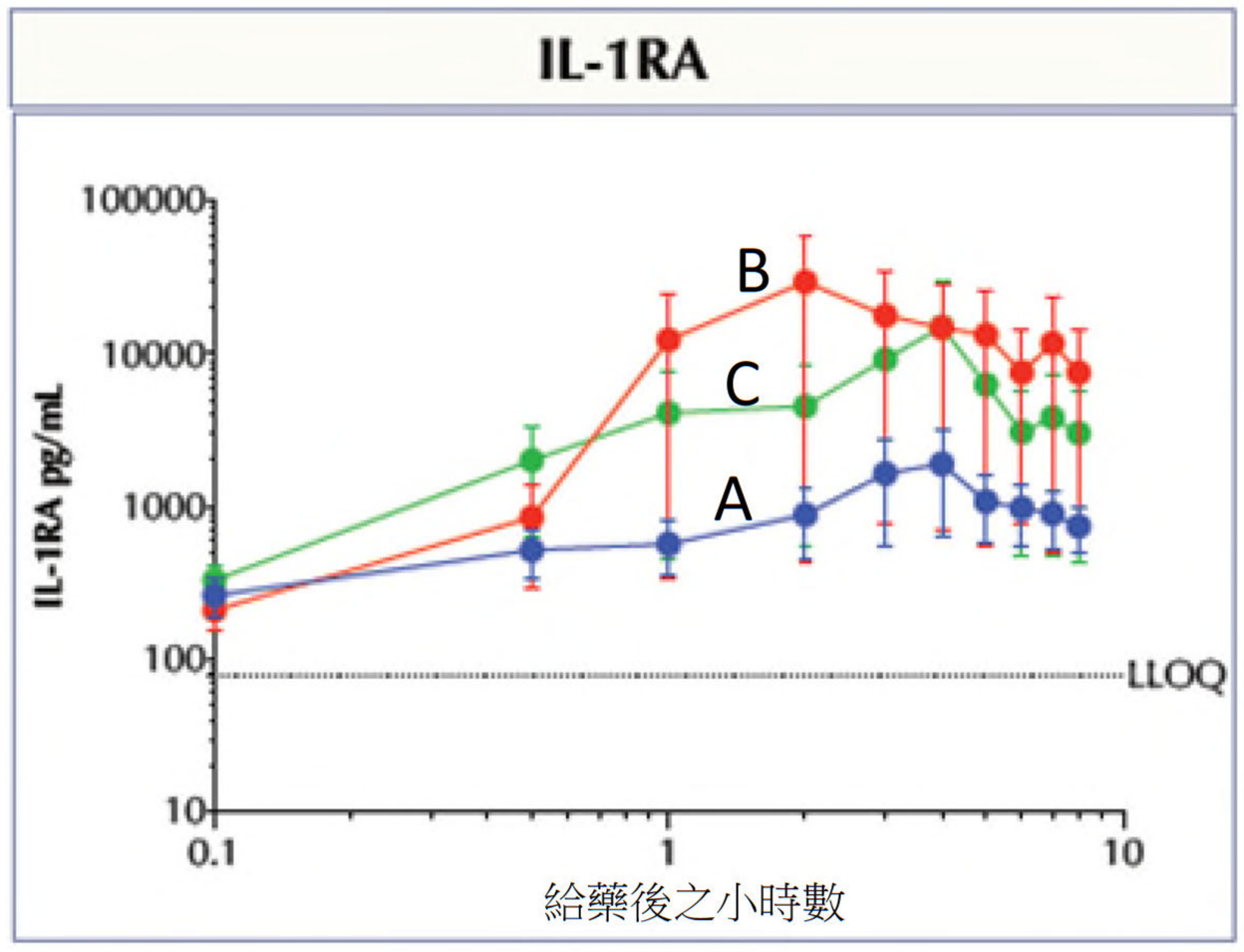
【圖14C】



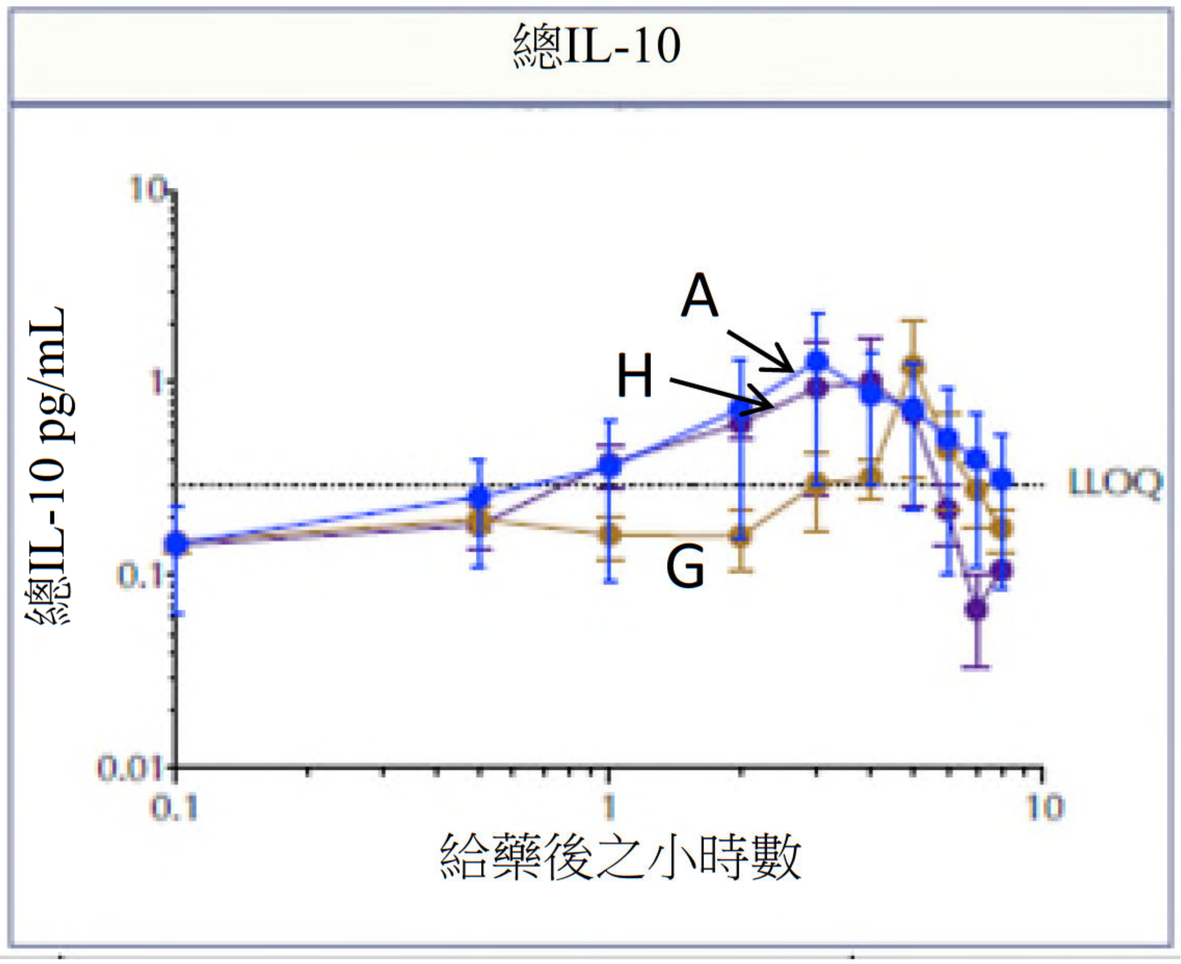
【圖15A】



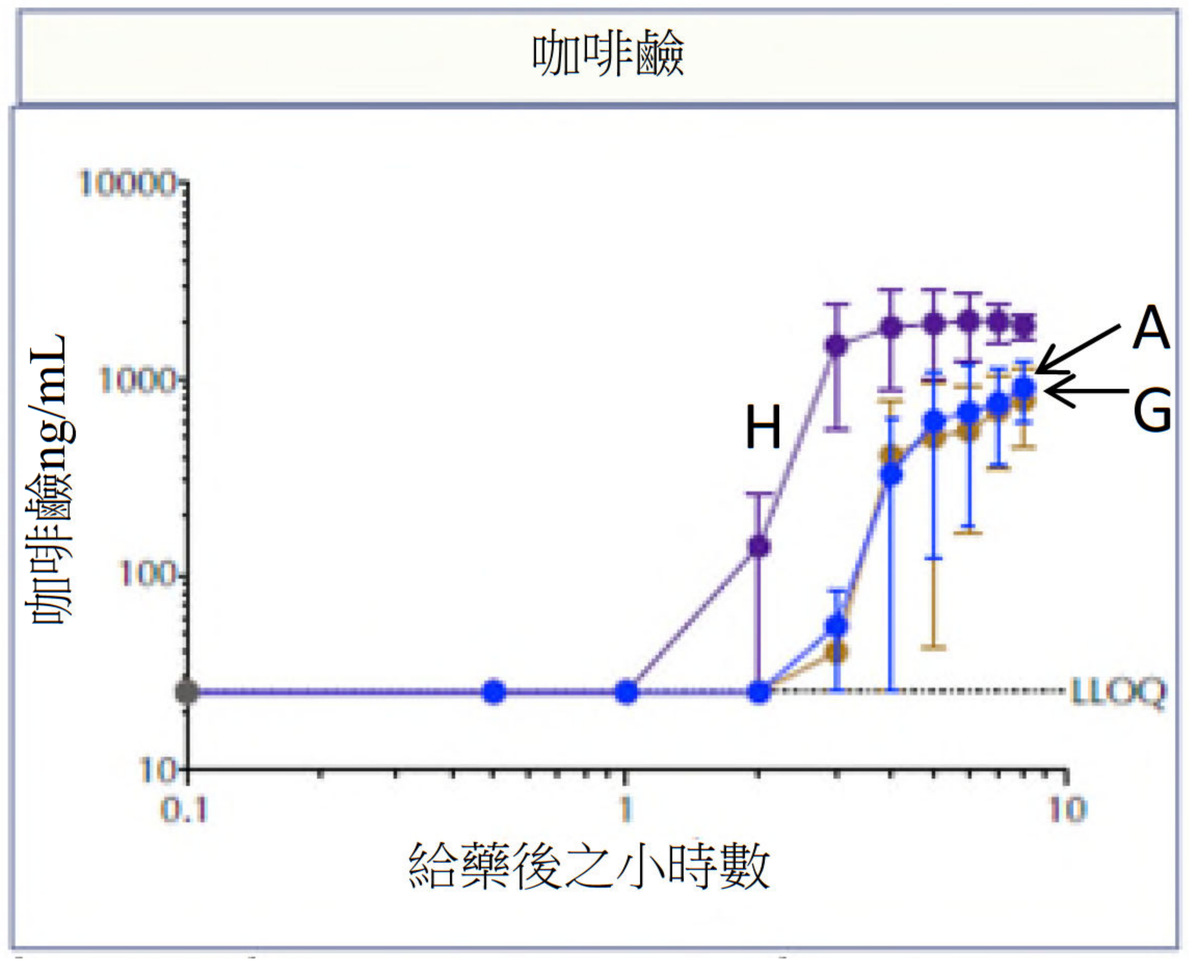
【圖15B】



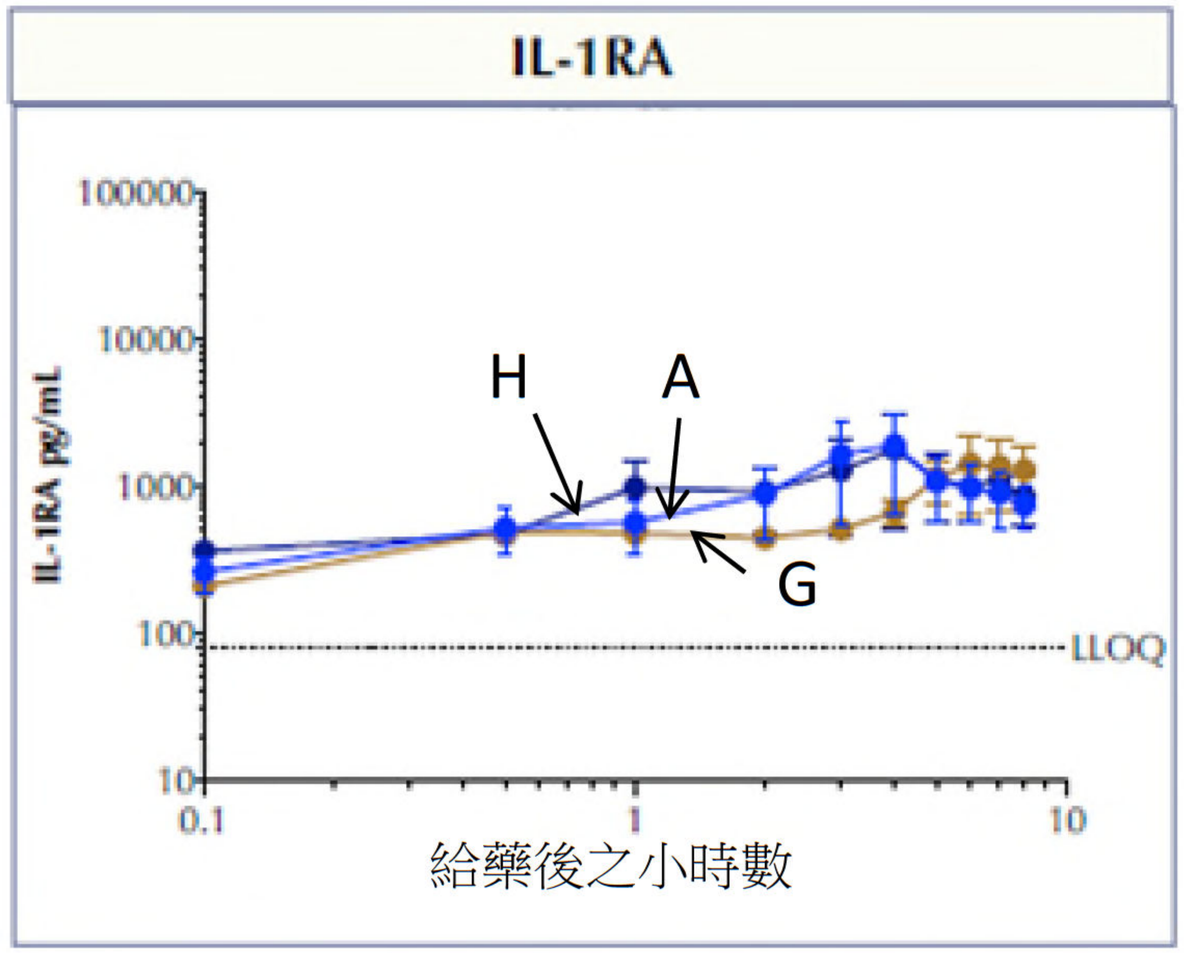
【圖15C】



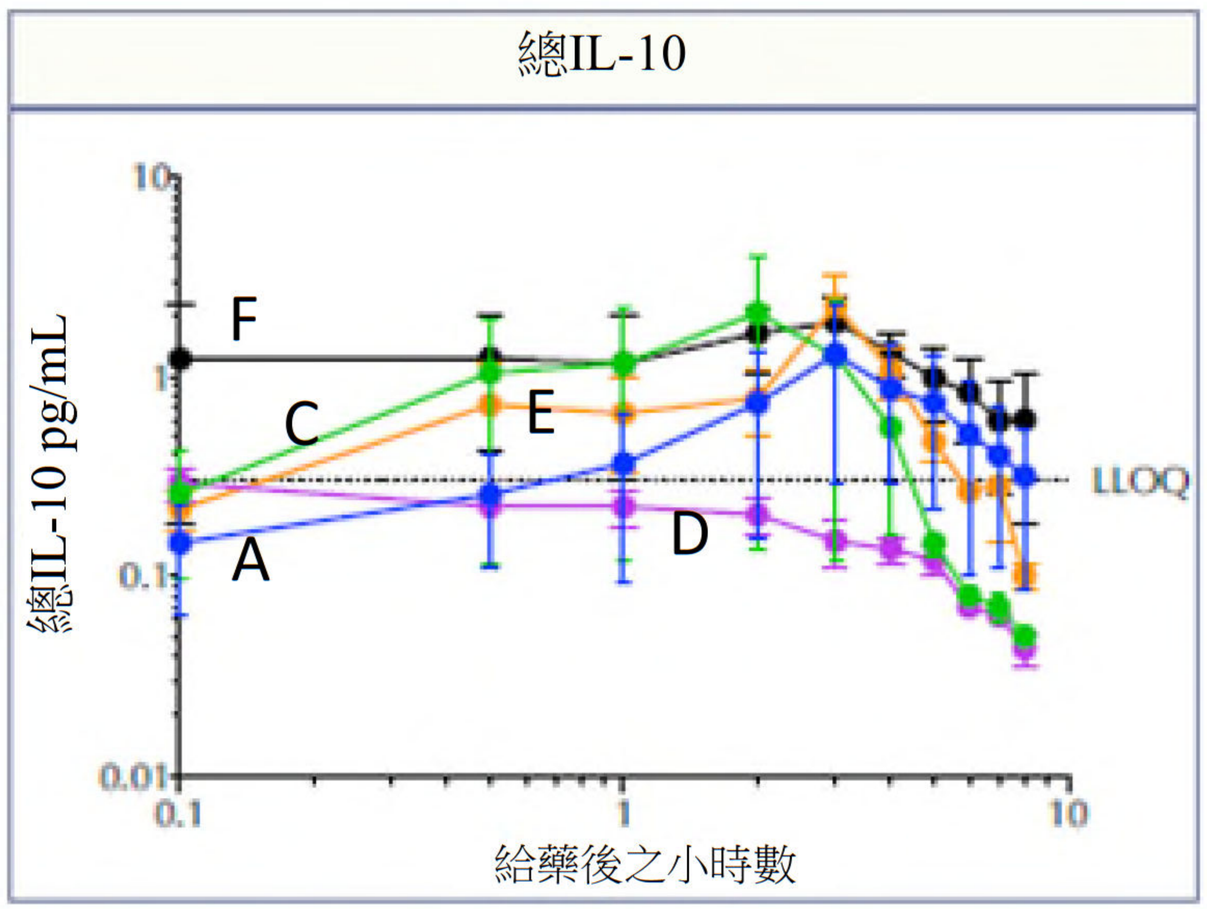
【圖16A】



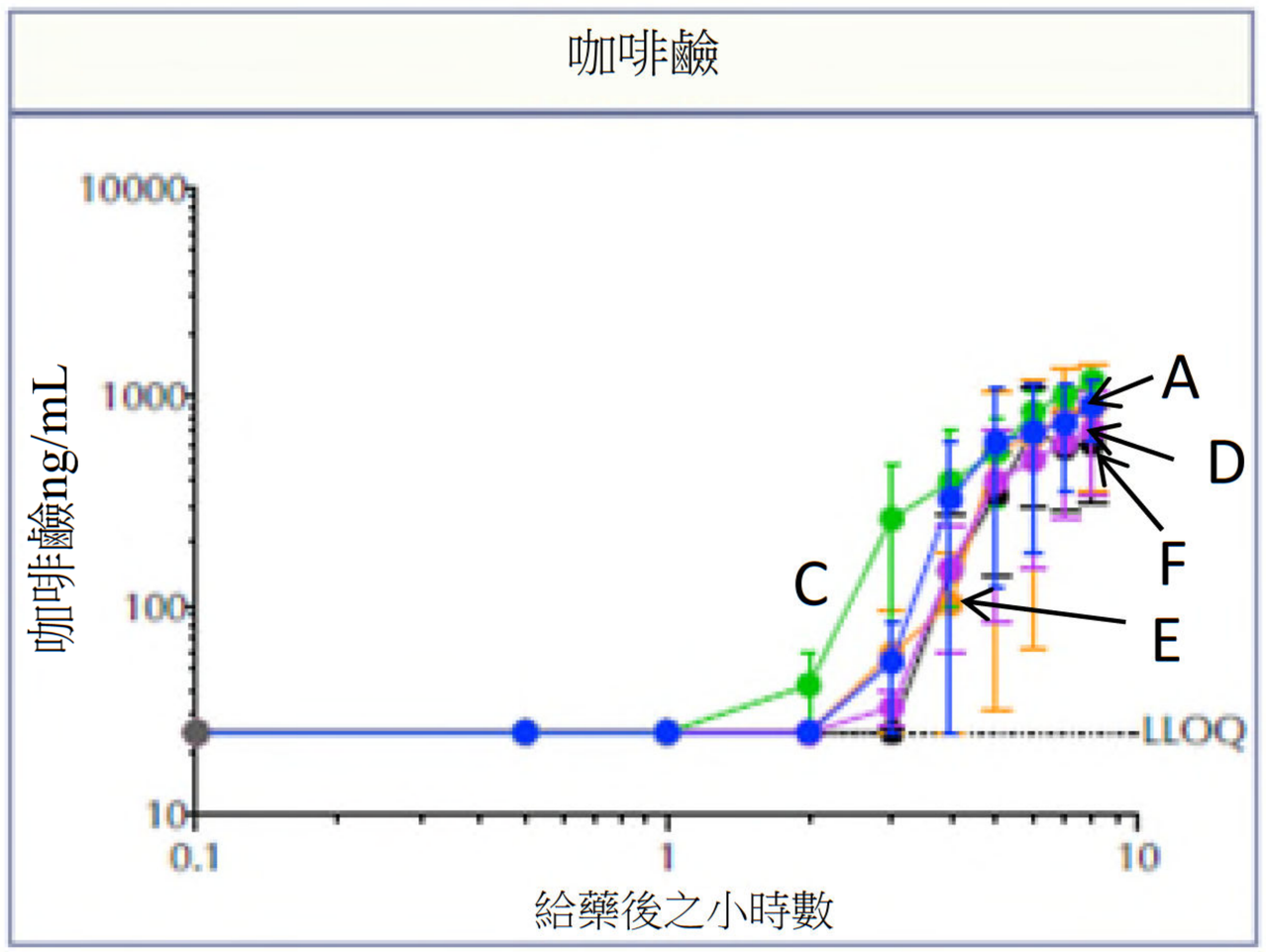
【圖16B】



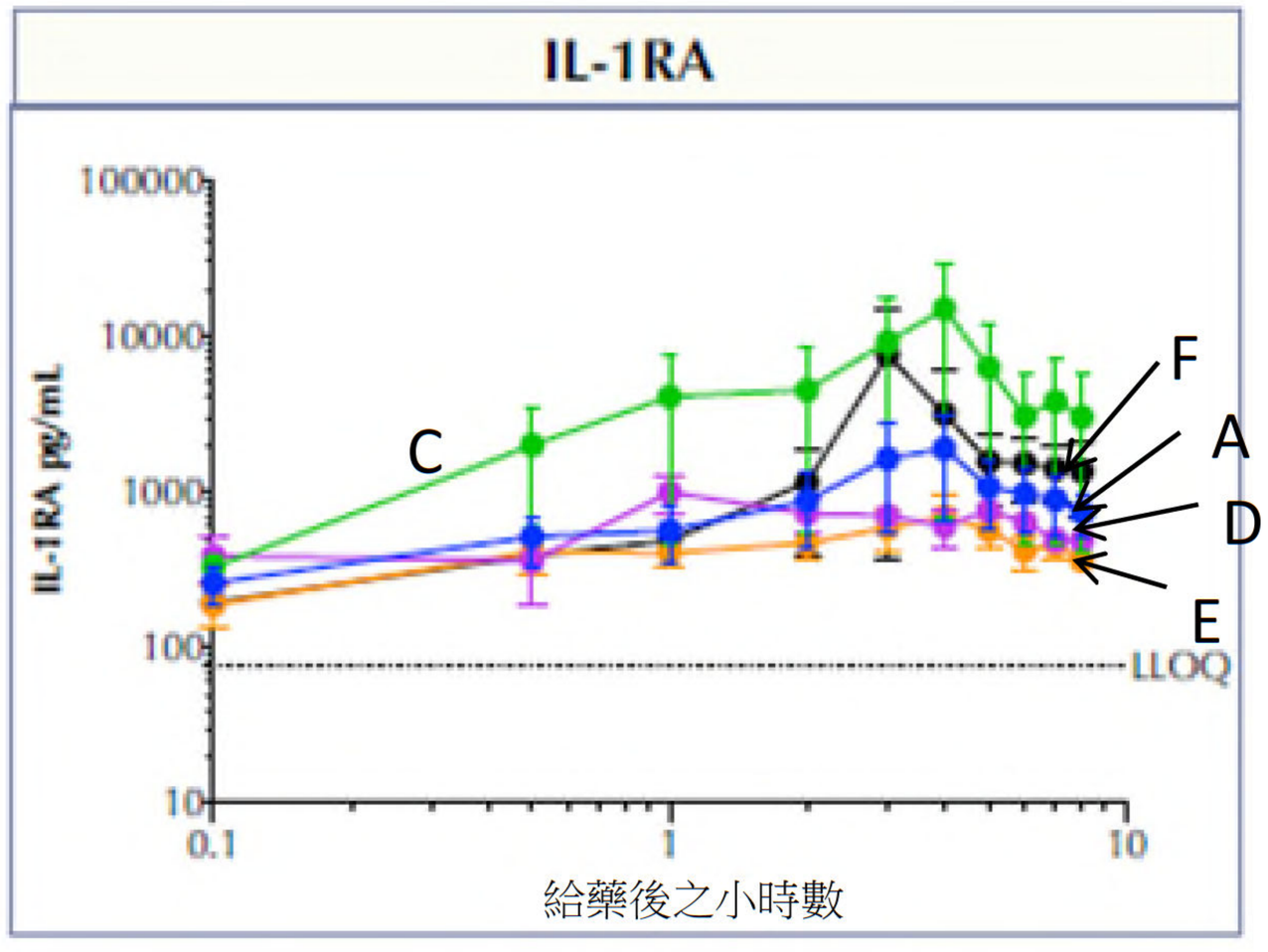
【圖16C】



【圖17A】

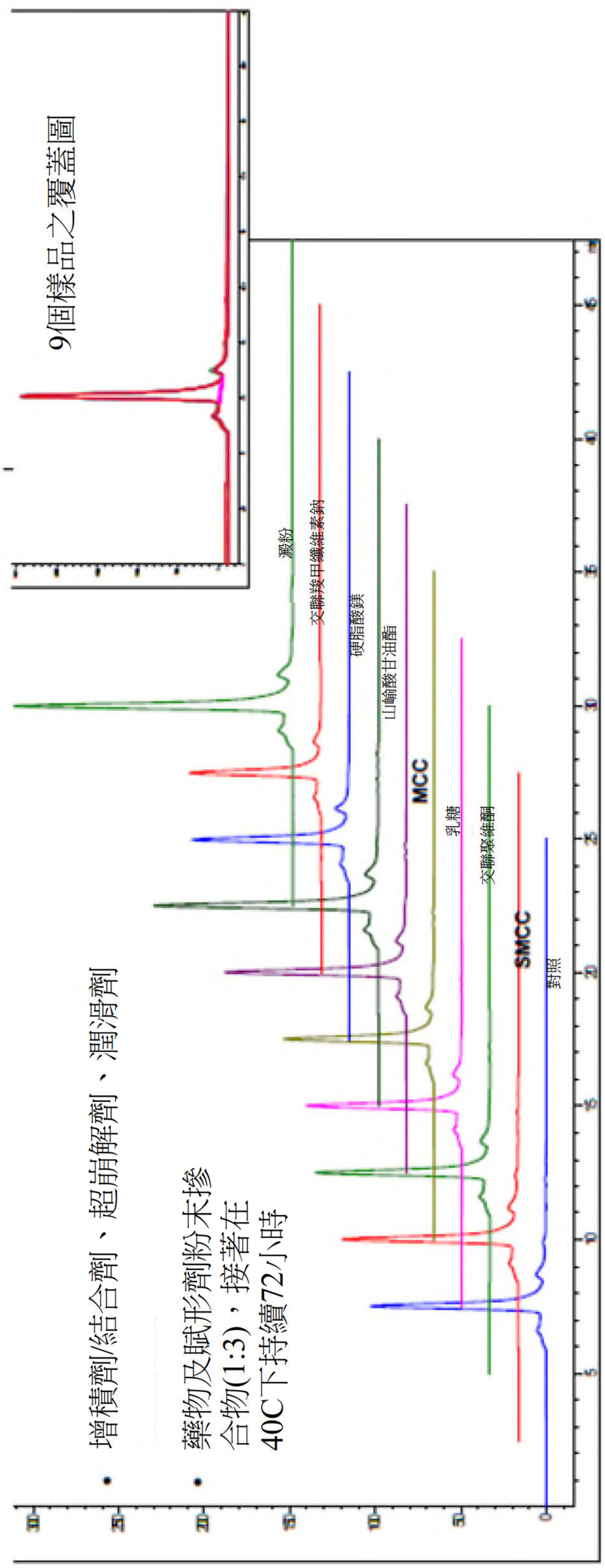


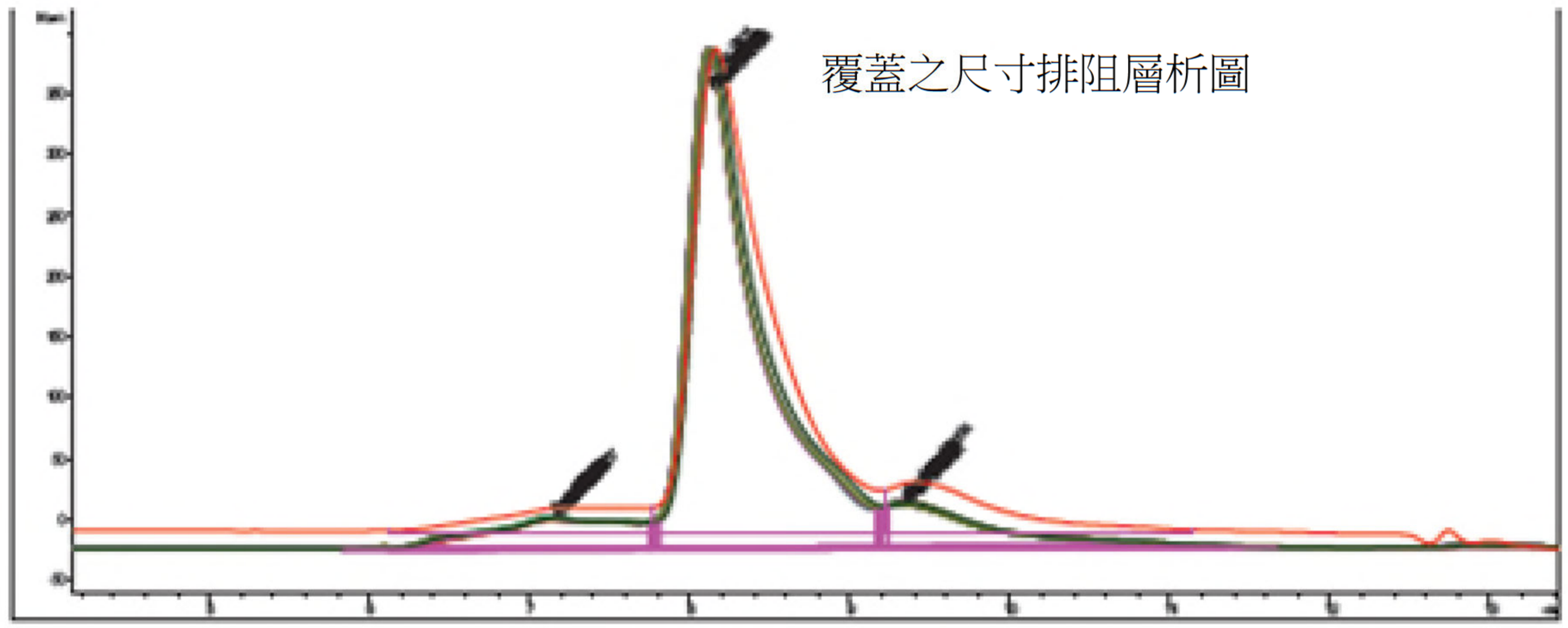
【圖17B】



【圖17C】

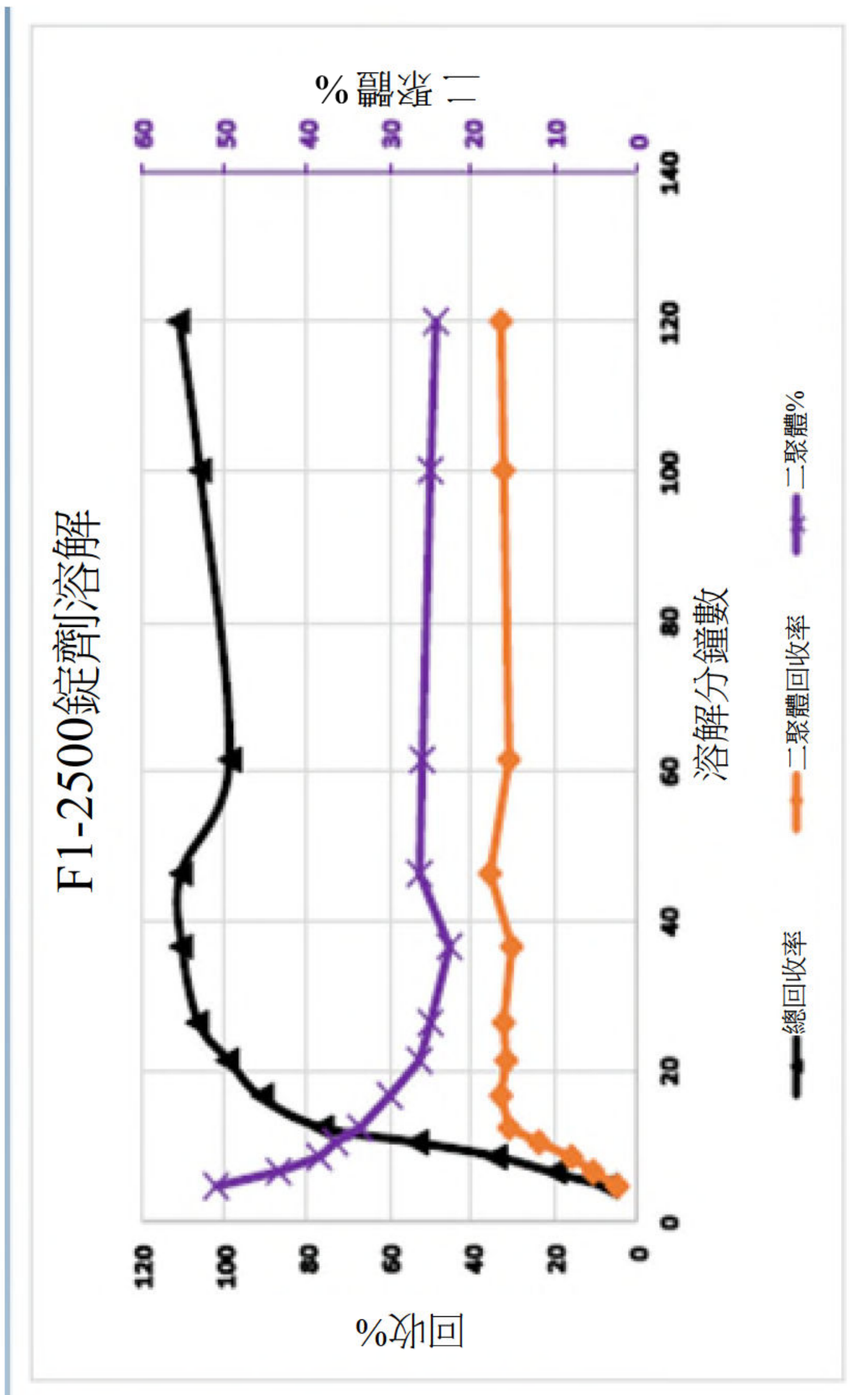
【圖18】


增稠劑/結合劑、超崩解劑、潤滑劑
藥物及賦形劑粉末摻合物(1:3)，接著在40C下持續72小時
9個樣品之覆蓋圖
澱粉
交聯羧甲纖維素鈉
硬脂酸鎂
山嵛酸甘油酯
MCC
乳糖
交聯聚維酮
SMCC
對照

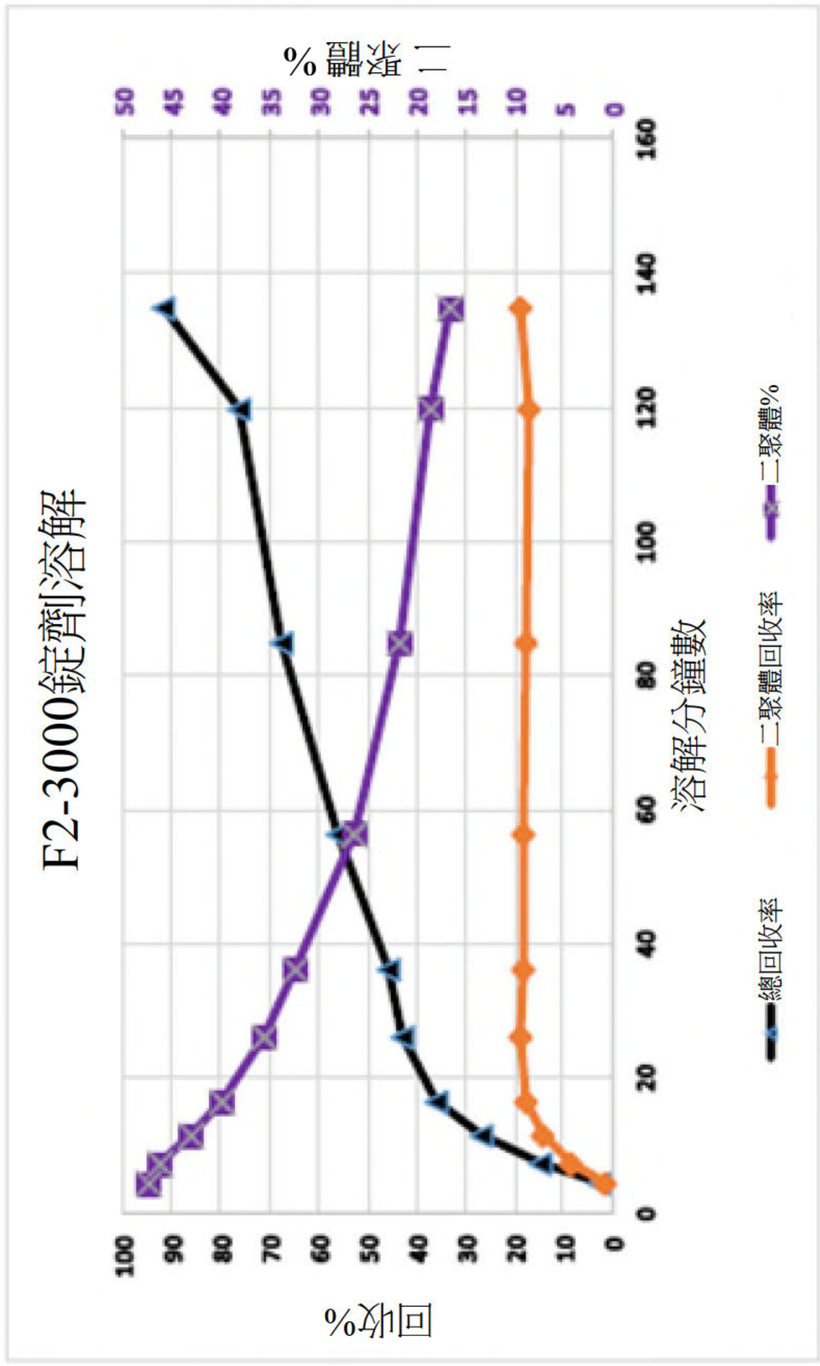


固體劑量壓縮	對照	預摻合	條帶低密度	條帶高密度	顆粒低密度	顆粒高密度	Cleo錠劑
F1配方	79.5	81.3	79.2	79.5	79.6	78.5	73.9
F2配方	79.5	78.9	78.4	79.2	79.5	78.5	69.4

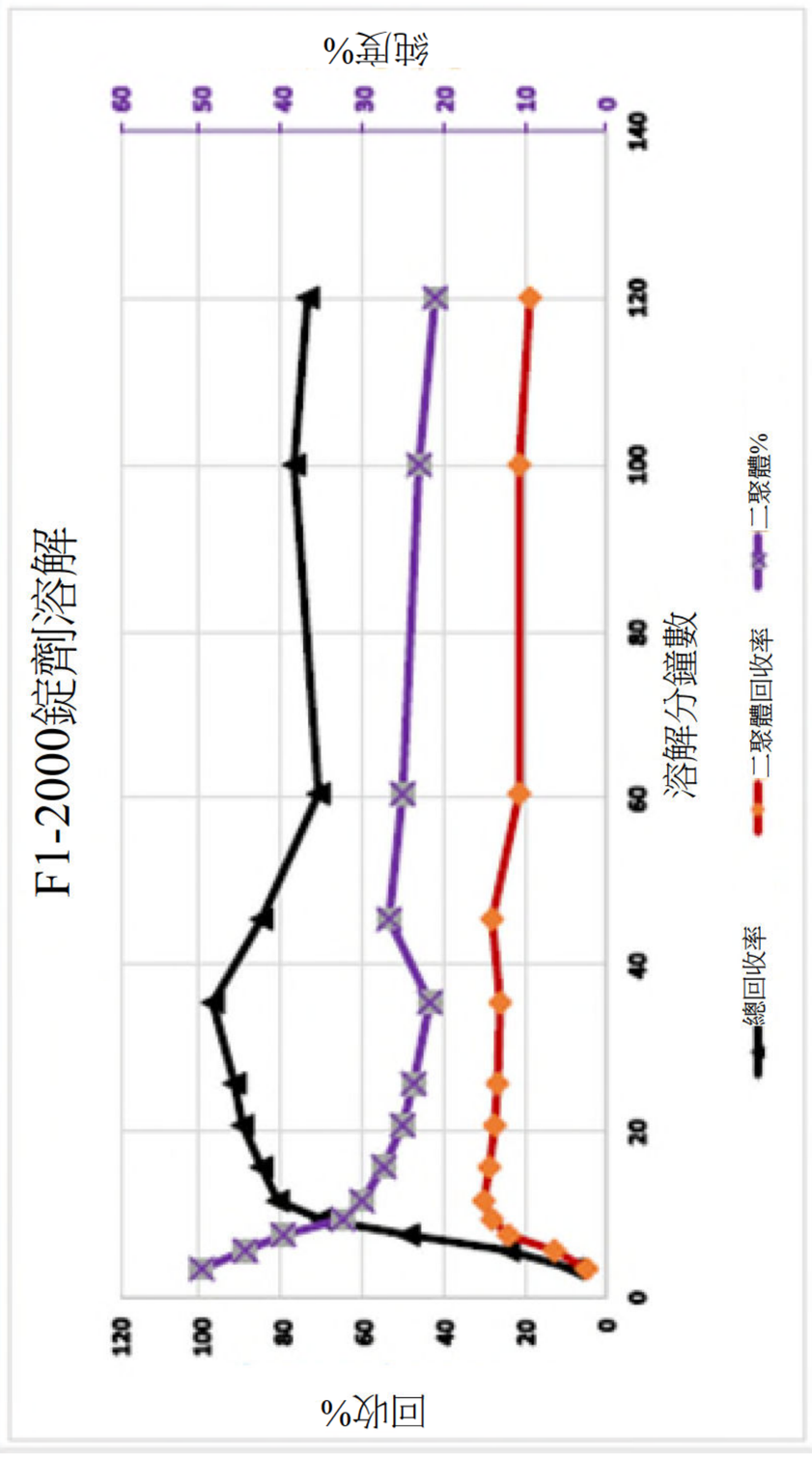
【圖19】



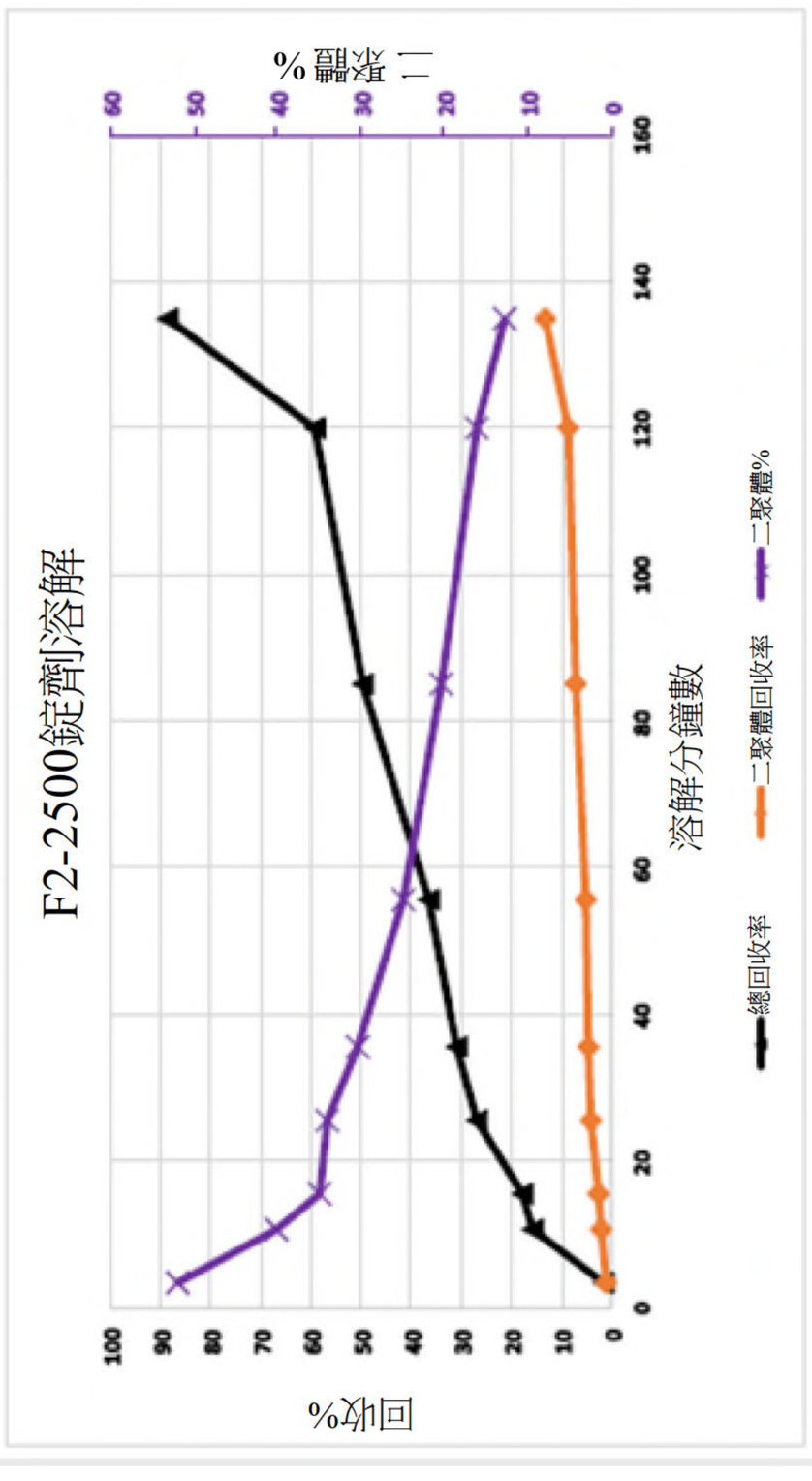
【圖20B】



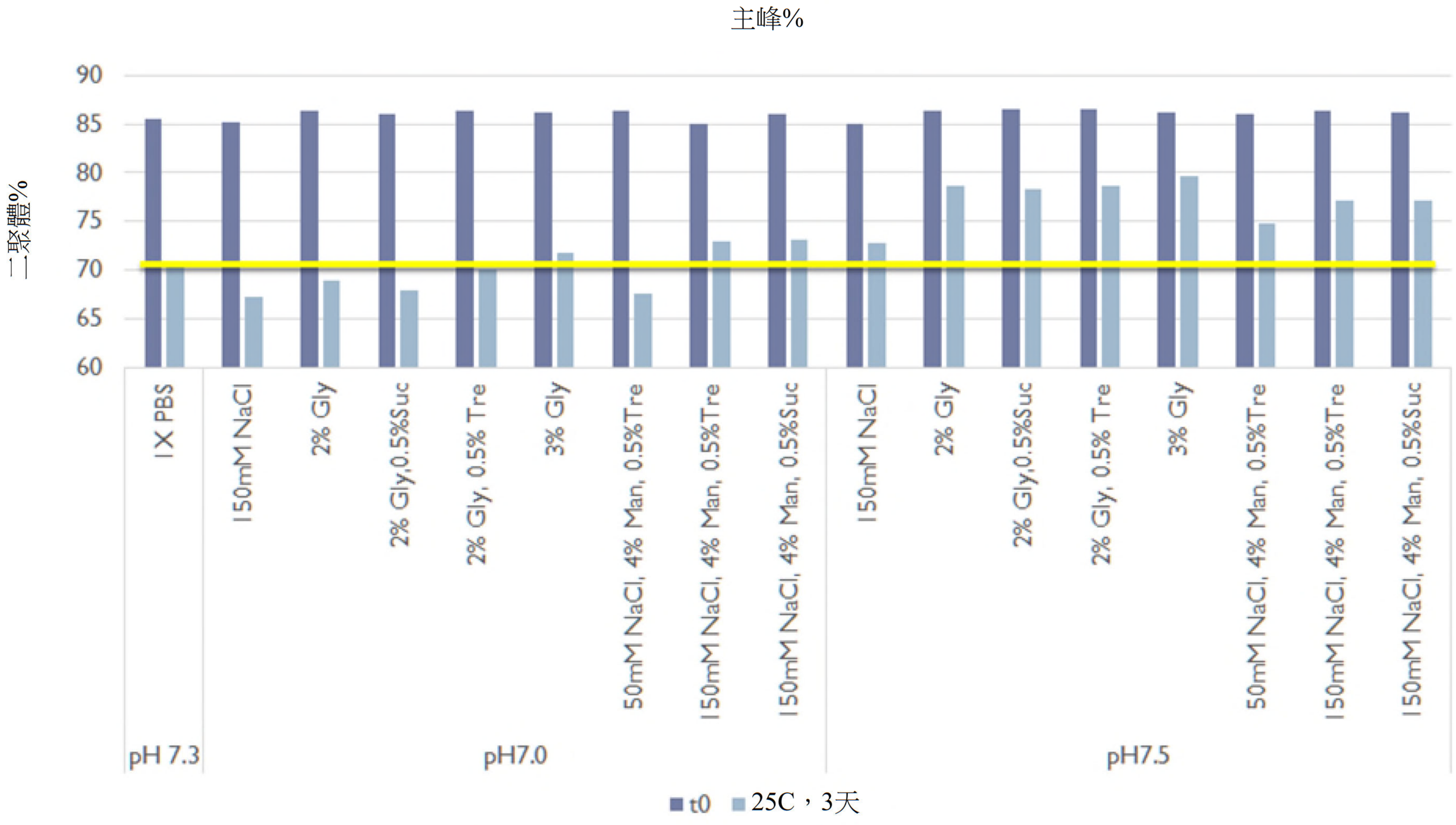
【圖20D】



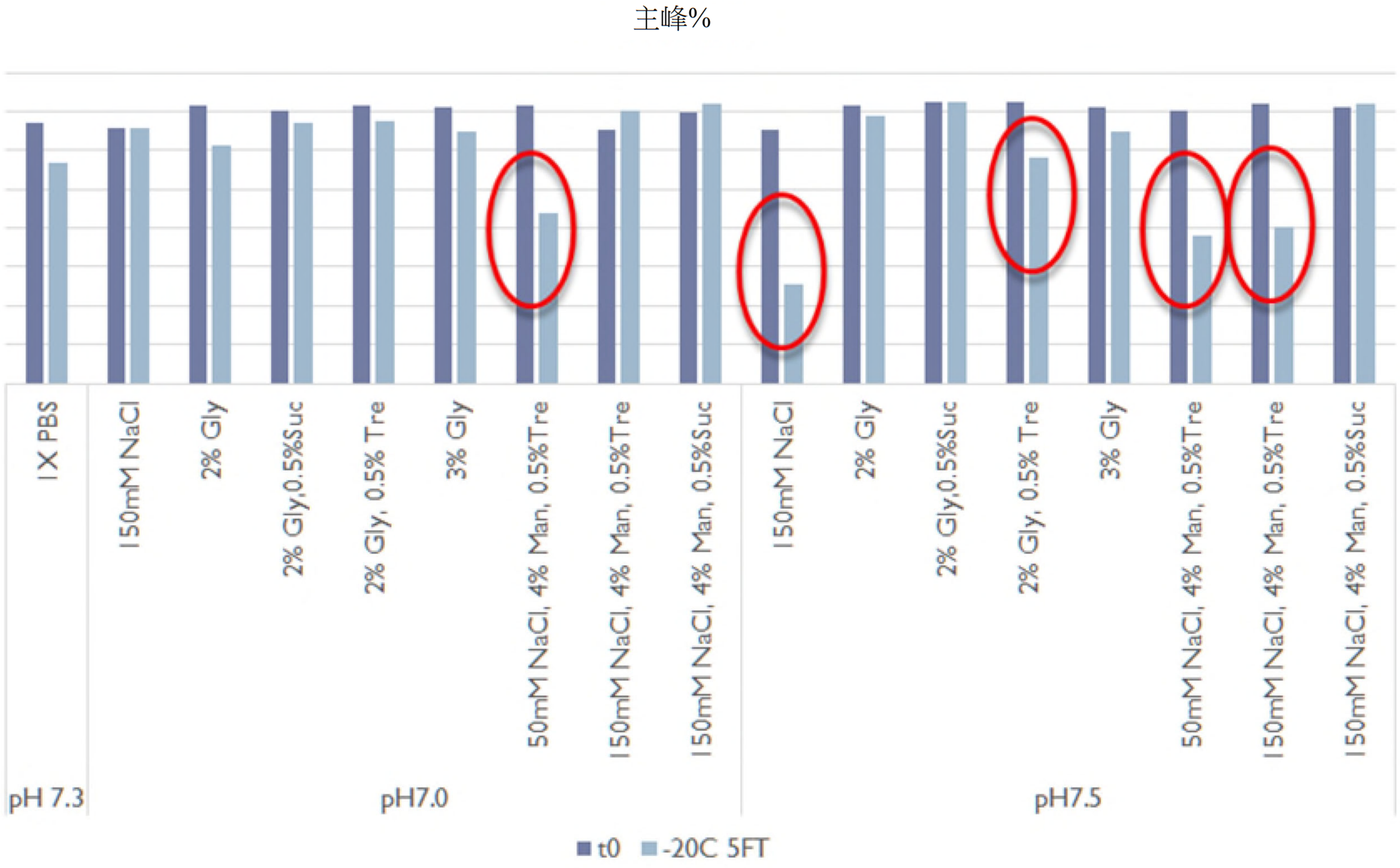
【圖20A】



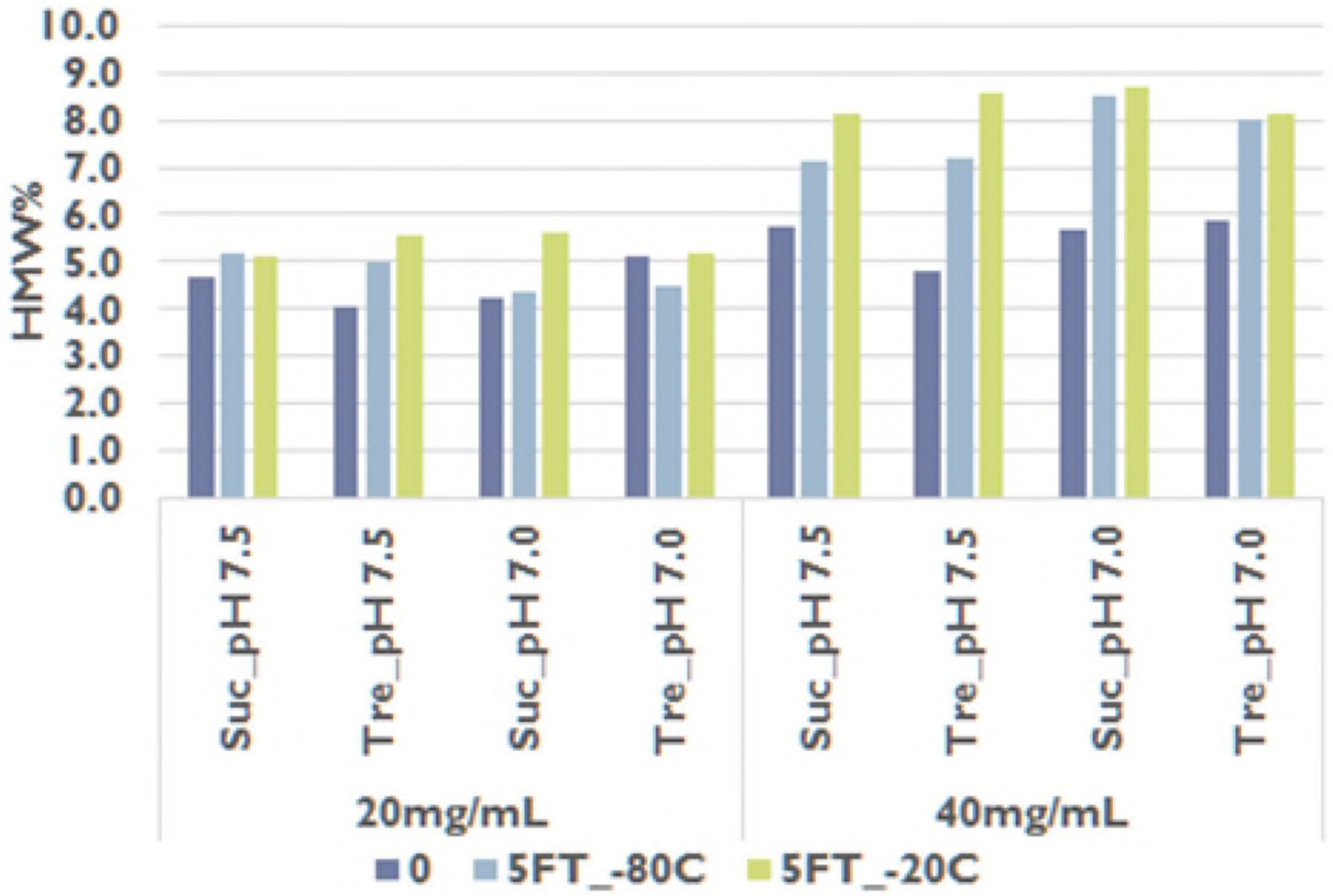
【圖20C】


主峰%
二聚體%
90
85
80
75
70
65
60
pH 7.3
pH7.0
pH7.5
1X PBS
150mM NaCl
2% Gly
2% Gly,0.5%Suc
2% Gly, 0.5% Tre
3% Gly
50mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Suc
t0
25C，3天

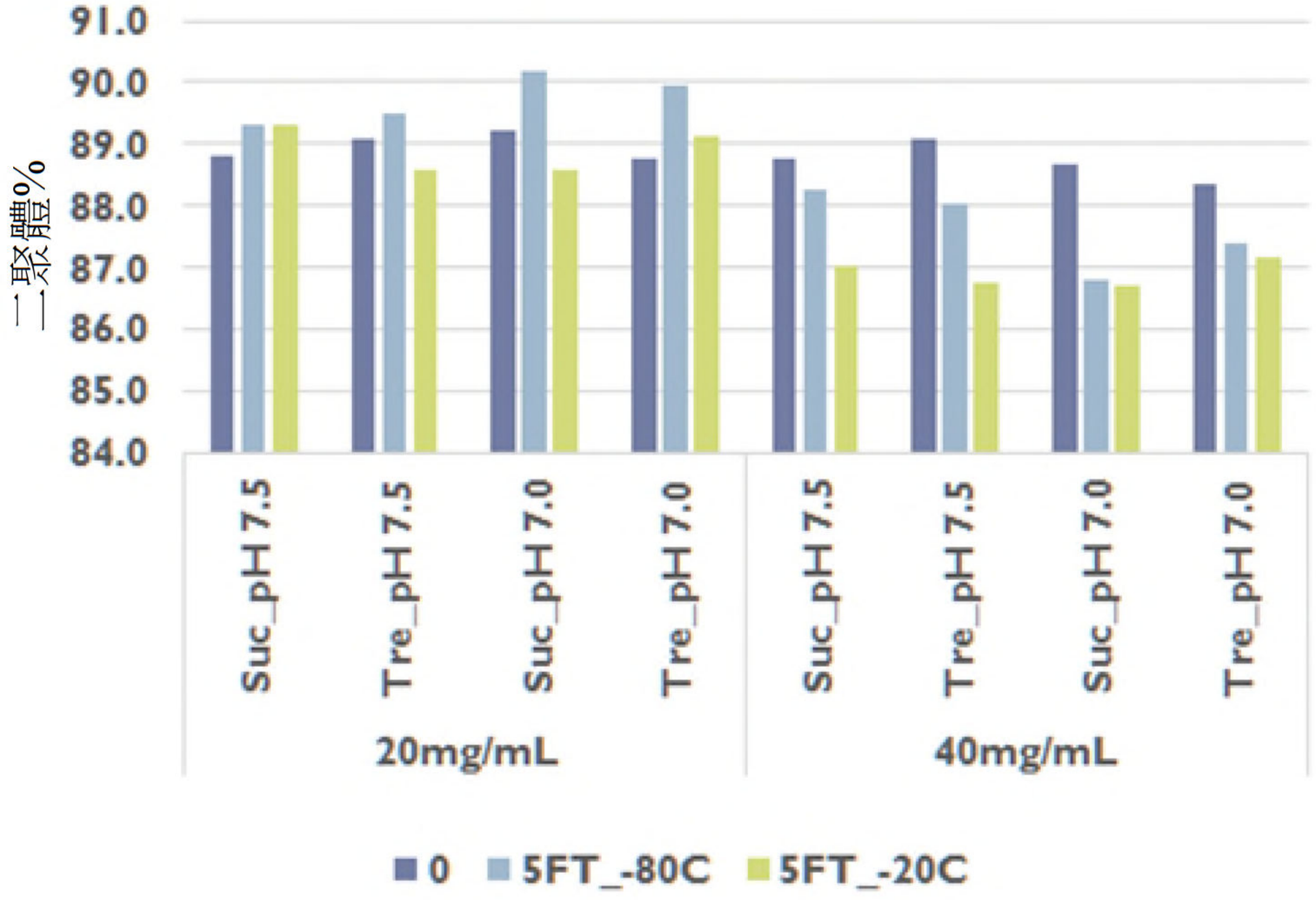
【圖21】


主峰%
88.0
86.0
84.0
82.0
80.0
78.0
76.0
74.0
72.0
1X PBS
150mM NaCl
2% Gly
2% Gly,0.5%Suc
2% Gly, 0.5% Tre
3% Gly
50mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Suc
150mM NaCl
2% Gly
2% Gly,0.5%Suc
2% Gly, 0.5% Tre
3% Gly
50mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Tre
150mM NaCl, 4% Man, 0.5%Suc
pH 7.3
pH7.0
pH7.5
t0
-20C 5FT

【圖22】

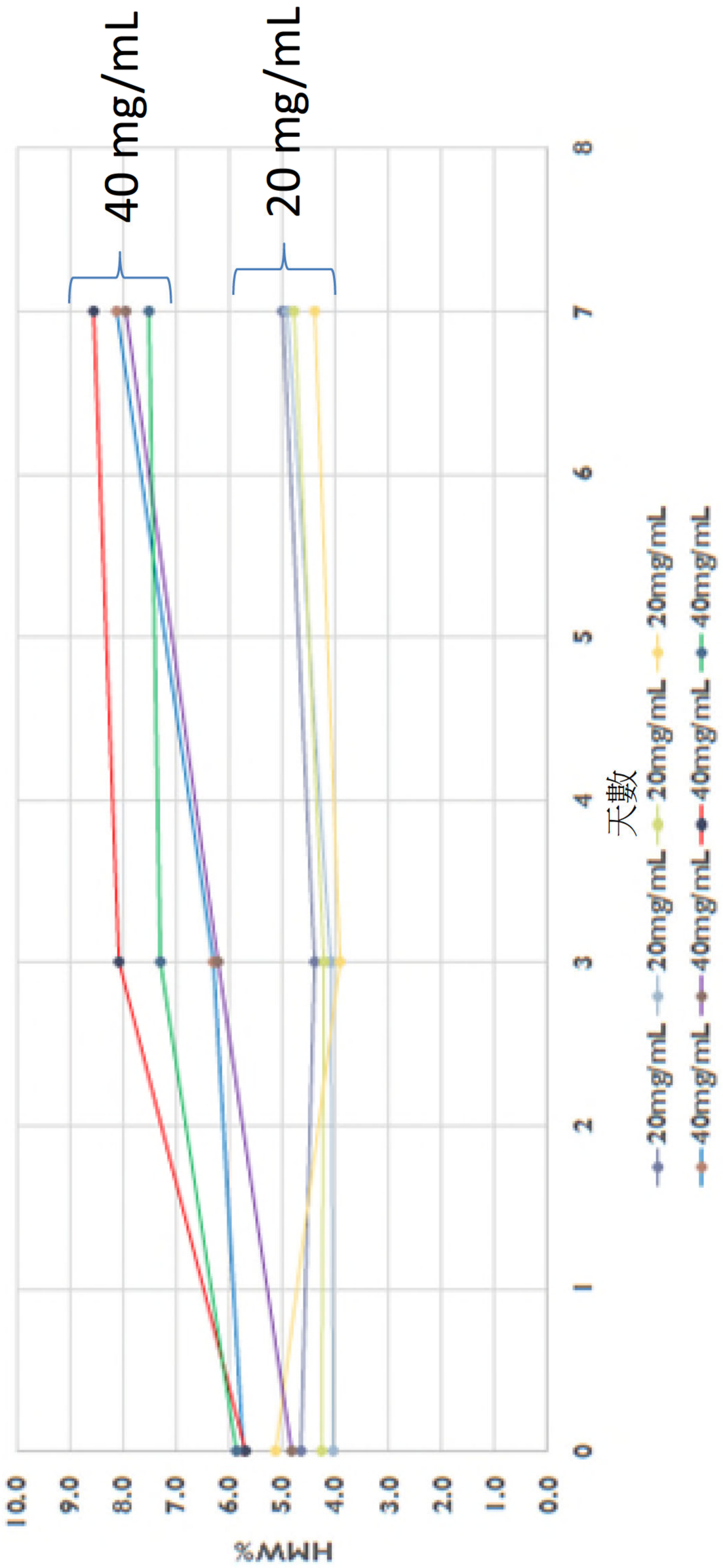


【圖23A】

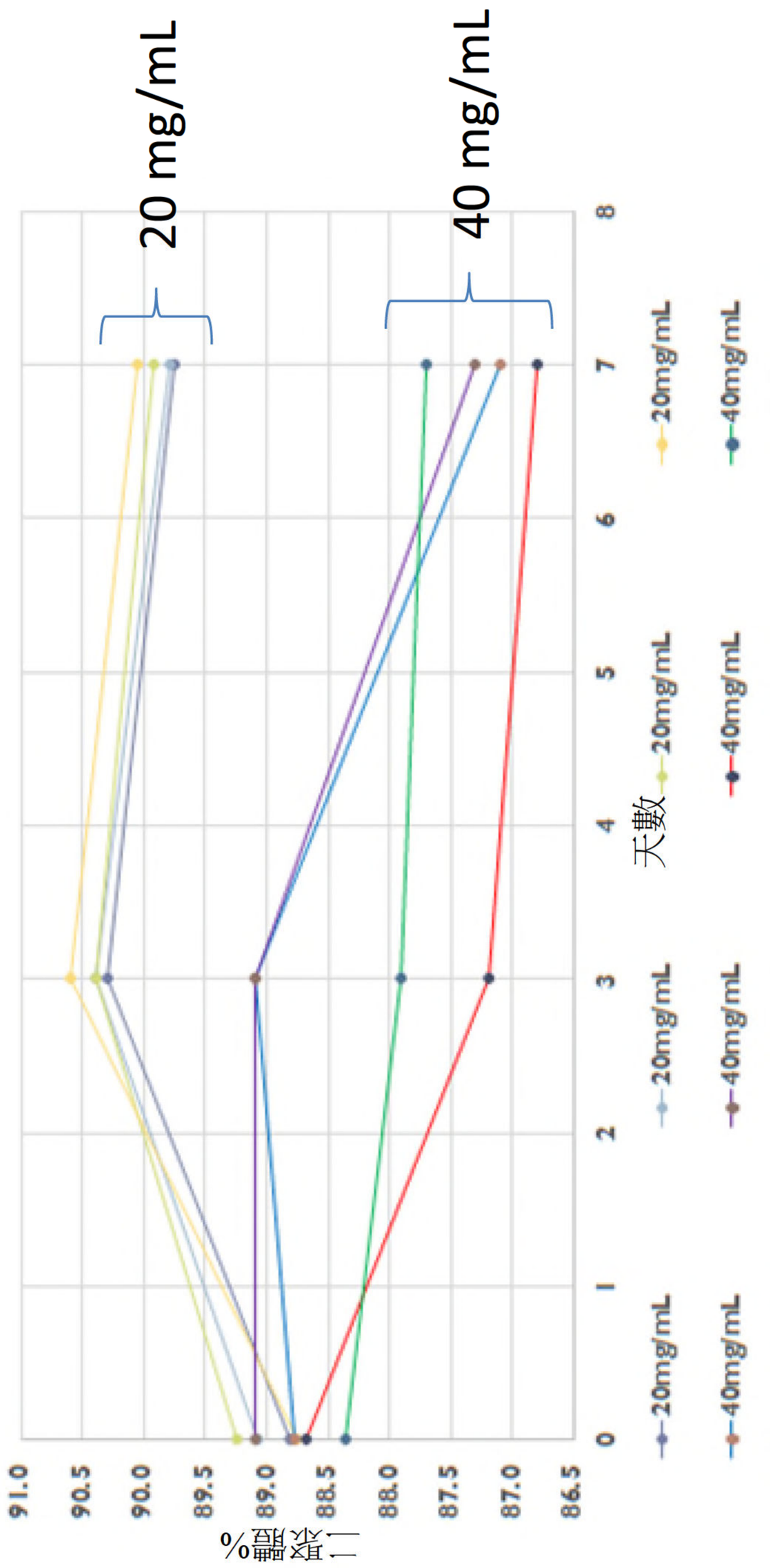


【圖23B】

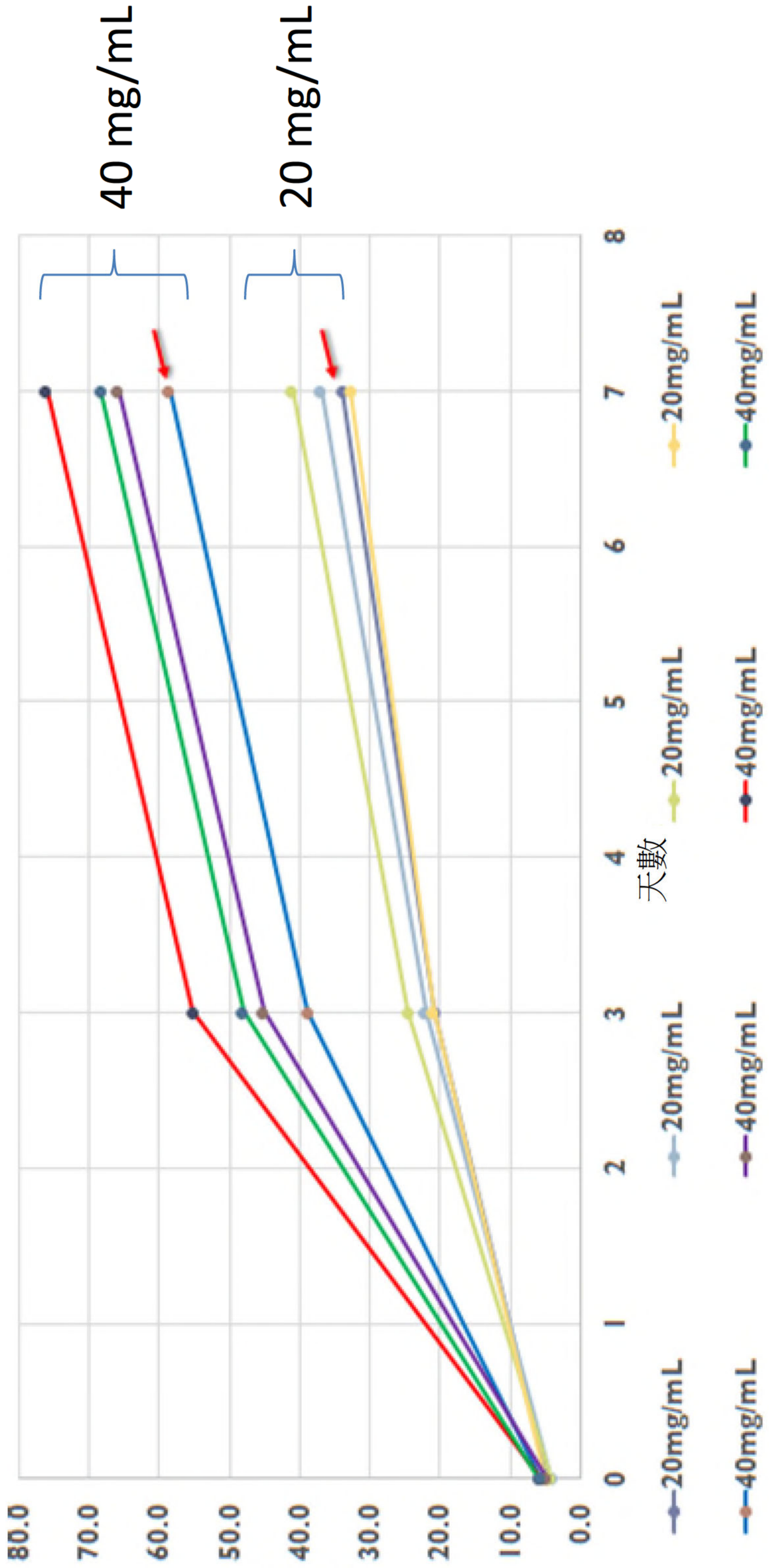
110年2月5日 修正日 20210521


40 mg/mL
20 mg/mL
%MWH
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
天數
0
1
2
3
4
5
6
7
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL

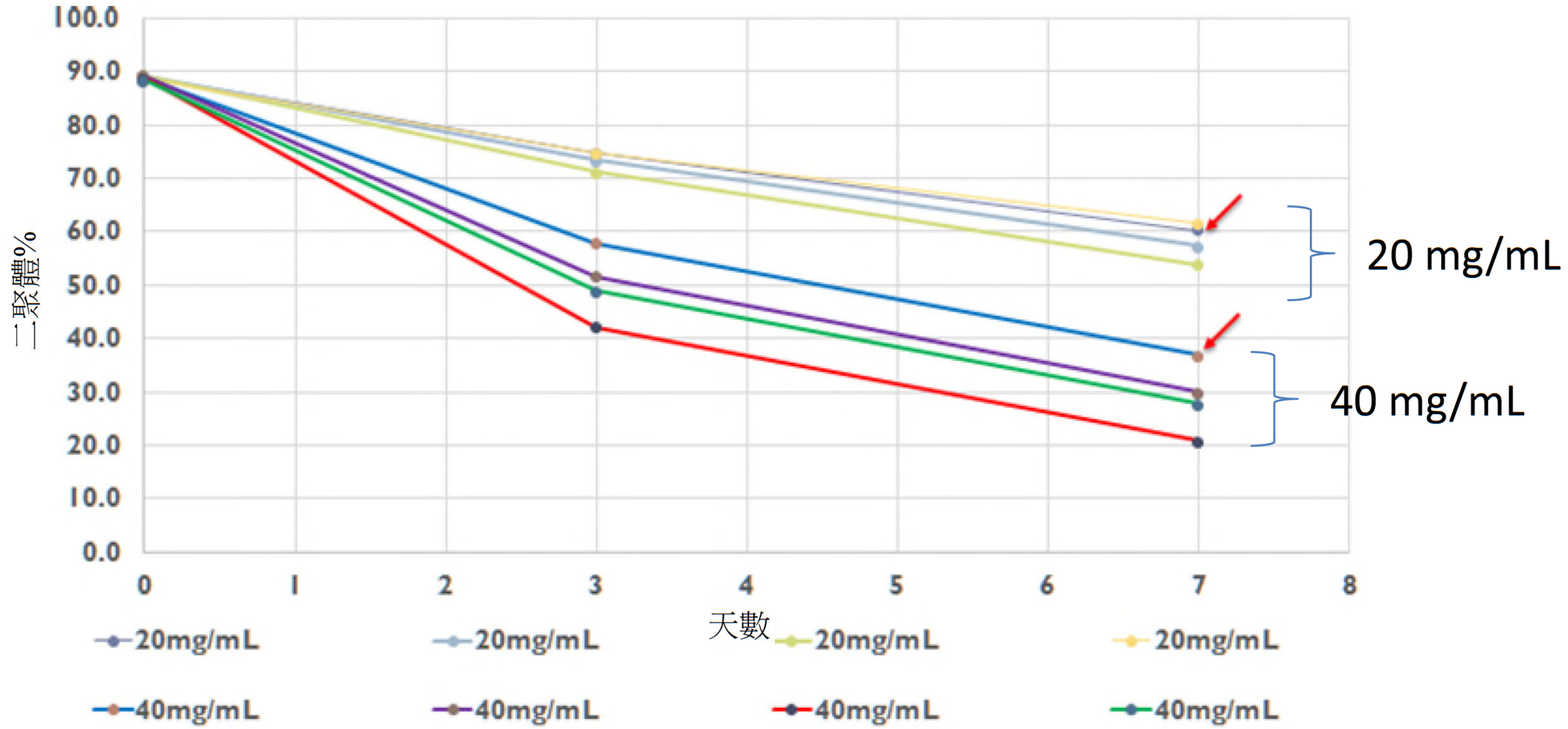
【圖24A】


20 mg/mL
40 mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
天數
二聚體%
91.0
90.5
90.0
89.5
89.0
88.5
88.0
87.5
87.0
86.5
0
1
2
3
4
5
6
7
8

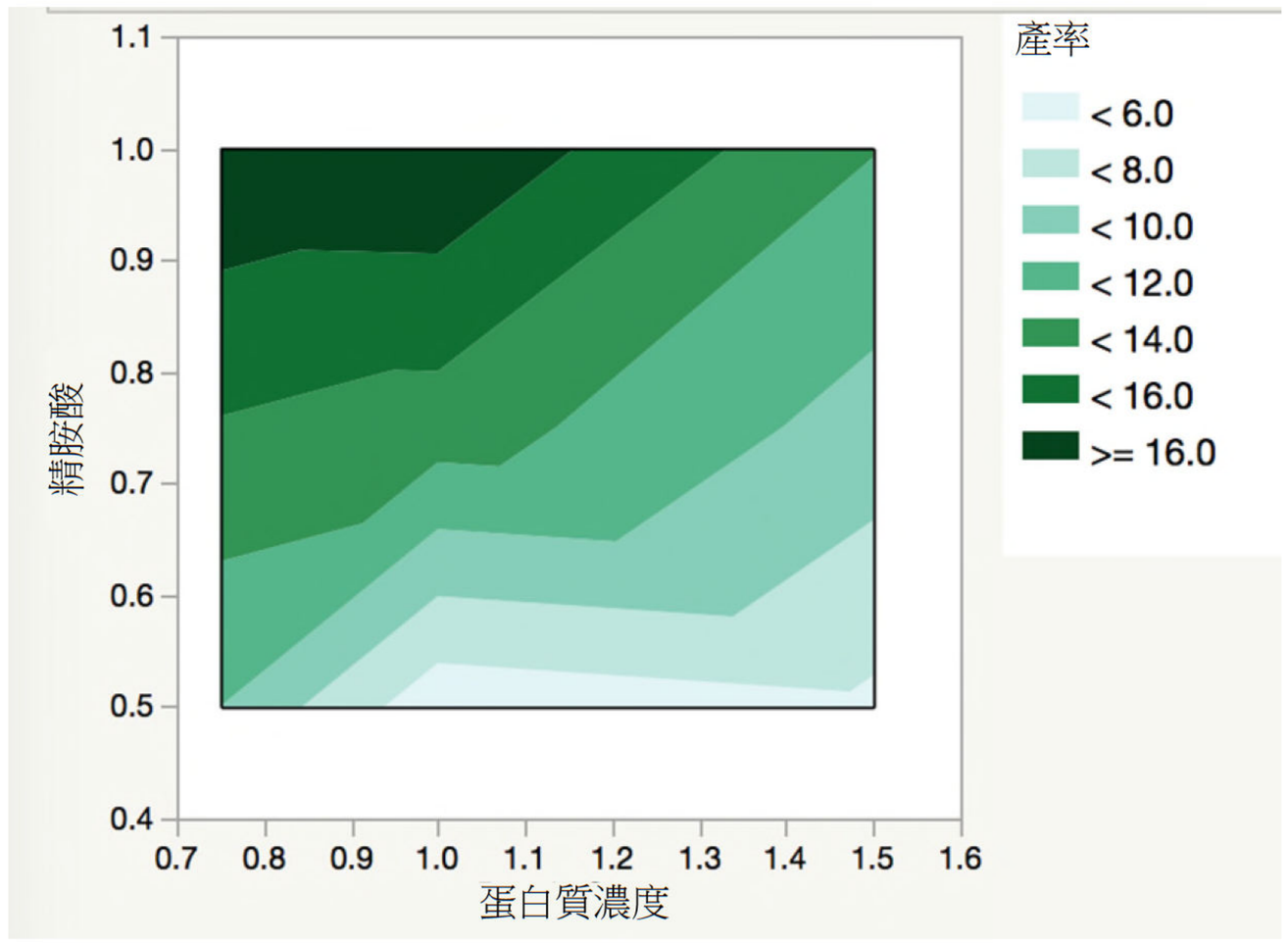
【圖24B】


40 mg/mL
20 mg/mL
%MWH
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
天數
0
1
2
3
4
5
6
7
8
20mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
20mg/mL
40mg/mL

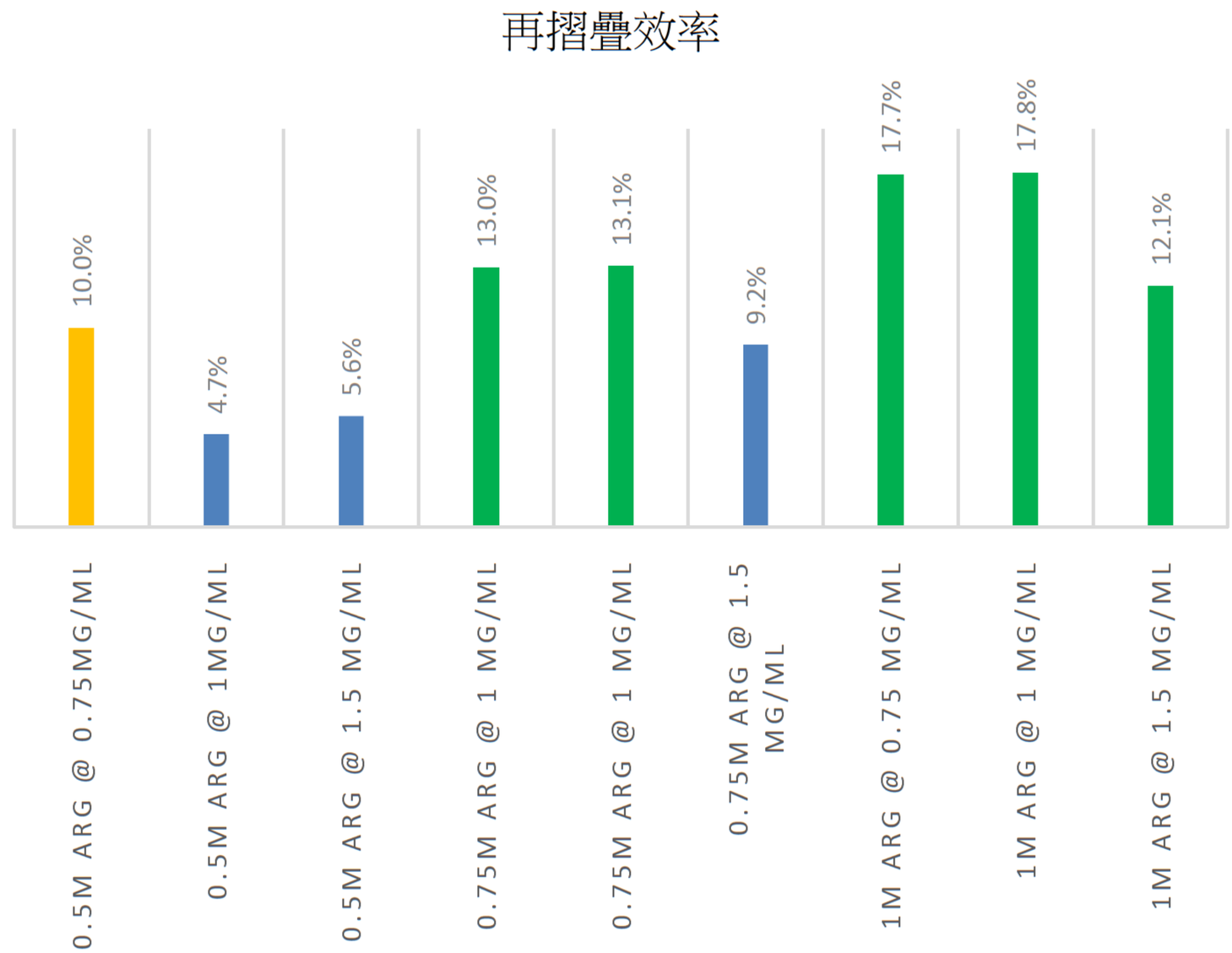
【圖24C】


100.0
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
二聚體%
0
1
2
3
4
5
6
7
8
天數
20 mg/mL
40 mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
20mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
40mg/mL
40mg/mL

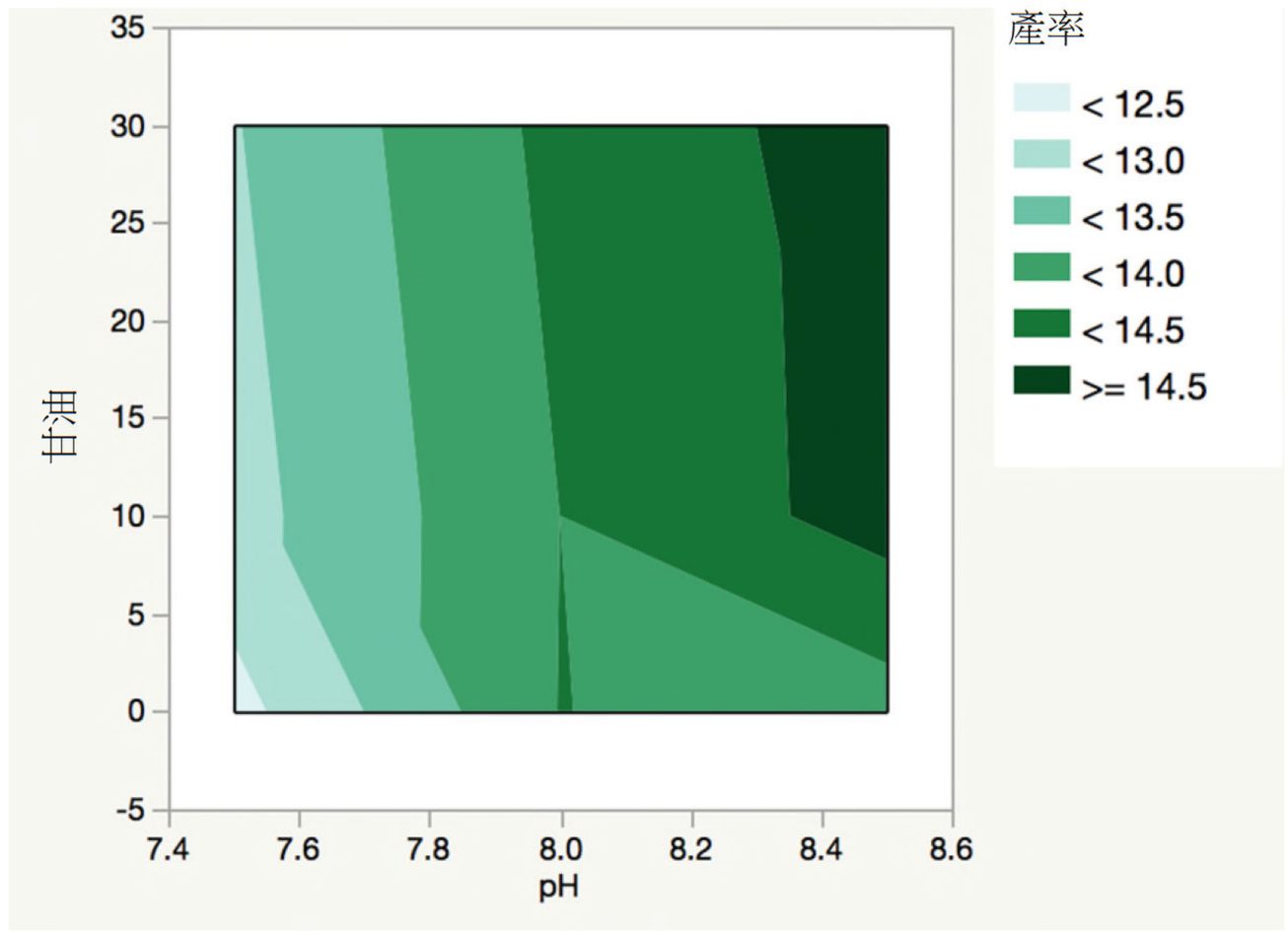
【圖24D】


精胺酸
蛋白質濃度
產率
< 6.0
< 8.0
< 10.0
< 12.0
< 14.0
< 16.0
>= 16.0
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.7
0.8
0.9
1.0
1.1
1.2
1.3
1.4
1.5
1.6

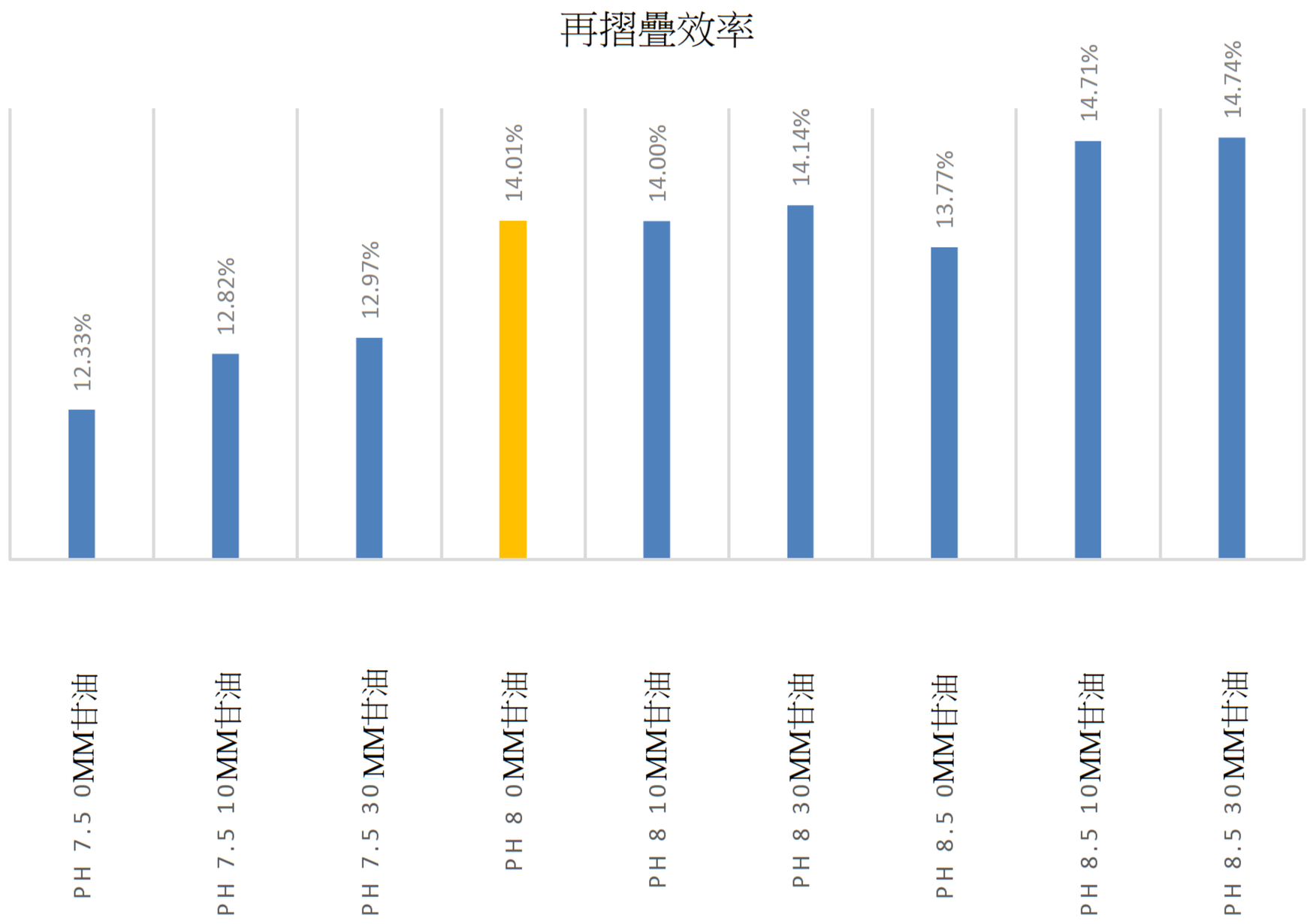
【圖25A】


再摺疊效率
10.0%
4.7%
5.6%
13.0%
13.1%
9.2%
17.7%
17.8%
12.1%
0.5M ARG @ 0.75MG/ML
0.5M ARG @ 1MG/ML
0.5M ARG @ 1.5 MG/ML
0.75M ARG @ 1 MG/ML
0.75M ARG @ 1 MG/ML
0.75M ARG @ 1.5 MG/ML
1M ARG @ 0.75 MG/ML
1M ARG @ 1 MG/ML
1M ARG @ 1.5 MG/ML

【圖25B】

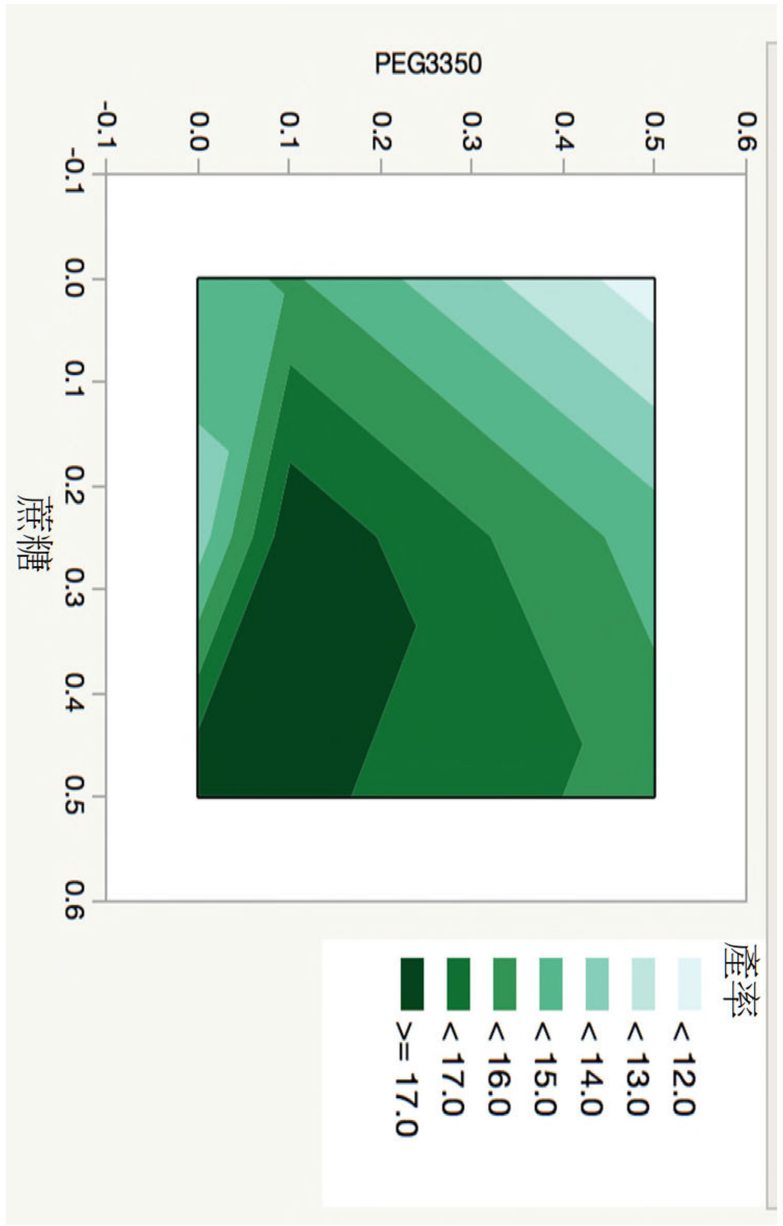

產率
< 12.5
< 13.0
< 13.5
< 14.0
< 14.5
>= 14.5
甘油
pH
35
30
25
20
15
10
5
0
-5
7.4
7.6
7.8
8.0
8.2
8.4
8.6

【圖26A】

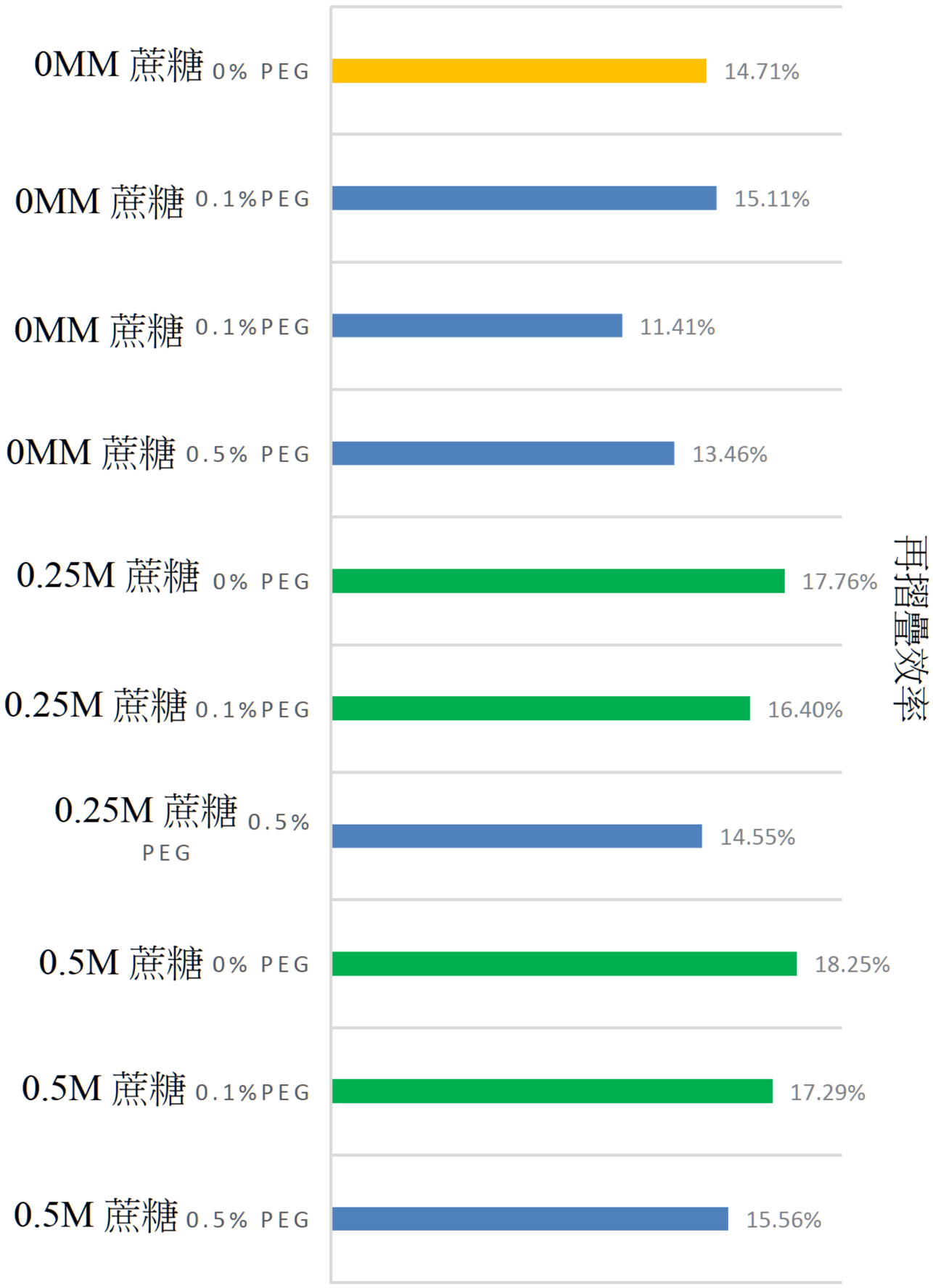

再摺疊效率
12.33%
12.82%
12.97%
14.01%
14.00%
14.14%
13.77%
14.71%
14.74%
PH 7.5 0MM甘油
PH 7.5 10MM甘油
PH 7.5 30MM甘油
PH 8 0MM甘油
PH 8 10MM甘油
PH 8 30MM甘油
PH 8.5 0MM甘油
PH 8.5 10MM甘油
PH 8.5 30MM甘油

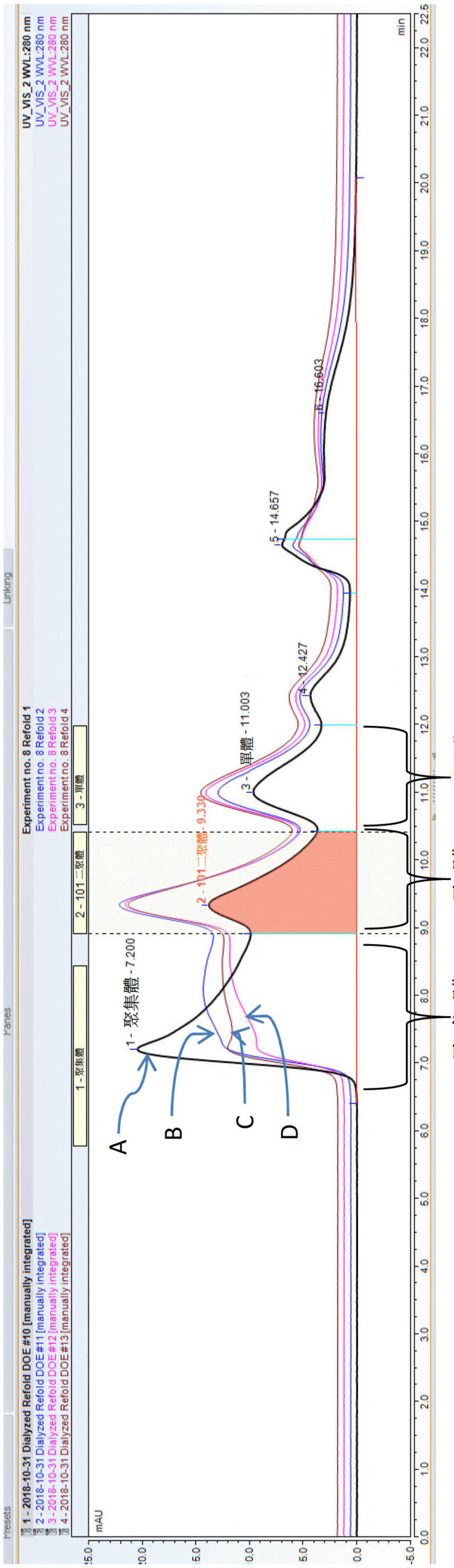
【圖26B】

【圖27A】

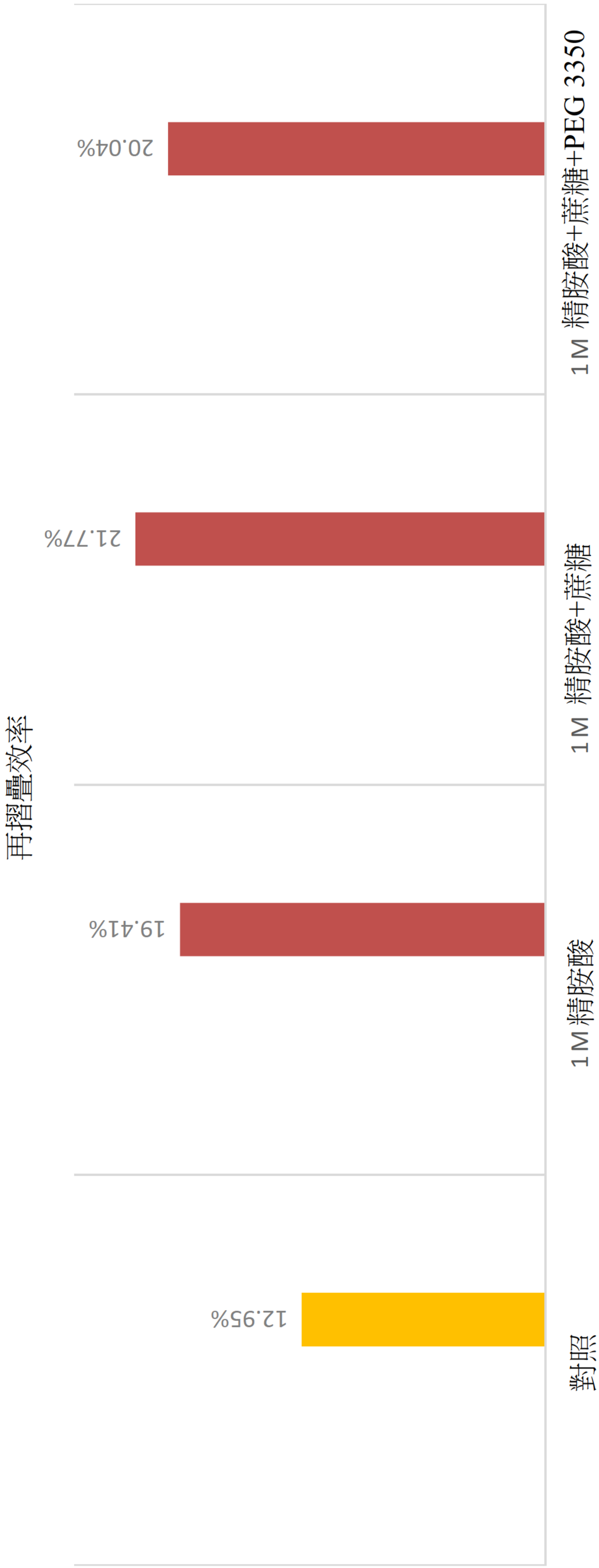

PEG3350
-0.1
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
蔗糖
產率
>= 17.0
< 17.0
< 16.0
< 15.0
< 14.0
< 13.0
< 12.0

【圖27B】

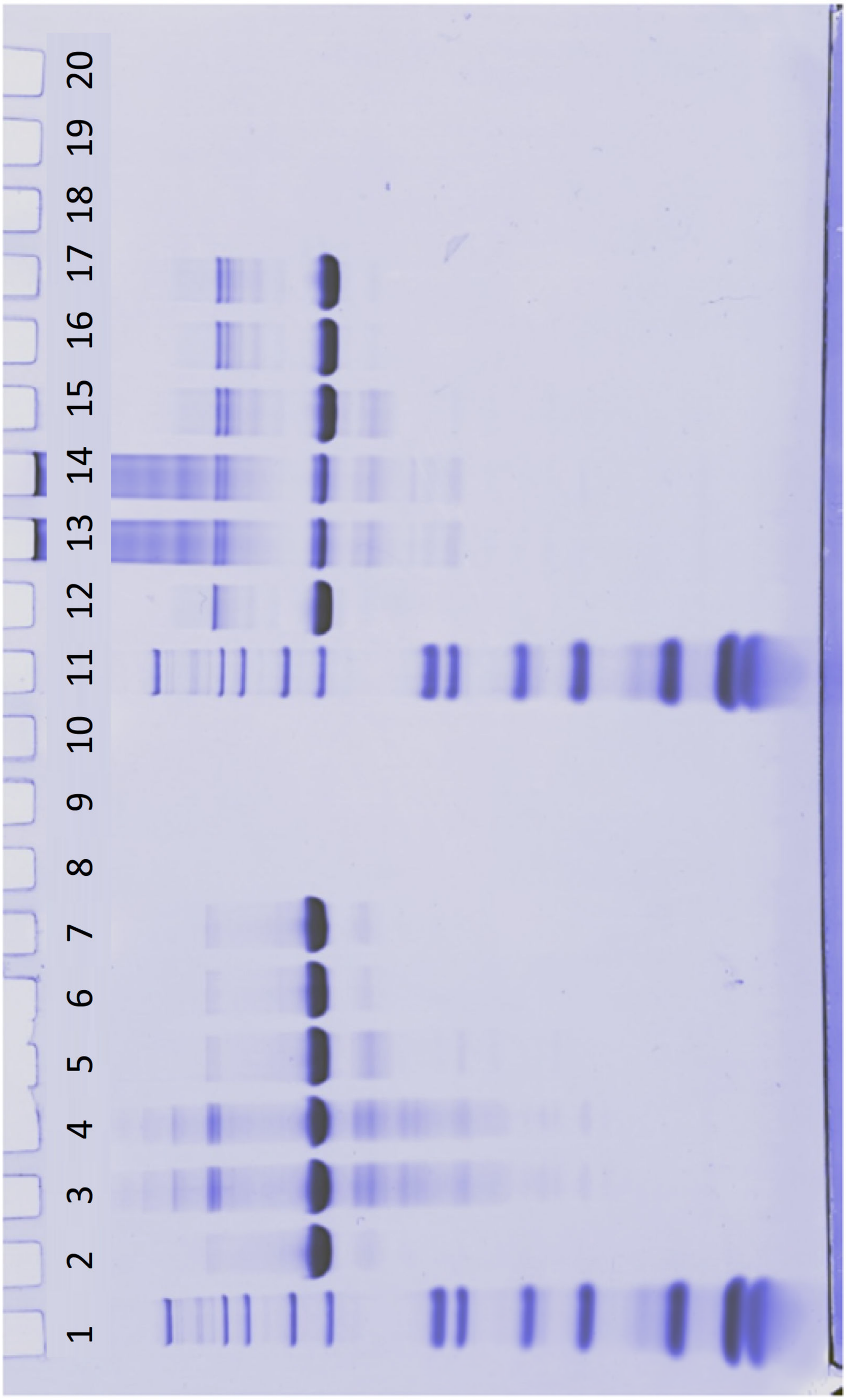

0MM 蔗糖 0% PEG
14.71%
0MM 蔗糖 0.1%PEG
15.11%
0MM 蔗糖 0.1%PEG
11.41%
0MM 蔗糖 0.5% PEG
13.46%
0.25M 蔗糖 0% PEG
17.76%
0.25M 蔗糖 0.1%PEG
16.40%
0.25M 蔗糖 0.5% PEG
14.55%
0.5M 蔗糖 0% PEG
18.25%
0.5M 蔗糖 0.1%PEG
17.29%
0.5M 蔗糖 0.5% PEG
15.56%
再摺疊效率


UV_VIS_2 WVL:280 nm
UV_VIS_2 WVL:280 nm
UV_VIS_2 WVL:280 nm
UV_VIS_2 WVL:280 nm
min
1 - 聚集體 - 7.200
2 - 101二聚體 - 9.330
3 - 單體 - 11.003
4 - 12.427
5 - 14.657
6 - 16.603
A
B
C
D
聚集體
二聚體
單體
Experiment no. 8 Refold 1
Experiment no. 8 Refold 2
Experiment no. 8 Refold 3
Experiment no. 8 Refold 4
1 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #10 [manually integrated]
2 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #11 [manually integrated]
3 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #12 [manually integrated]
4 - 2018-10-31 Dialyzed Refold DOE #13 [manually integrated]
mAU

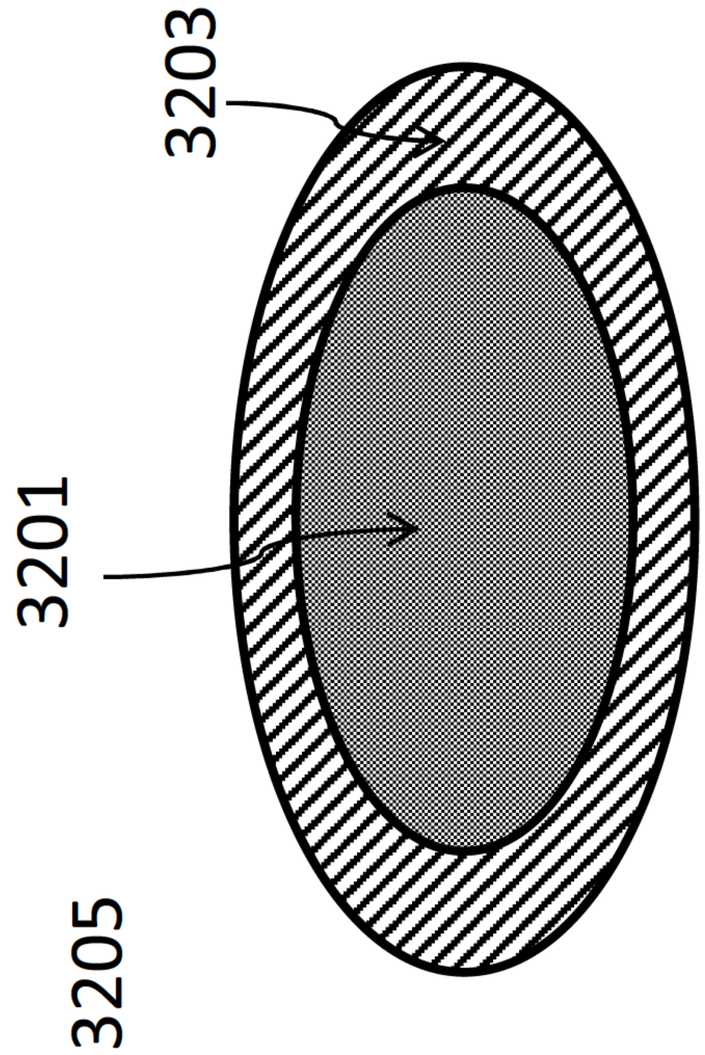
【圖28】



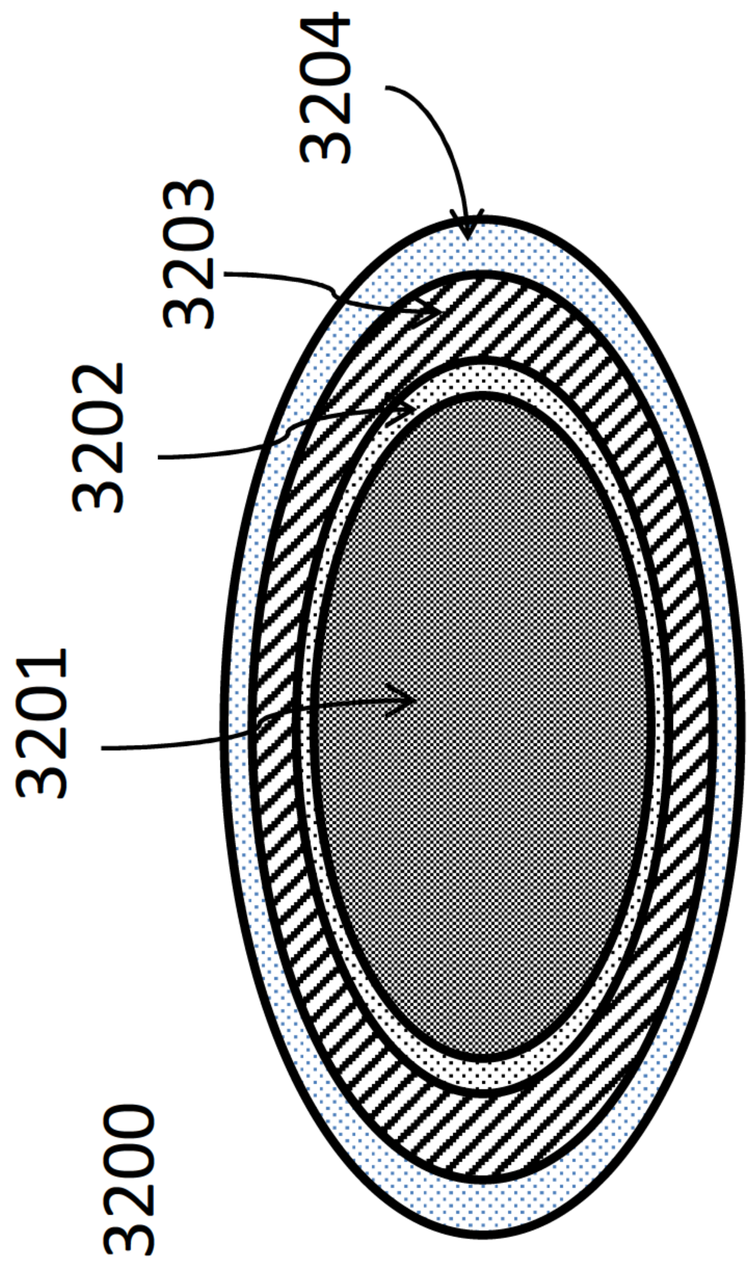
【圖29】


通道
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
200 kDa
116.3 kDa
97.4 kDa
66.3 kDa
55.4 kDa
36.5 kDa

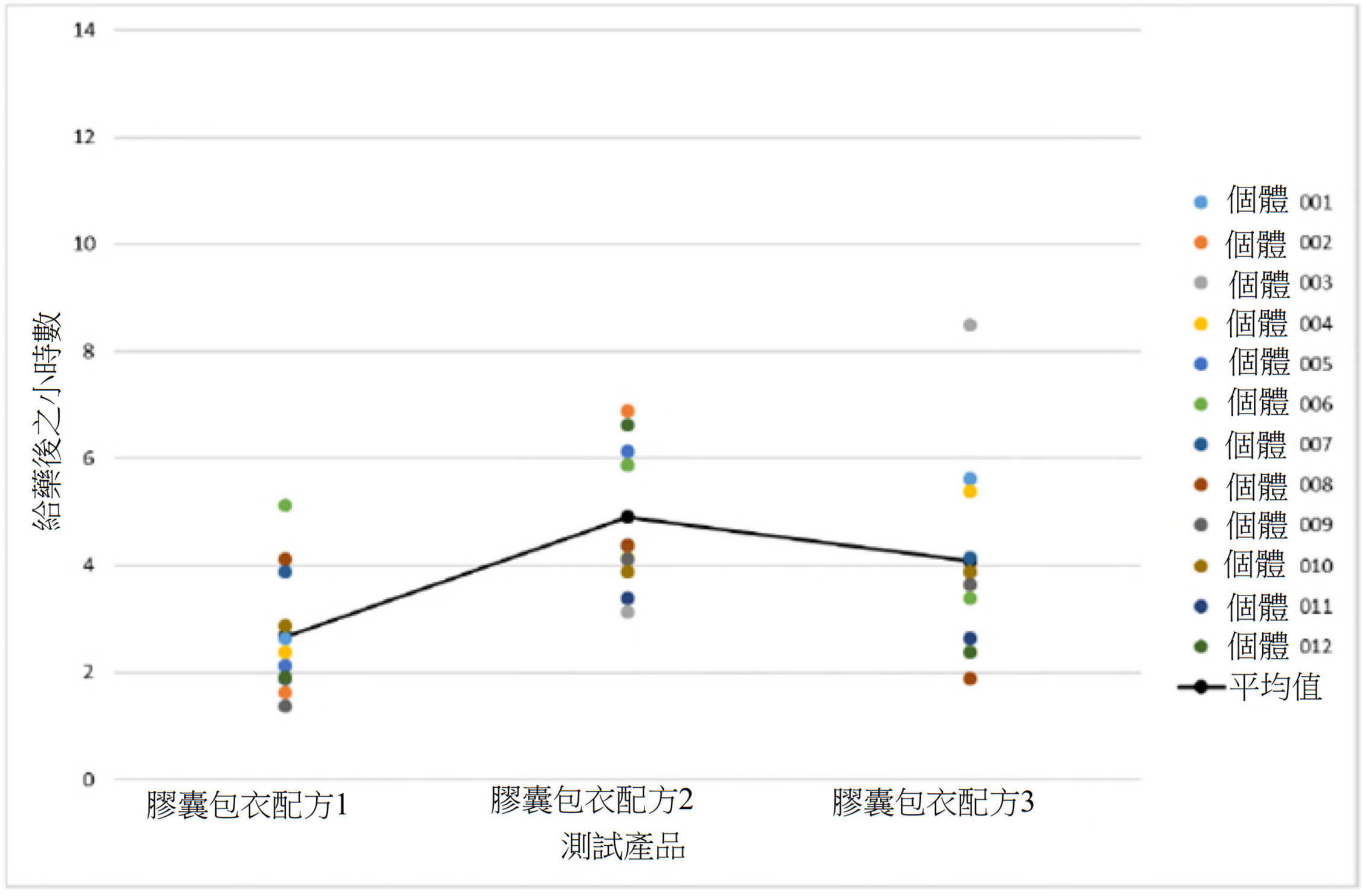
【圖30】



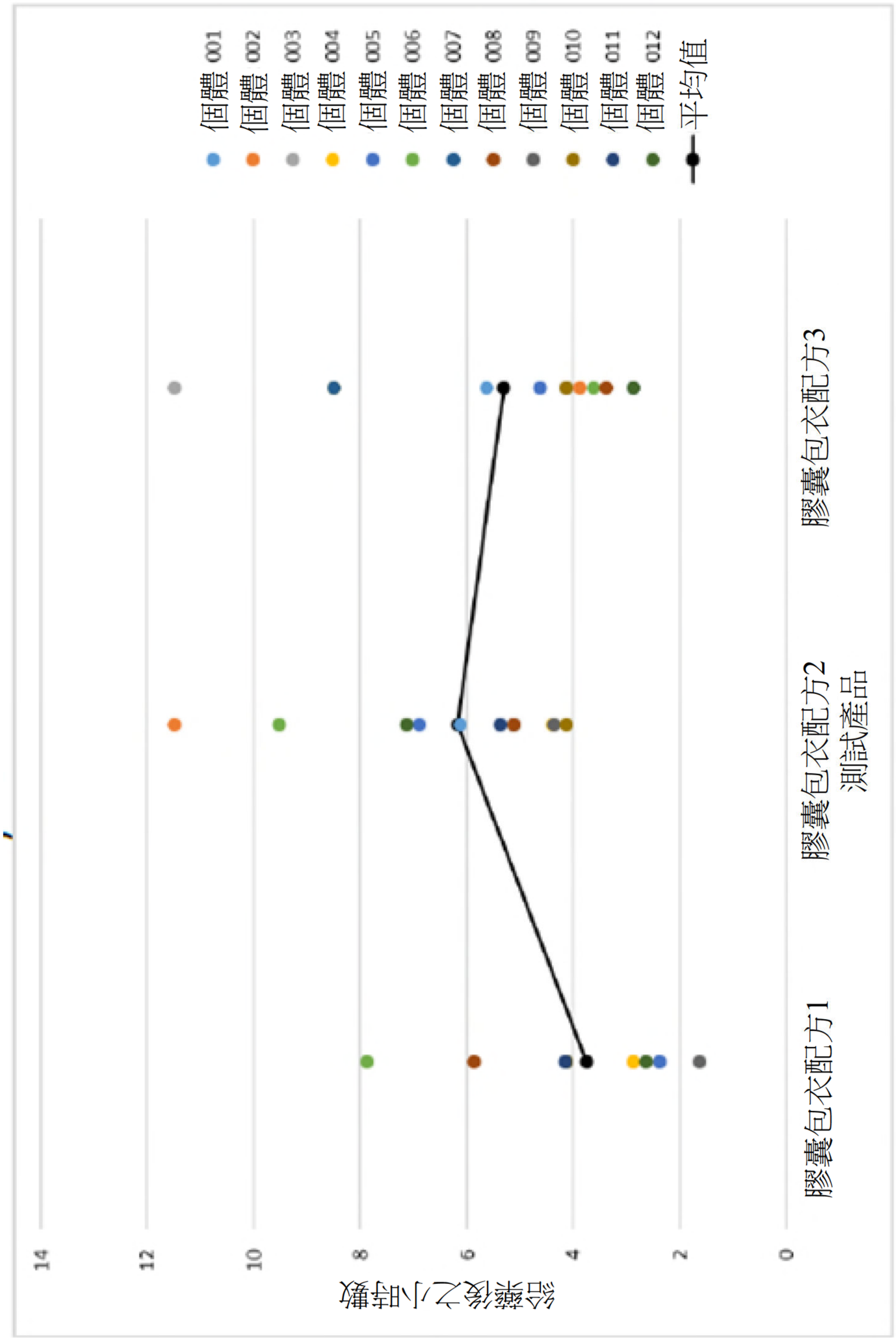
【圖31B】



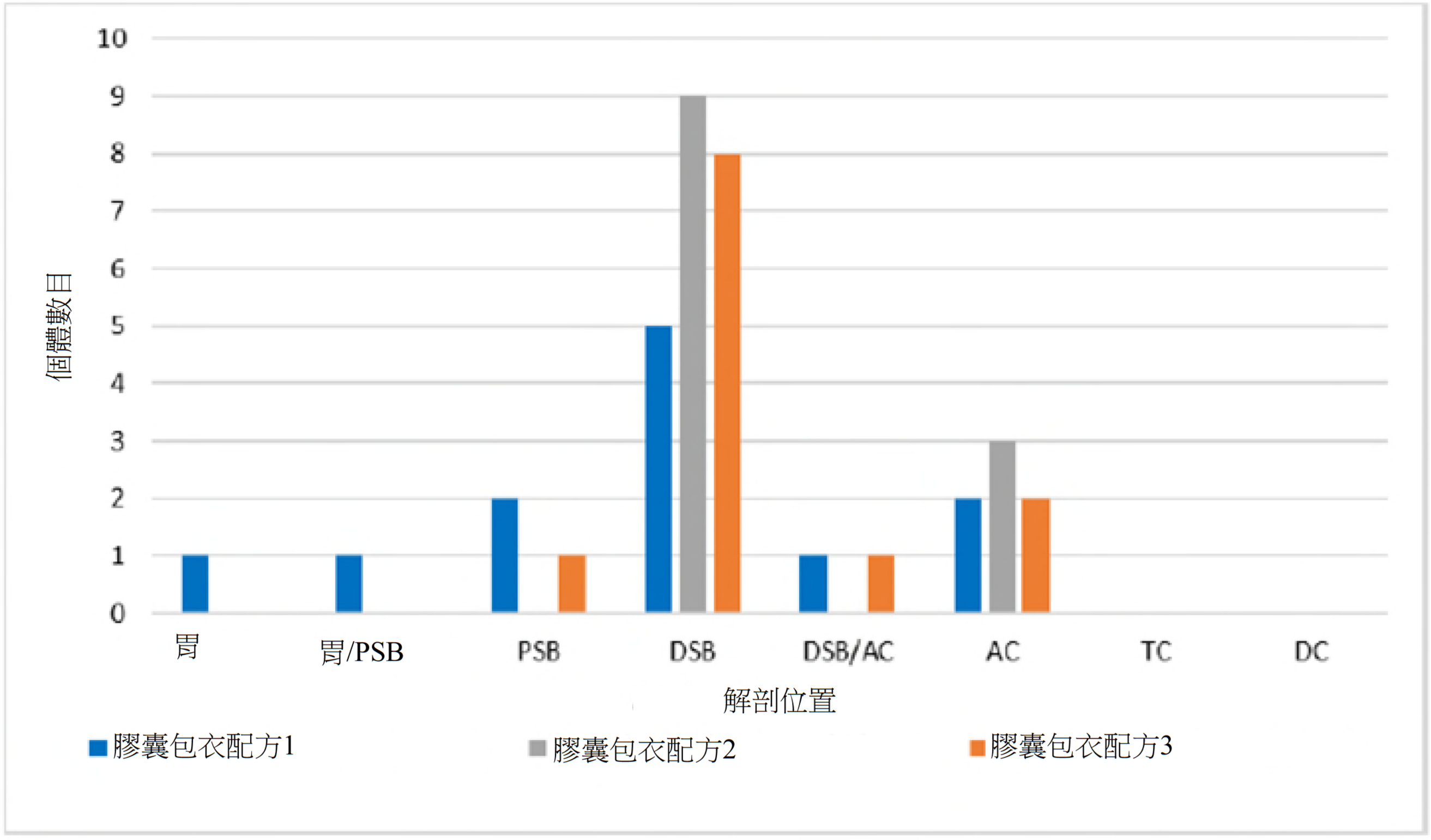
【圖31A】


給藥後之小時數
14
12
10
8
6
4
2
0
膠囊包衣配方1
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方3
測試產品
個體 001
個體 002
個體 003
個體 004
個體 005
個體 006
個體 007
個體 008
個體 009
個體 010
個體 011
個體 012
平均值

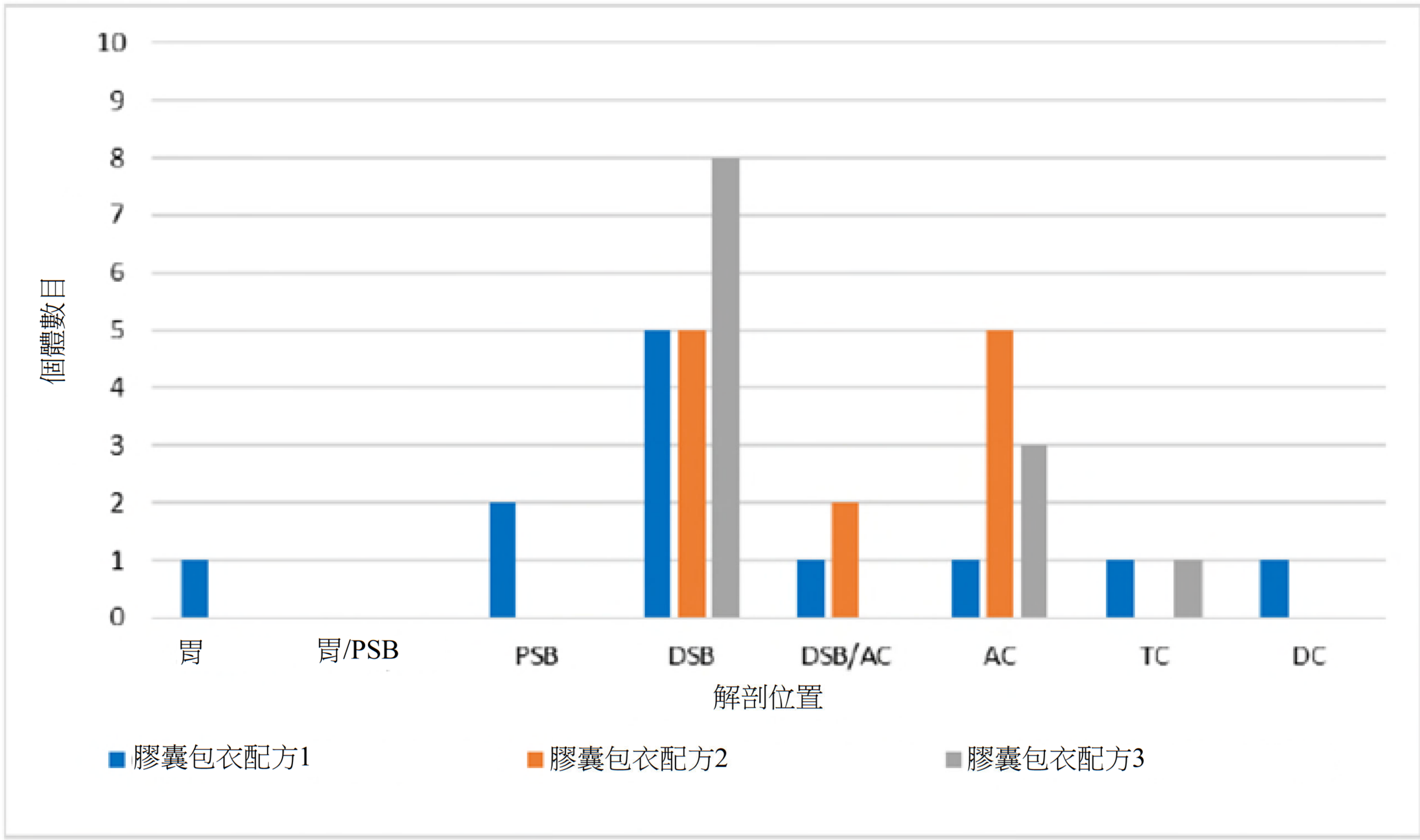
【圖32A】


001
002
003
004
005
006
007
008
009
010
011
012
個體
平均值
膠囊包衣配方3
膠囊包衣配方2
測試產品
膠囊包衣配方1
14
12
10
8
6
4
2
0
給藥後之小時數

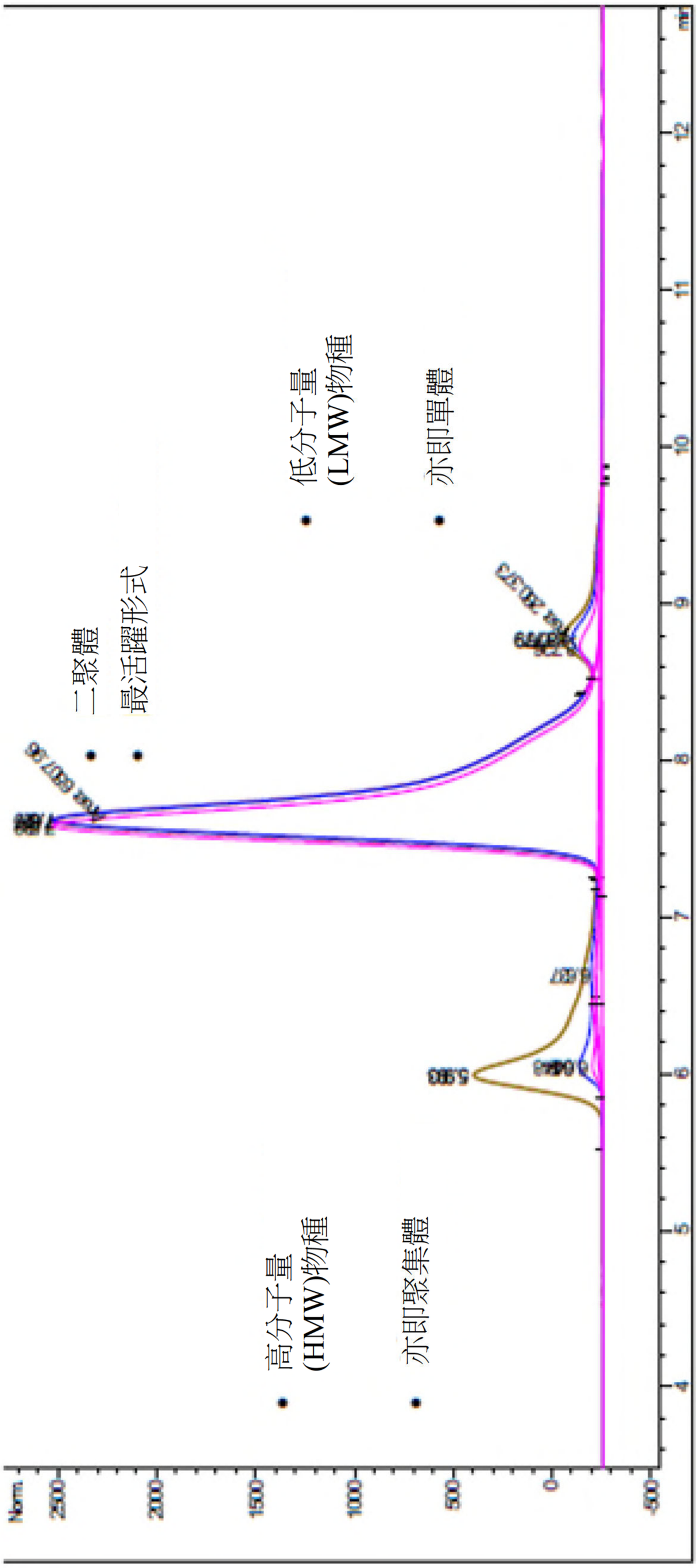
【圖32B】


個體數目
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
胃
胃/PSB
PSB
DSB
DSB/AC
AC
TC
DC
解剖位置
膠囊包衣配方1
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方3

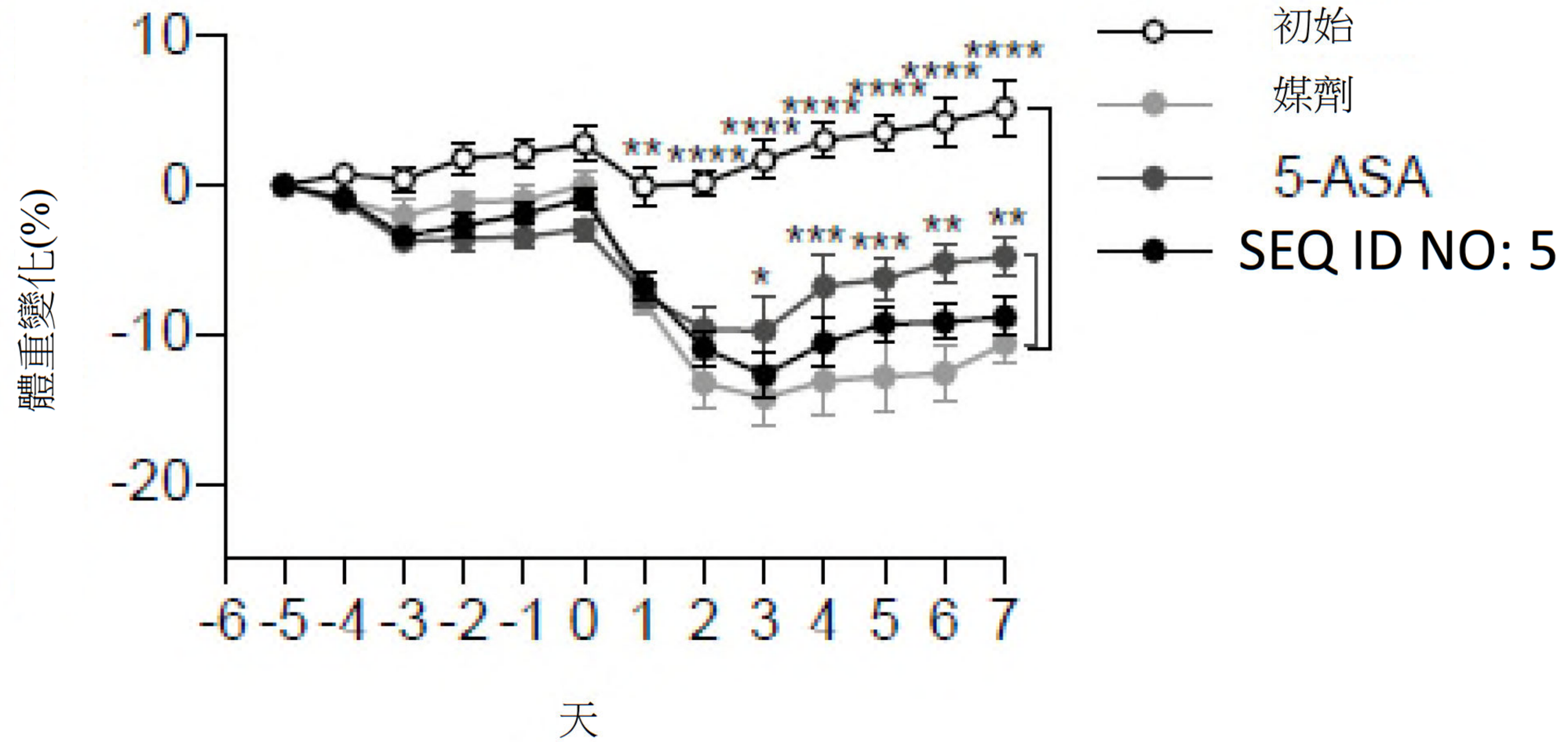
【圖33A】


個體數目
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
胃
胃/PSB
PSB
DSB
DSB/AC
AC
TC
DC
解剖位置
膠囊包衣配方1
膠囊包衣配方2
膠囊包衣配方3

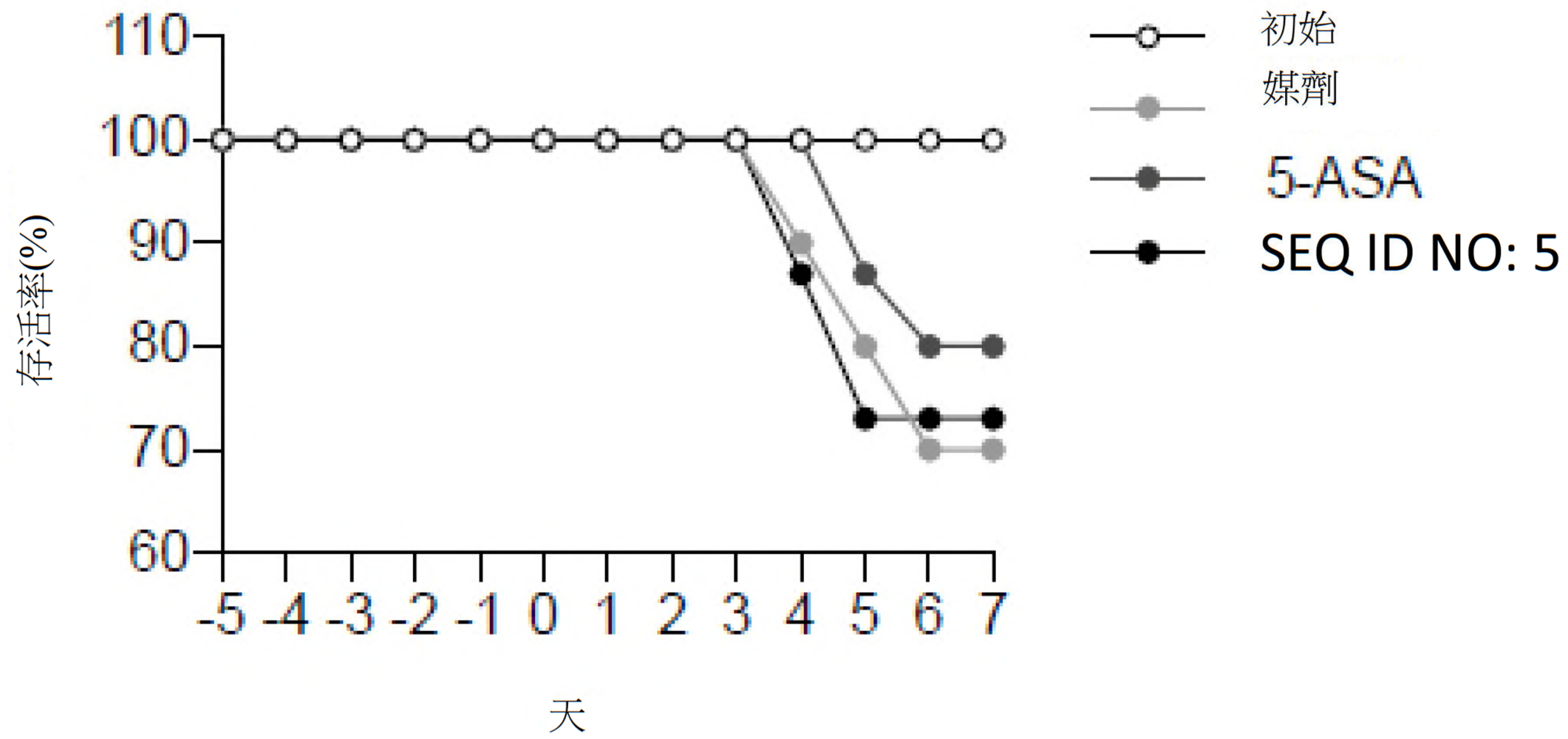
【圖33B】



【圖34】

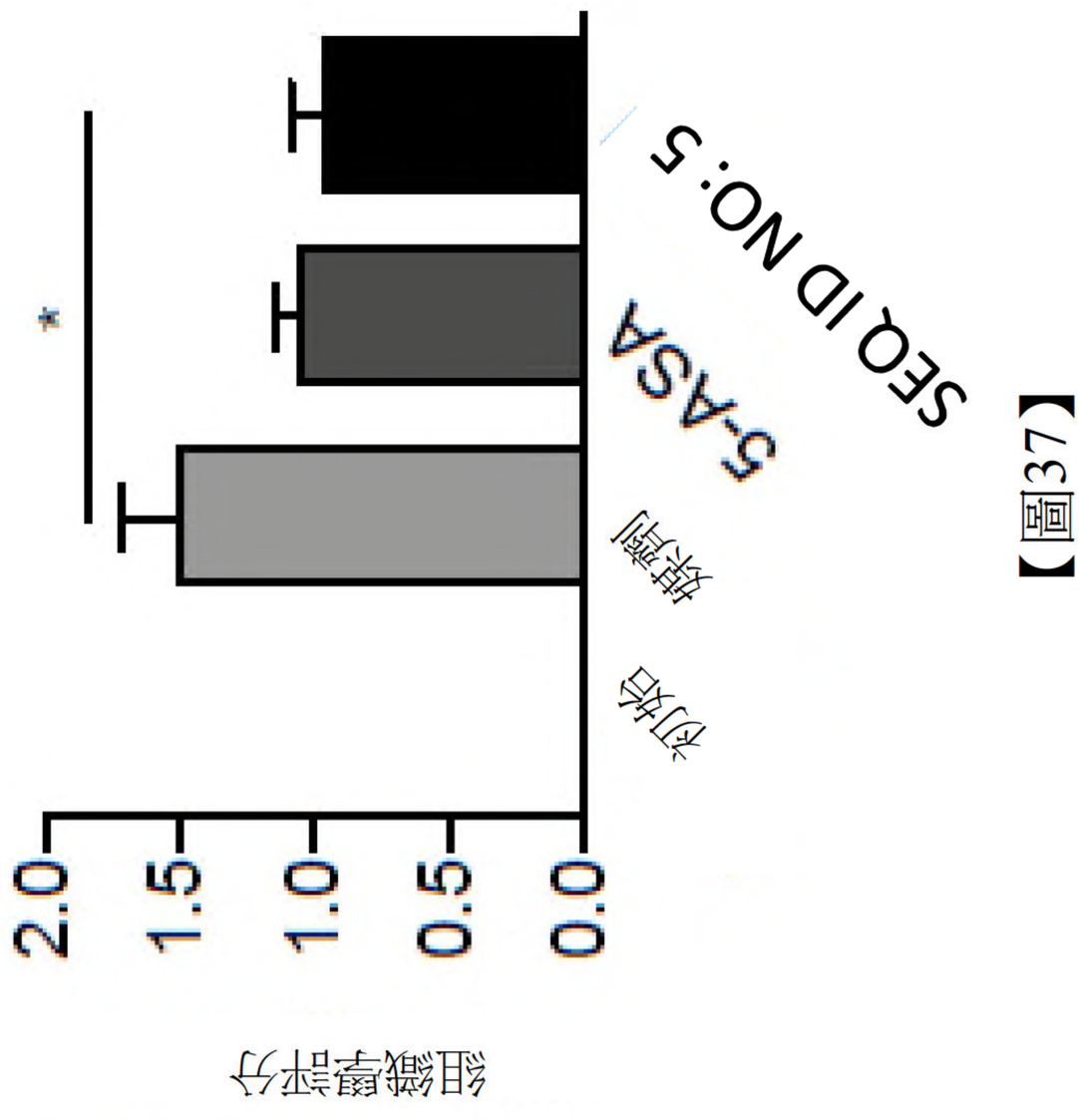


【圖35】

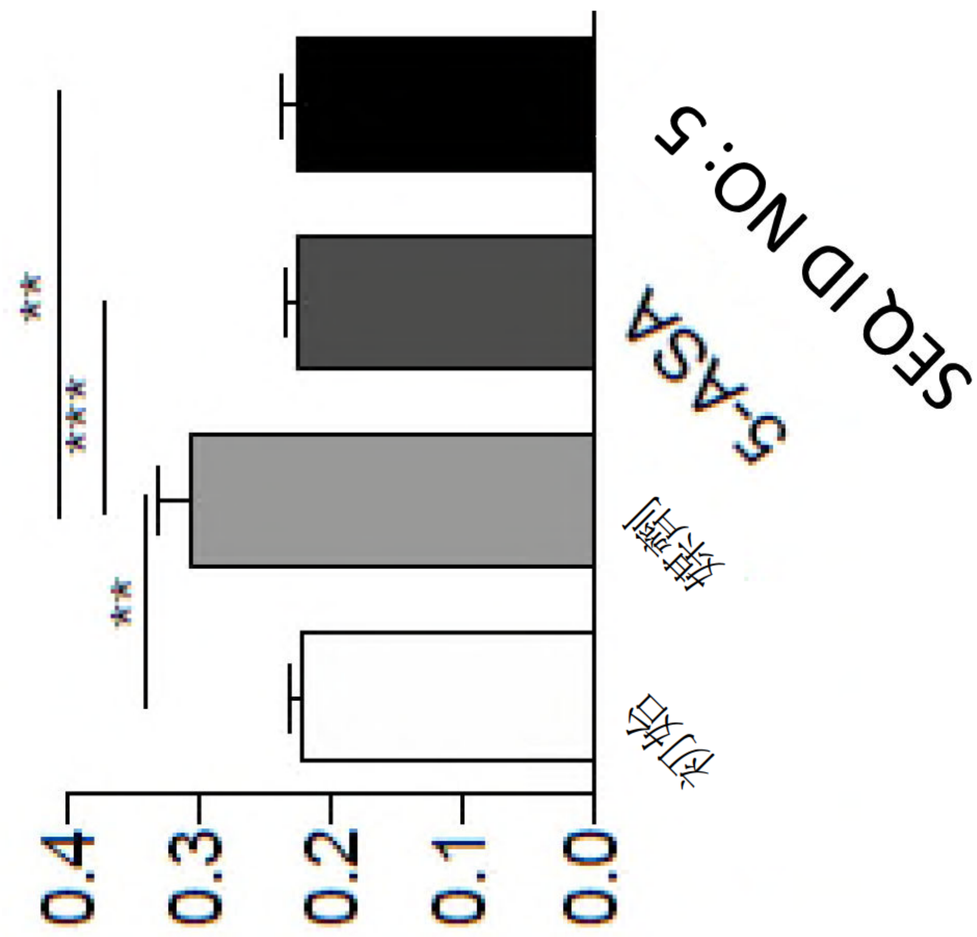


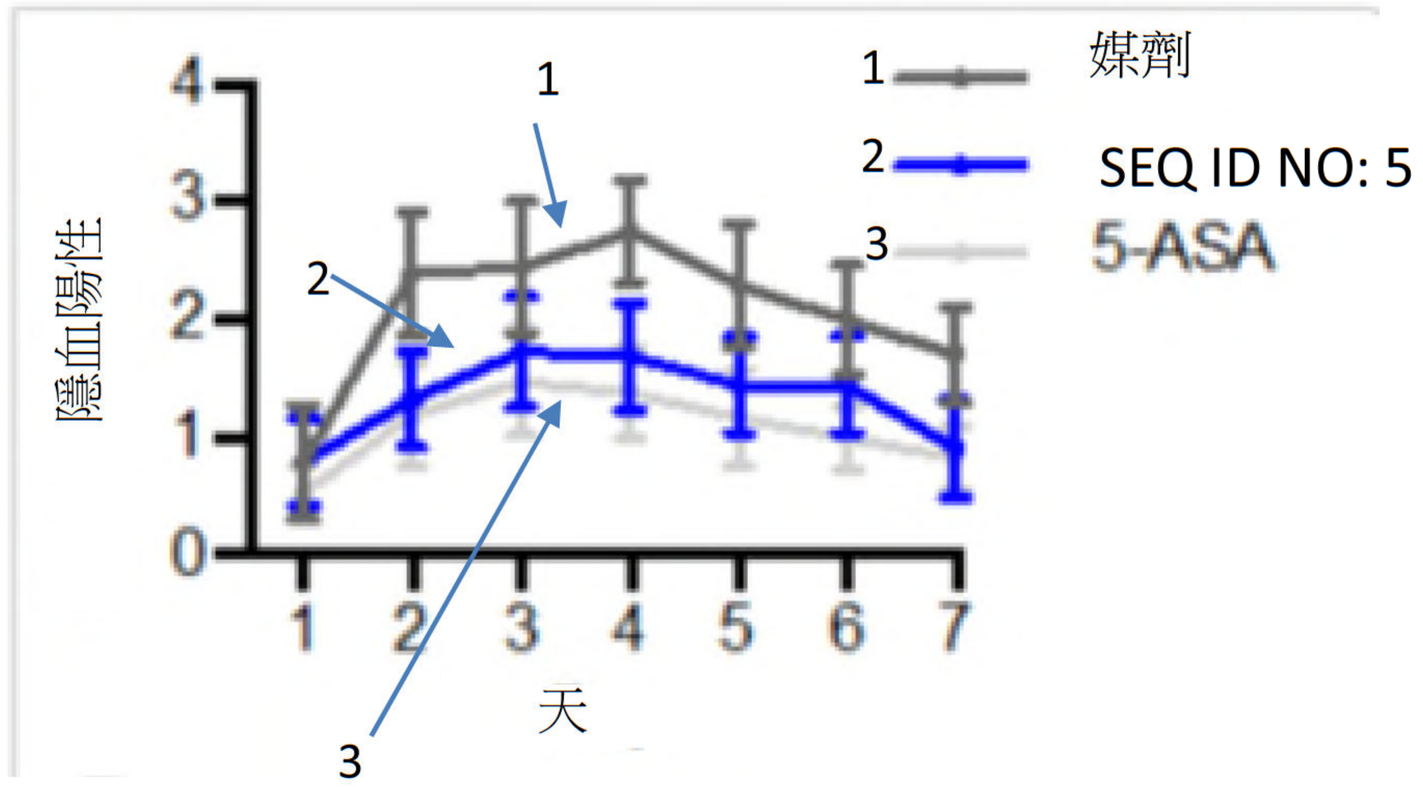
【圖36】

【圖37】

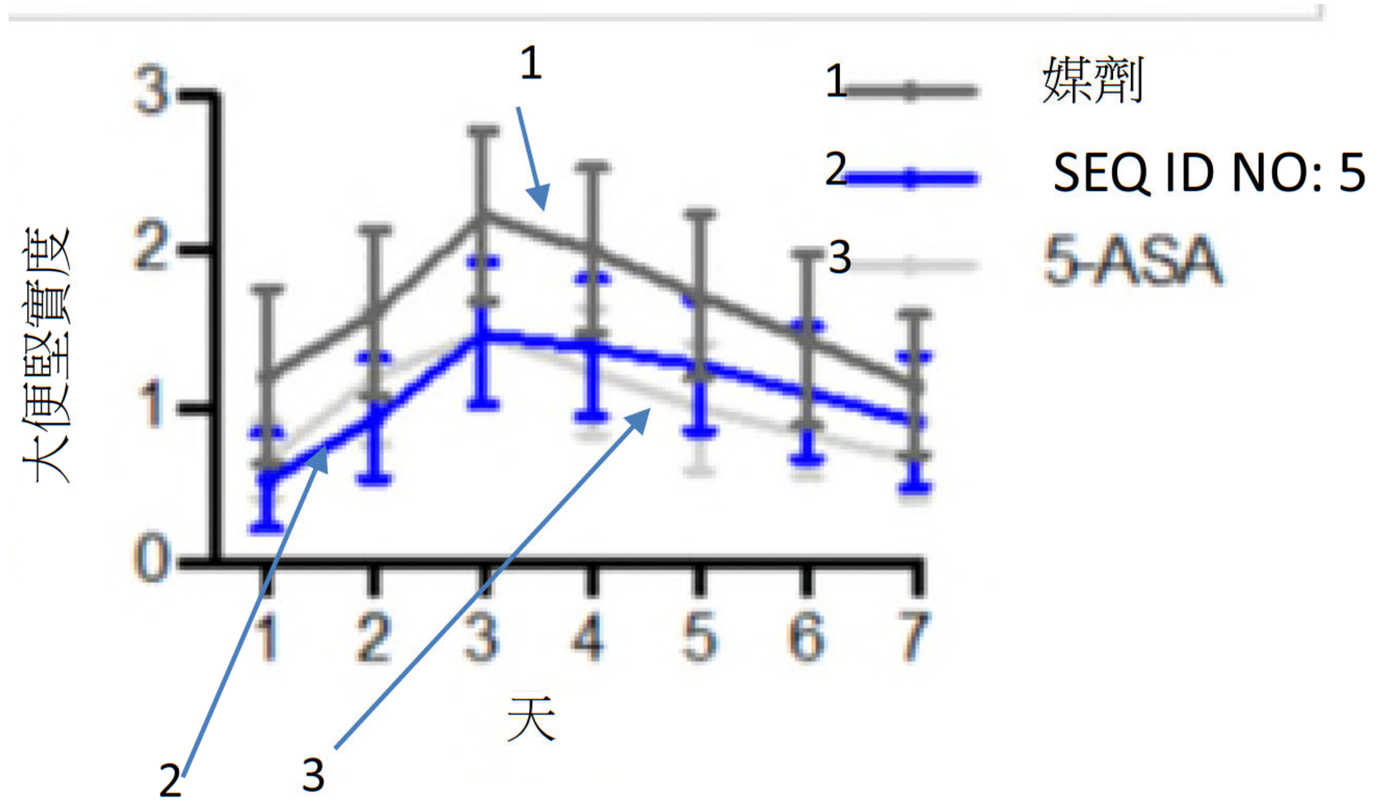


【圖38A】

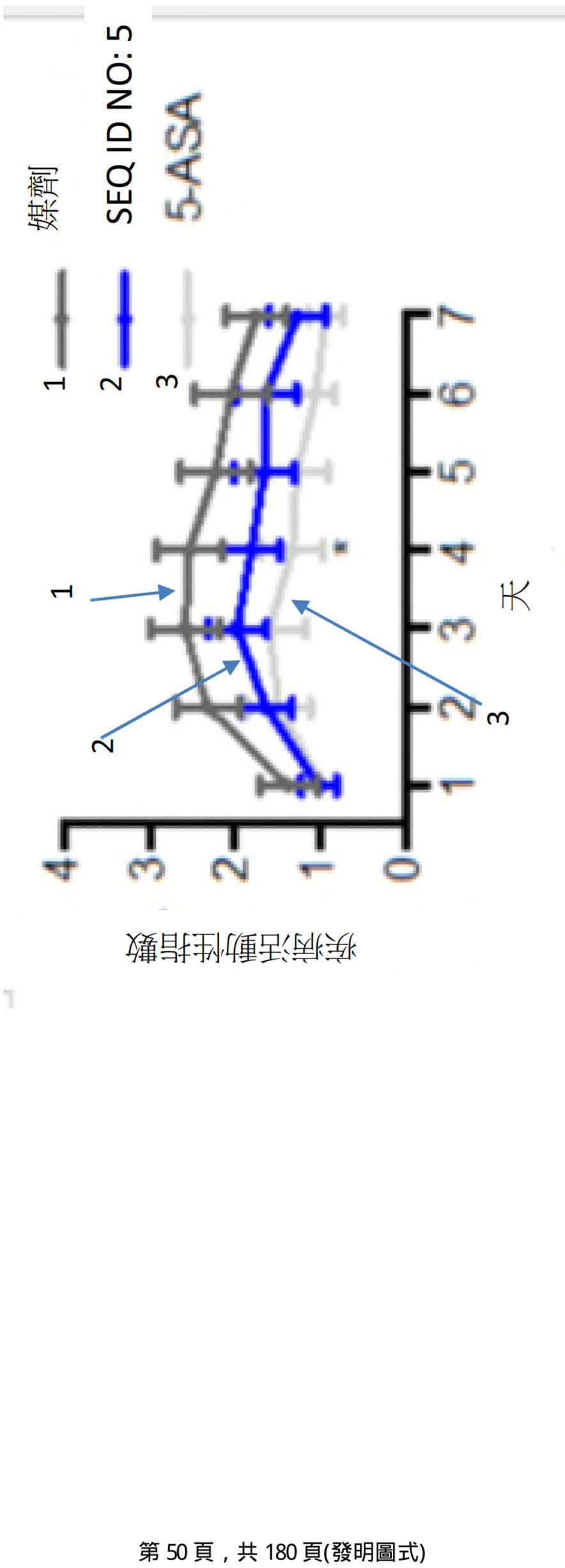



隱血陽性
4
3
2
1
0
1
2
3
1
2
3
4
5
6
7
天
1
媒劑
2
SEQ ID NO: 5
3
5-ASA

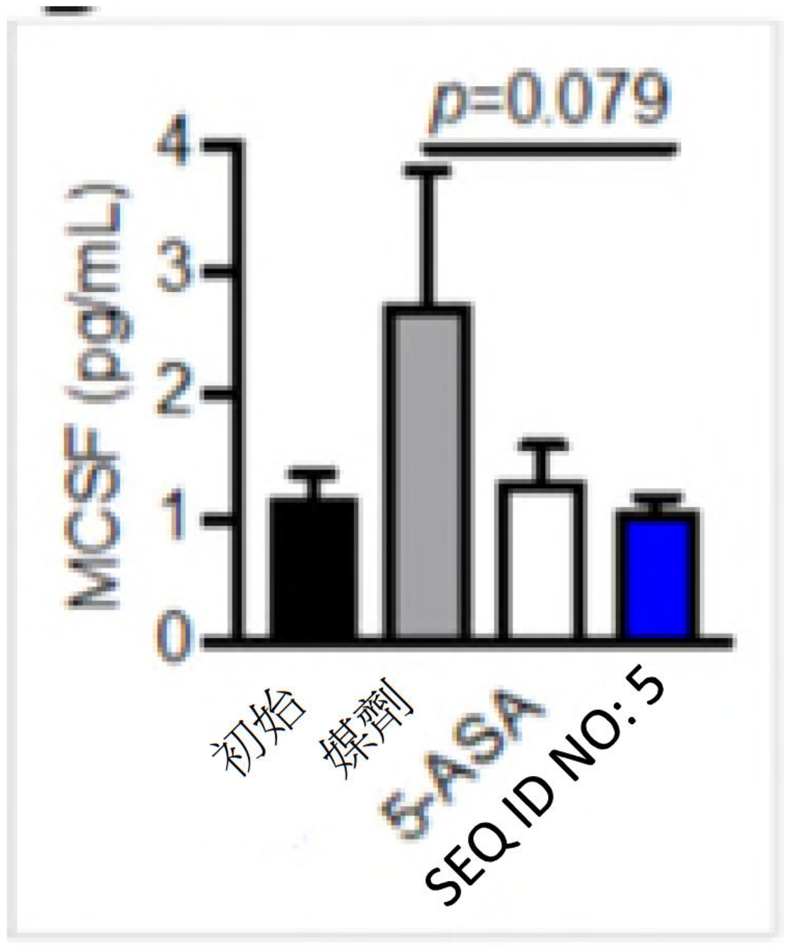
【圖38B】


大便堅實度
3
2
1
0
1
2
3
4
5
6
7
天
1
媒劑
2
SEQ ID NO: 5
3
5-ASA

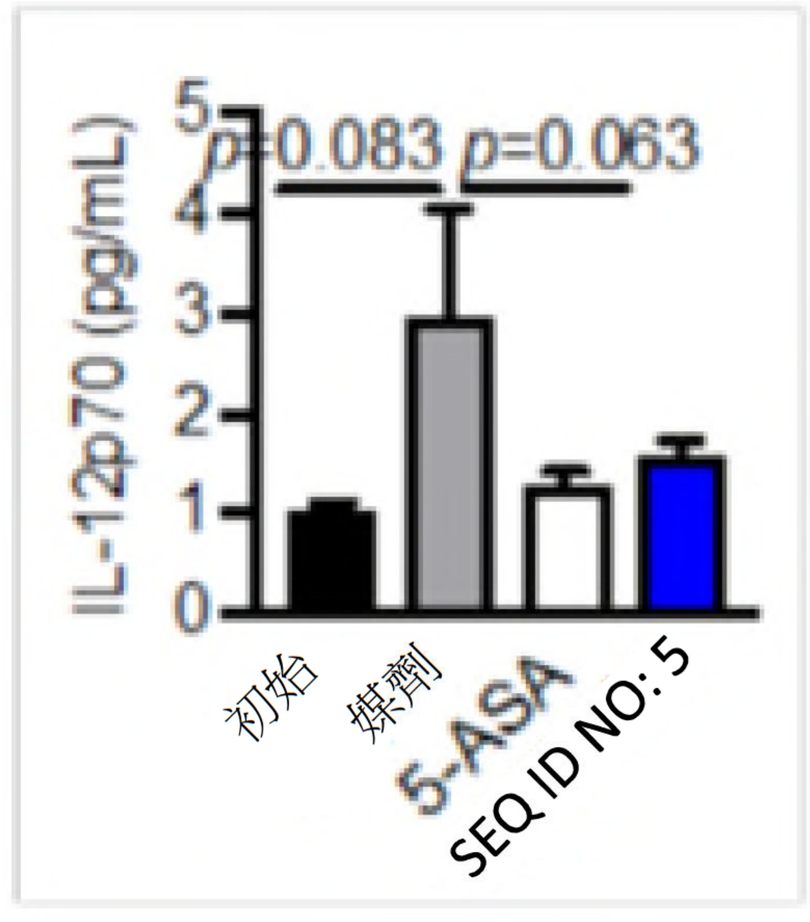
【圖38C】



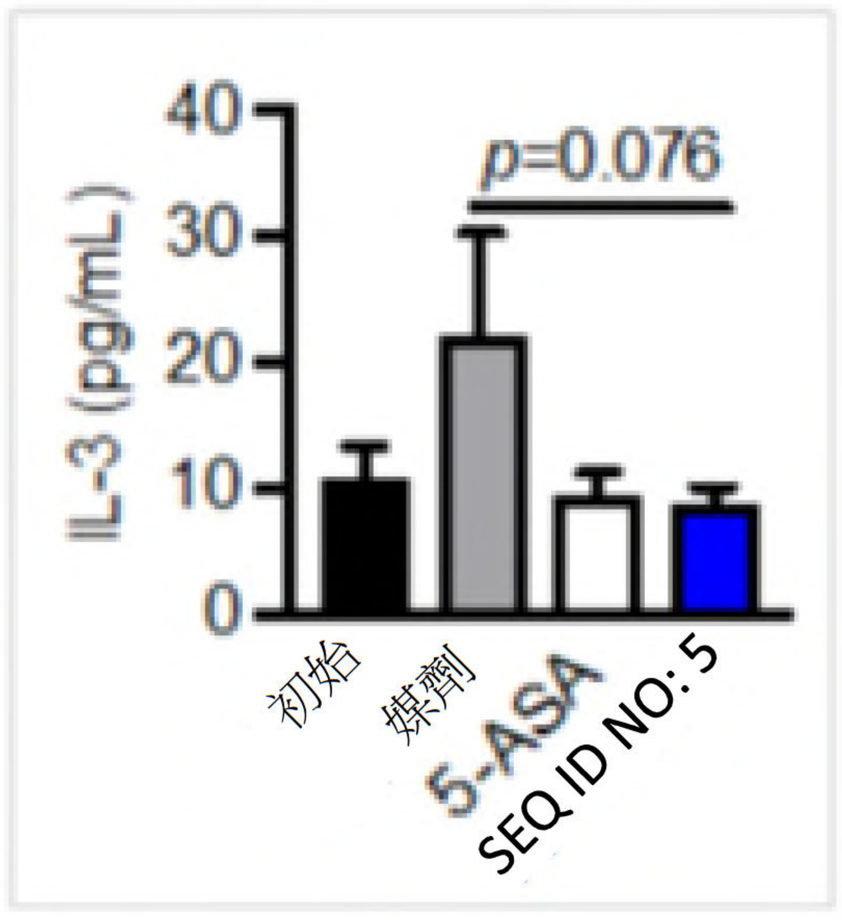
【圖38D】



【圖38E】

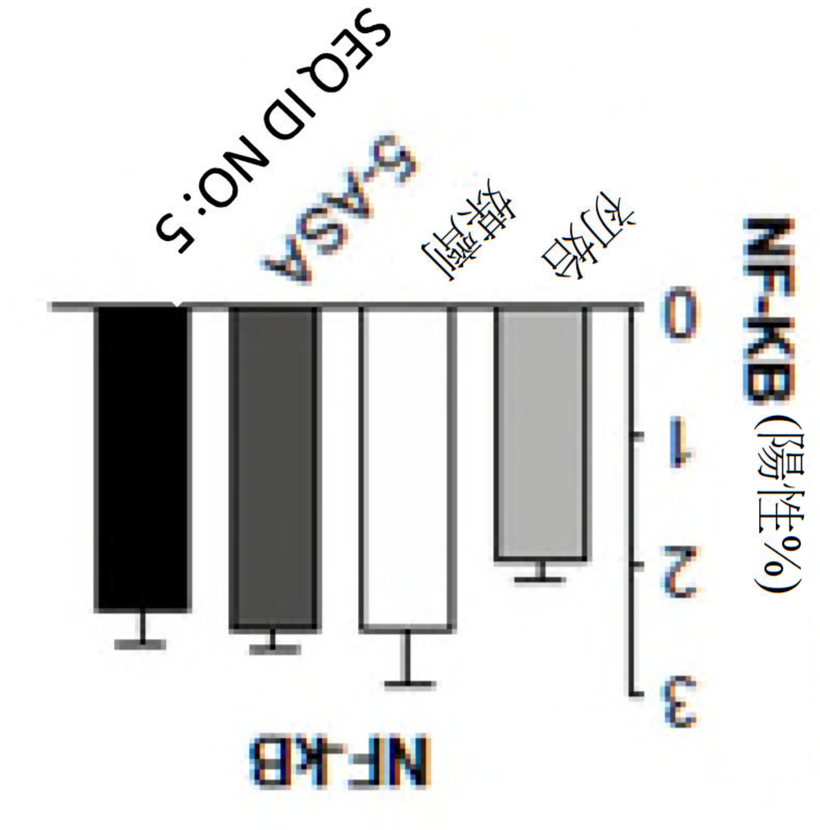


【圖38F】

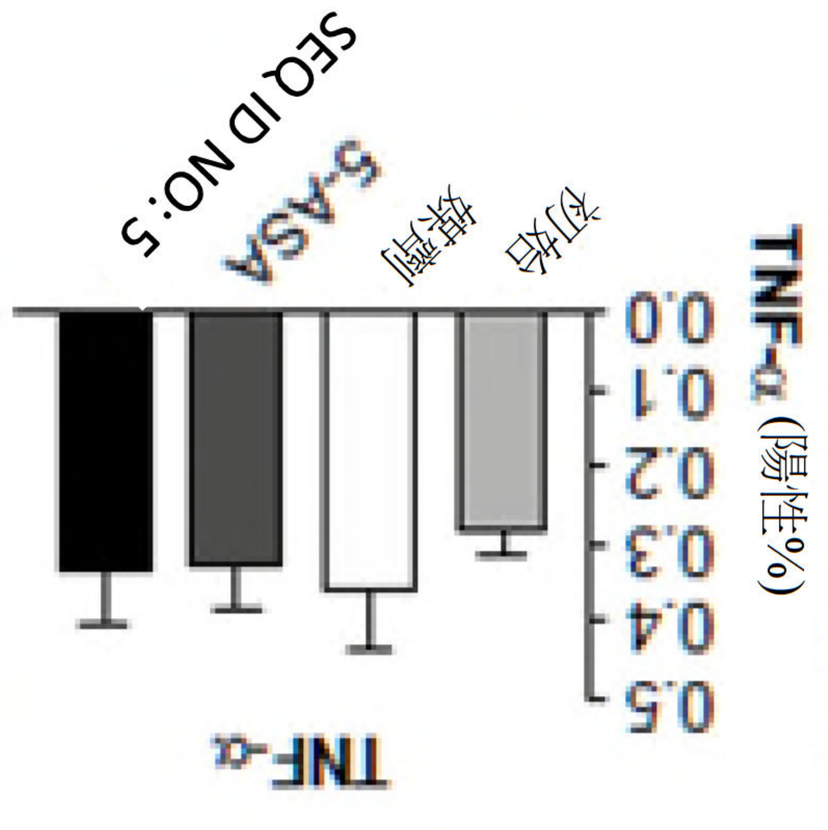


【圖38G】

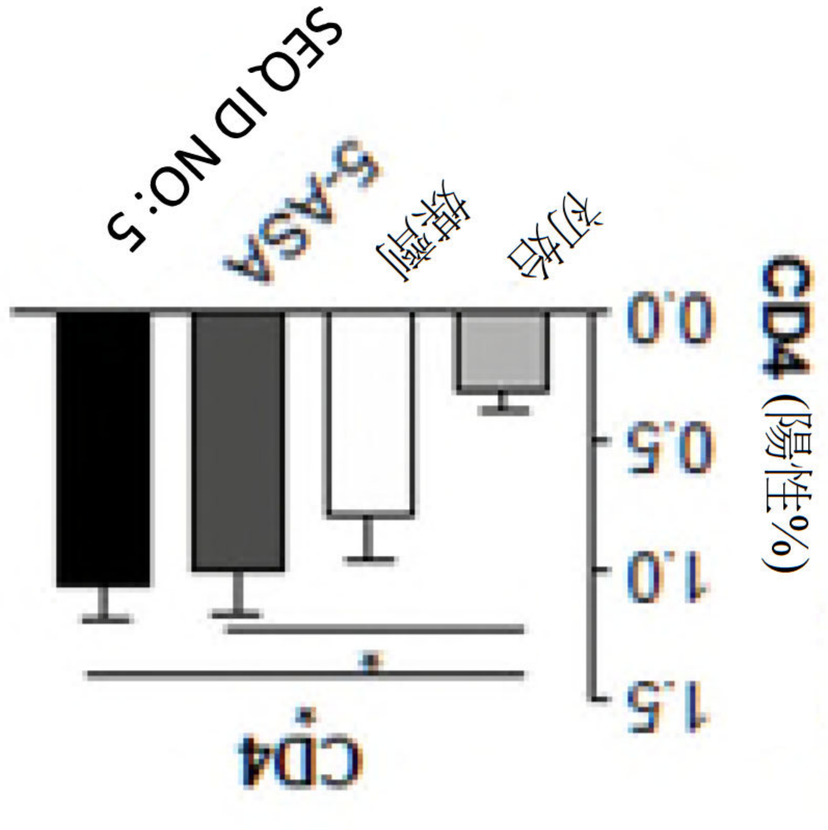
【圖39A】



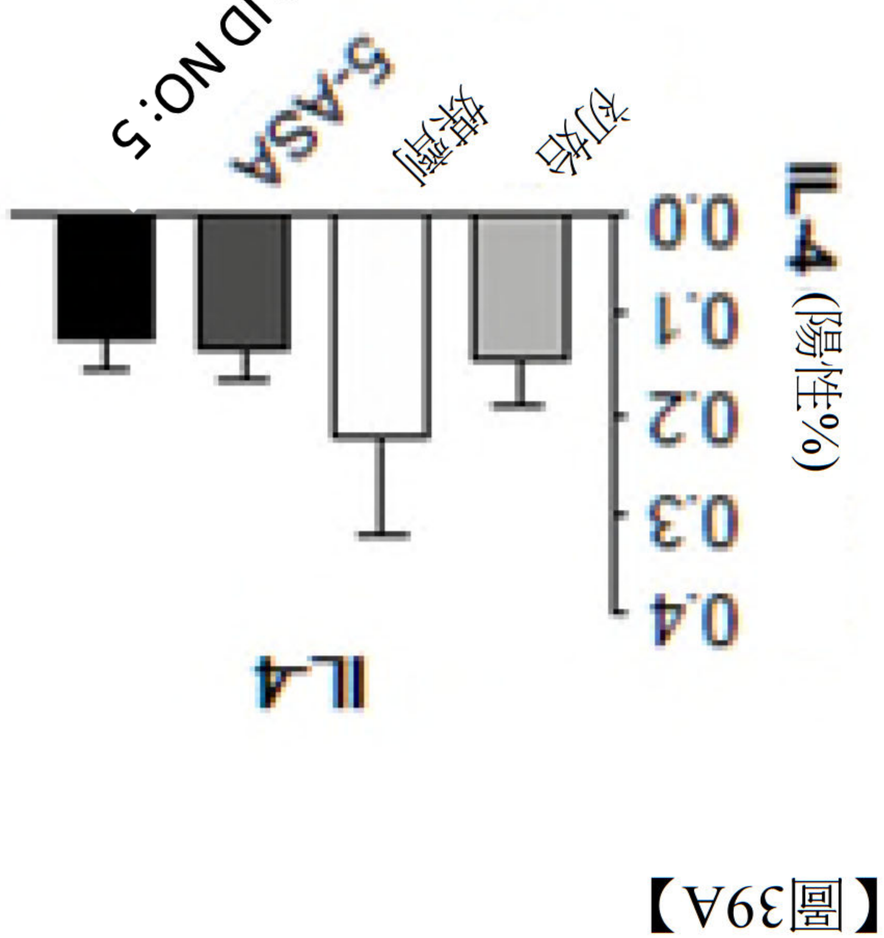
【圖39B】



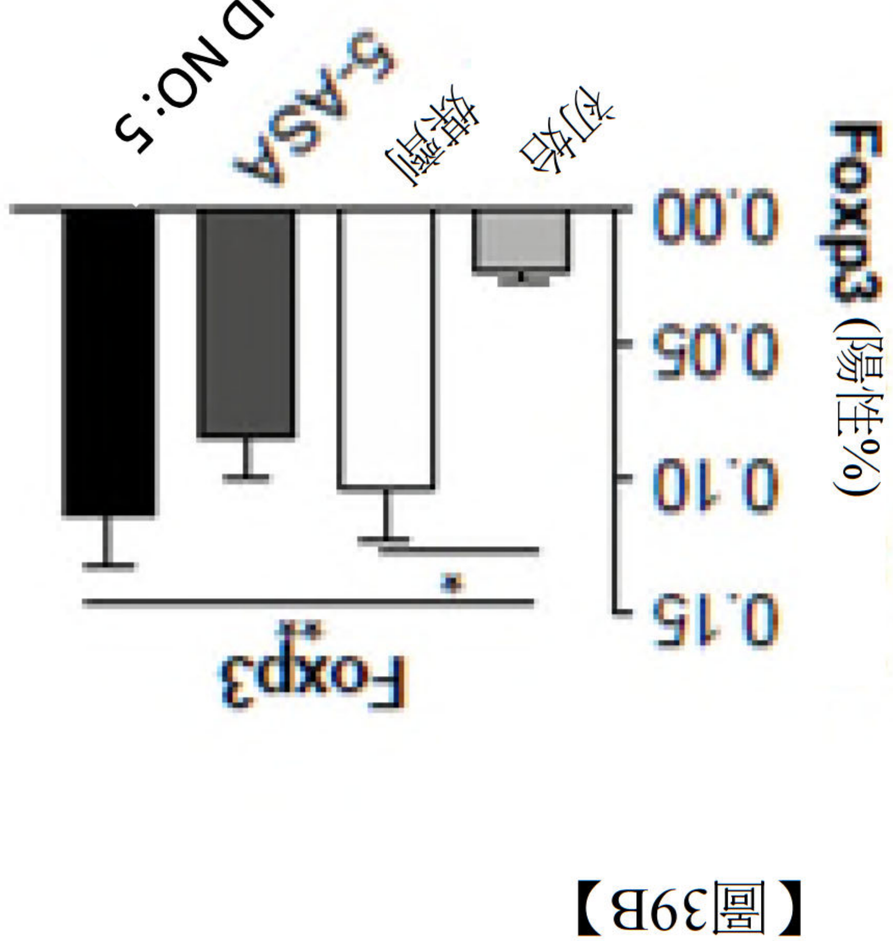
【圖39C】

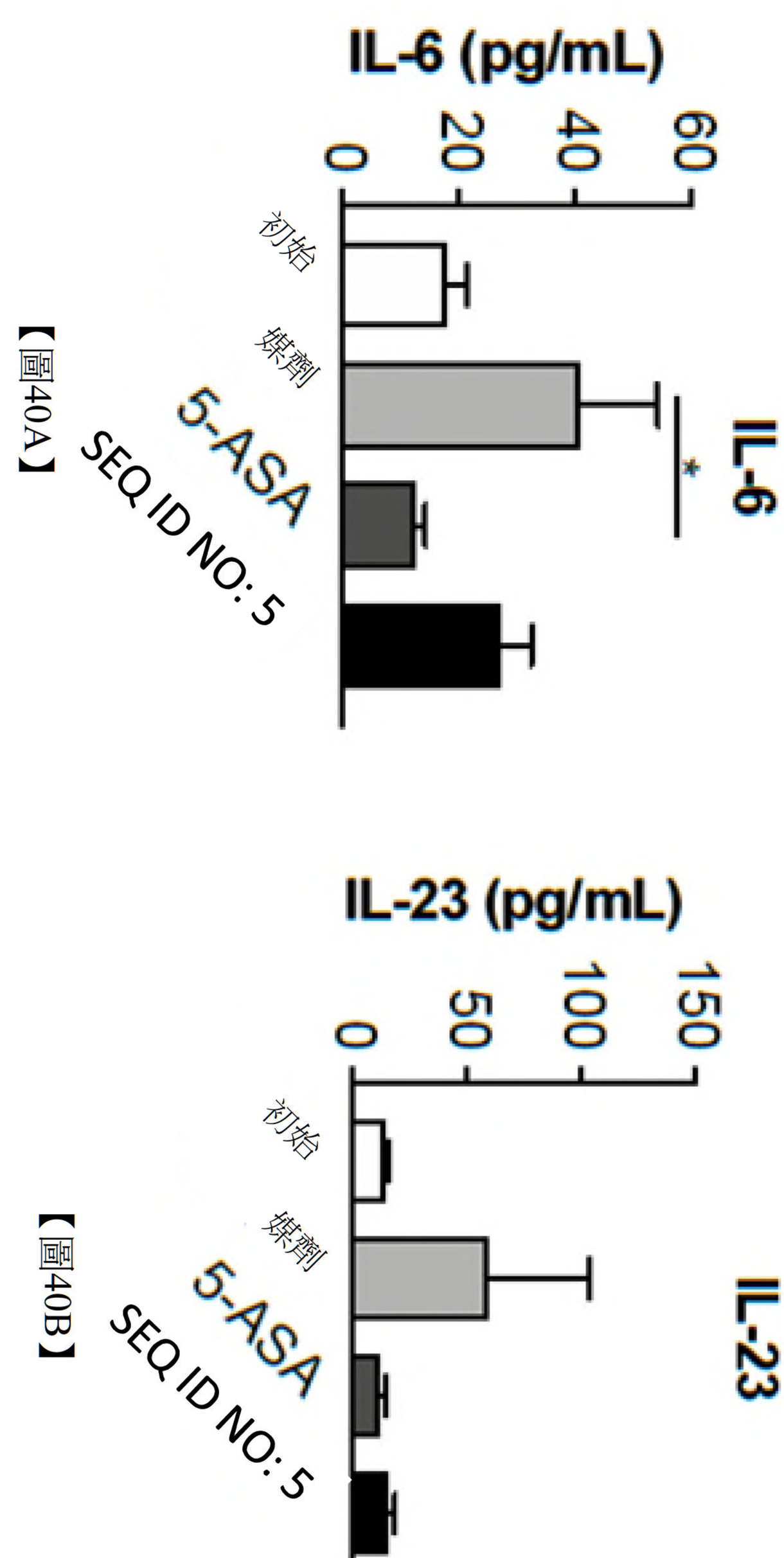


【圖39D】



【圖39E】

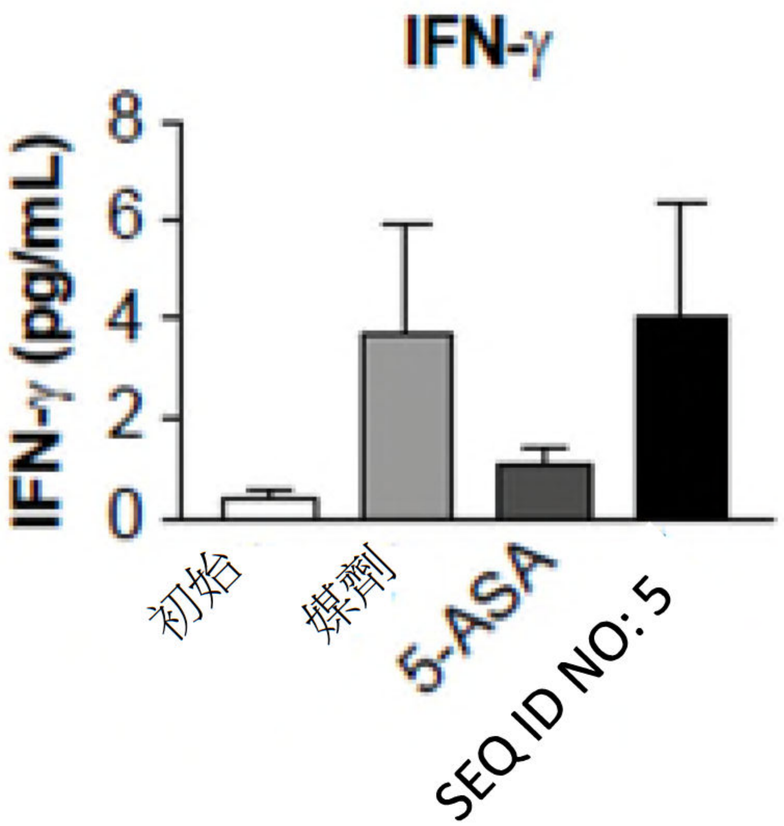



IL-6 (pg/mL)
0
20
40
60
初始
媒劑
5-ASA
SEQ ID NO: 5
IL-6
*

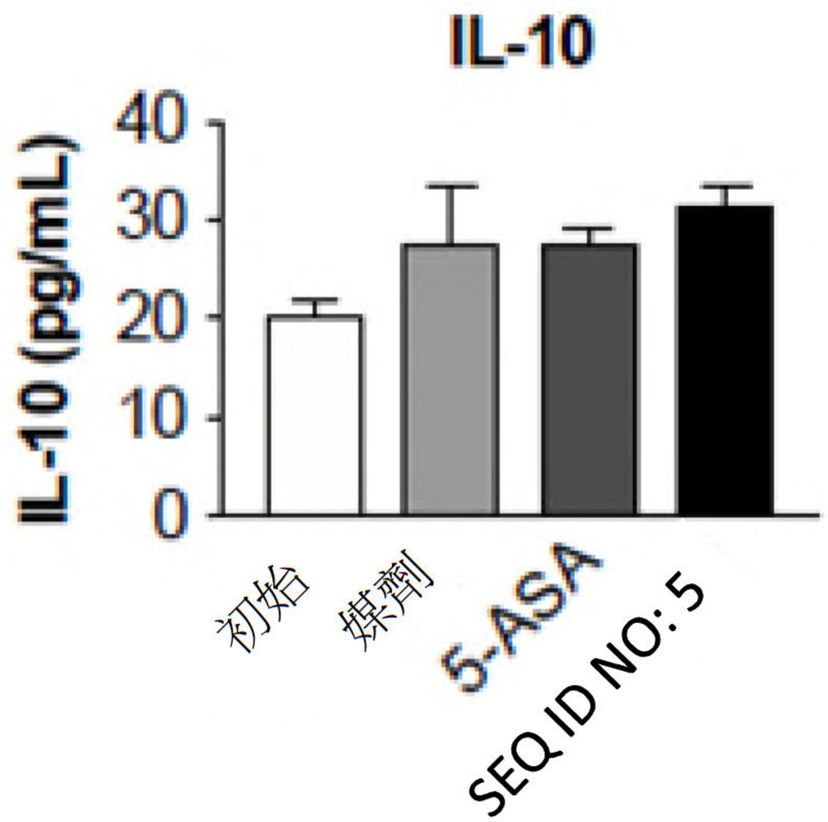
【圖40A】

IL-23 (pg/mL)
0
50
100
150
初始
媒劑
5-ASA
SEQ ID NO: 5
IL-23

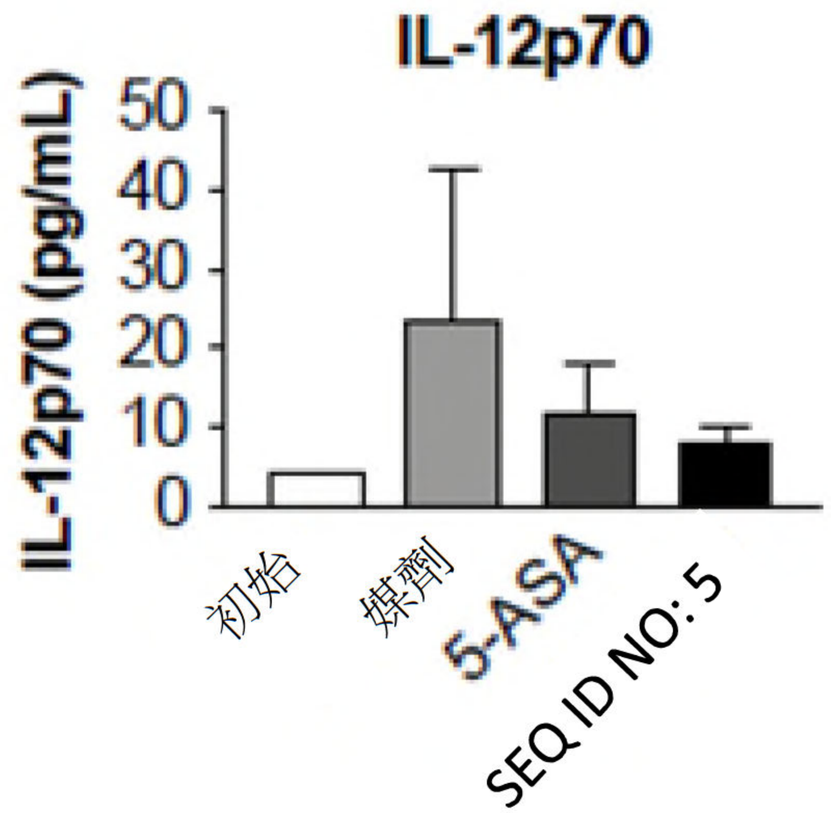
【圖40B】



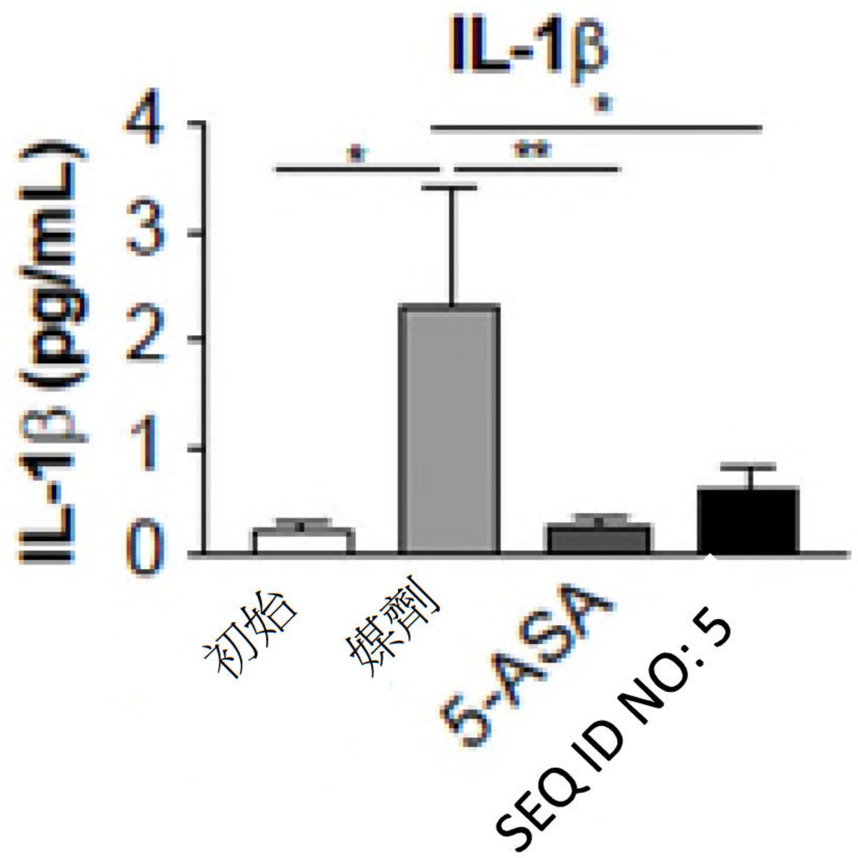
【圖41A】



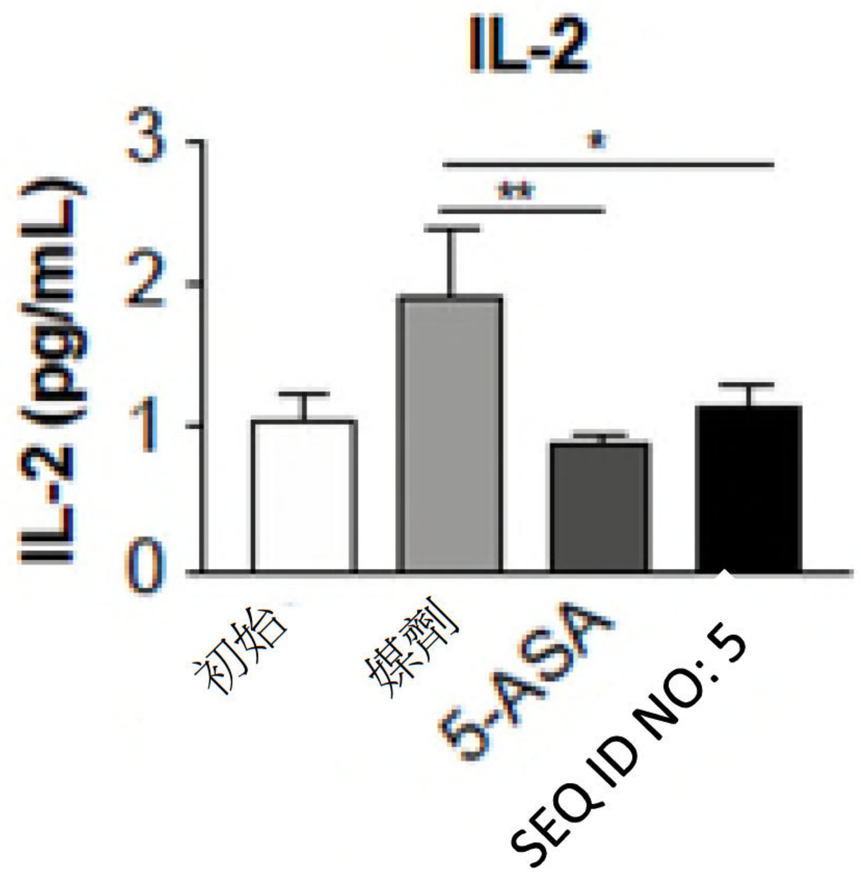
【圖41B】



【圖41C】

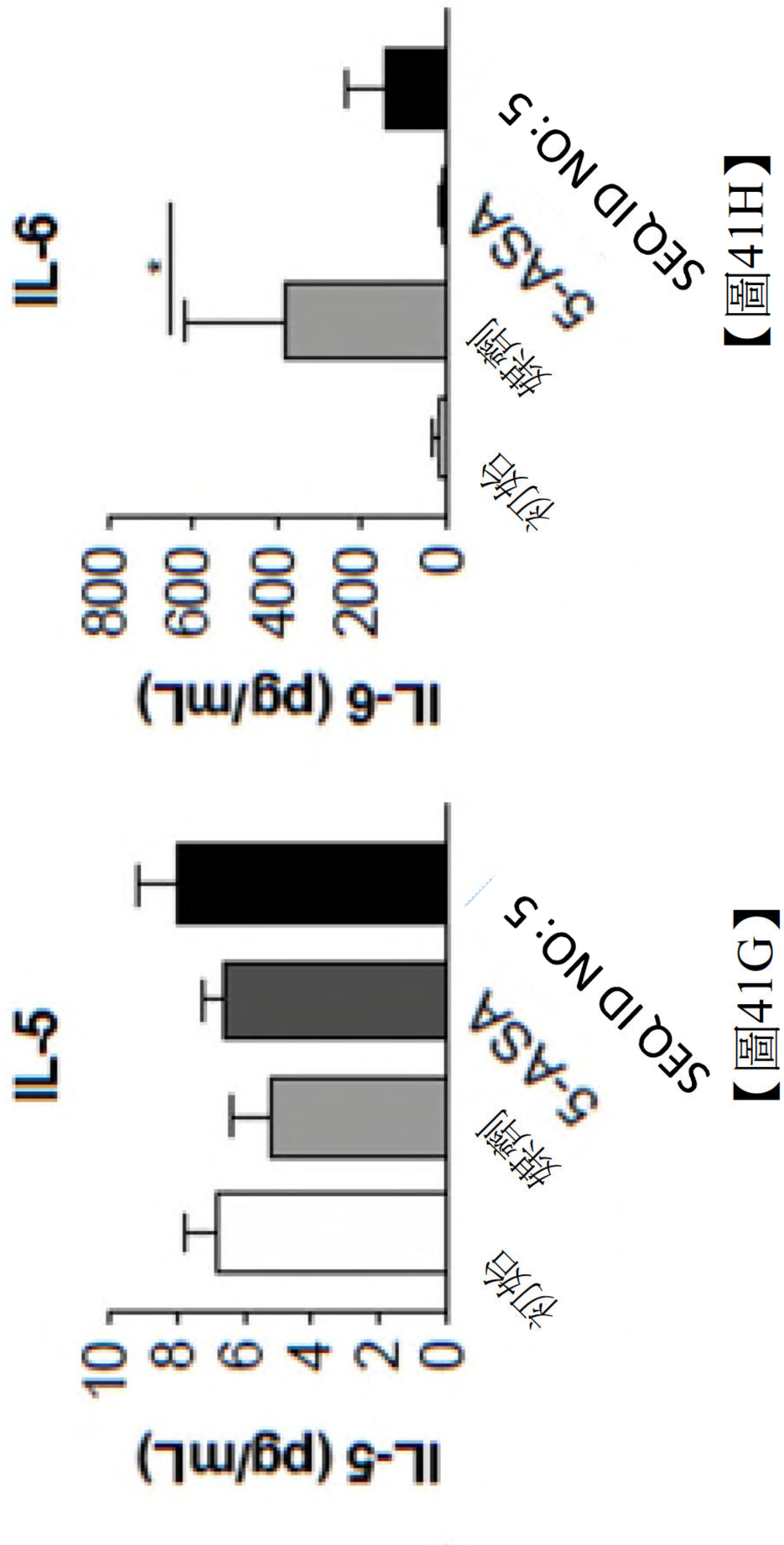


【圖41D】



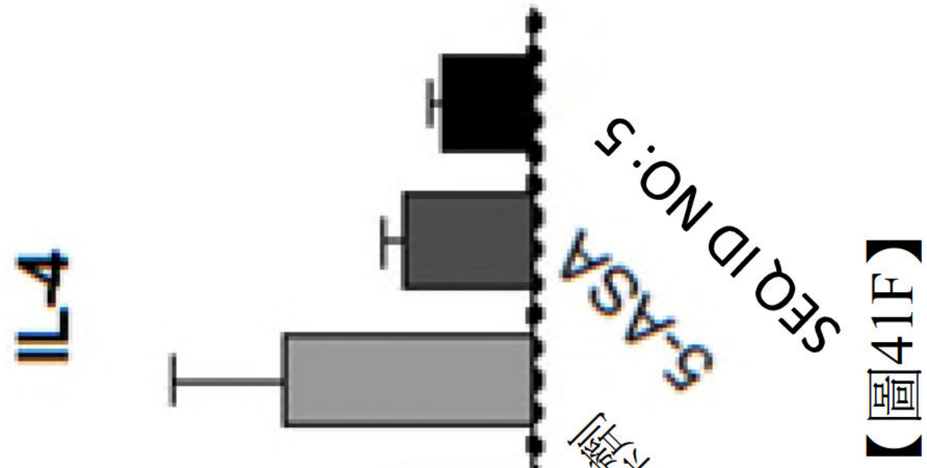
【圖41E】

110年2月5日 修正日 20210521

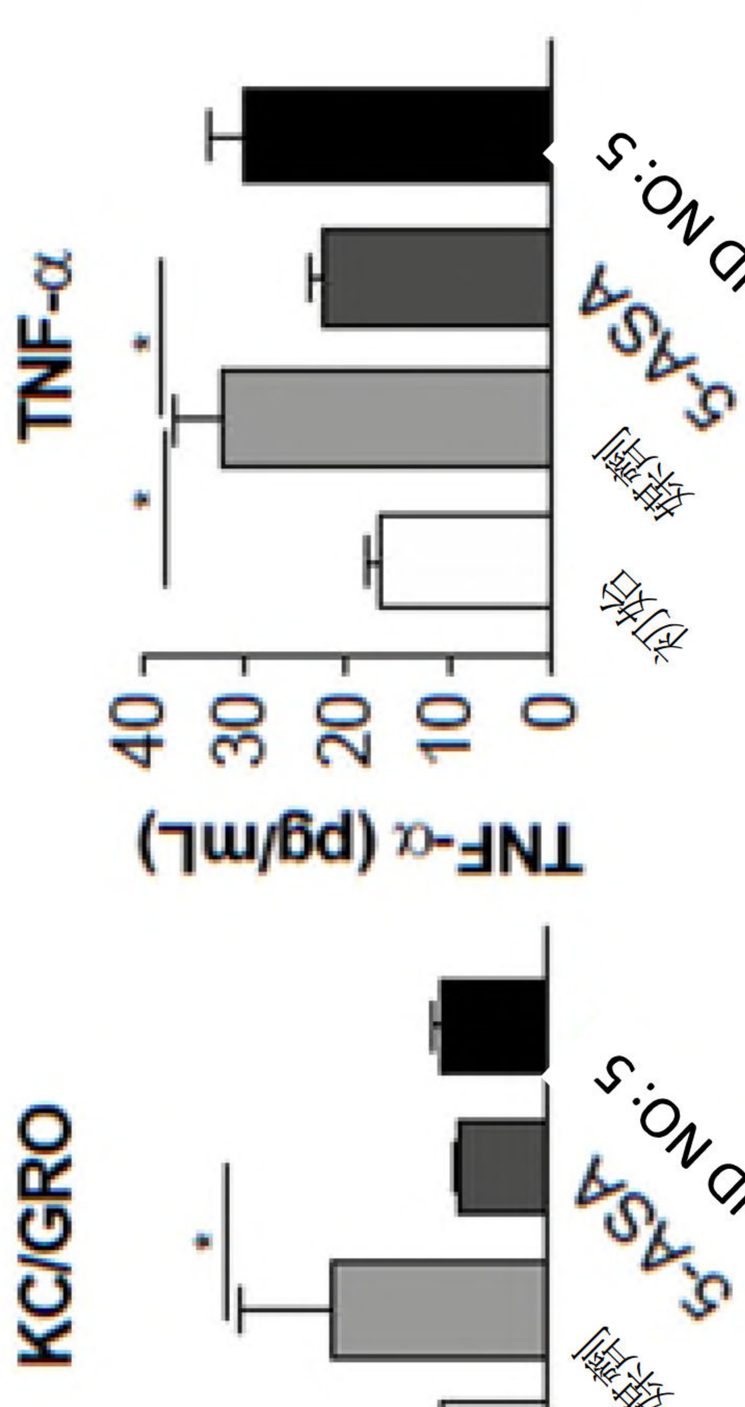


【圖41H】

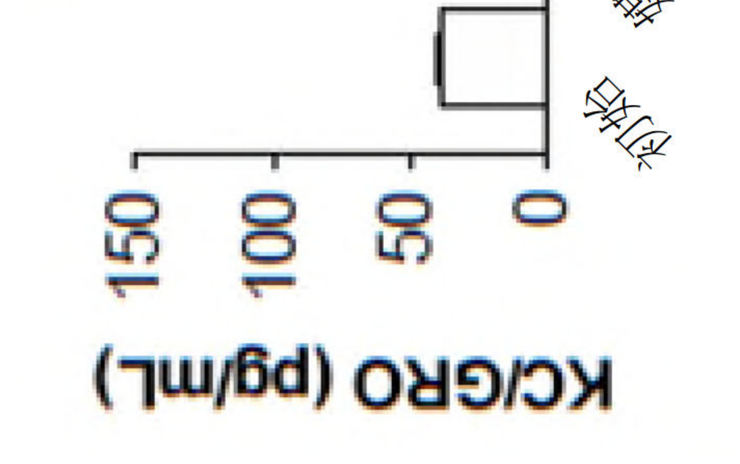
【圖41G】



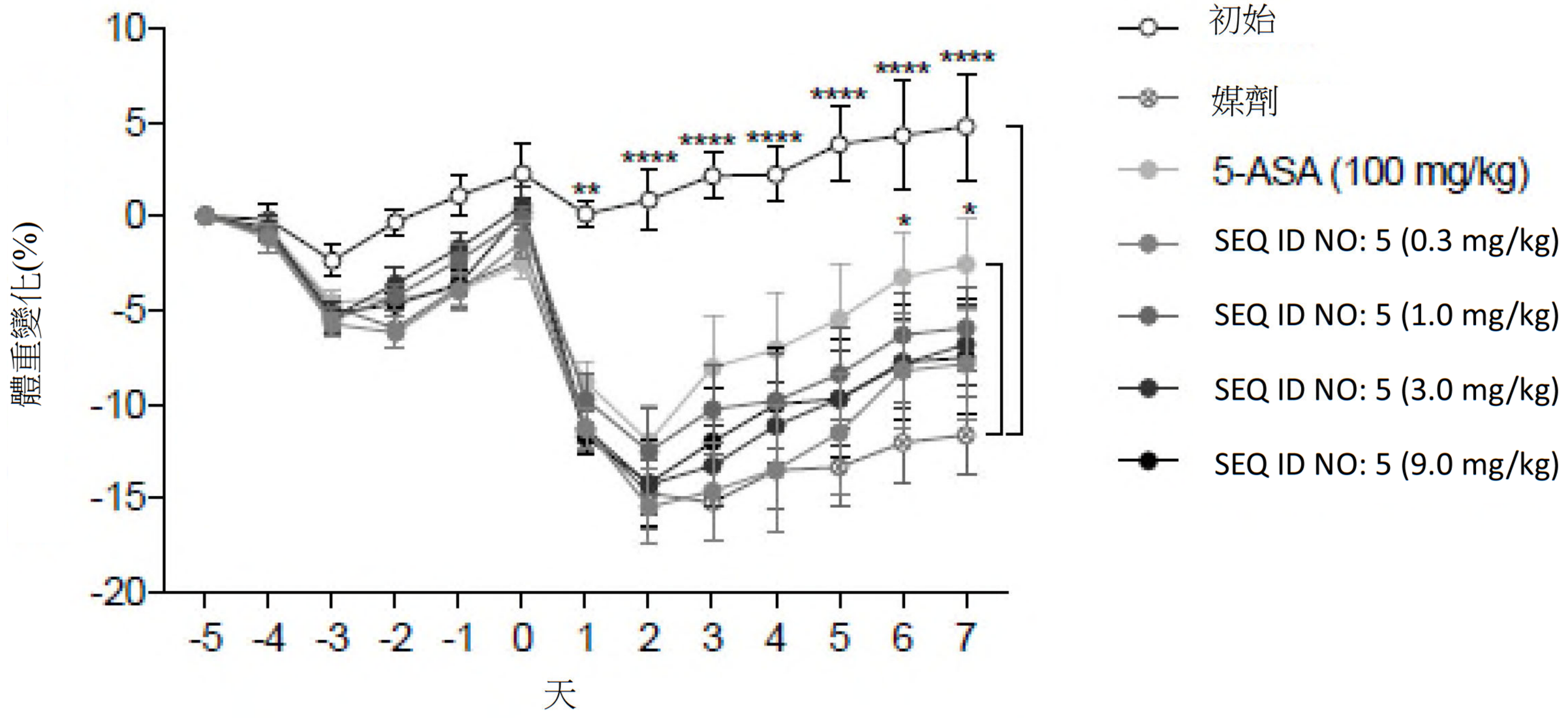
【圖41F】



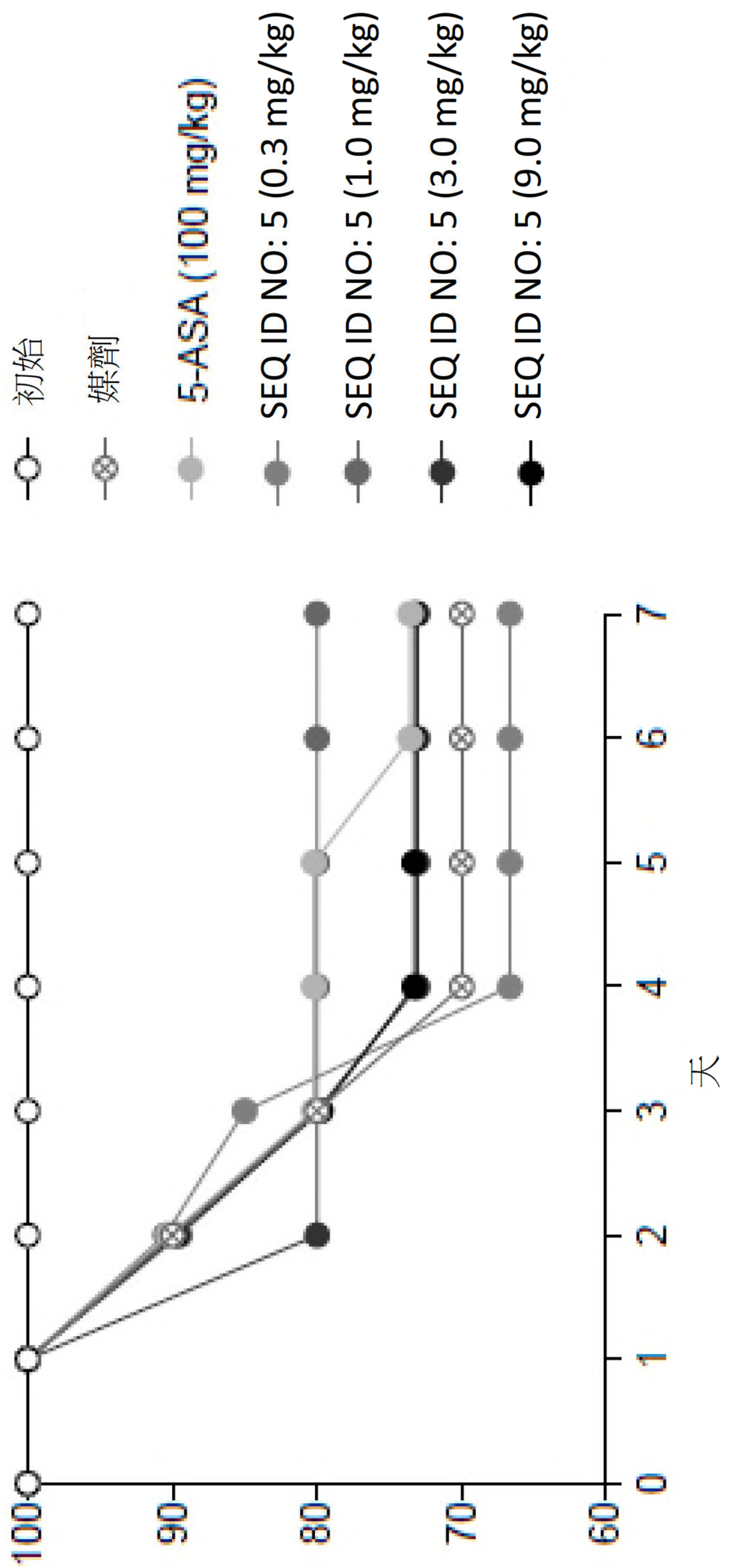
【圖41J】



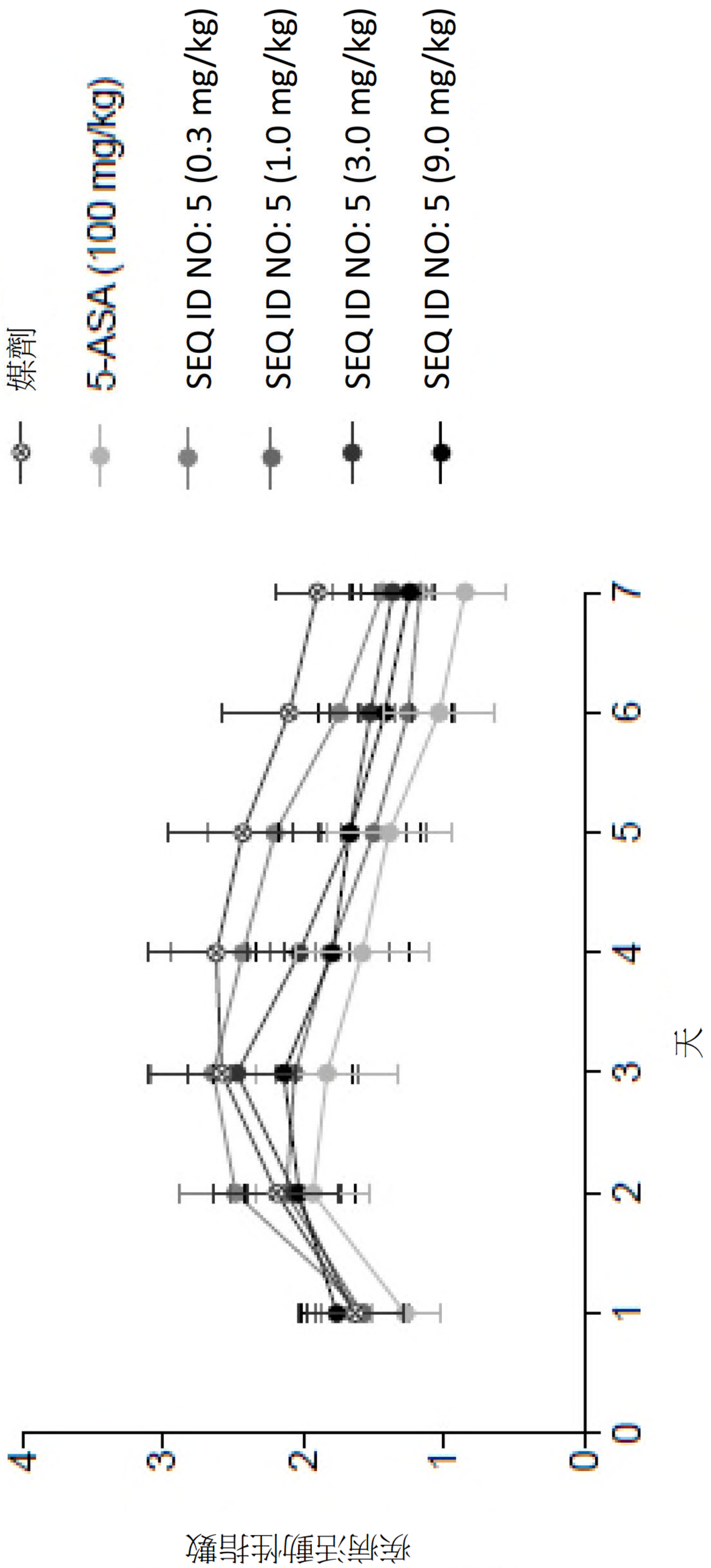
【圖41I】


體重變化(%)
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-5 -4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5 6 7
天
**
****
*
初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)

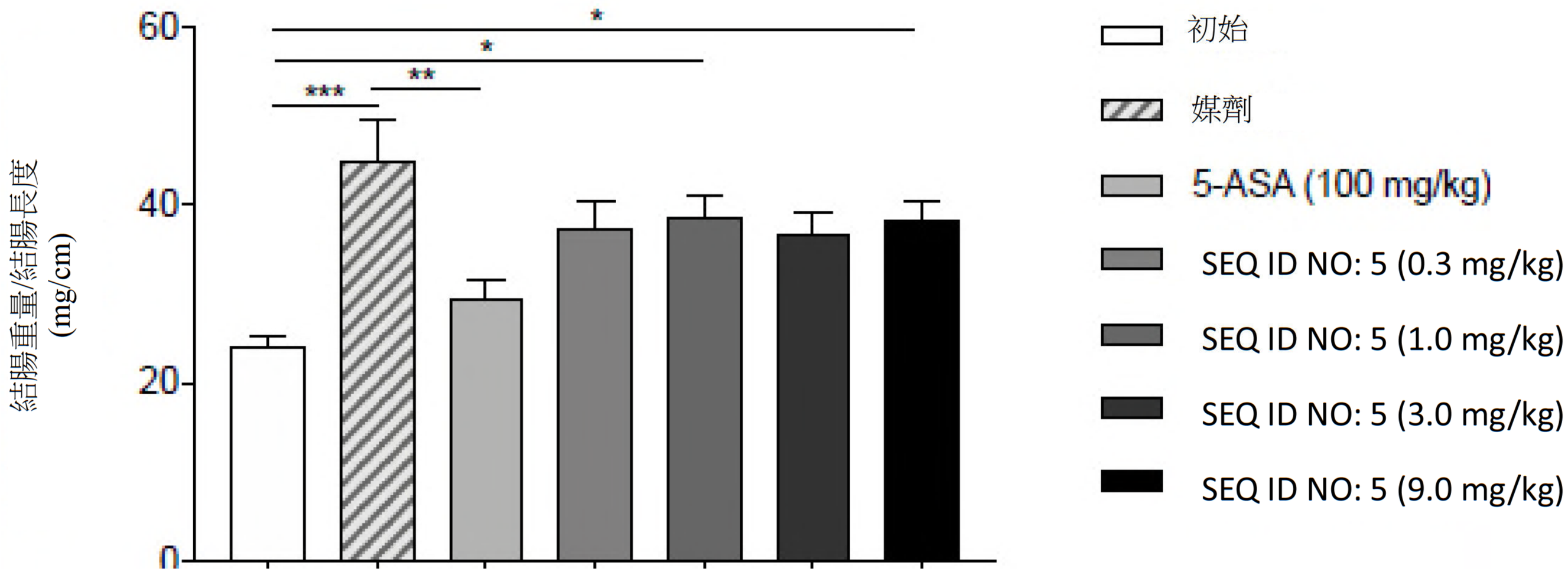
【圖42】


初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO:5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO:5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO:5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO:5 (9.0 mg/kg)
0
1
2
3
4
5
6
7
天
100
90
80
70
60
存活率(%)

【圖43】

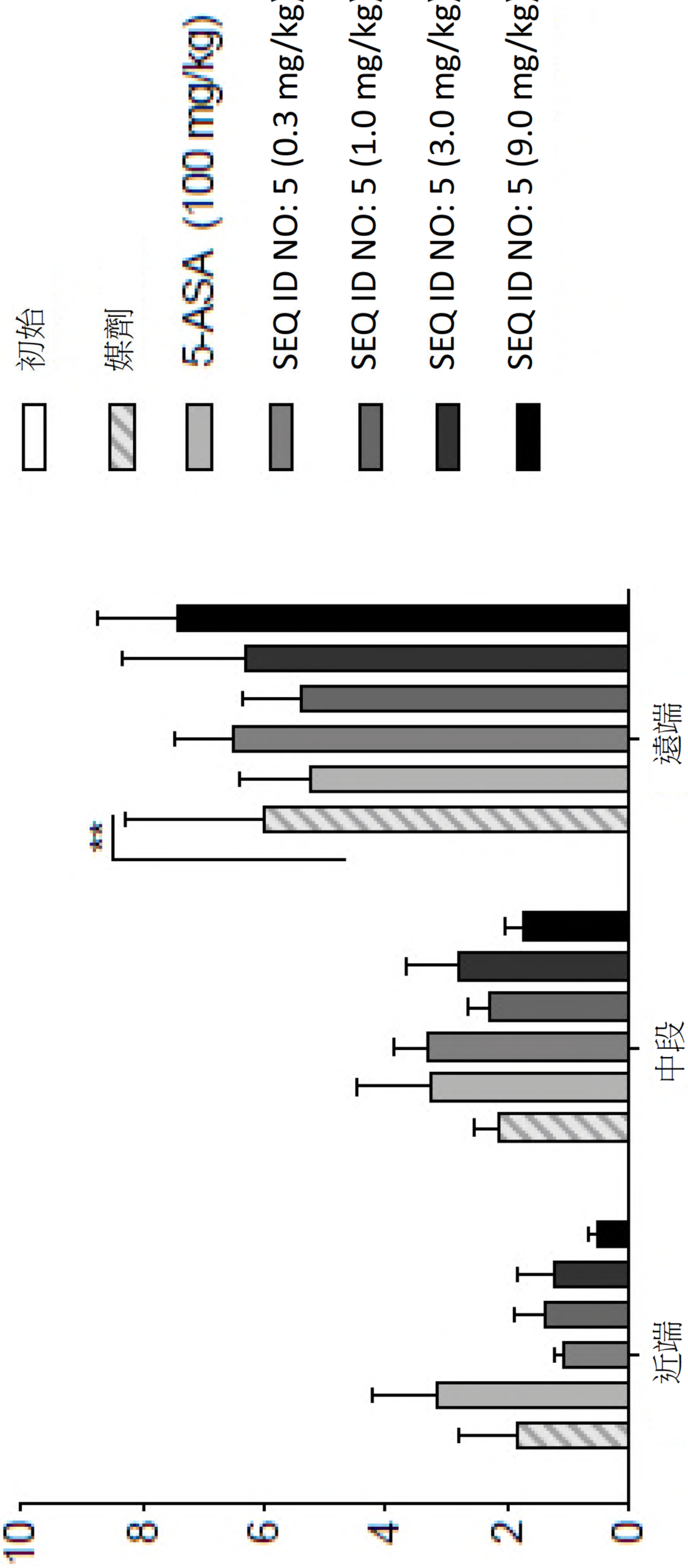

媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)
0
1
2
3
4
5
6
7
天
疾病活動性指數

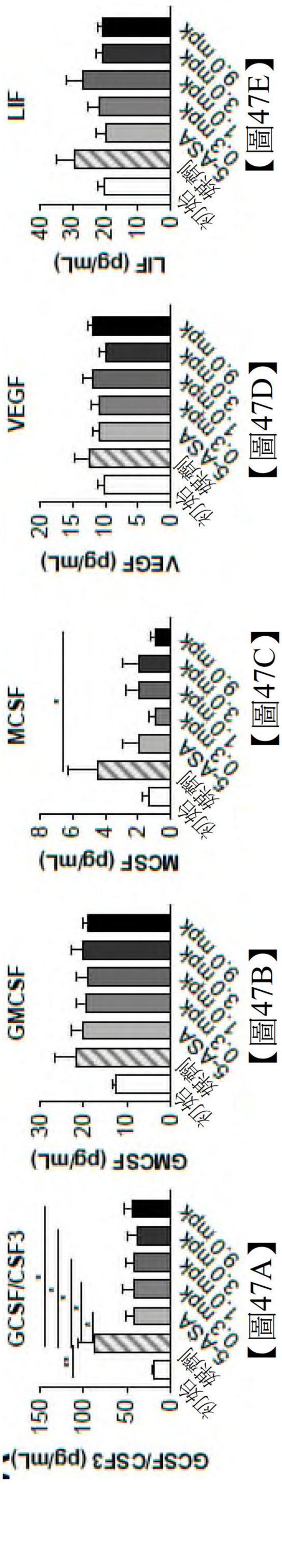
【圖44】


結腸重量/結腸長度
(mg/cm)
60
40
20
0
***
**
*
*
初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)

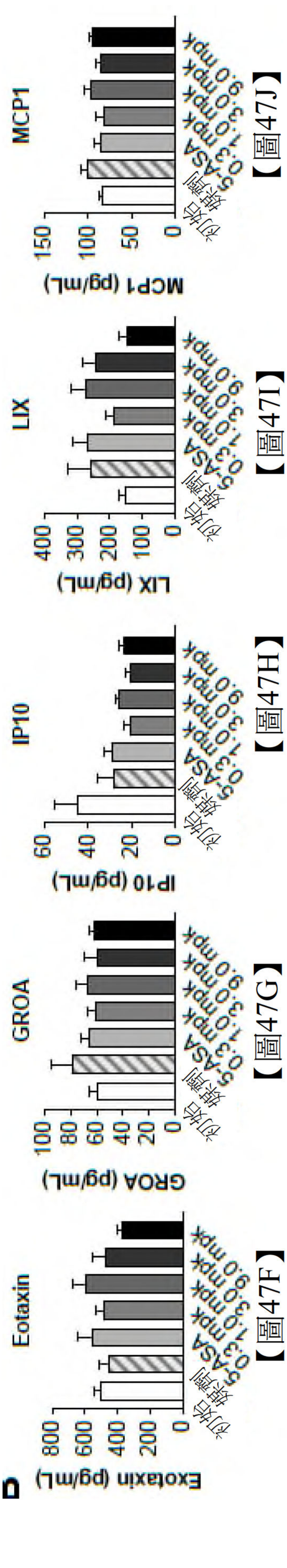
【圖45】

【圖46】

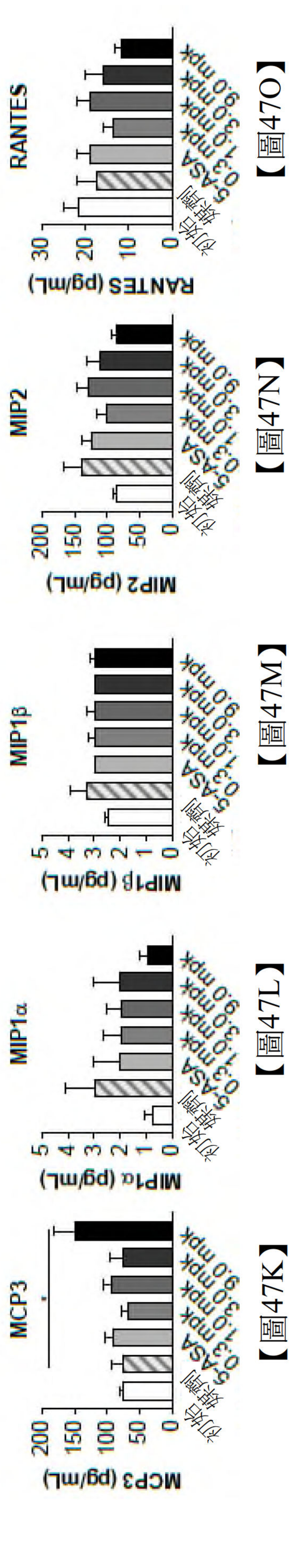

初始
媒劑
5-ASA (100 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)
遠端
中段
近端
10
8
6
4
2
0
組織學評分



【圖47E】



【圖47J】



【圖47O】

【圖47D】

【圖47I】

【圖47N】

【圖47C】

【圖47H】

【圖47M】

【圖47B】

【圖47G】

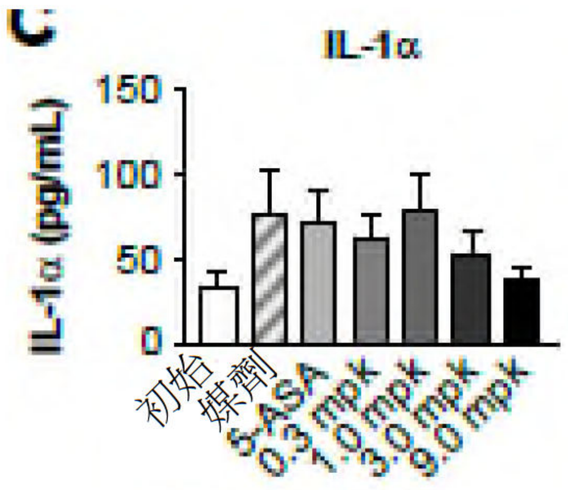
【圖47L】

【圖47A】

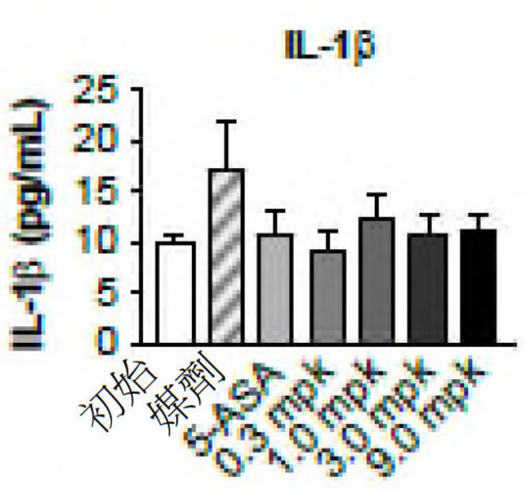
【圖47F】

【圖47K】

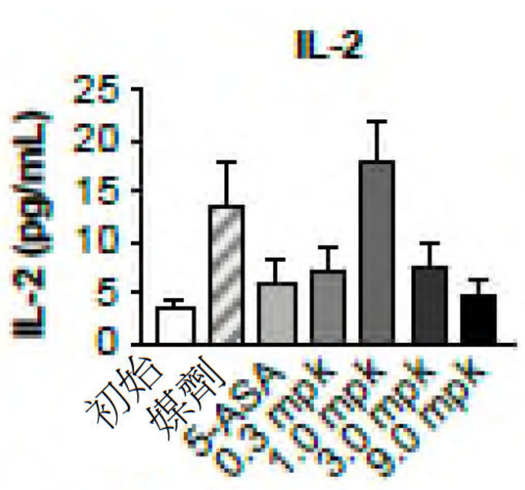
C



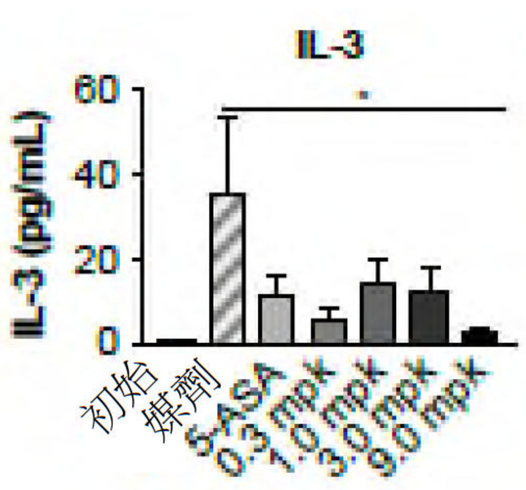
【圖47P】



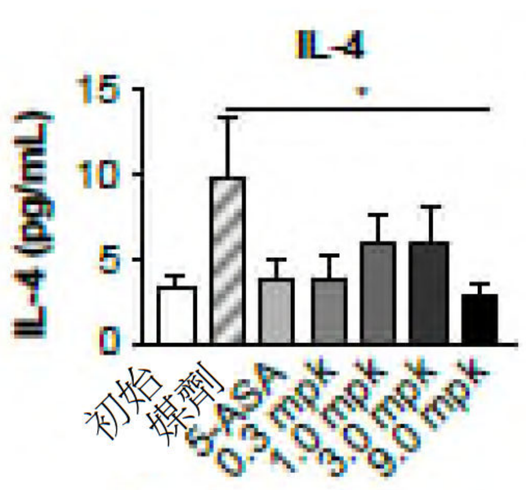
【圖47Q】



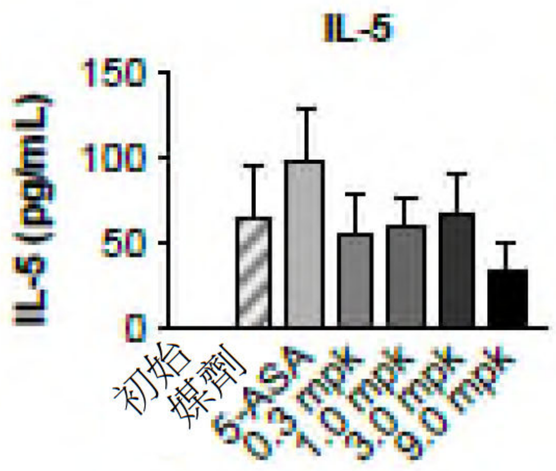
【圖47R】



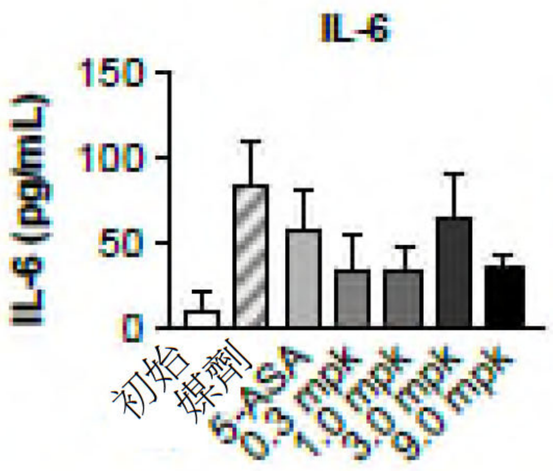
【圖47S】



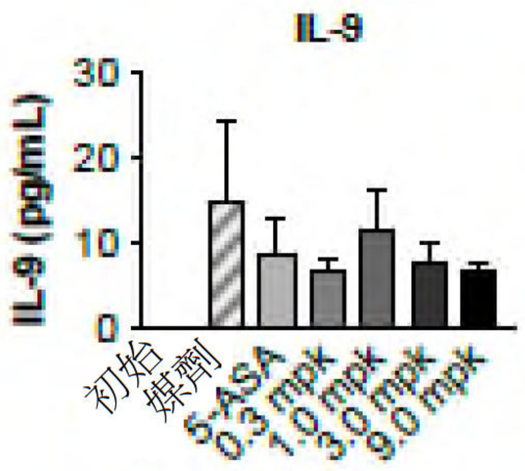
【圖47T】



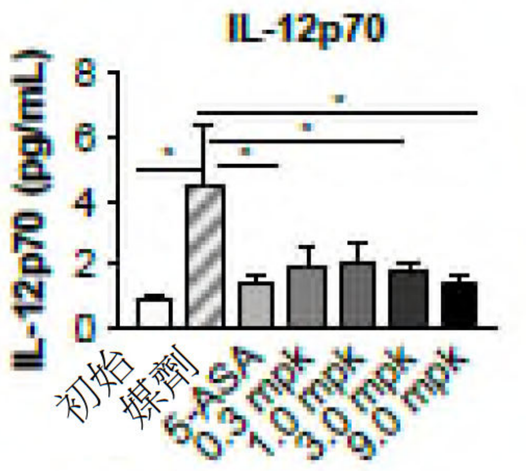
【圖47U】



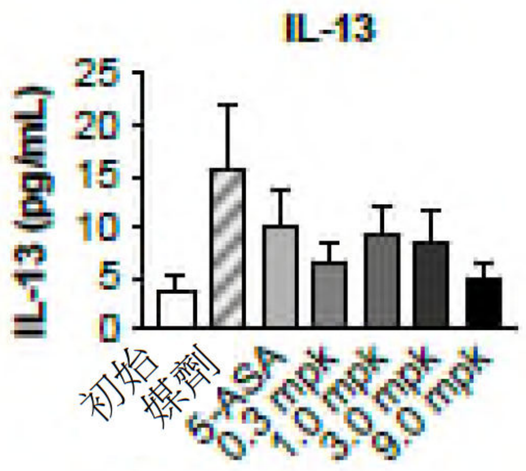
【圖47V】



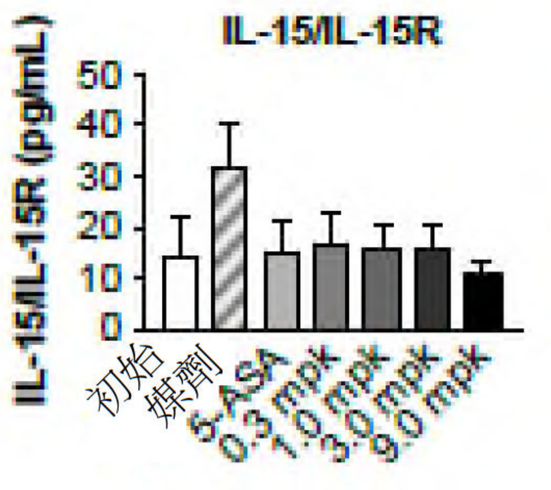
【圖47W】



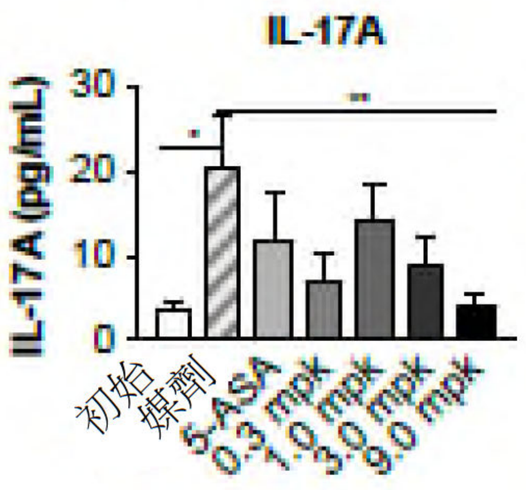
【圖47X】



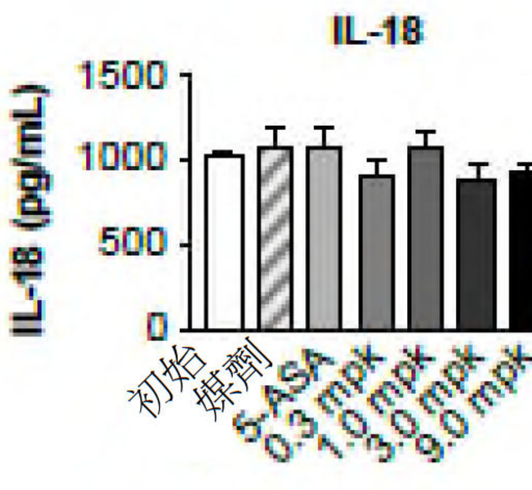
【圖47Y】



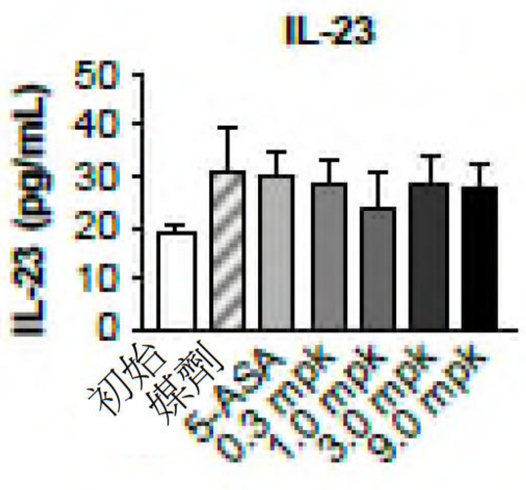
【圖47Z】



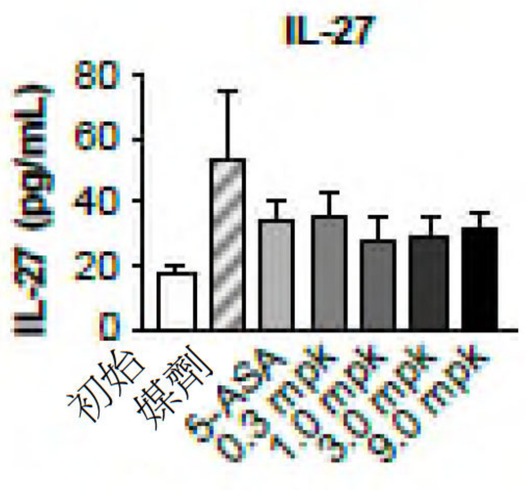
【圖47AA】



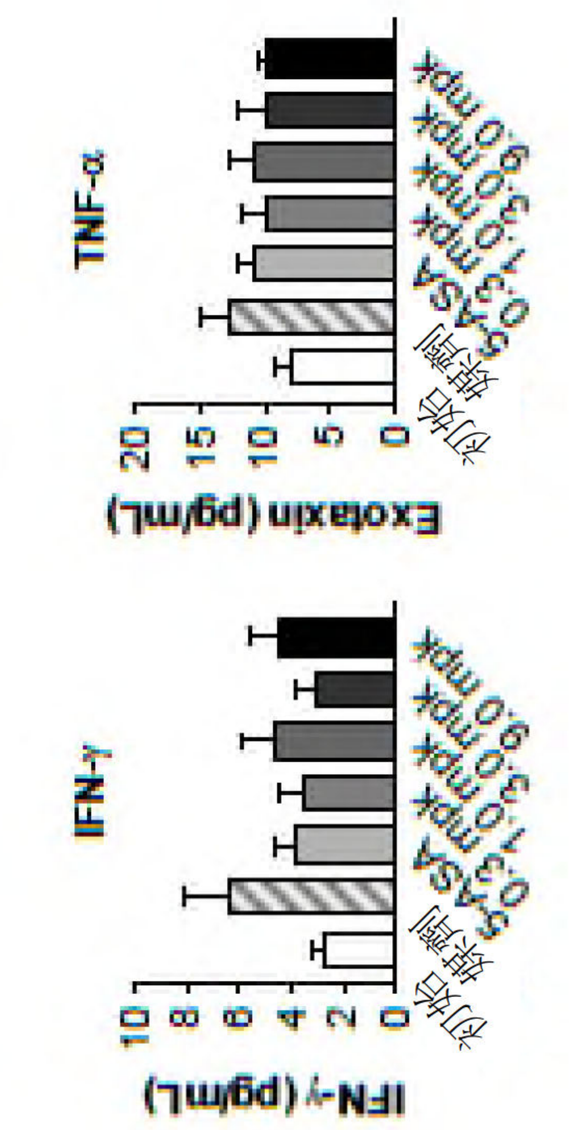
【圖47BB】



【圖47CC】



【圖47DD】



【圖47II】

【圖47HH】

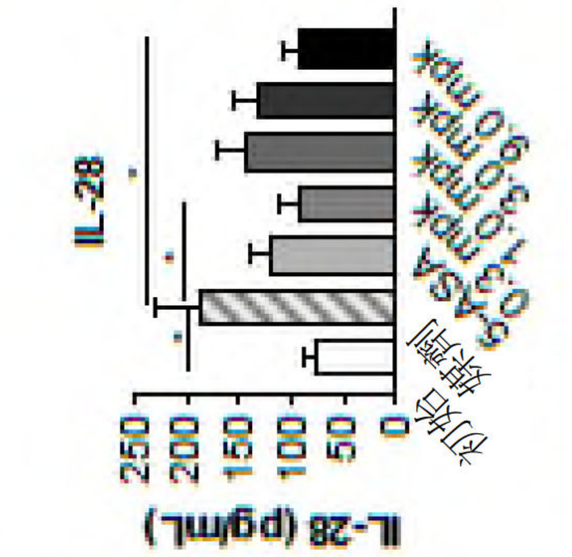
【圖47GG】

【圖47LL】

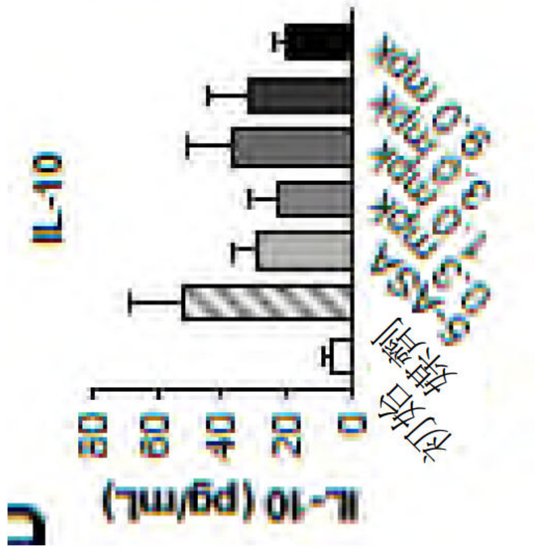


【圖47FF】

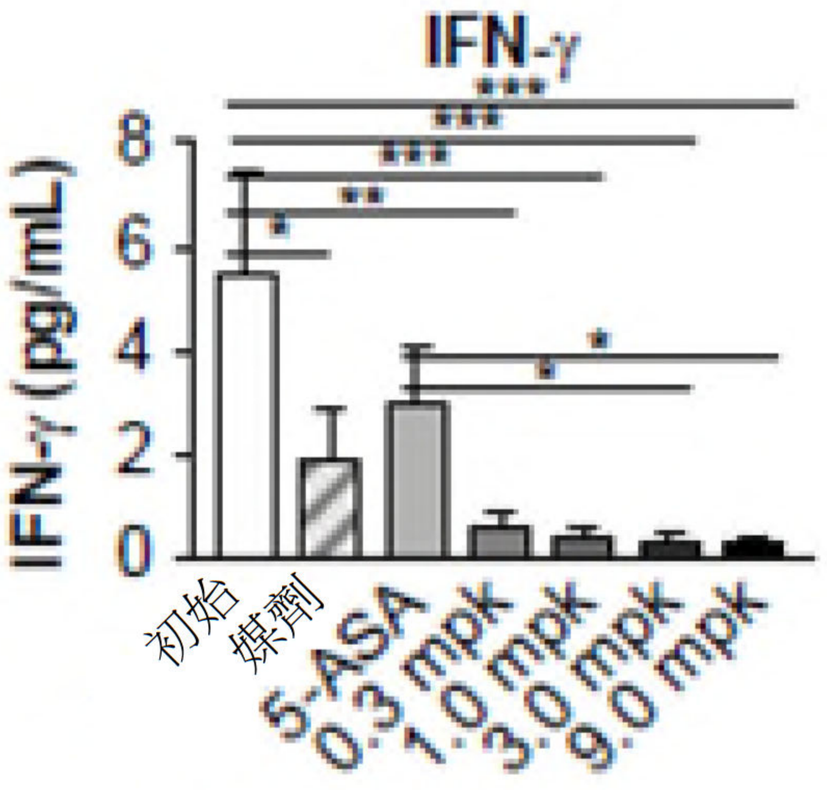
【圖47KK】



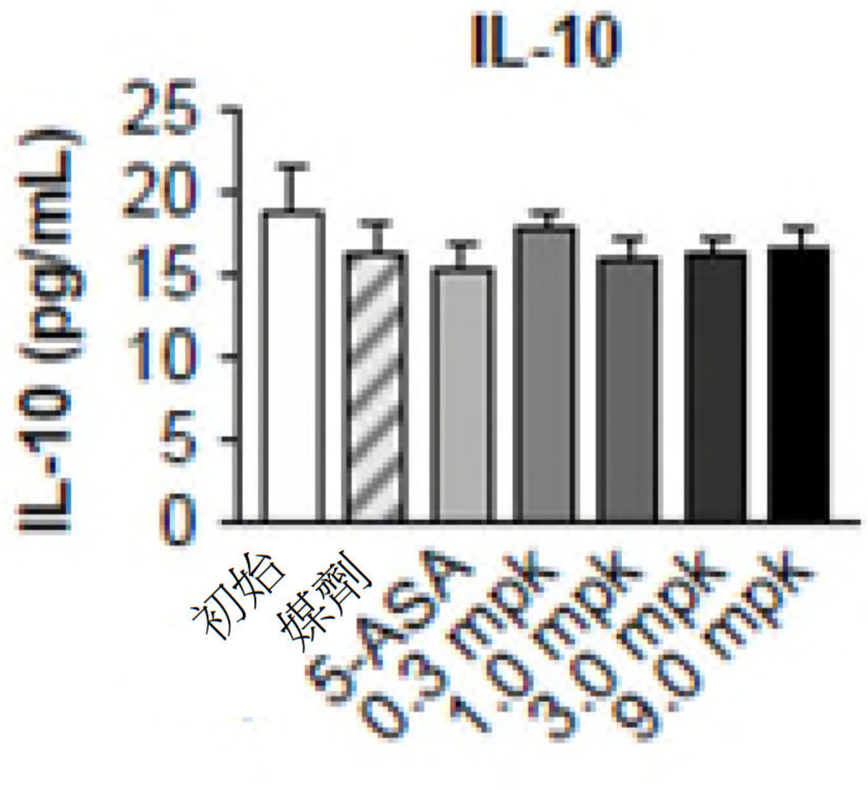
【圖47EE】



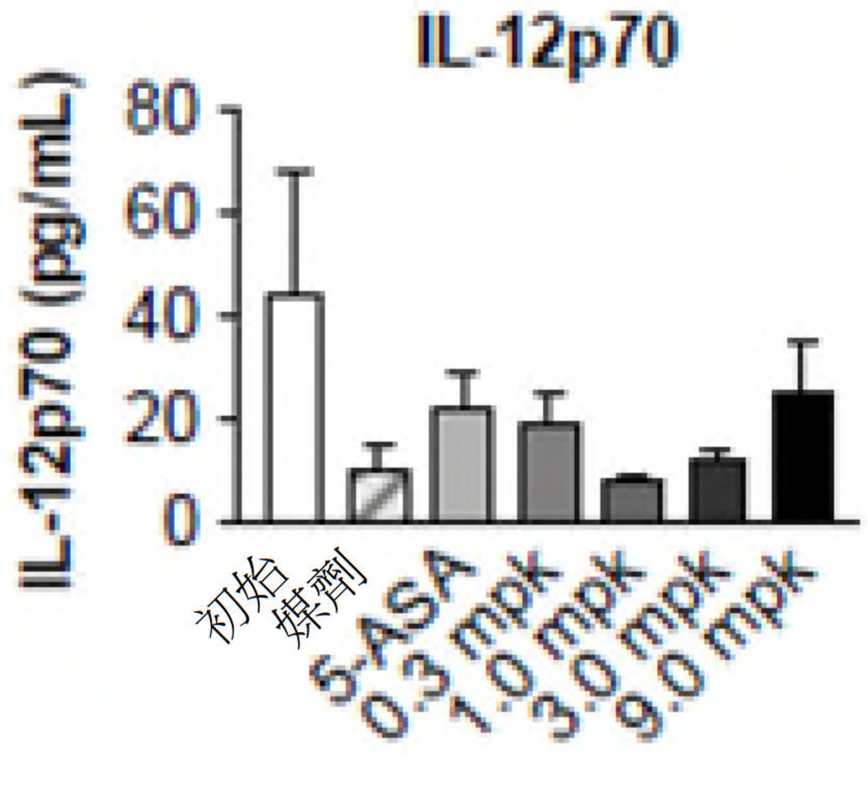
【圖47JJ】



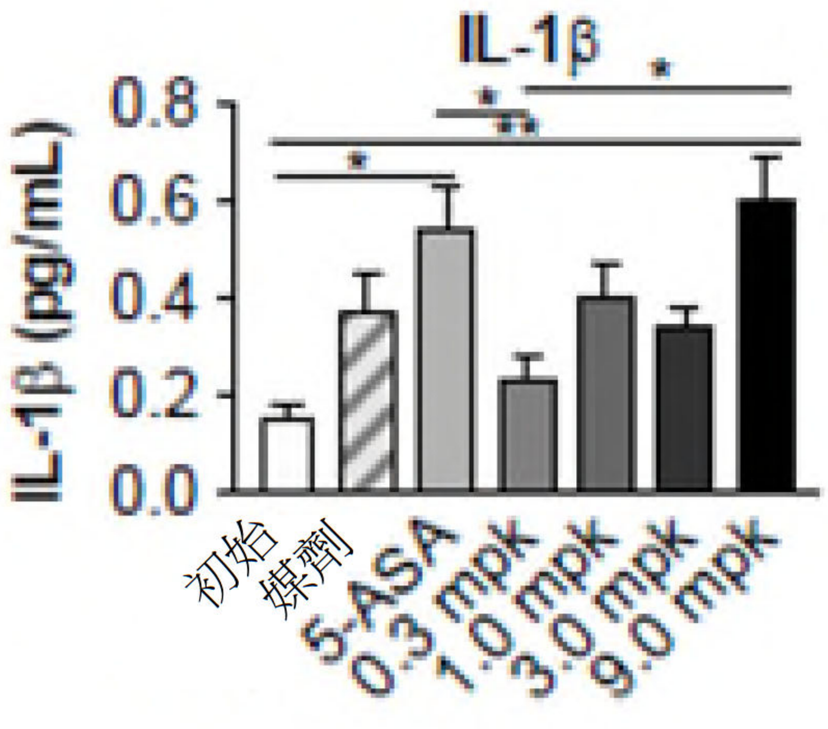
【圖48A】



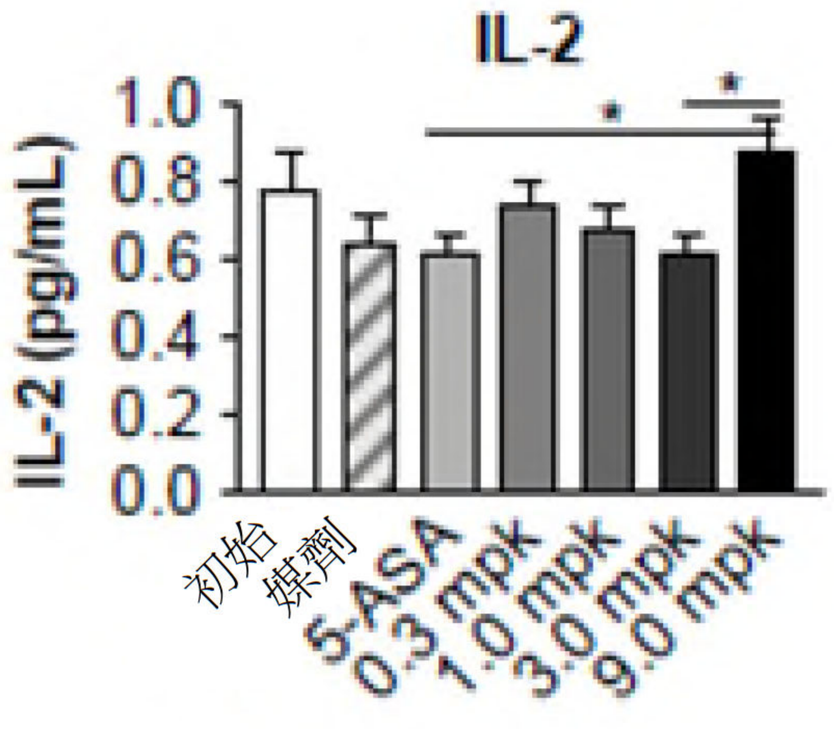
【圖48B】



【圖48C】

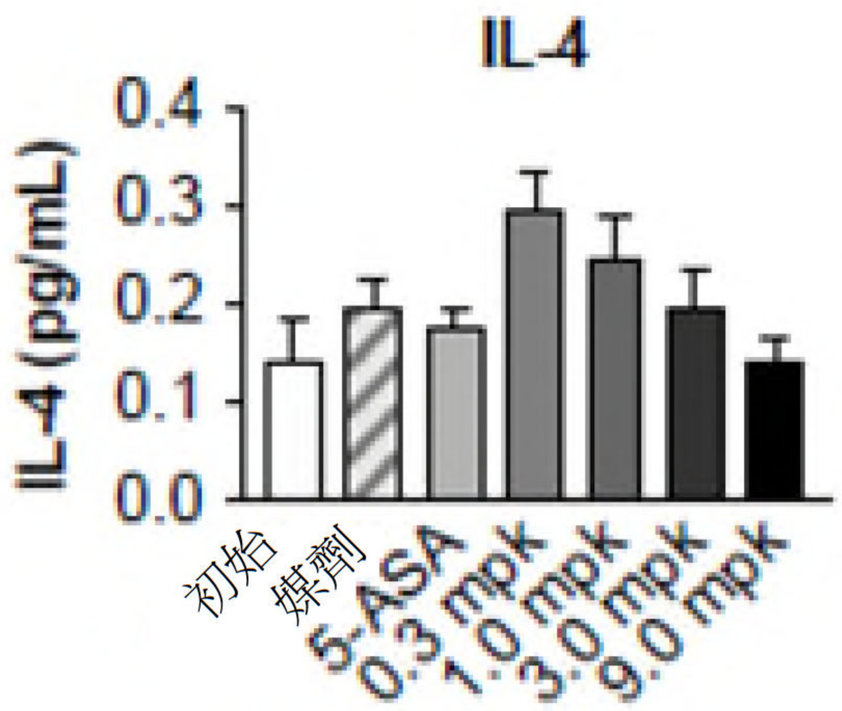


【圖48D】

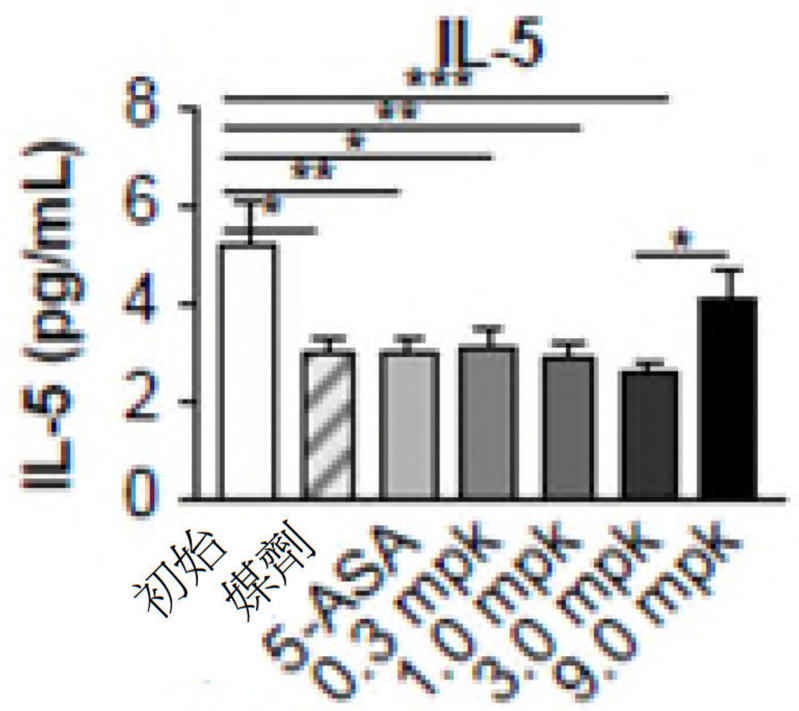


【圖48E】

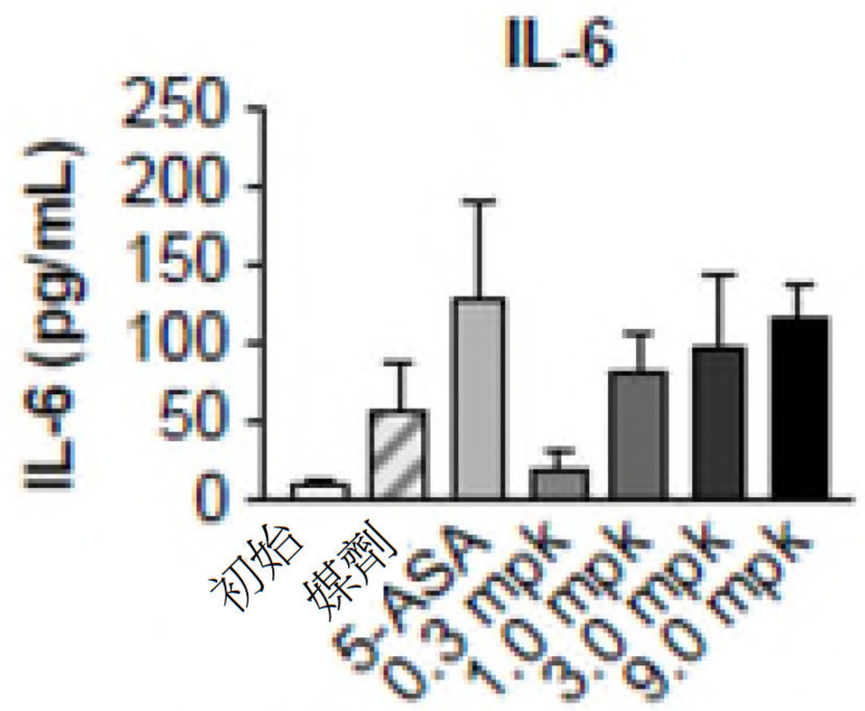
110年2月5日 修正日 20210521



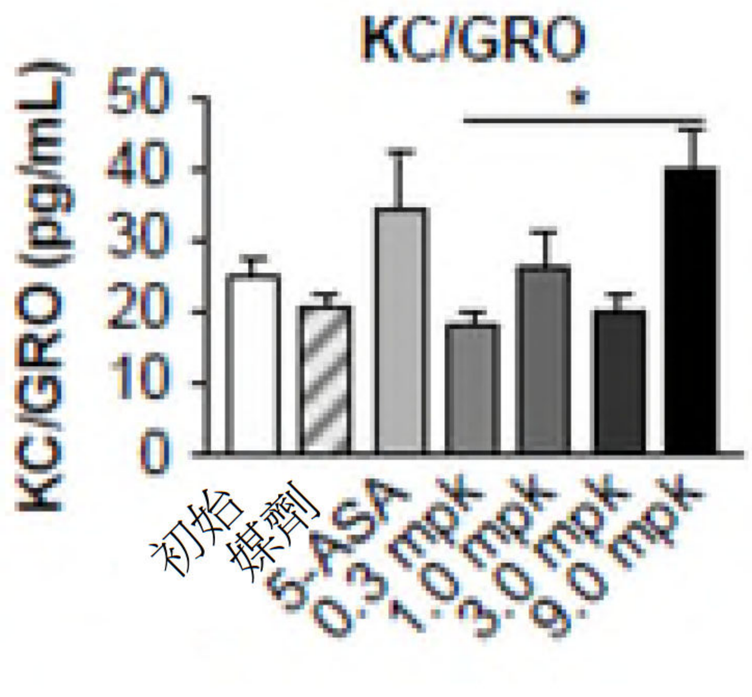
【圖48F】



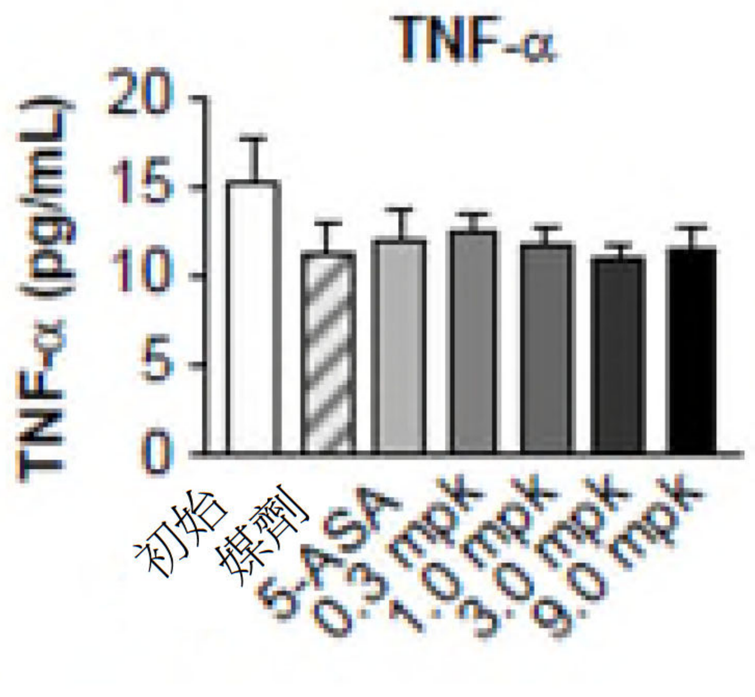
【圖48G】



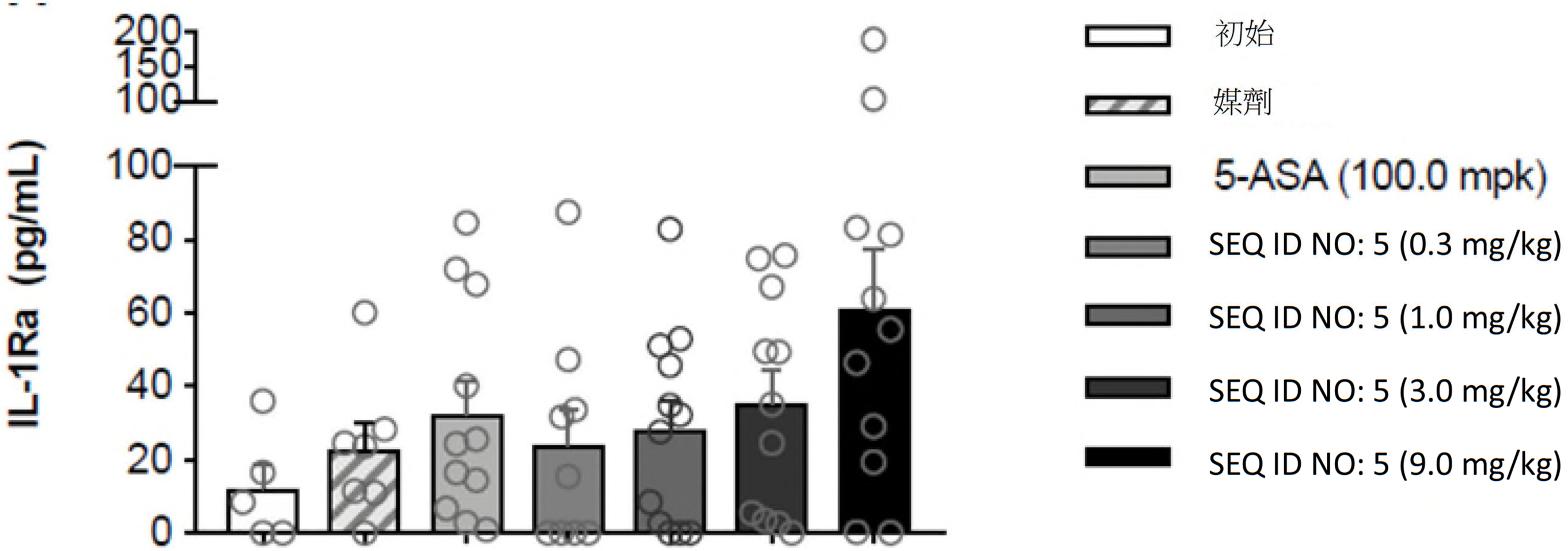
【圖48H】



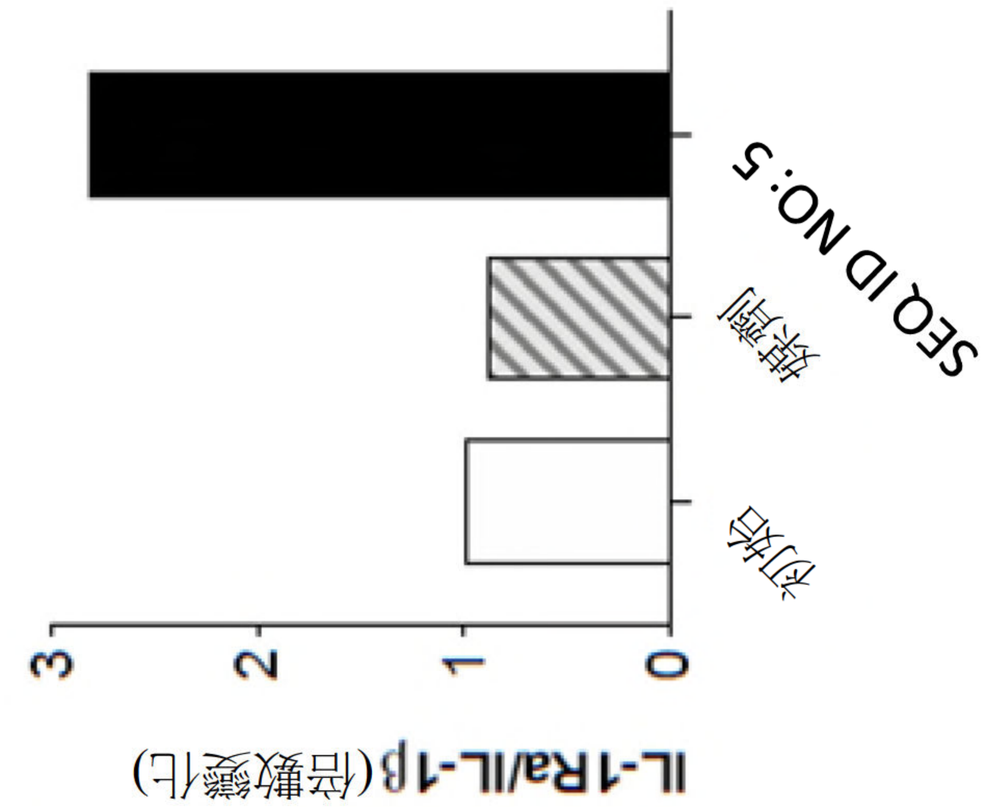
【圖48I】



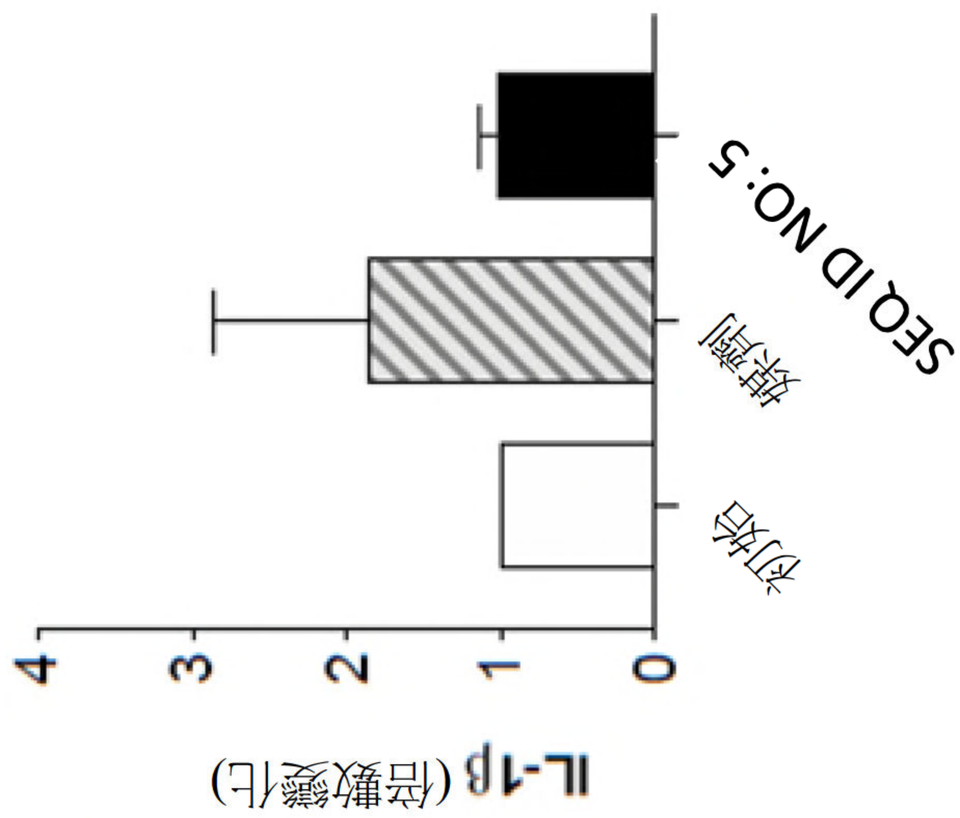
【圖48J】


IL-1Ra (pg/mL)
200
150
100
100
80
60
40
20
0
初始
媒劑
5-ASA (100.0 mpk)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (1.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (9.0 mg/kg)

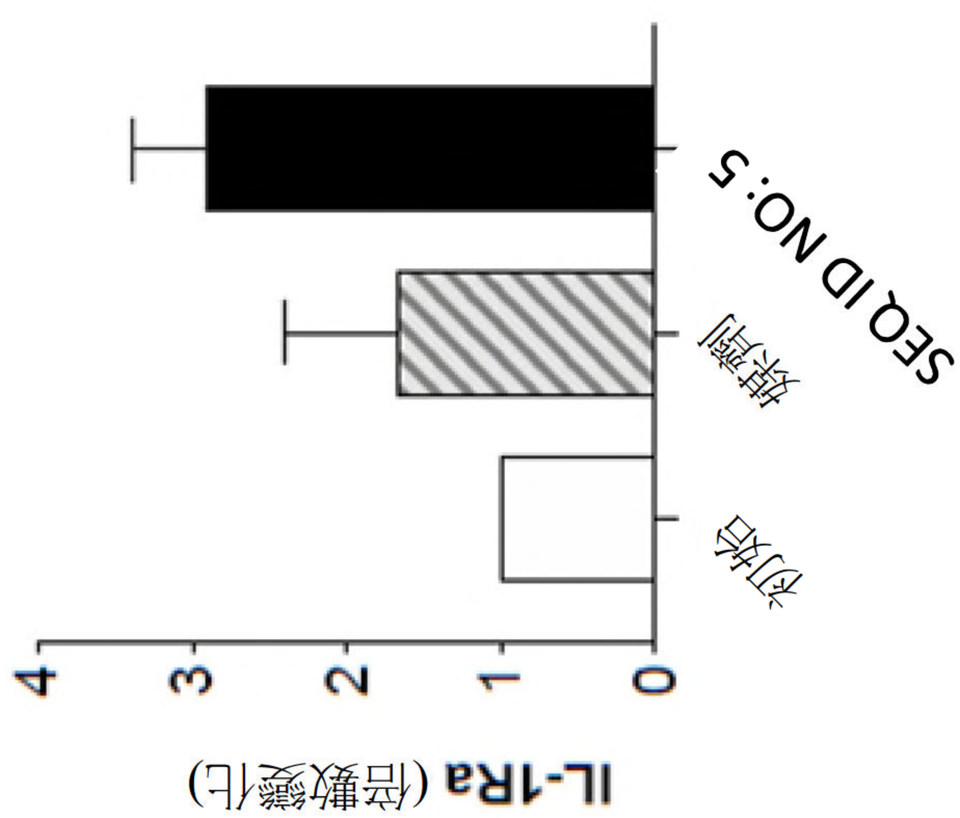
【圖49A】



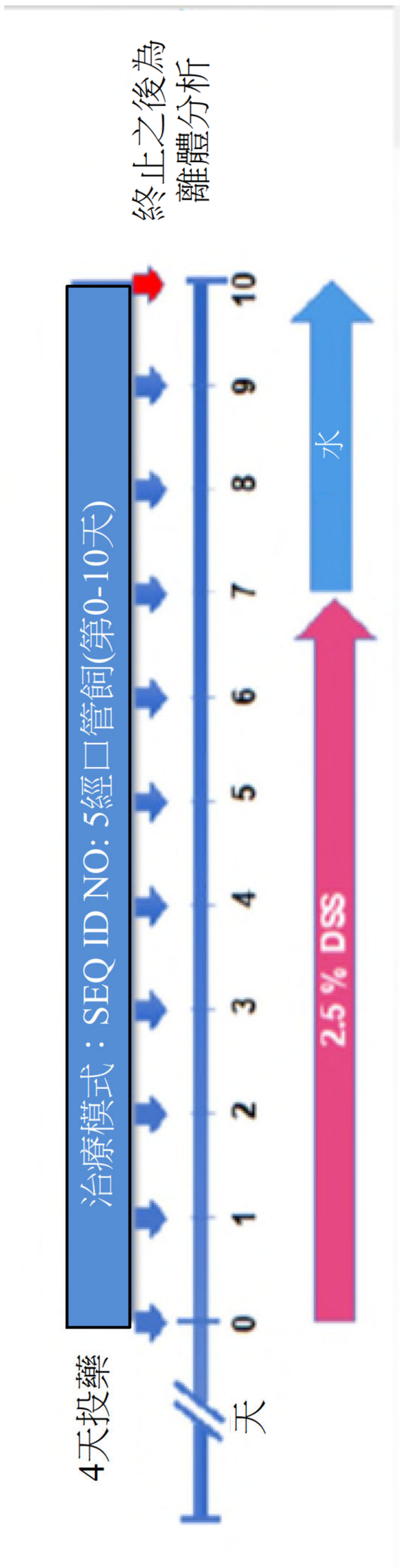
【圖49D】



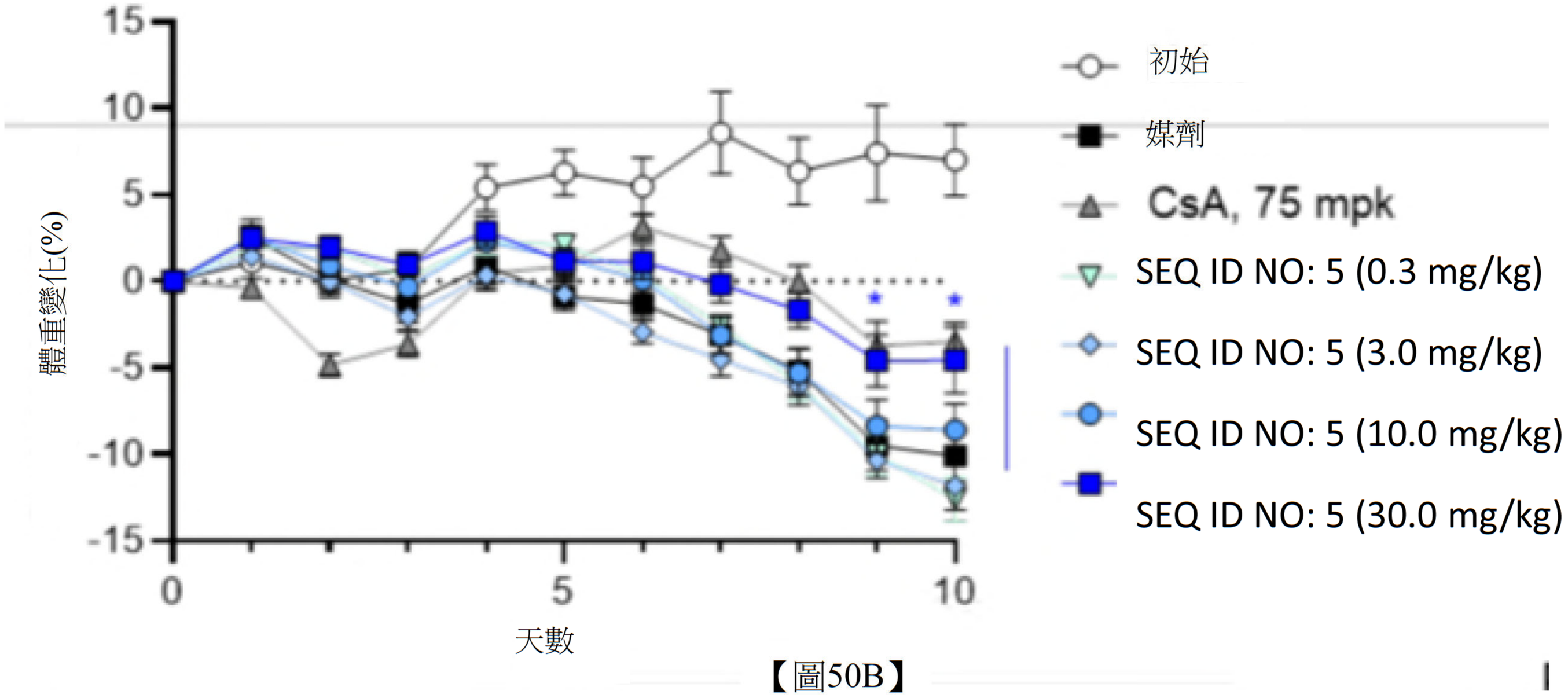
【圖49C】



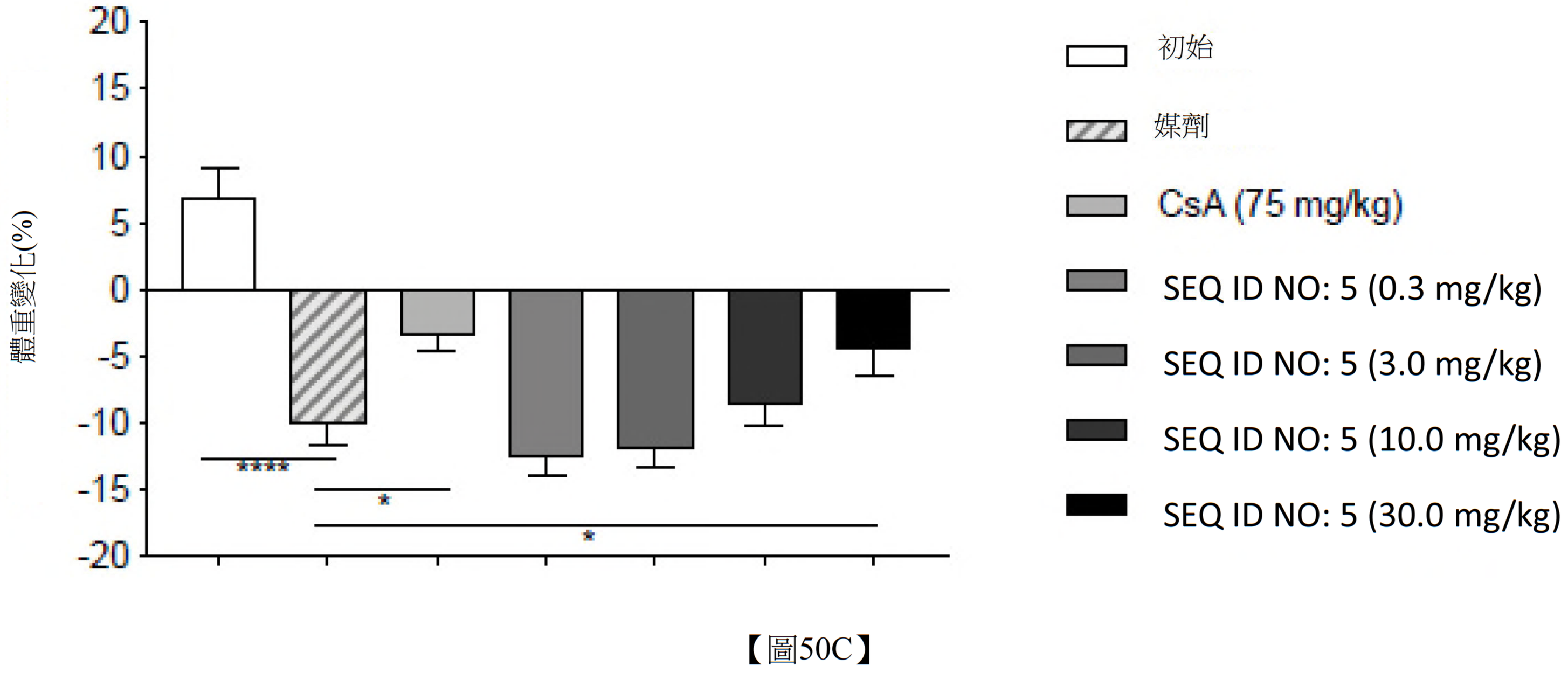
【圖49B】


治療模式：SEQ ID NO: 5經口管飼(第0-10天)
4天投藥
天
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
水
2.5 % DSS
終止之後為
離體分析

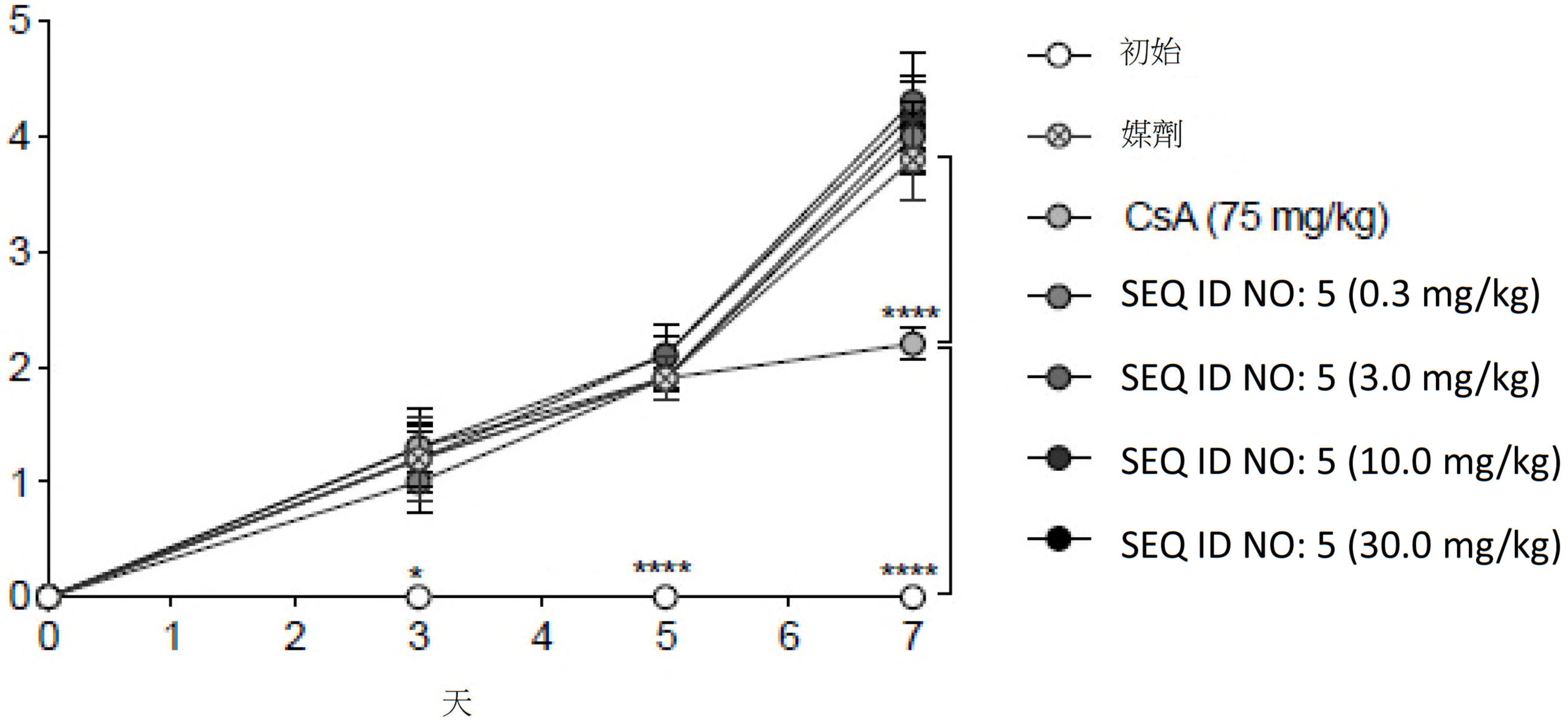
【圖50A】


15
10
5
0
-5
-10
-15
0
5
10
體重變化(%)
天數
初始
媒劑
CsA, 75 mpk
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)

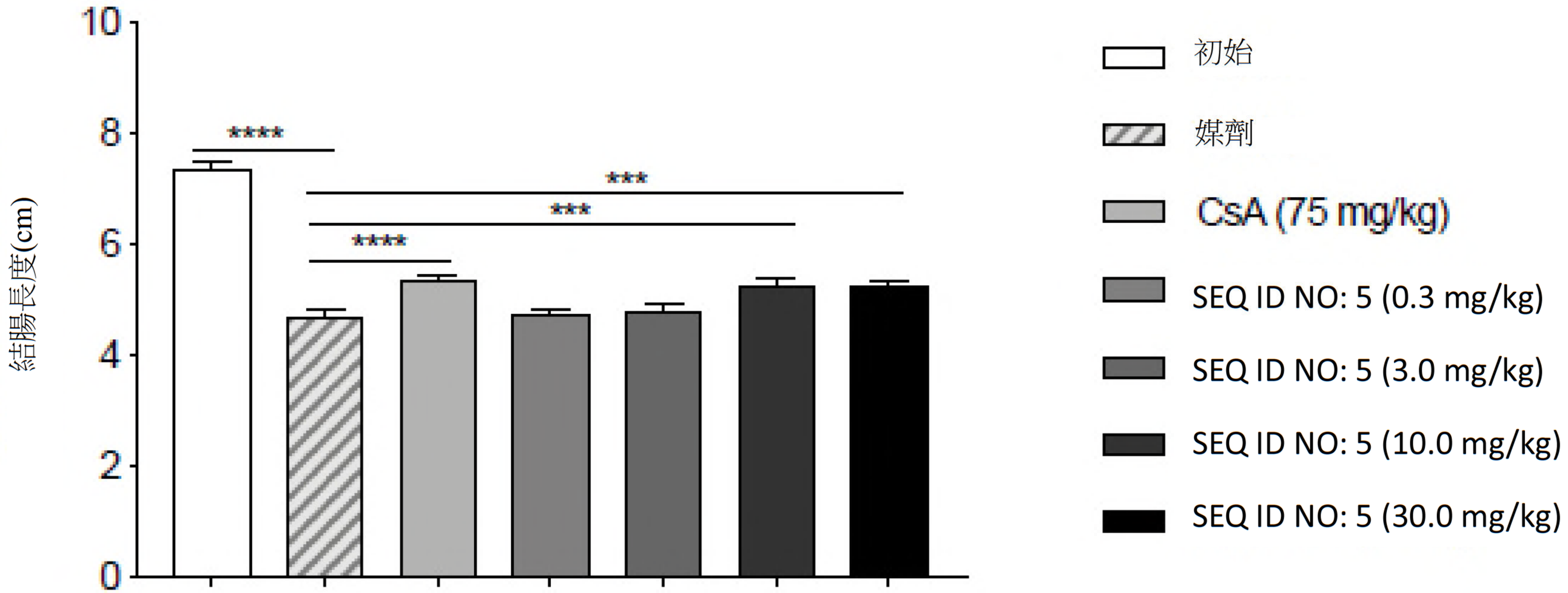
【圖50B】


體重變化(%)
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
****
*
*
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)

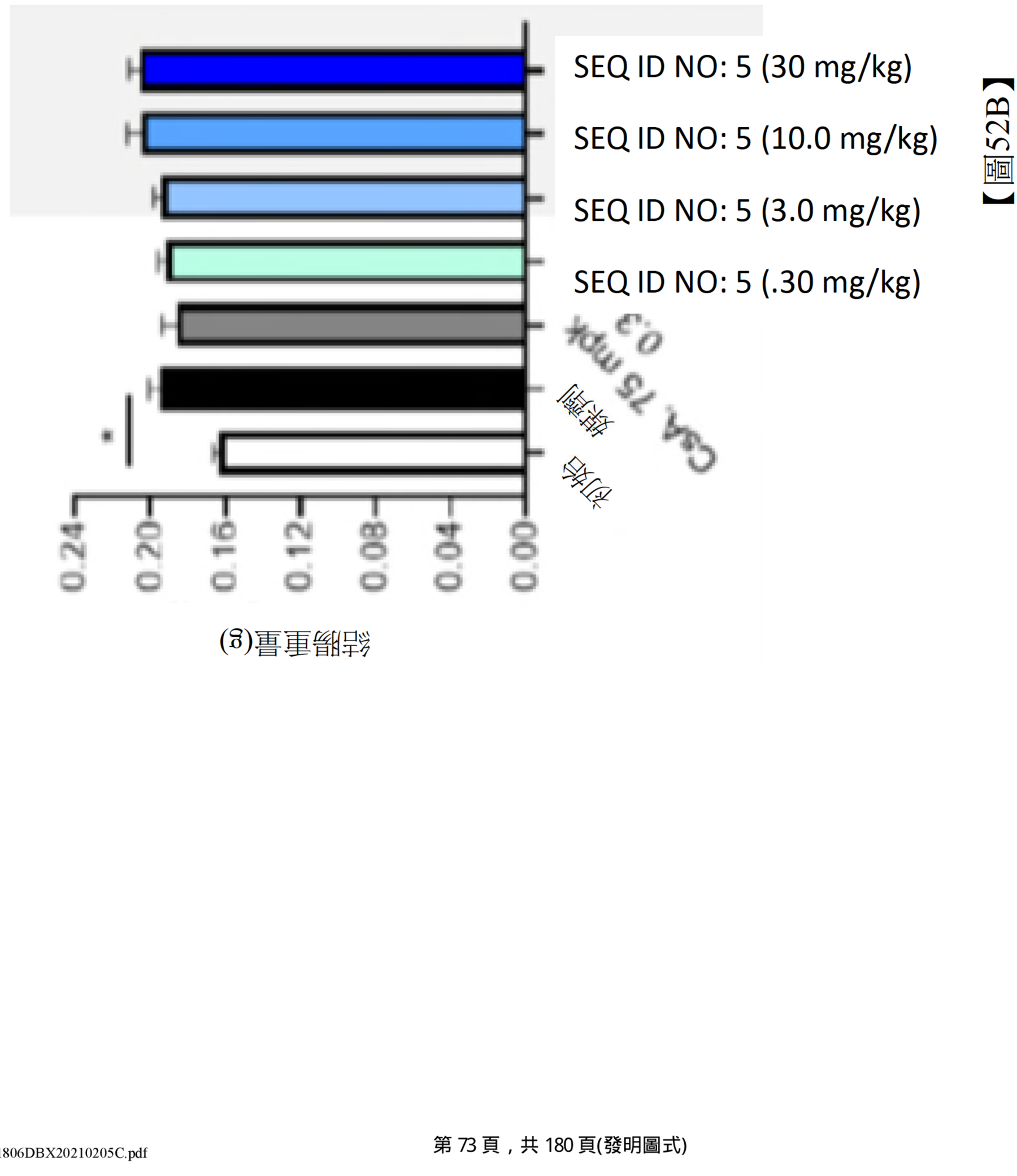
【圖50C】


加總DAI
天
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)
****
*
****
****

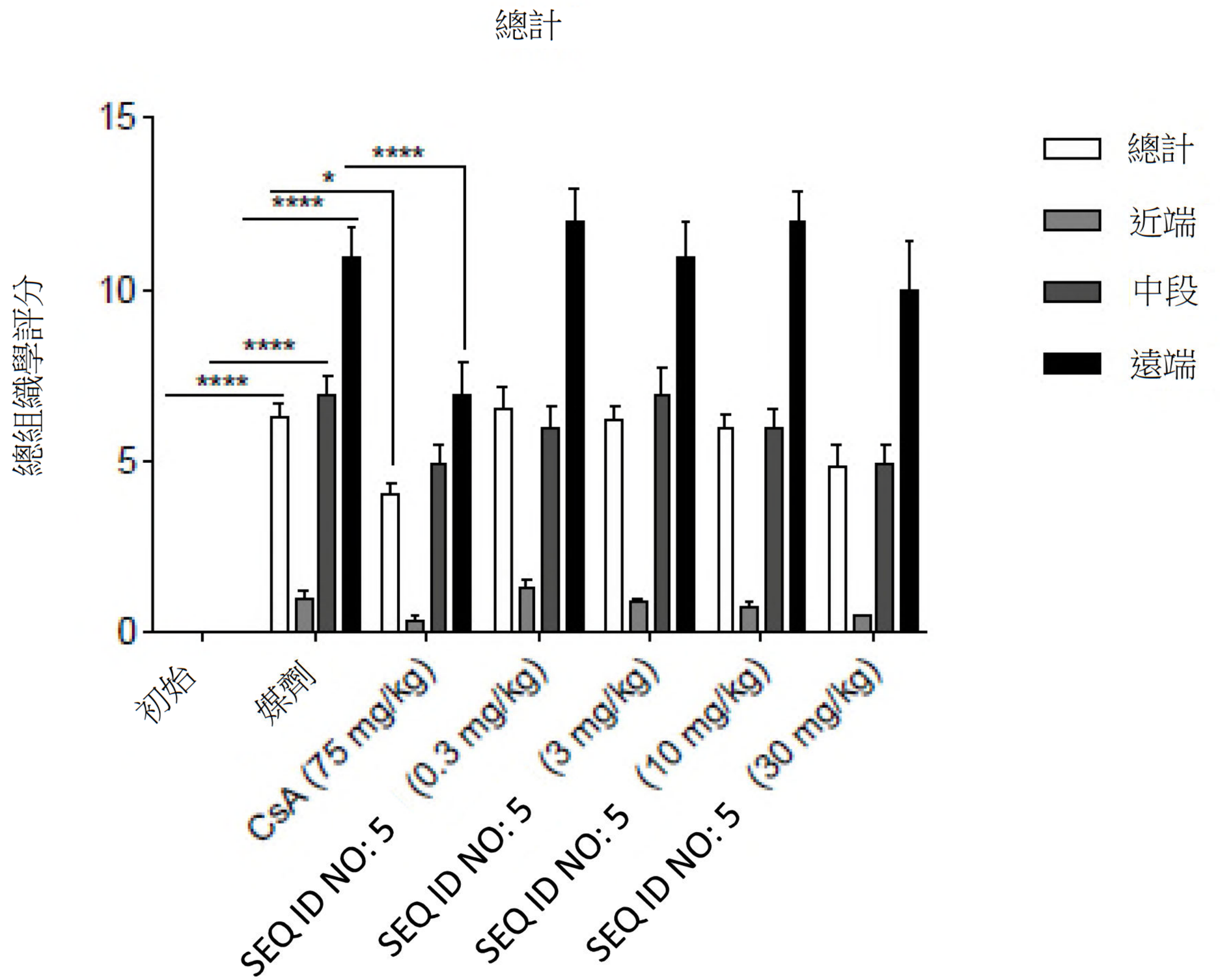
【圖51】


結腸長度(cm)
10
8
6
4
2
0
****
***
***
****
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)

【圖52A】

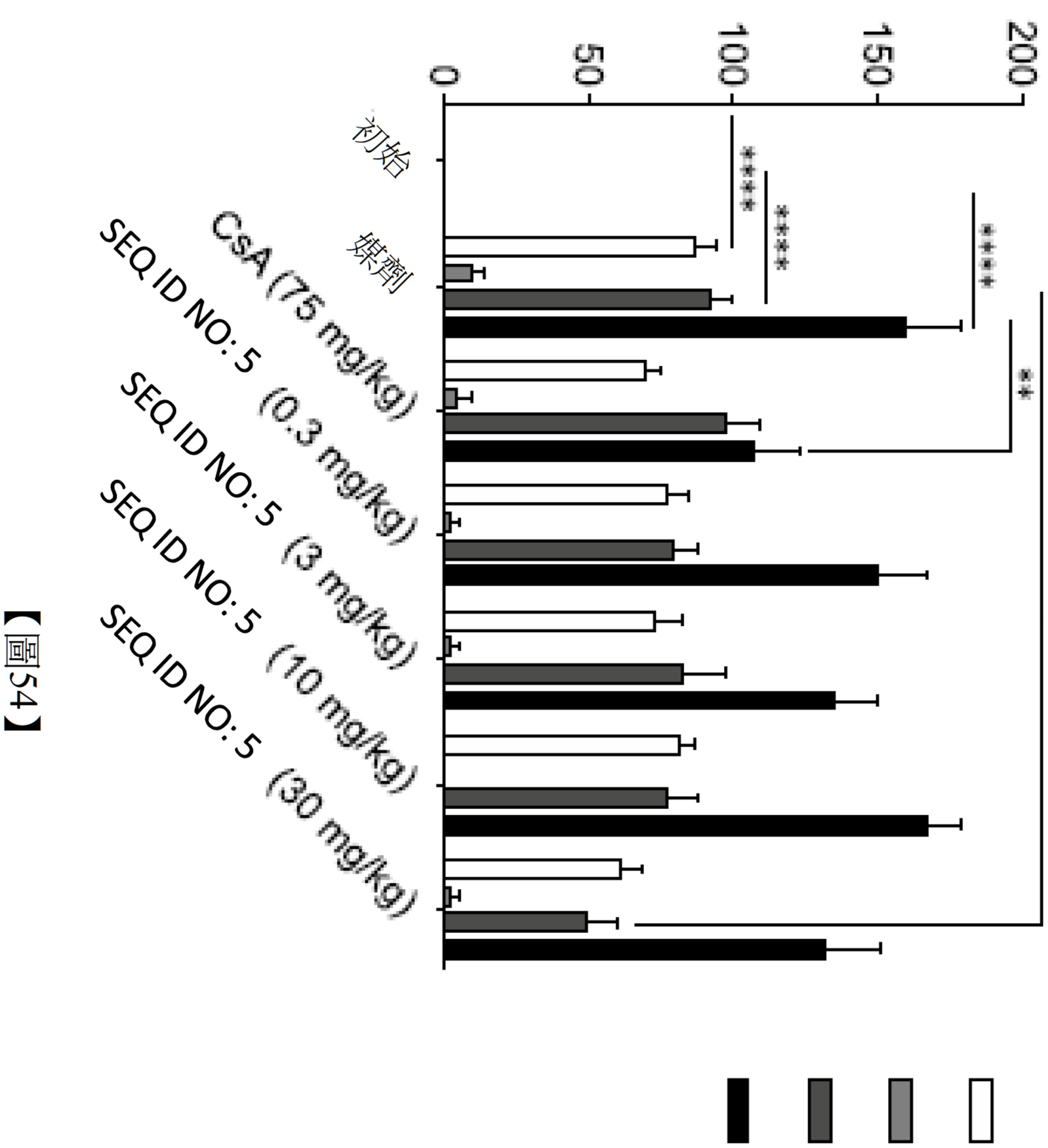

SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (.30 mg/kg)
Cyc 75 mpk 0.3
媒劑
對照
0.24
0.20
0.16
0.12
0.08
0.04
0.00
結腸重量(g)

【圖52B】

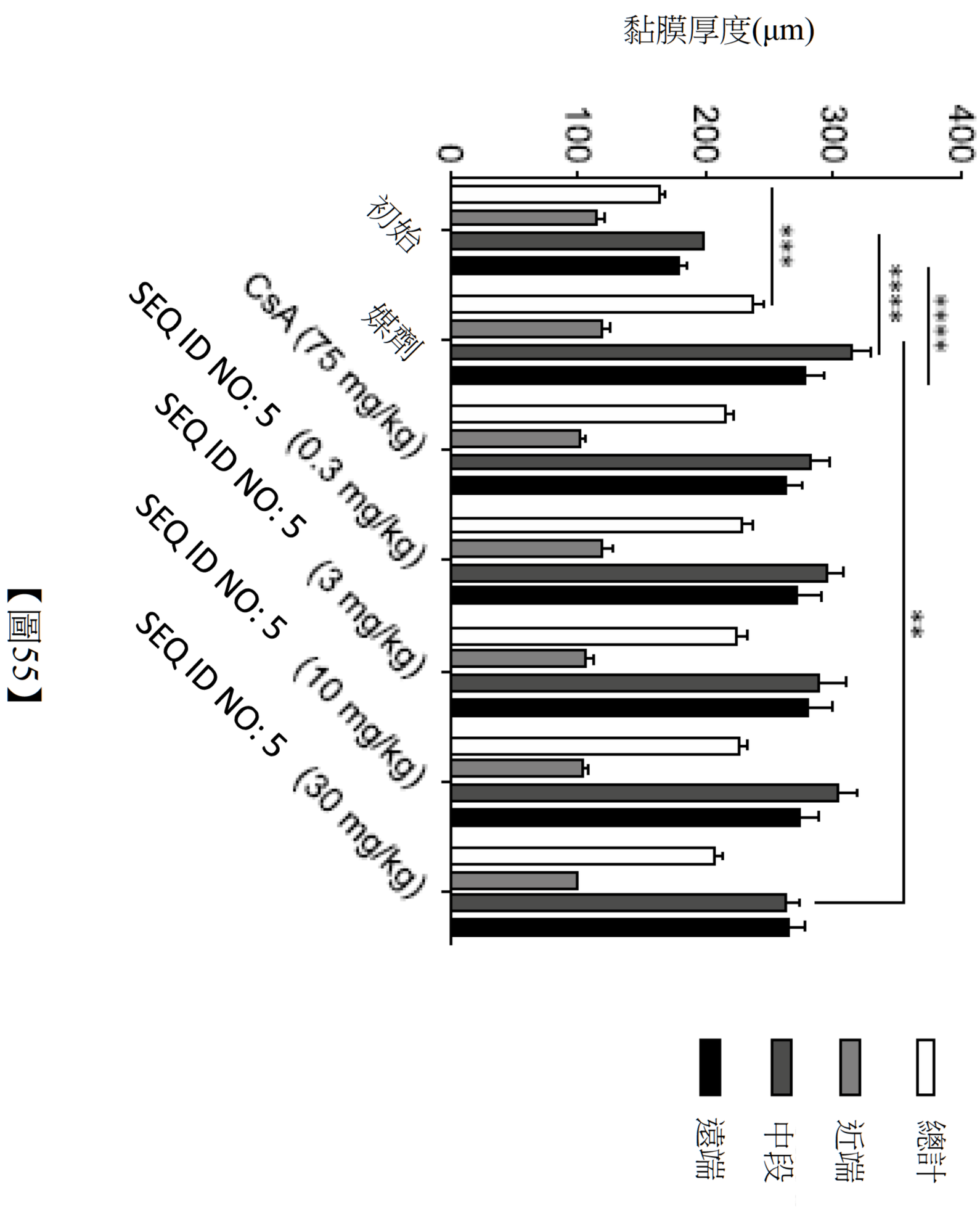

總計
總組織學評分
15
10
5
0
****
*
****
****
****
總計
近端
中段
遠端
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)

【圖53】

水腫(μm)

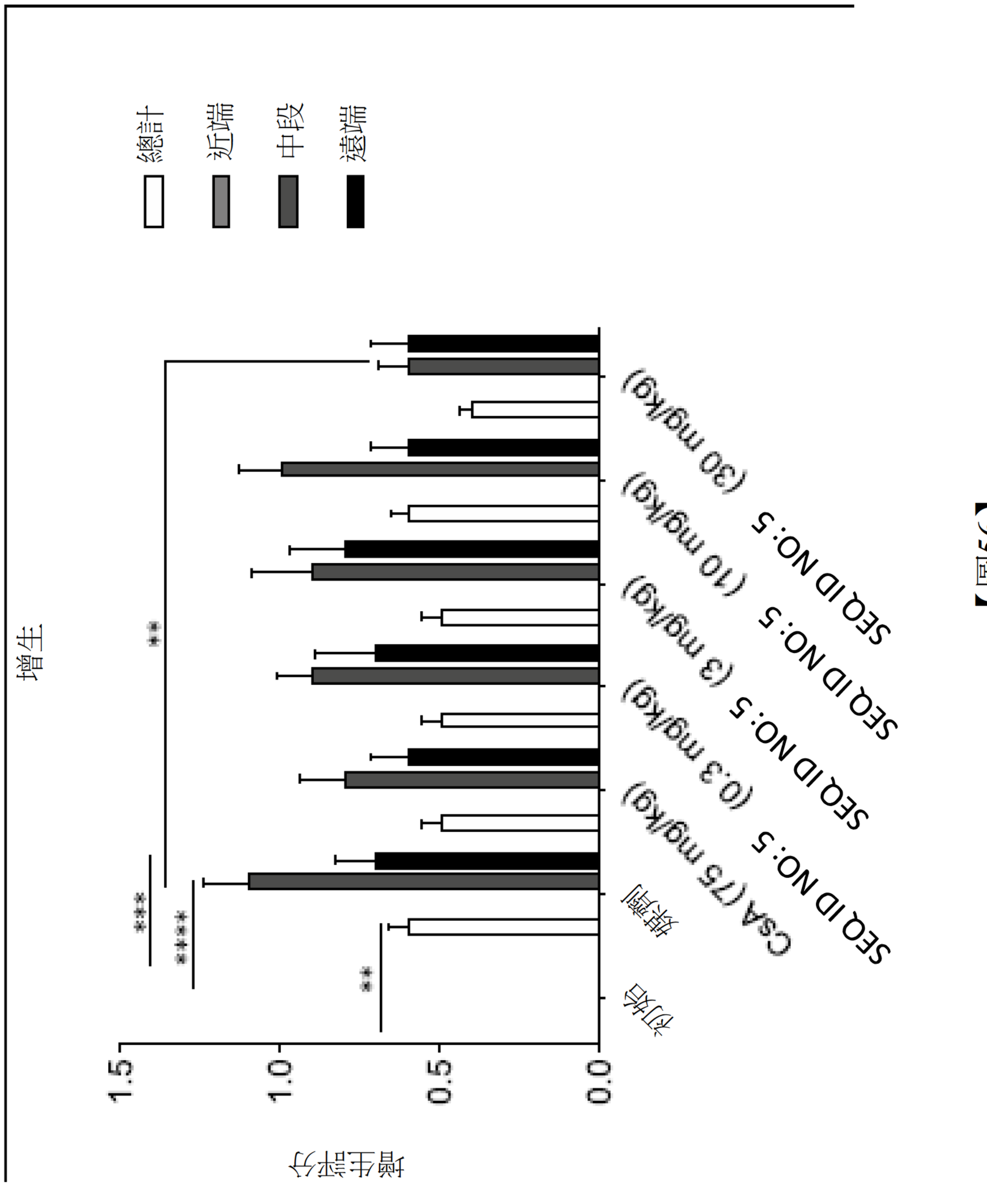

水腫
200
150
100
50
0
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
****
****
****
**
*
總計
近端
中段
遠端

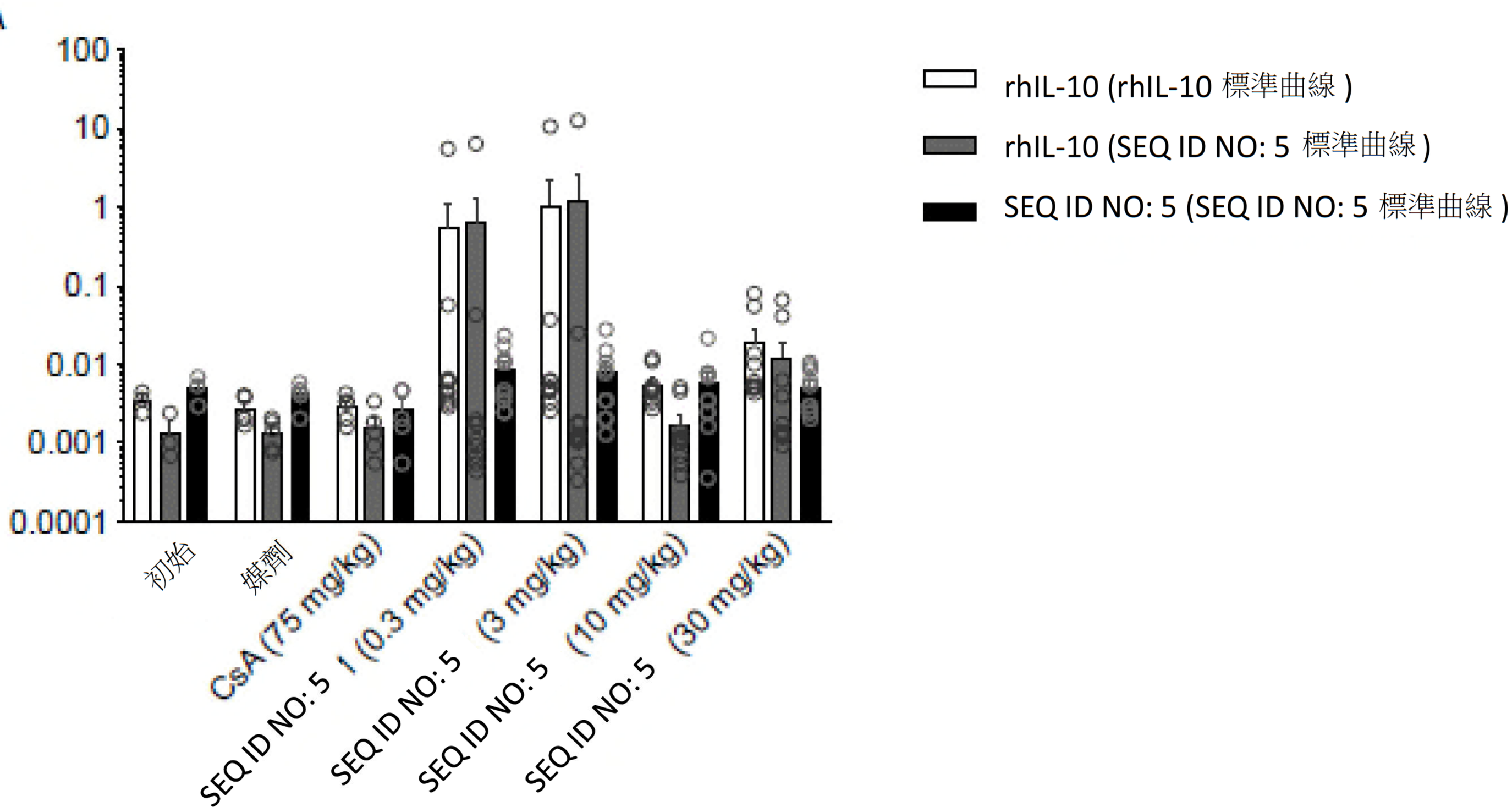
【圖54】


黏膜厚度(μm)
400
300
200
100
0
****
****
***
**
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
總計
近端
中段
遠端

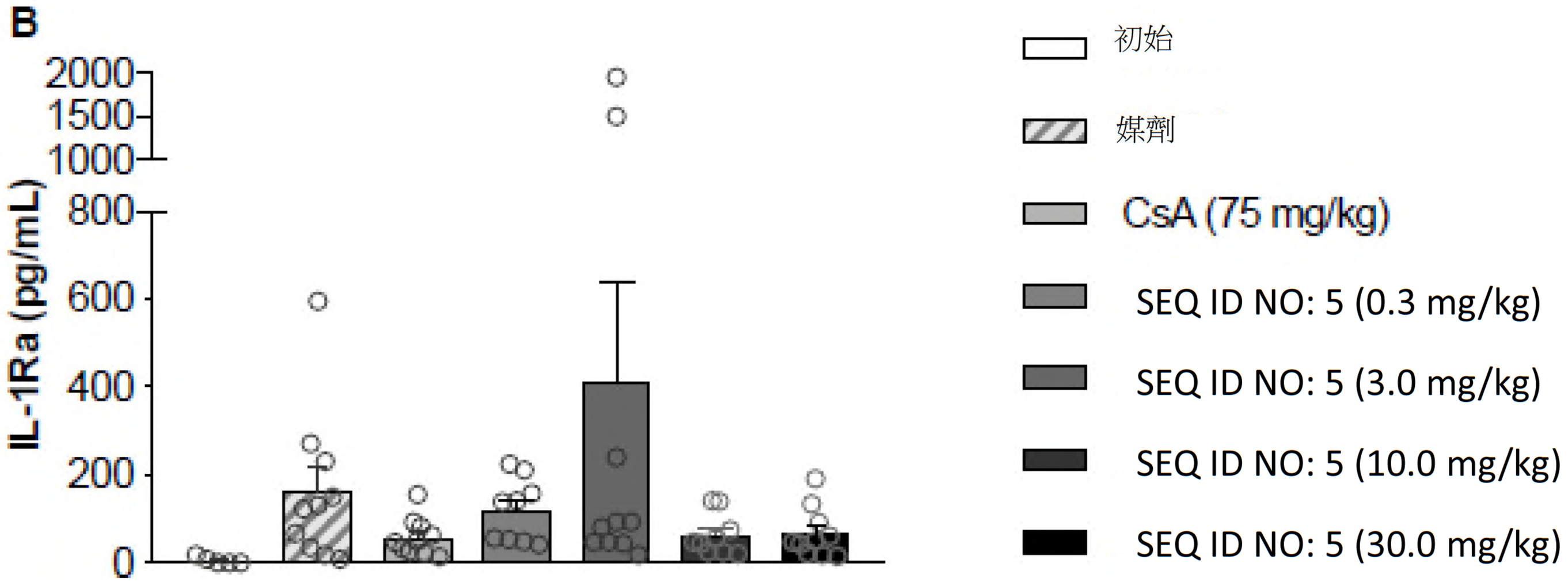
【圖55】

【圖56】

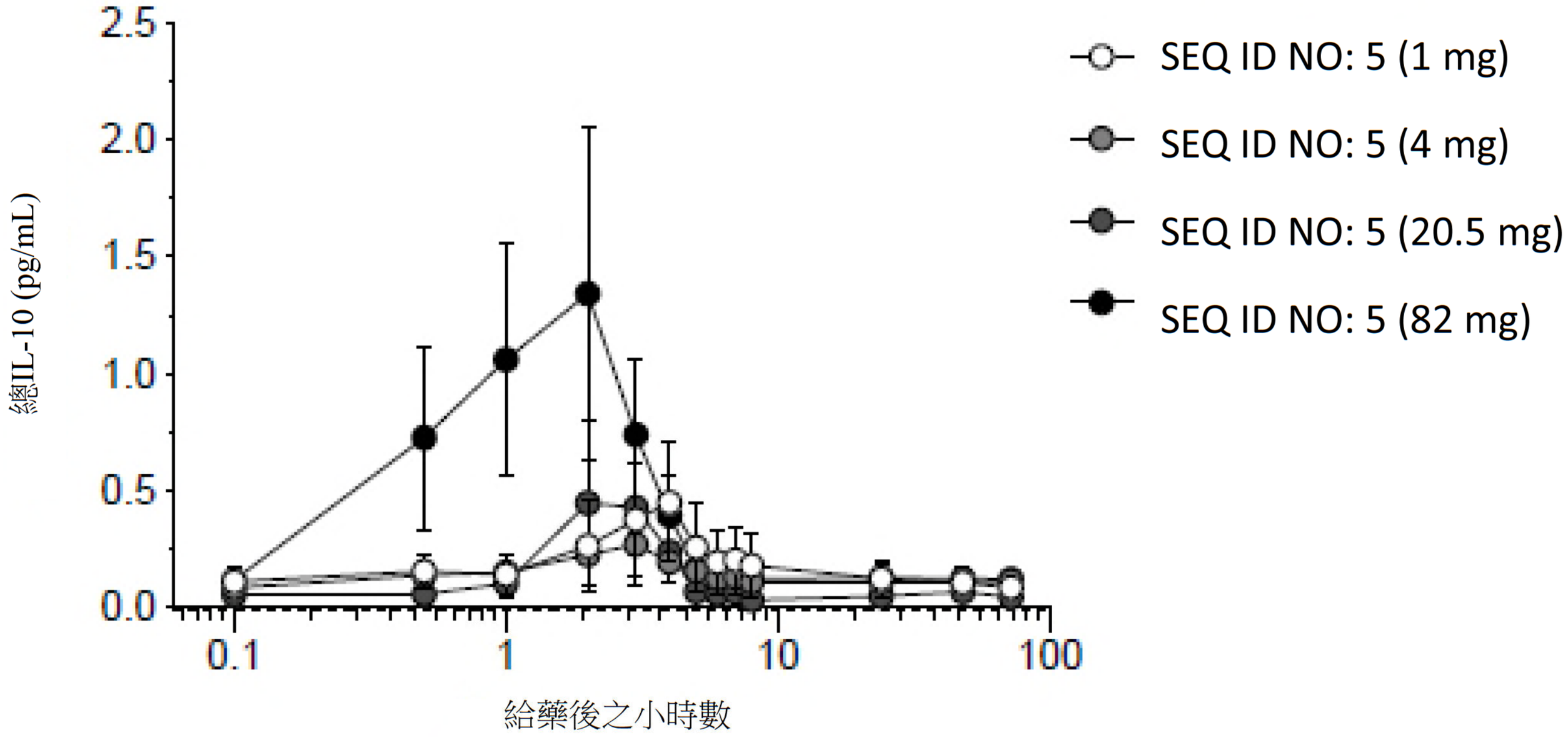

總計
近端
中段
遠端
增生評分
1.5
1.0
0.5
0.0
**
****
****
**
對照組
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)


A
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
暴露(pM)
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 1 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30 mg/kg)
rhIL-10 (rhIL-10 標準曲線)
rhIL-10 (SEQ ID NO: 5 標準曲線)
SEQ ID NO: 5 (SEQ ID NO: 5 標準曲線)

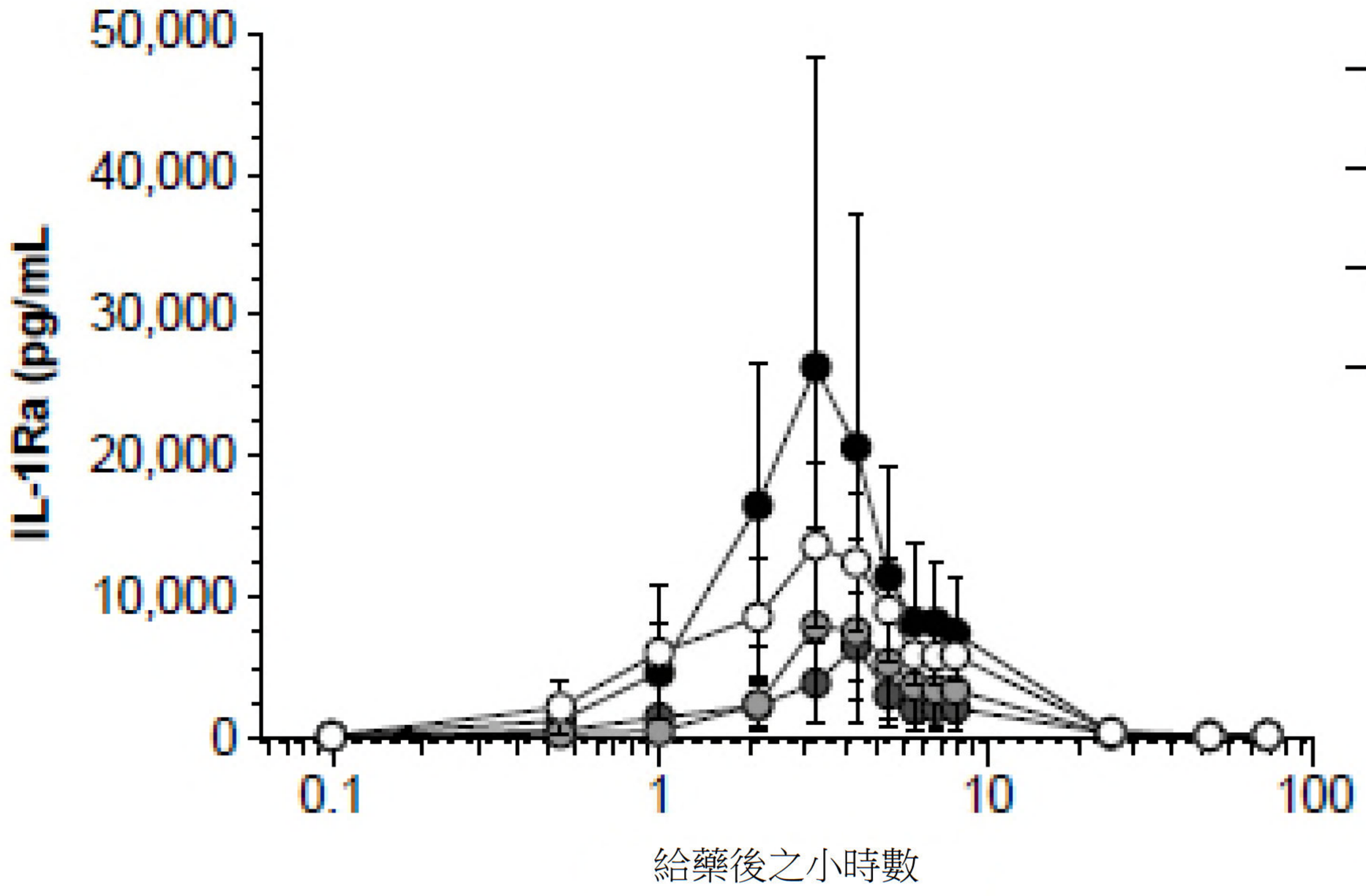
【圖57A】


B
IL-1Ra (pg/mL)
2000
1500
1000
800
600
400
200
0
初始
媒劑
CsA (75 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (0.3 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (3.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (10.0 mg/kg)
SEQ ID NO: 5 (30.0 mg/kg)

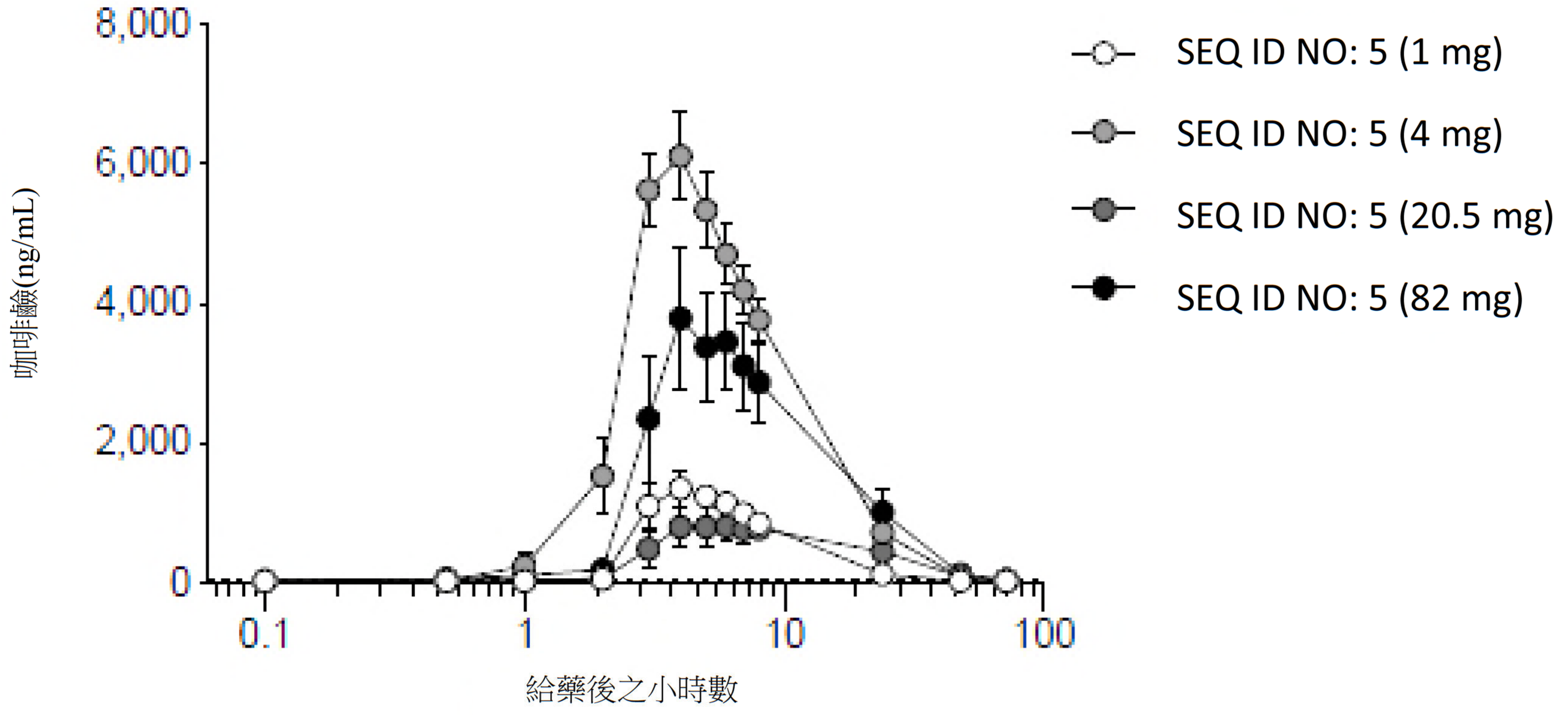
【圖57B】


2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
100
總IL-10 (pg/mL)
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)

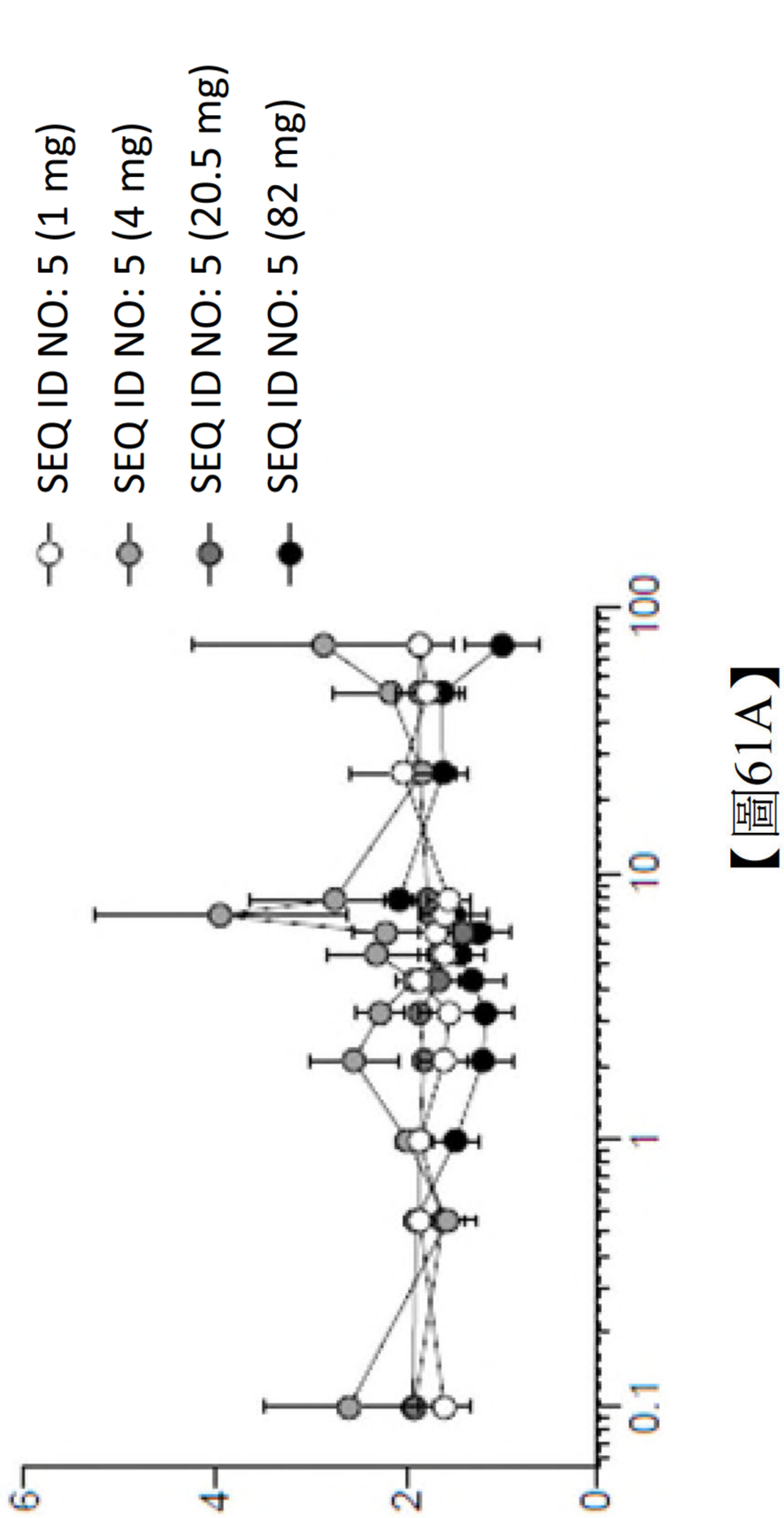
【圖58】


IL-1Ra (pg/mL
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0.1
1
10
100
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)

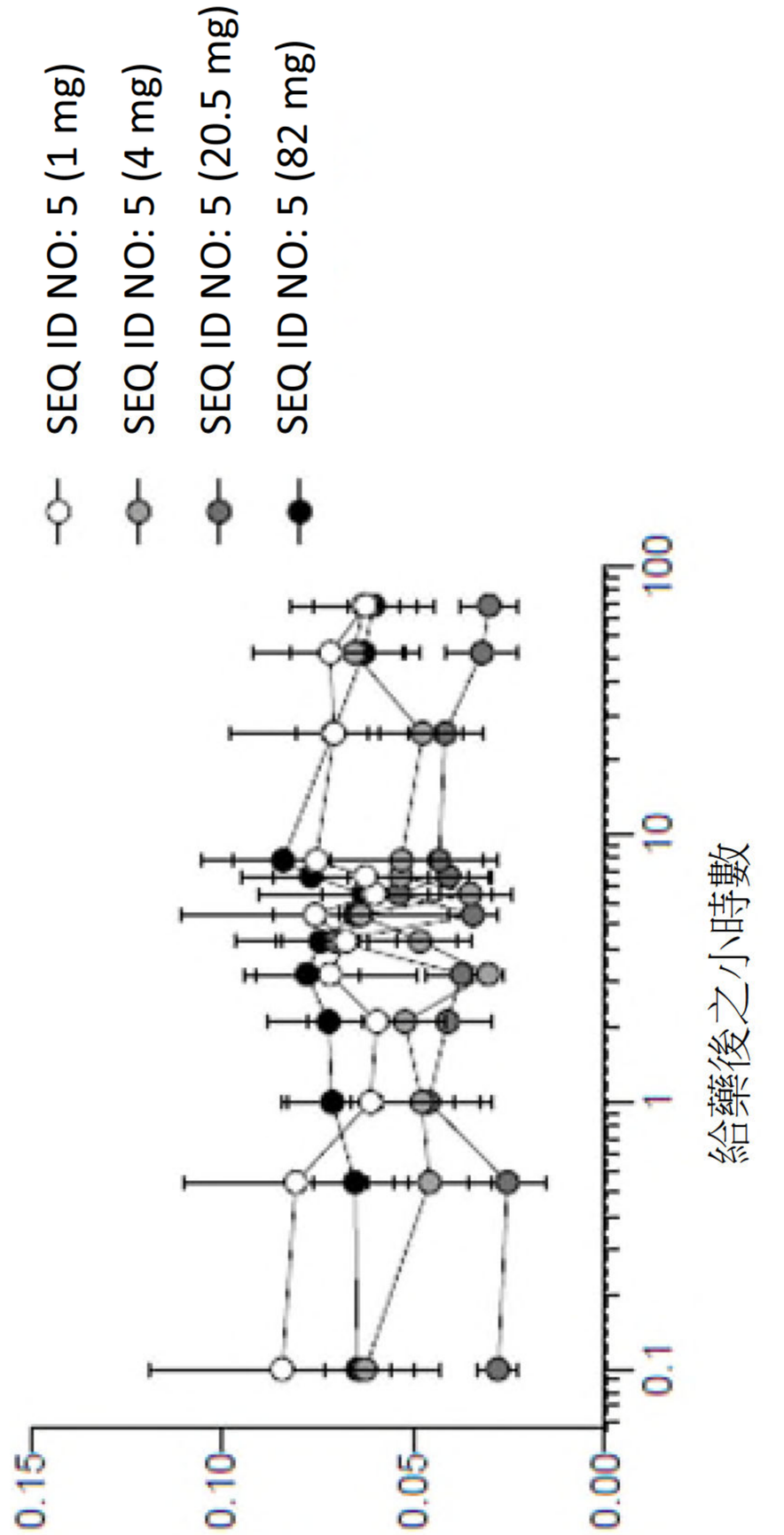
【圖59】


8,000
6,000
4,000
2,000
0
0.1
1
10
100
咖啡鹼(ng/mL)
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)

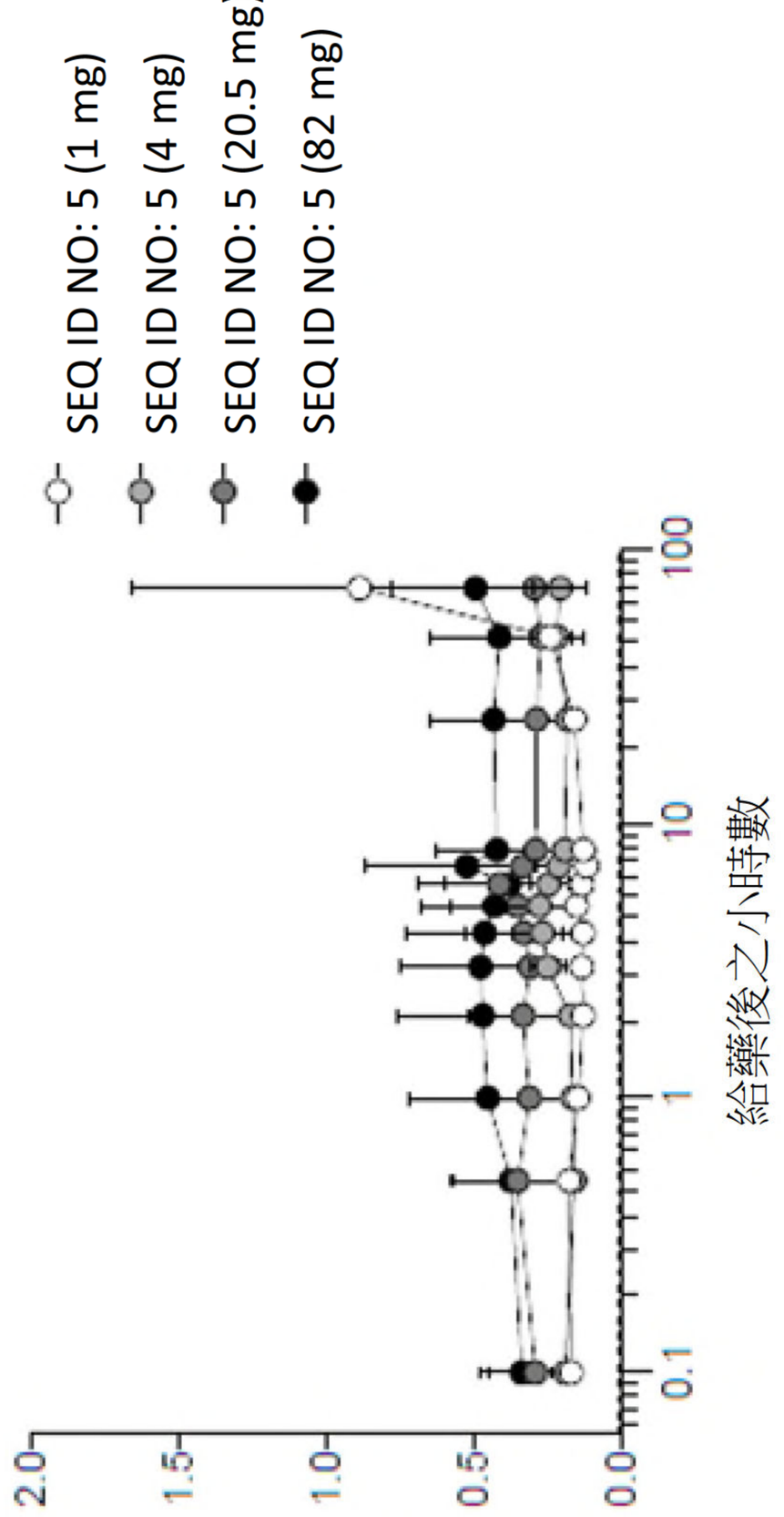
【圖60】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IFNγ (pg/mL)
0
2
4
6
0.1
1
10
100

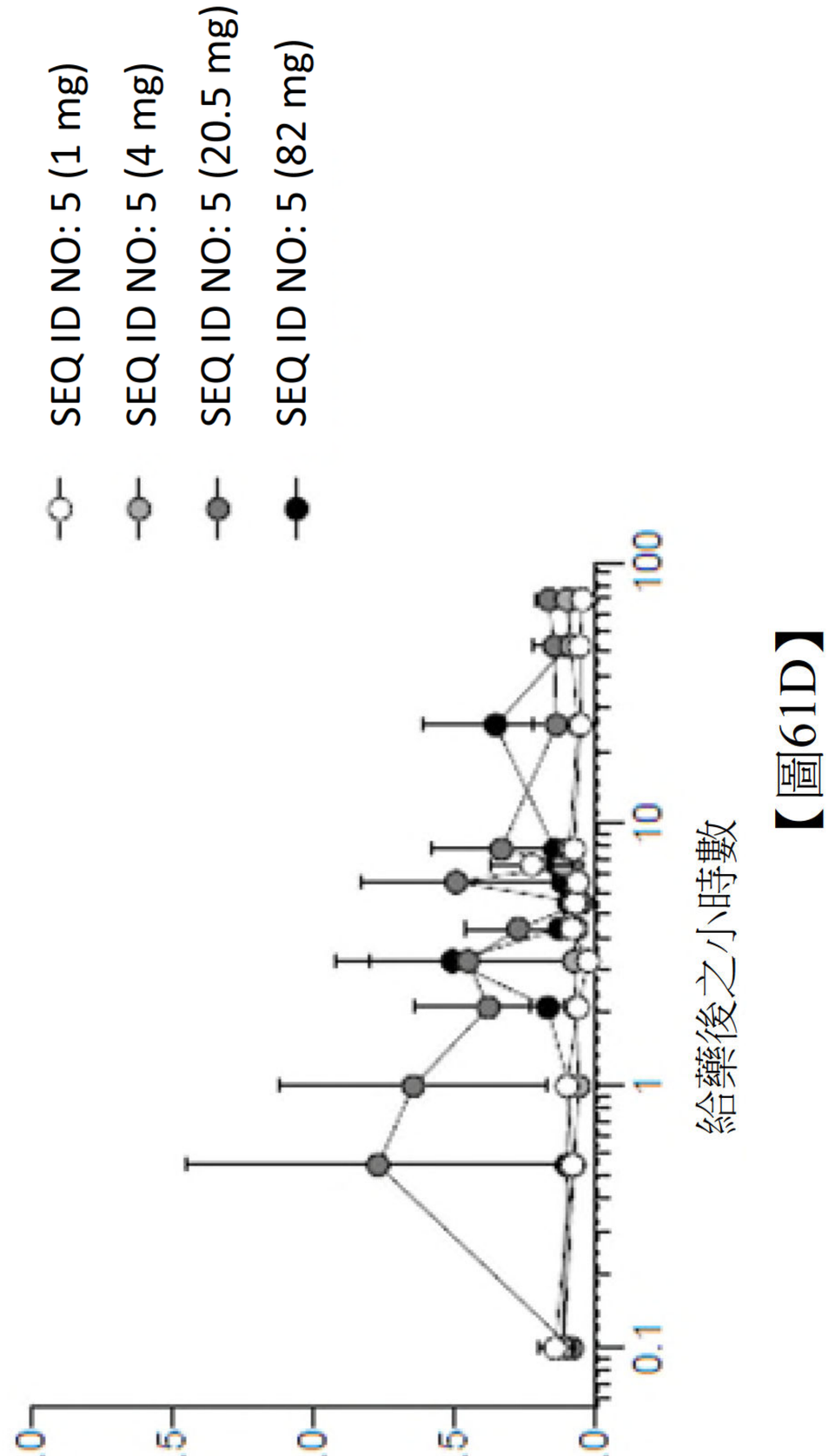
【圖61A】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-1β (pg/mL)
0.00
0.05
0.10
0.15
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

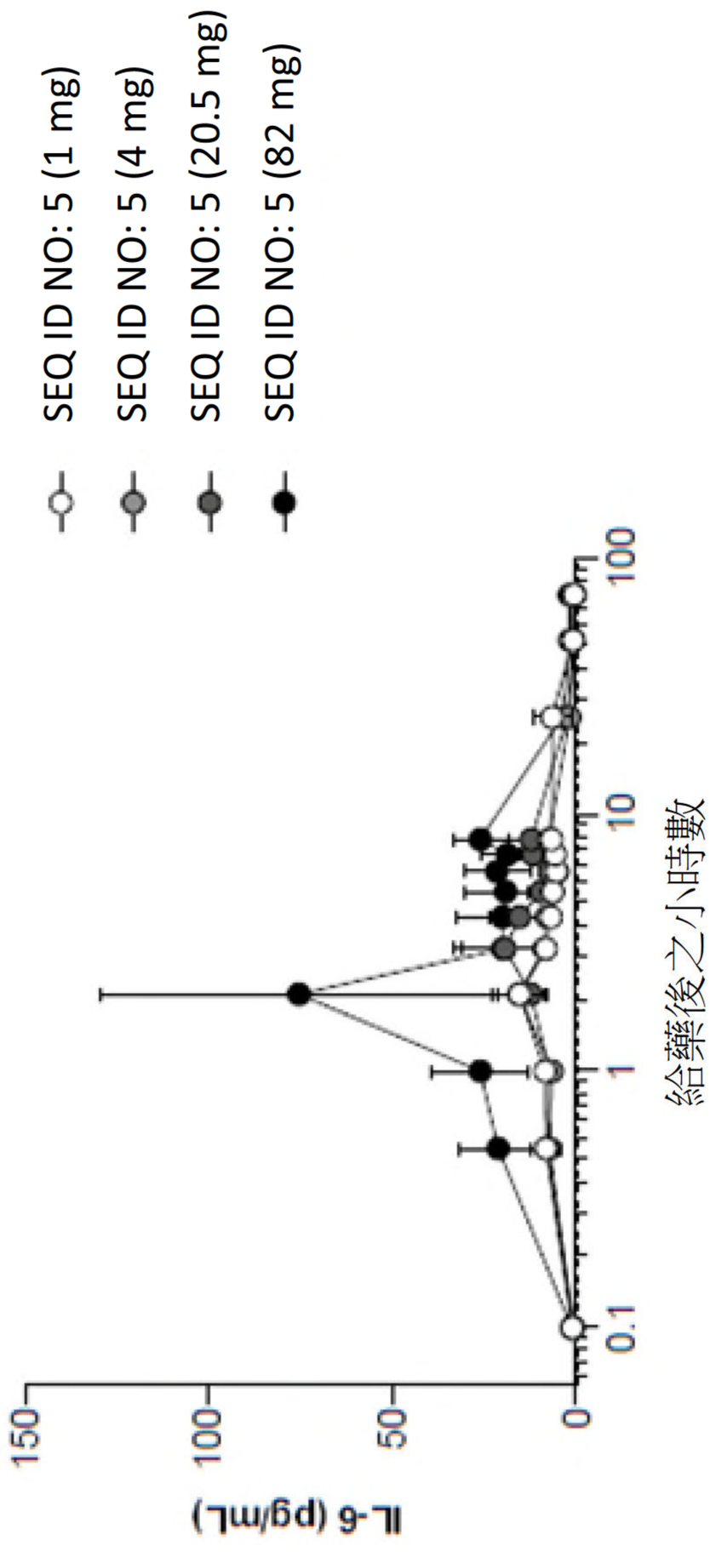
【圖61B】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-2 (pg/mL)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

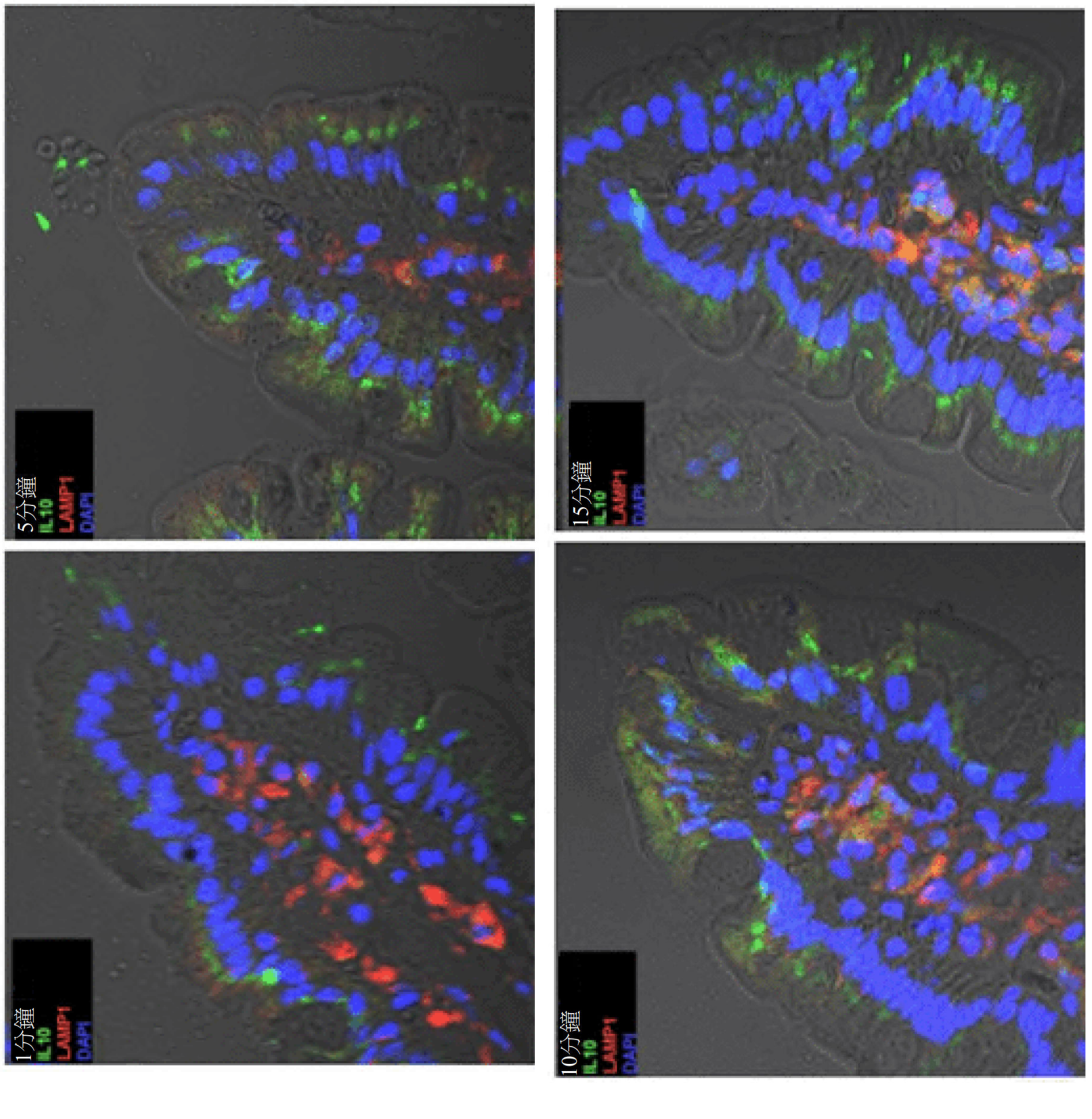
【圖61C】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 mg)
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-8 (pg/mL)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

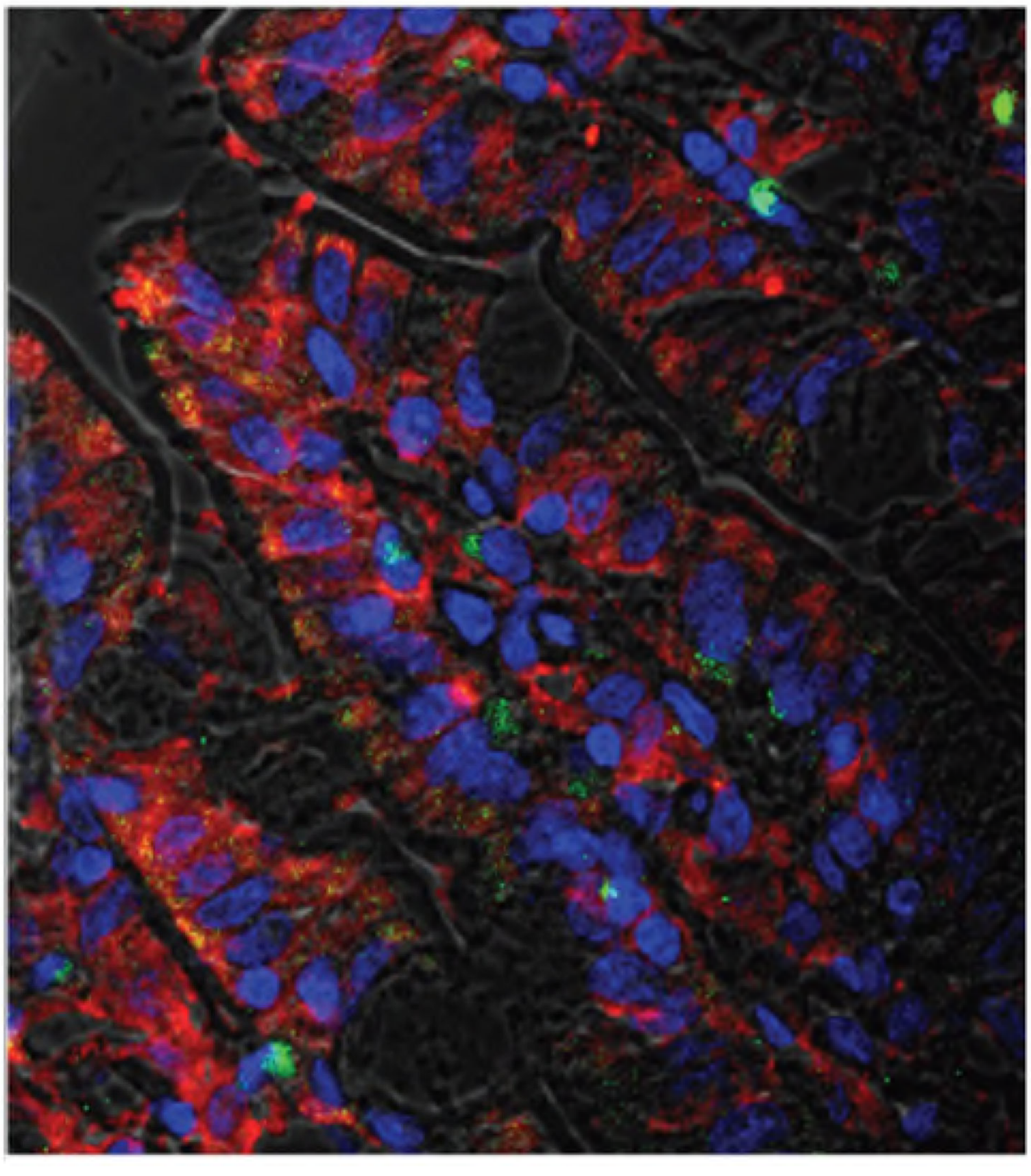
【圖61D】


SEQ ID NO: 5 (1 mg)
SEQ ID NO: 5 (4 mg)
SEQ ID NO: 5 (20.5 m
SEQ ID NO: 5 (82 mg)
IL-6 (pg/mL)
0
50
100
150
0.1
1
10
100
給藥後之小時數

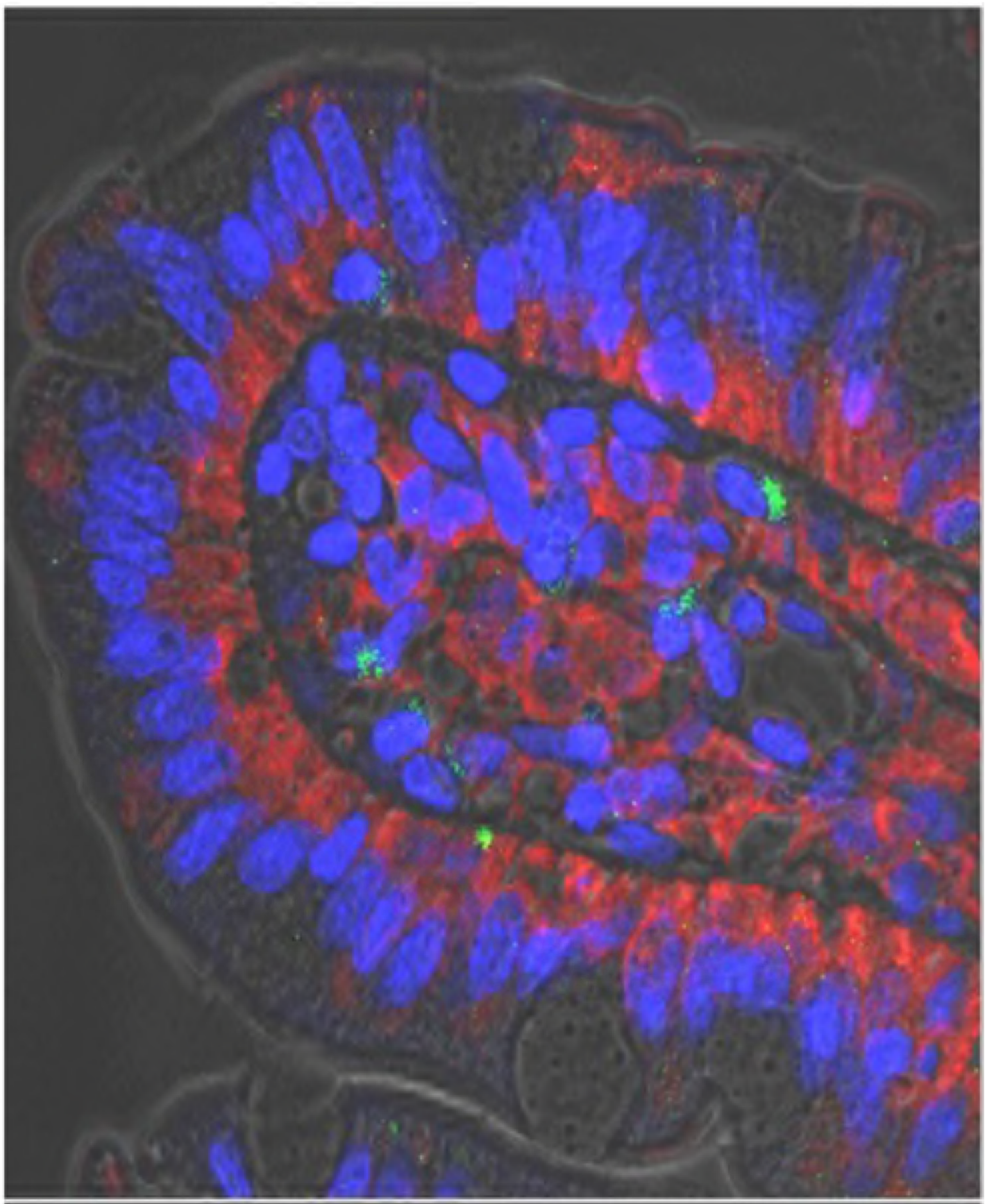
【圖61E】


5分鐘
IL10
LAMP1
DAPI
15分鐘
IL10
LAMP1
DAPI
1分鐘
IL10
LAMP1
DAPI
10分鐘
IL10
LAMP1
DAPI

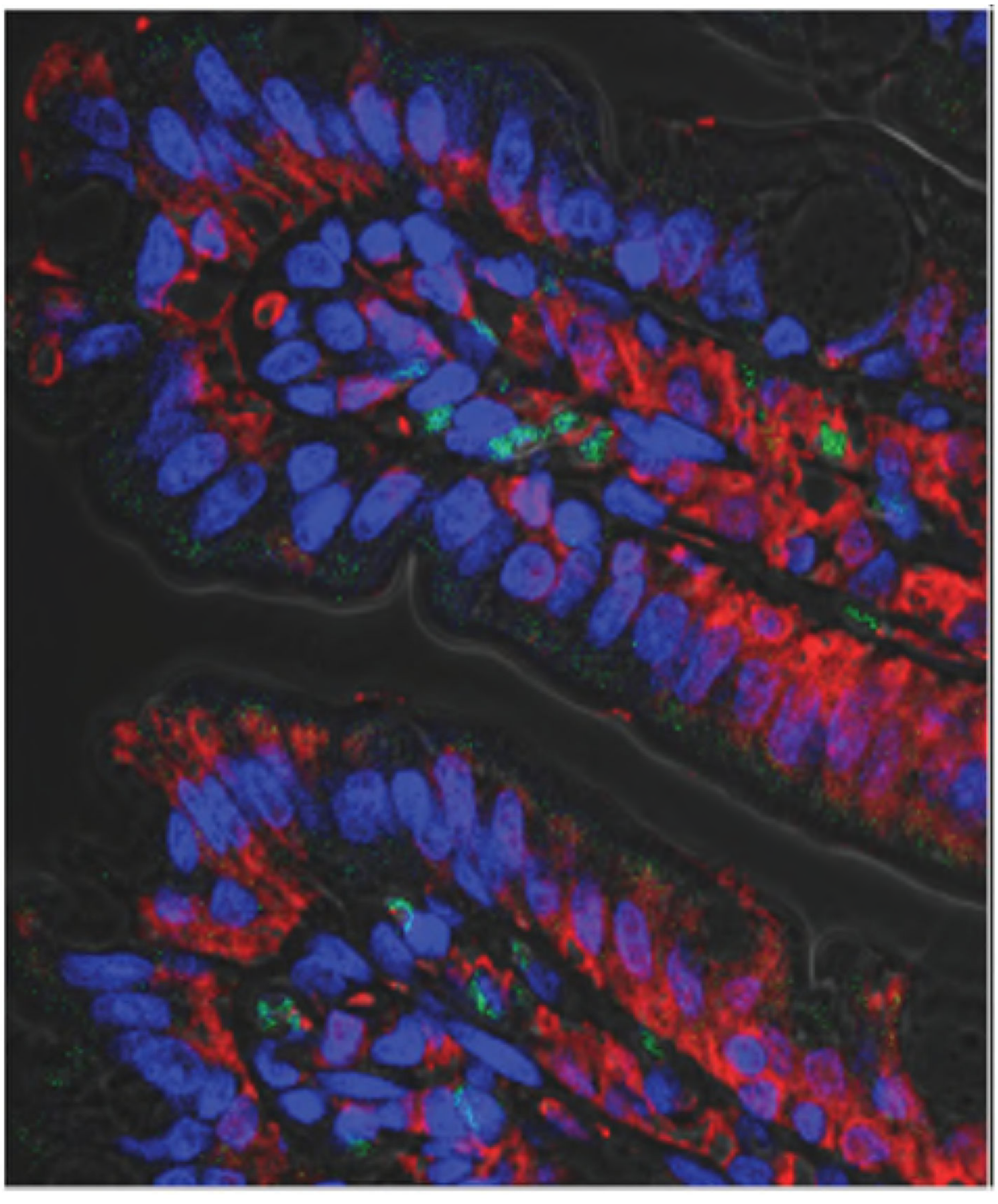
【圖62】



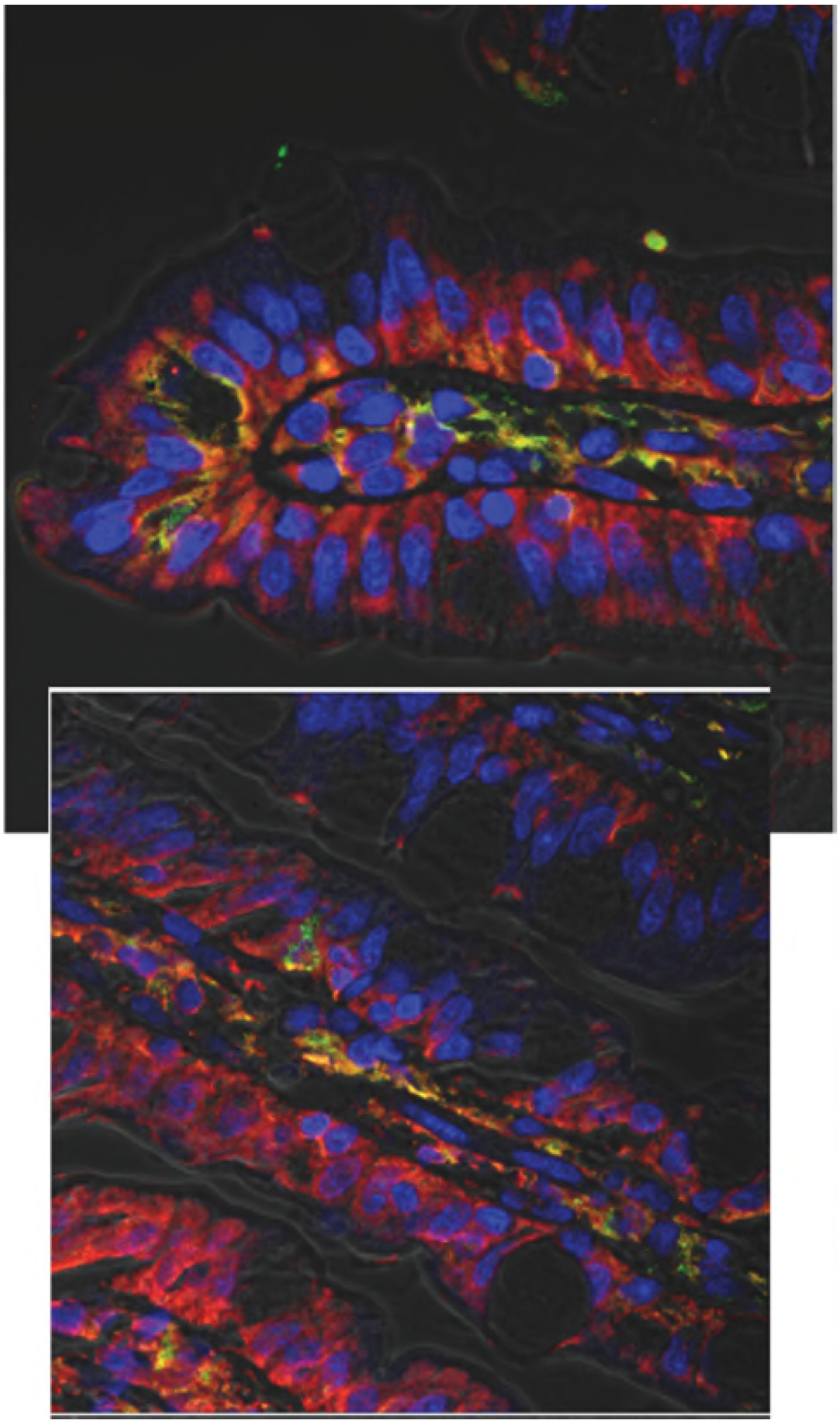
【圖63】



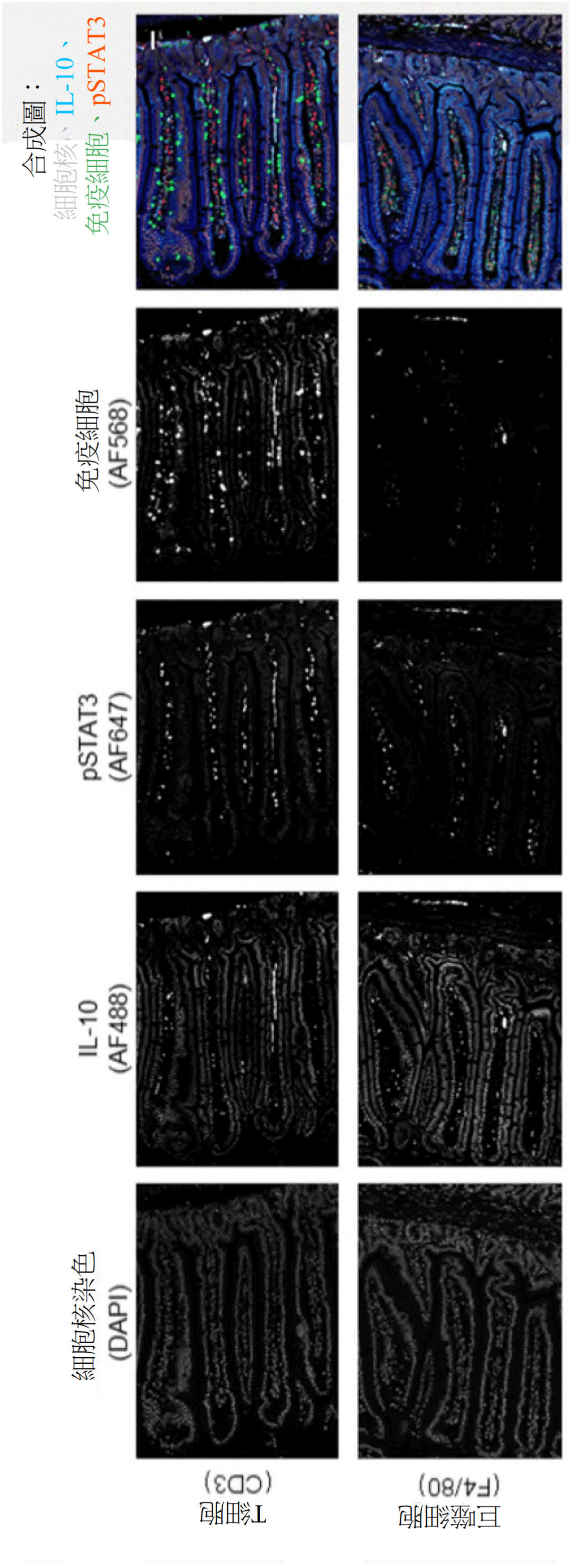
【圖64】



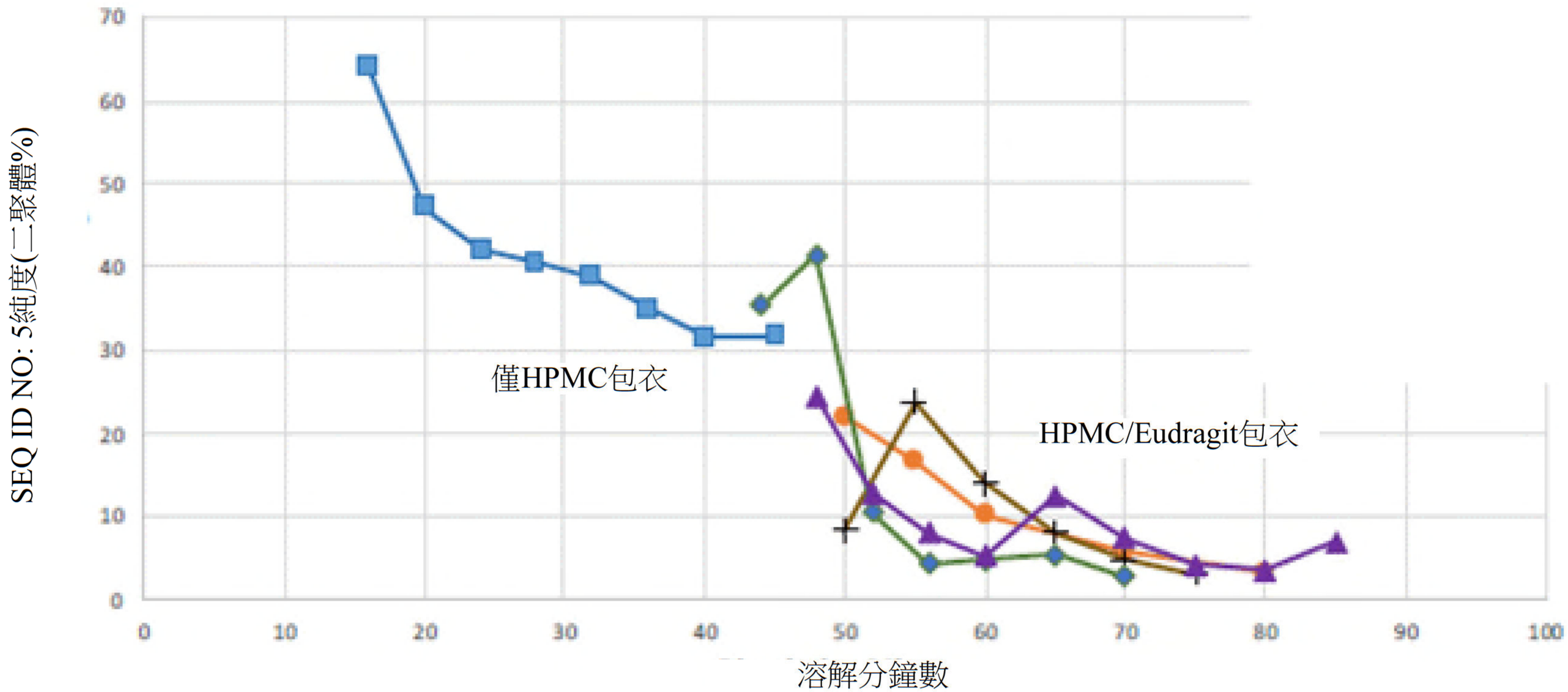
【圖65】



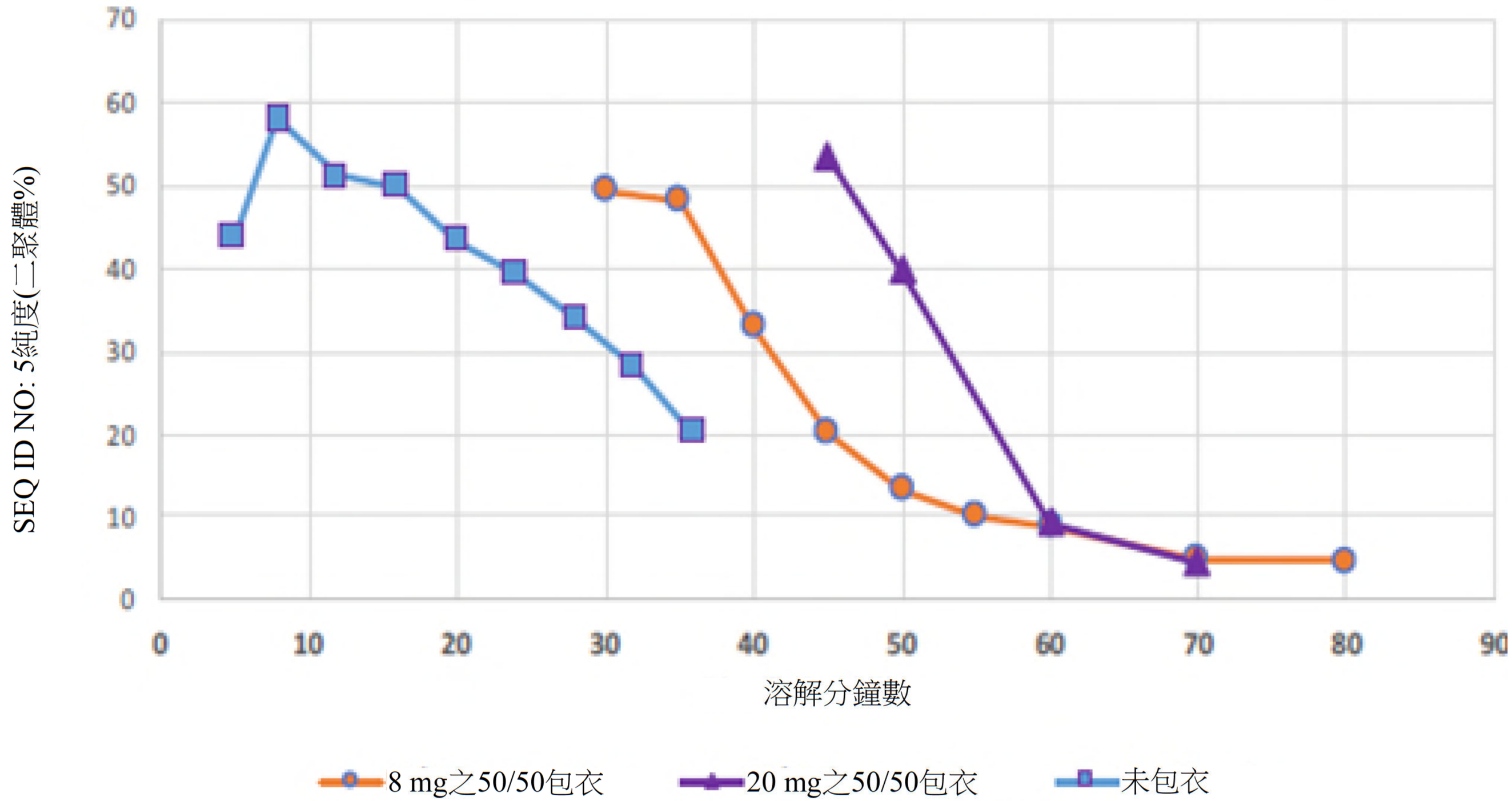
【圖66】


合成圖：
細胞核、IL-10、
免疫細胞、pSTAT3
免疫細胞
(AF568)
pSTAT3
(AF647)
IL-10
(AF488)
細胞核染色
(DAPI)
T細胞
(CD3)
巨噬細胞
(F4/80)

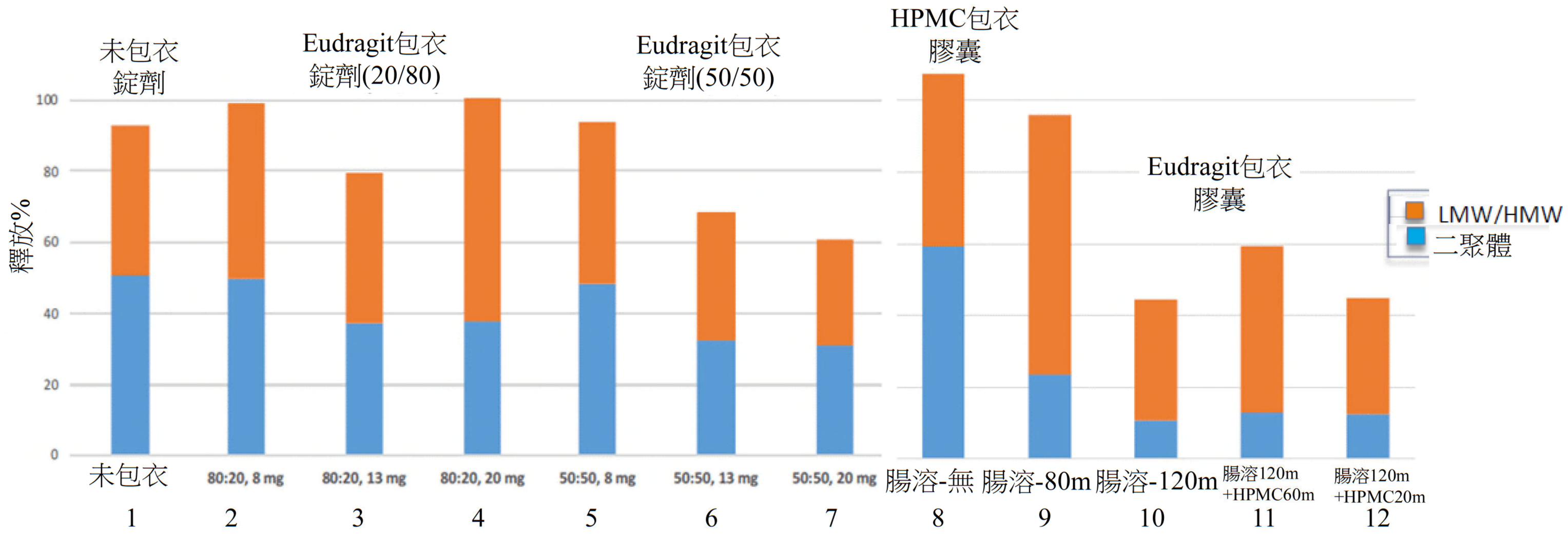
【圖67】


SEQ ID NO: 5純度(二聚體%)
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
僅HPMC包衣
HPMC/Eudragit包衣
溶解分鐘數

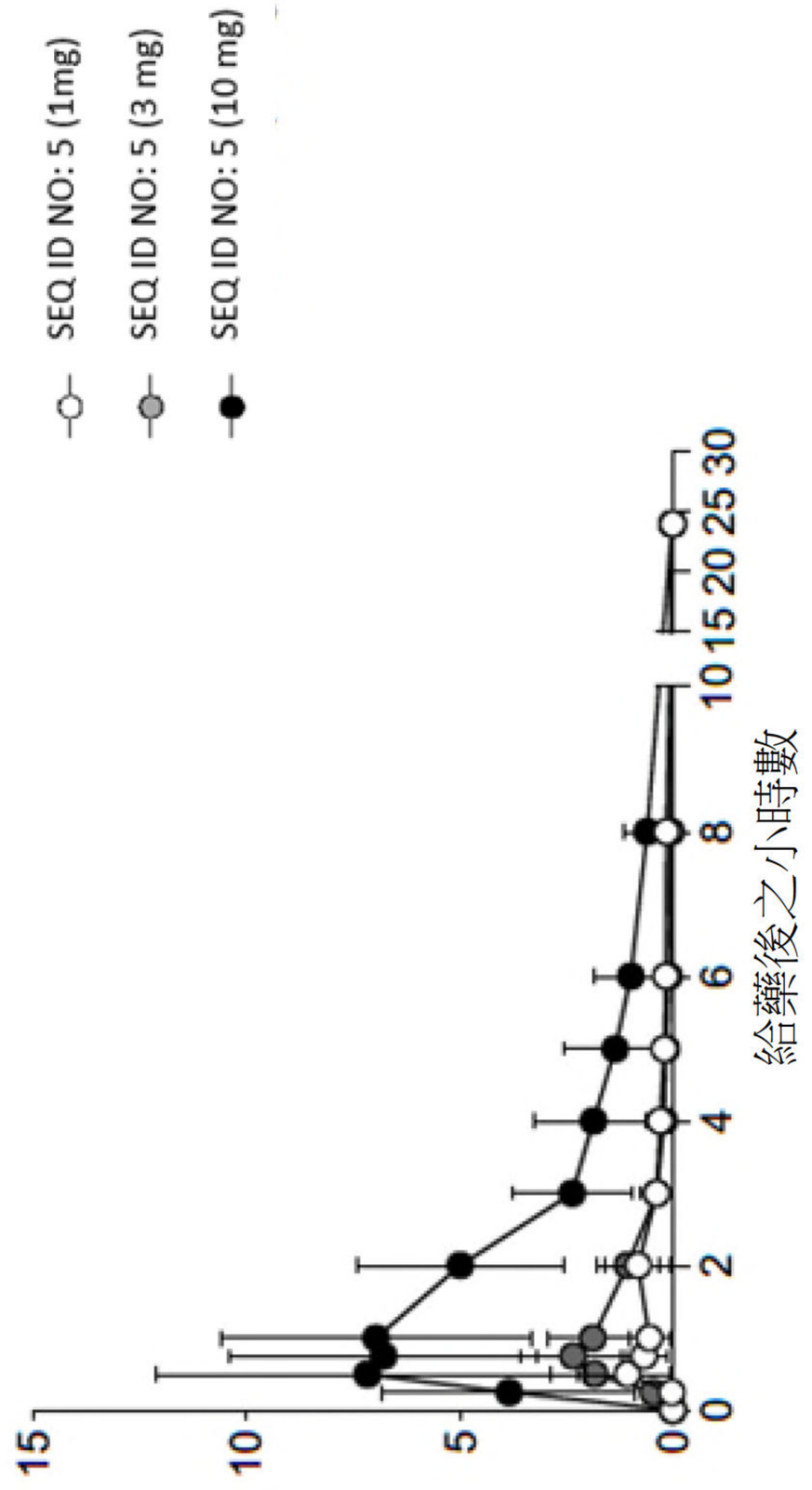
【圖68】


SEQ ID NO: 5純度(二聚體%)
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
溶解分鐘數
8 mg之50/50包衣
20 mg之50/50包衣
未包衣

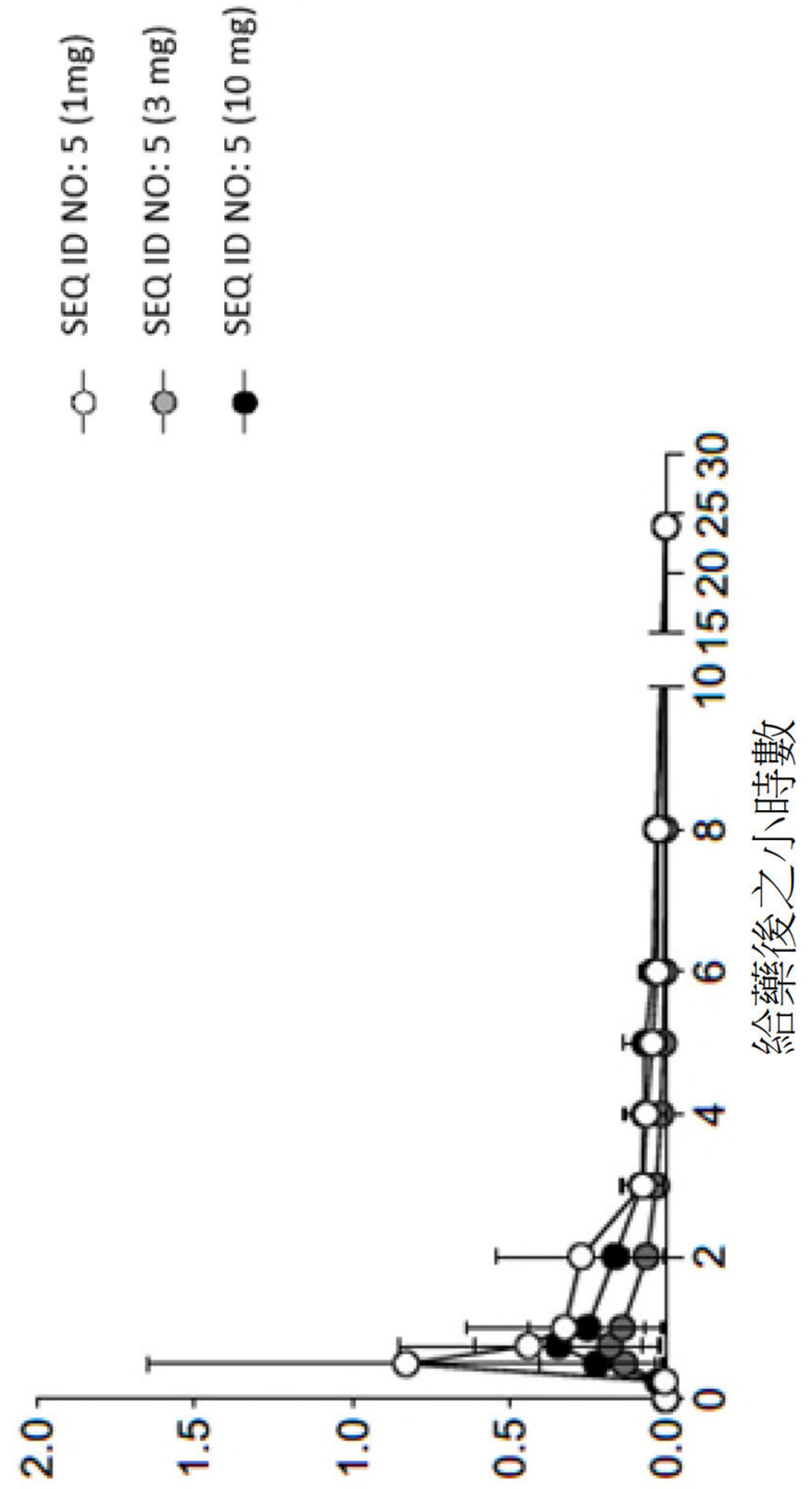
【圖69】


未包衣
錠劑
Eudragit包衣
錠劑(20/80)
Eudragit包衣
錠劑(50/50)
HPMC包衣
膠囊
Eudragit包衣
膠囊
LMW/HMW
二聚體
釋放%
100
80
60
40
20
0
未包衣
80:20, 8 mg
80:20, 13 mg
80:20, 20 mg
50:50, 8 mg
50:50, 13 mg
50:50, 20 mg
腸溶-無
腸溶-80m
腸溶-120m
腸溶120m
+HPMC60m
腸溶120m
+HPMC20m
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

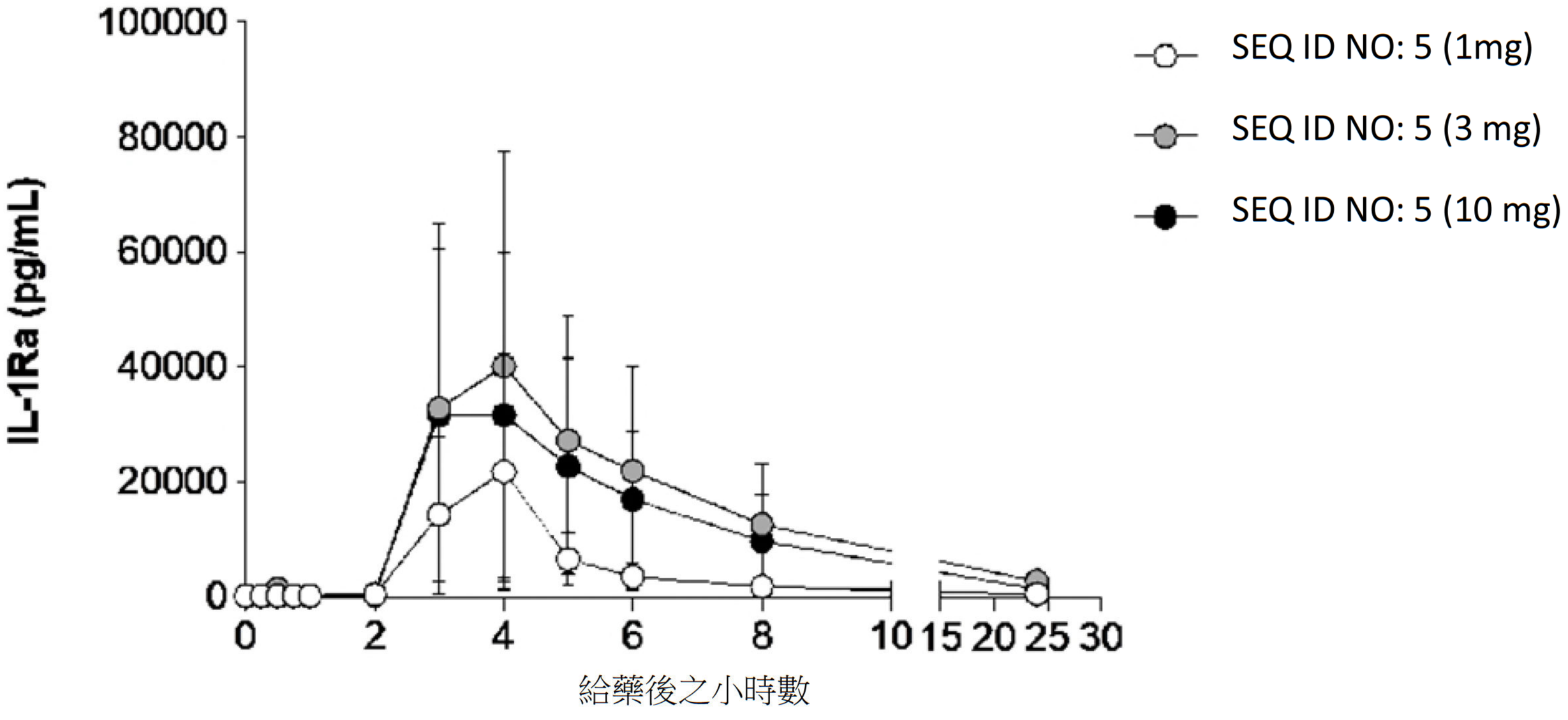
【圖70】


SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)
給藥後之小時數
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
0
5
10
15
IL-10

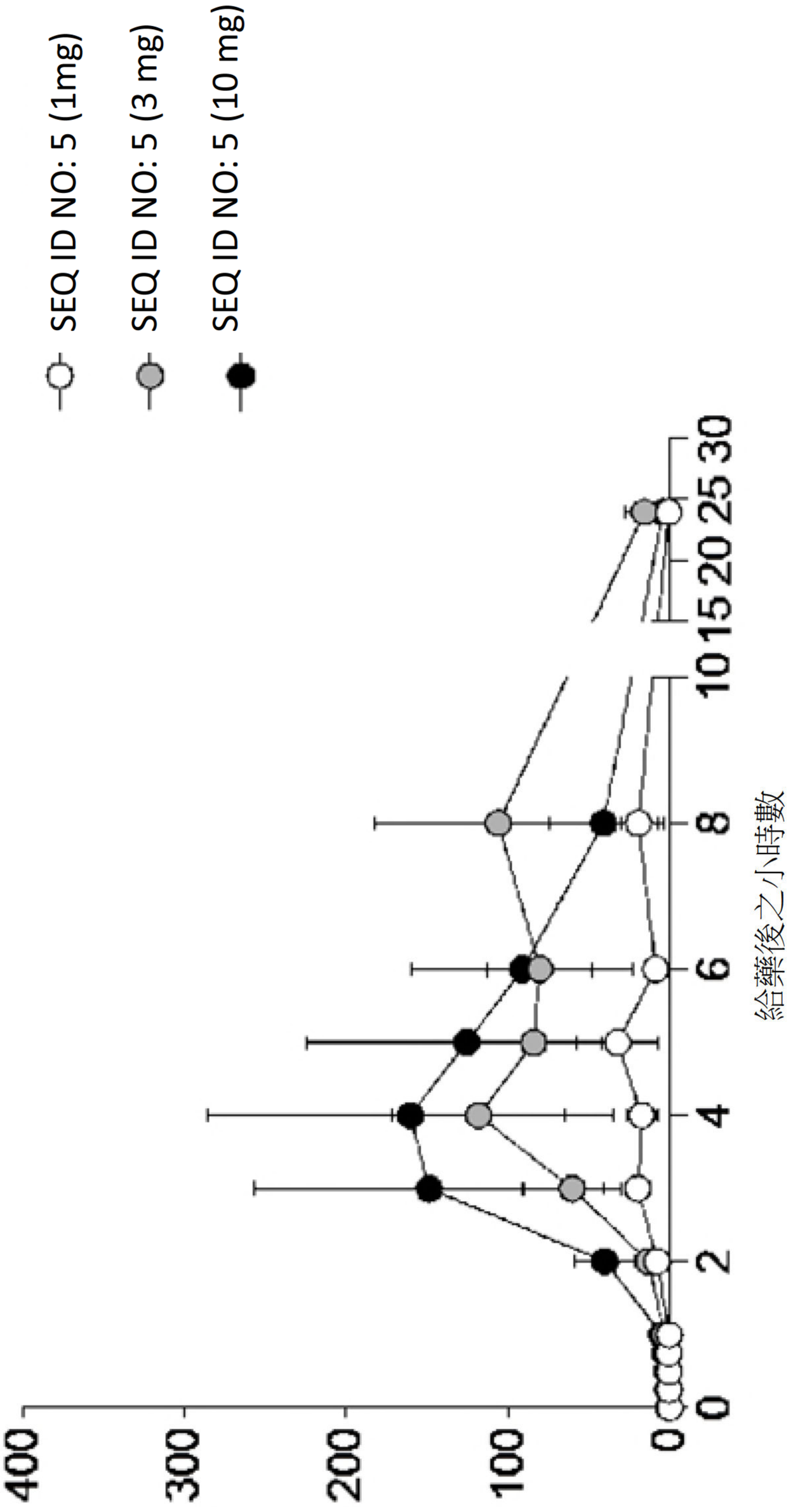
【圖71A】


SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)
給藥後之小時數
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
SEQ ID NO: 5 (pM)

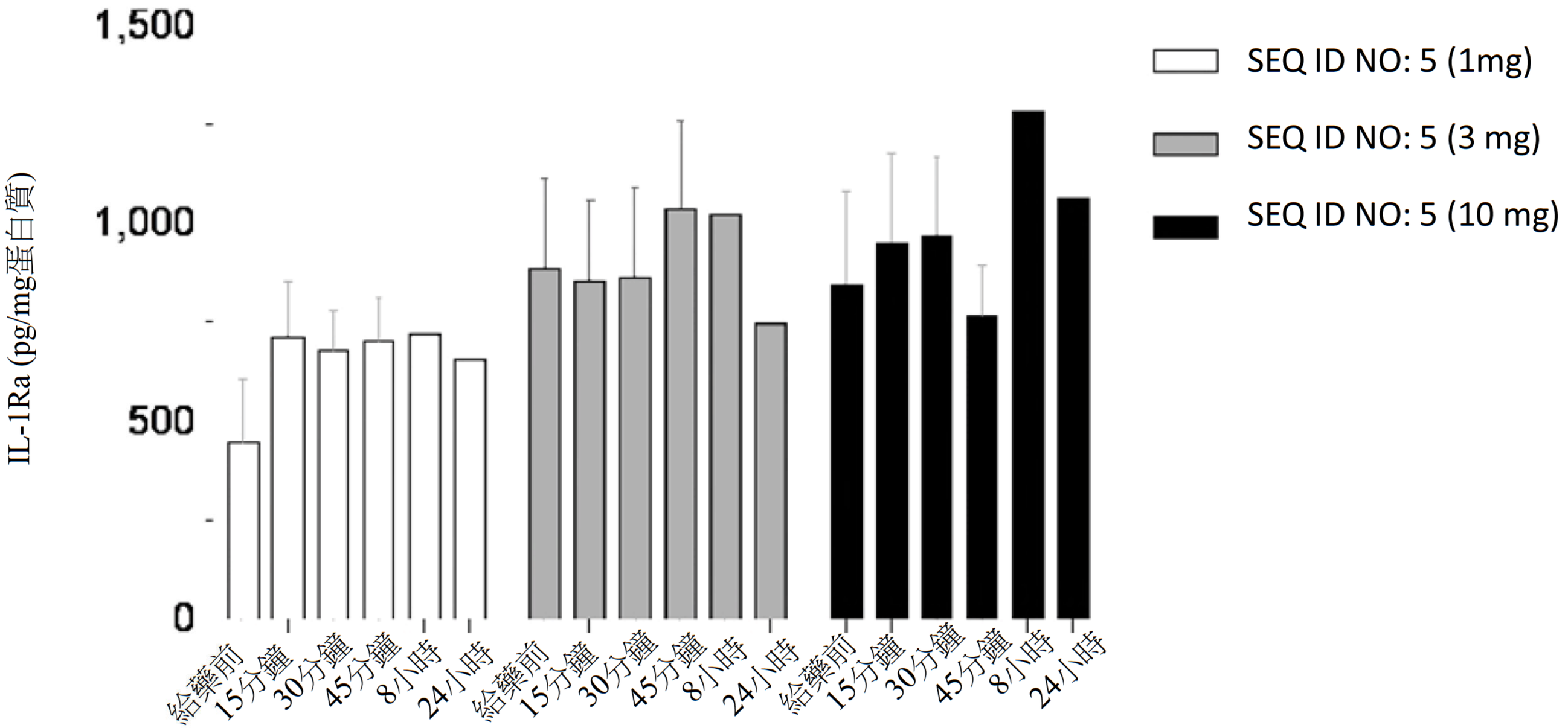
【圖71B】


IL-1Ra (pg/mL)
100000
80000
60000
40000
20000
0
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
給藥後之小時數
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)

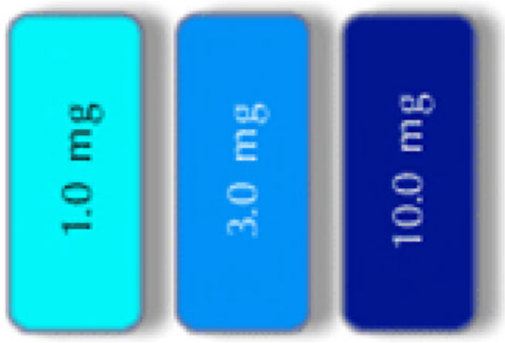
【圖71C】

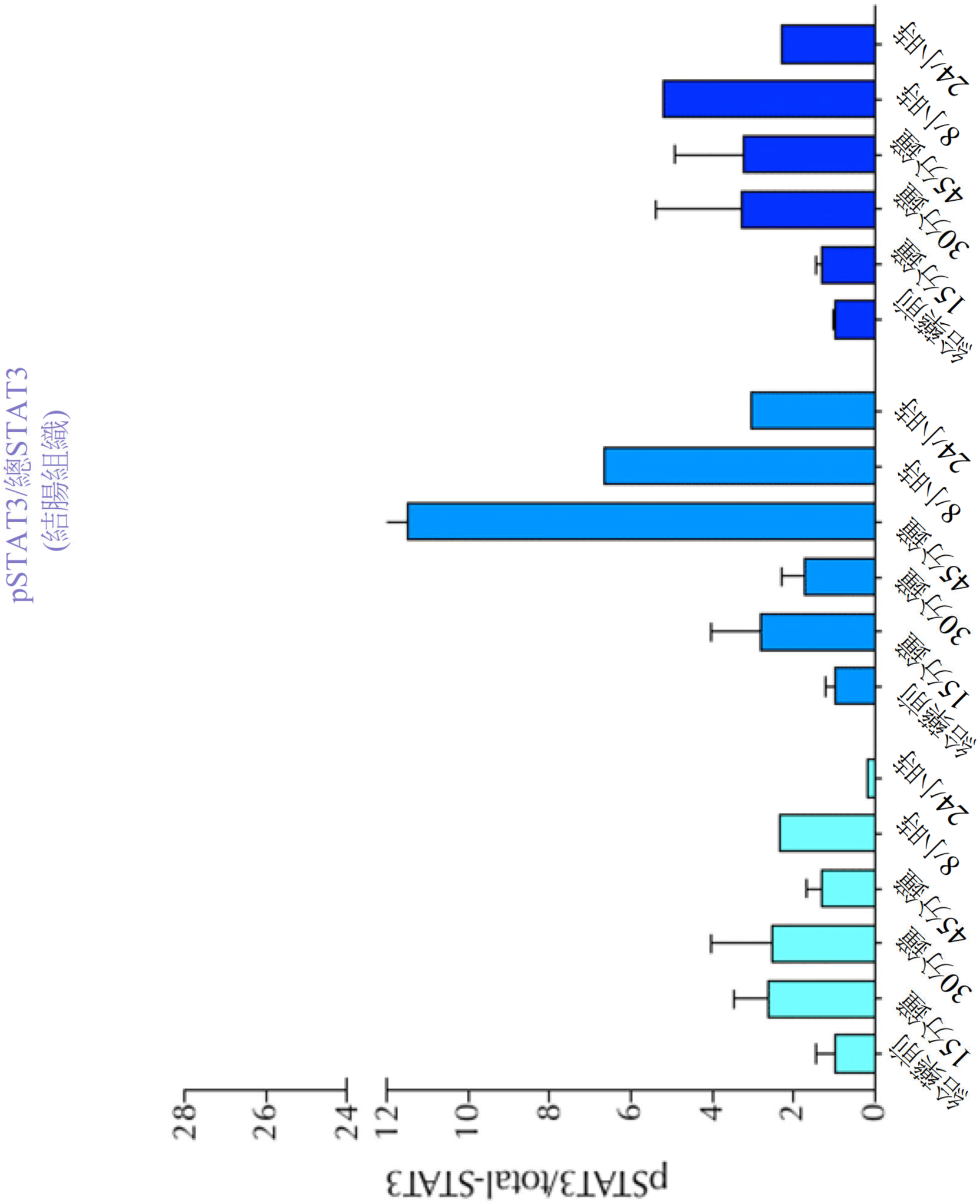

SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)
10 15 20 25 30
給藥後之小時數
0 2 4 6 8
400 300 200 100 0
IL-6 (pg/mL)

【圖72】

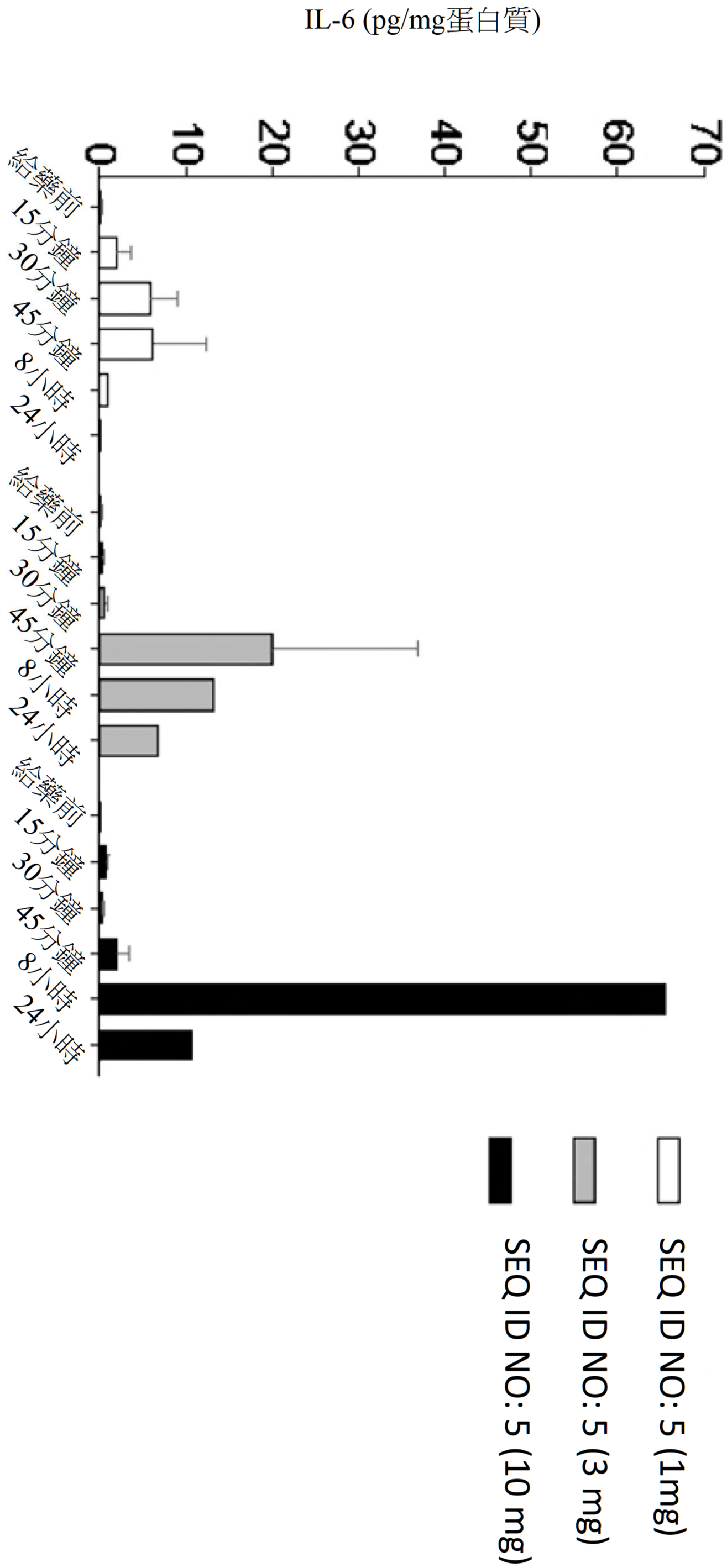

IL-1Ra (pg/mg蛋白質)
1,500
1,000
500
0
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時

【圖73】

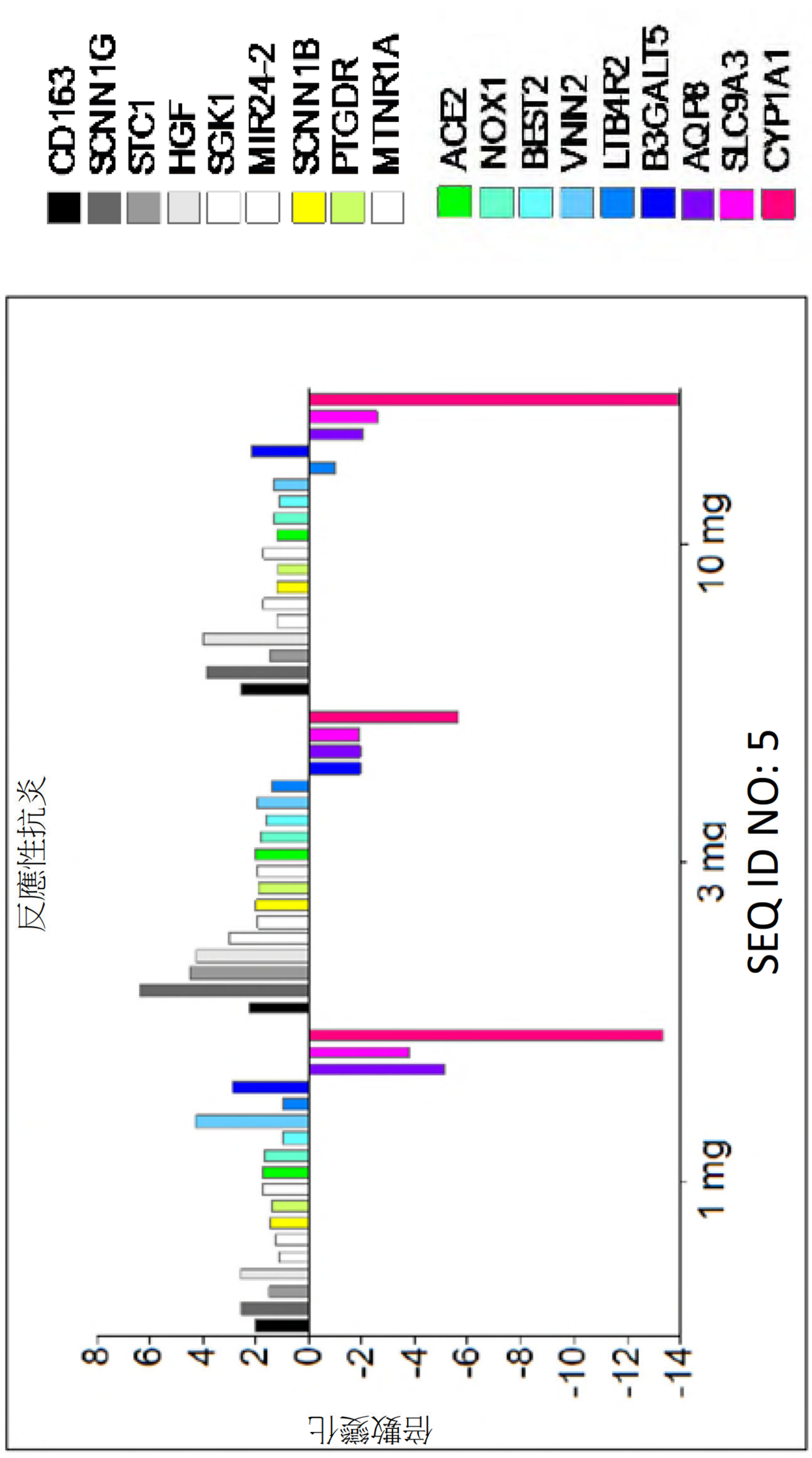

1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg


pSTAT3/總STAT3
(結腸組織)
pSTAT3/total-STAT3
0
2
4
6
8
10
12
24
26
28
24小時
8小時
45分鐘
30分鐘
15分鐘
給藥前

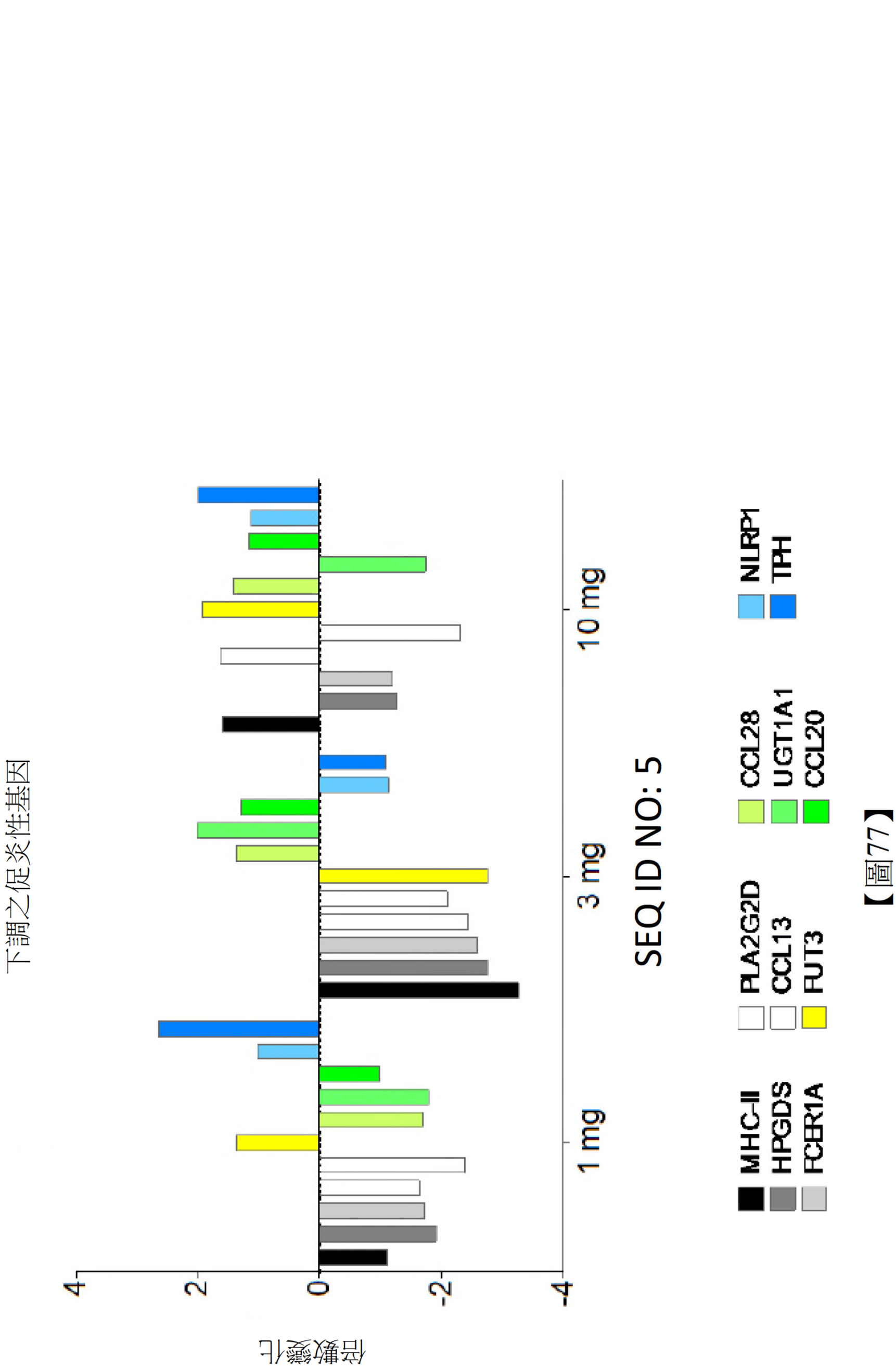
【圖74】


IL-6 (pg/mg蛋白質)
0
10
20
30
40
50
60
70
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
SEQ ID NO: 5 (1mg)
SEQ ID NO: 5 (3 mg)
SEQ ID NO: 5 (10 mg)

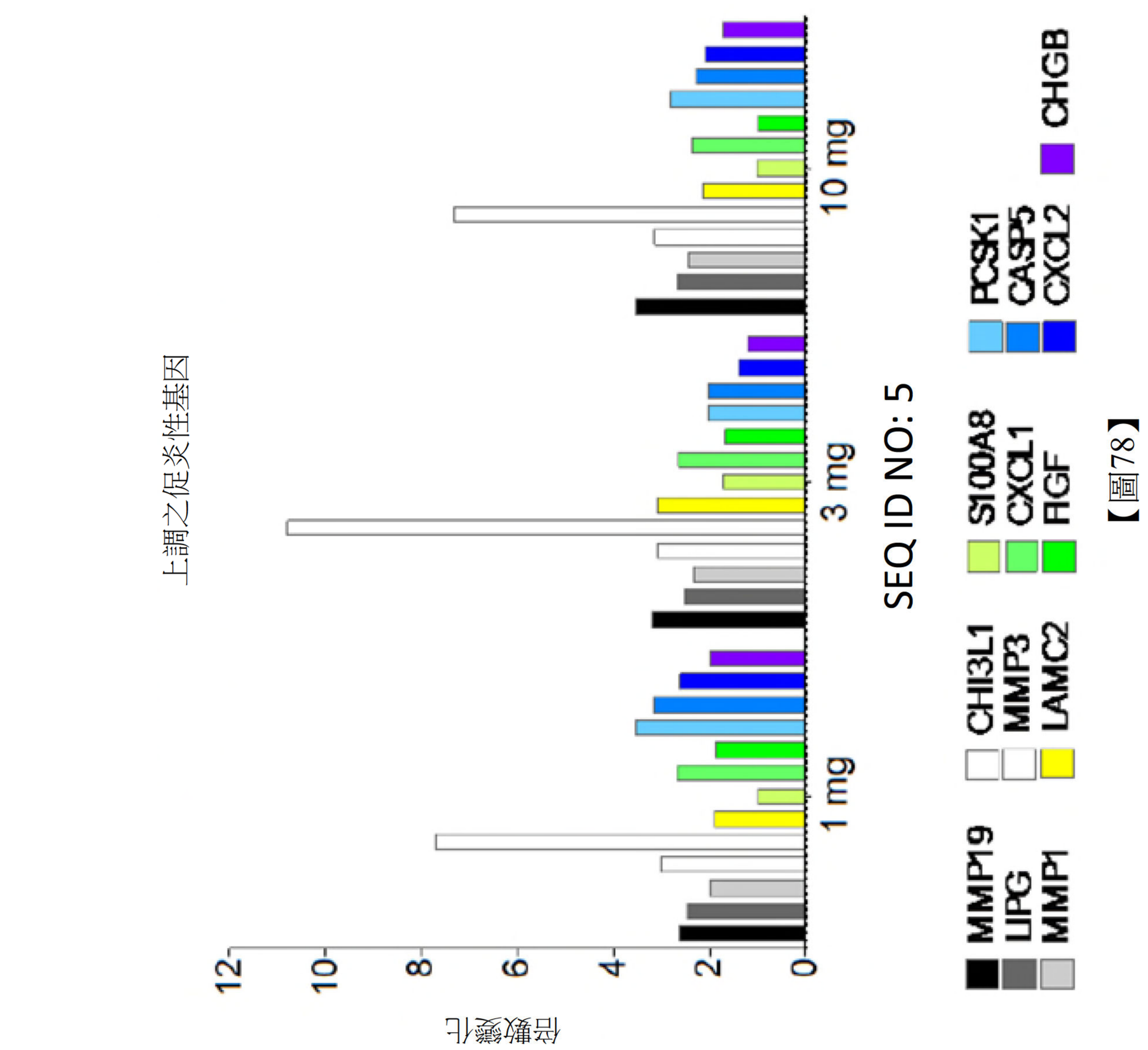
【圖75】


CD163
SCNN1G
STC1
HGF
SGK1
MIR24-2
SCNN1B
PTGDR
MTNR1A
ACE2
NOX1
BEST2
VNN2
LTB4R2
B3GALT5
AQP8
SLC9A3
CYP1A1
反應性抗炎
倍數變化
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
1 mg
3 mg
10 mg
SEQ ID NO: 5

【圖76】


下調之促炎性基因
倍數變化
4
2
0
-2
-4
1 mg
3 mg
10 mg
SEQ ID NO: 5
MHC-II
HPGDS
FCER1A
PLA2G2D
CCL13
FUT3
CCL28
UGT1A1
CCL20
NLRP1
TPH

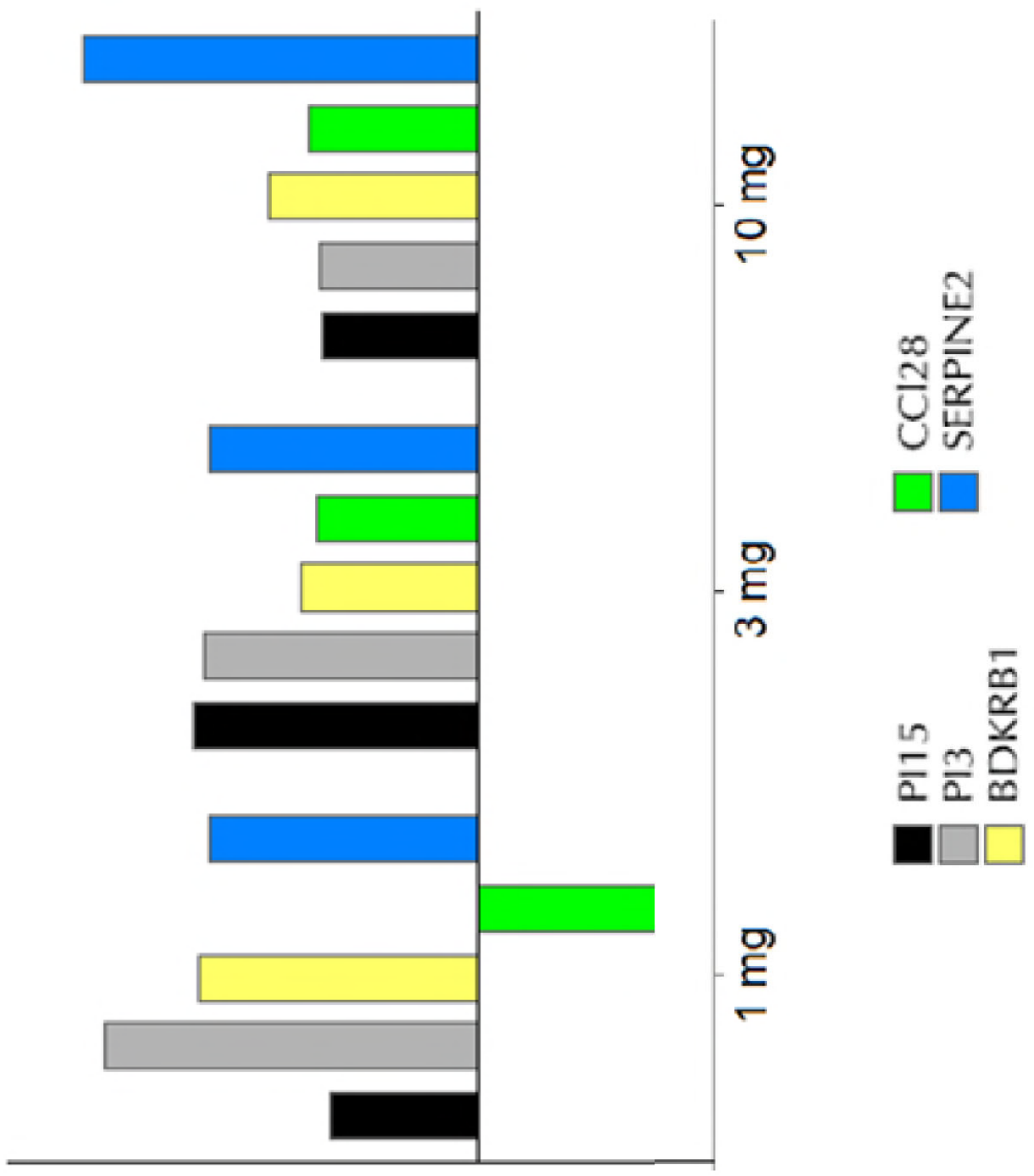
【圖77】


上調之促炎性基因
倍數變化
12
10
8
6
4
2
0
1 mg
3 mg
10 mg
SEQ ID NO: 5
S100A8
CXCL1
RGF
PCSK1
CASP5
CXCL2
CHGB
MMP19
LIPG
MMP1
CHI3L1
MMP3
LAMC2

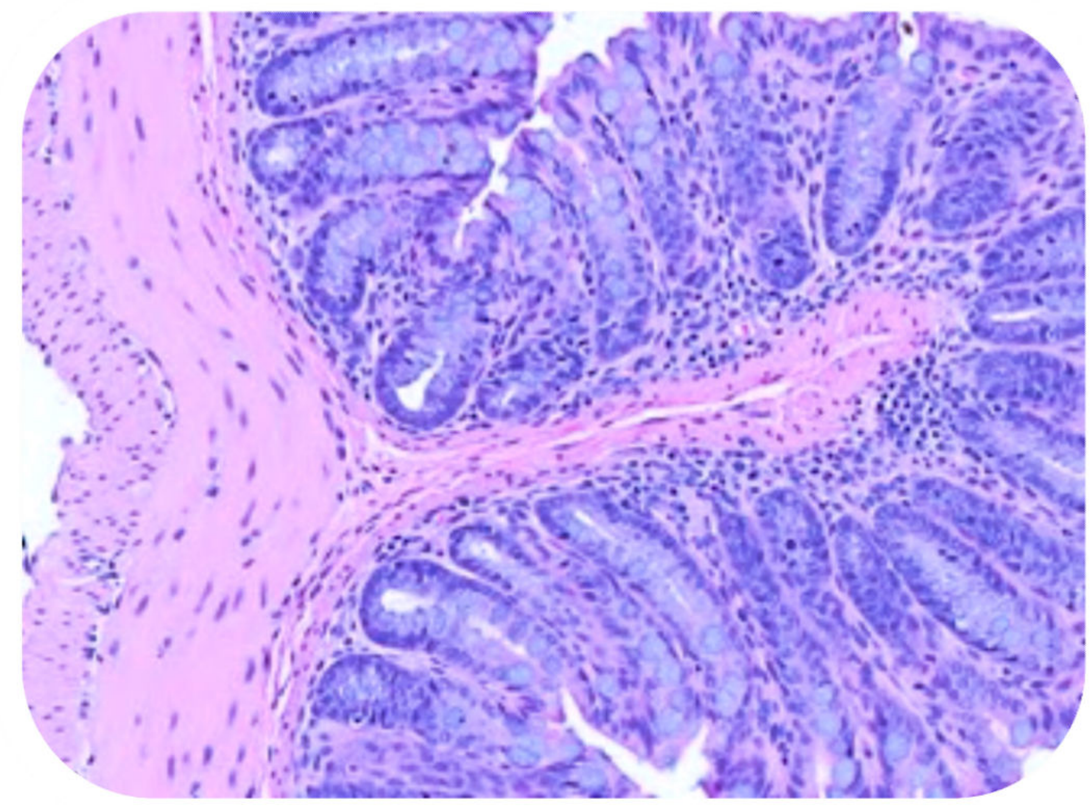
【圖78】

組織修復基因
倍數變化
10
5
0
-5
-10
3 mg
10 mg
1 mg
SEQ ID NO: 5
SCNN1B
BEST2
B3GALT5
AQP3
SLC9A3
SCNN1G
STC1
TIMP1

【圖79】

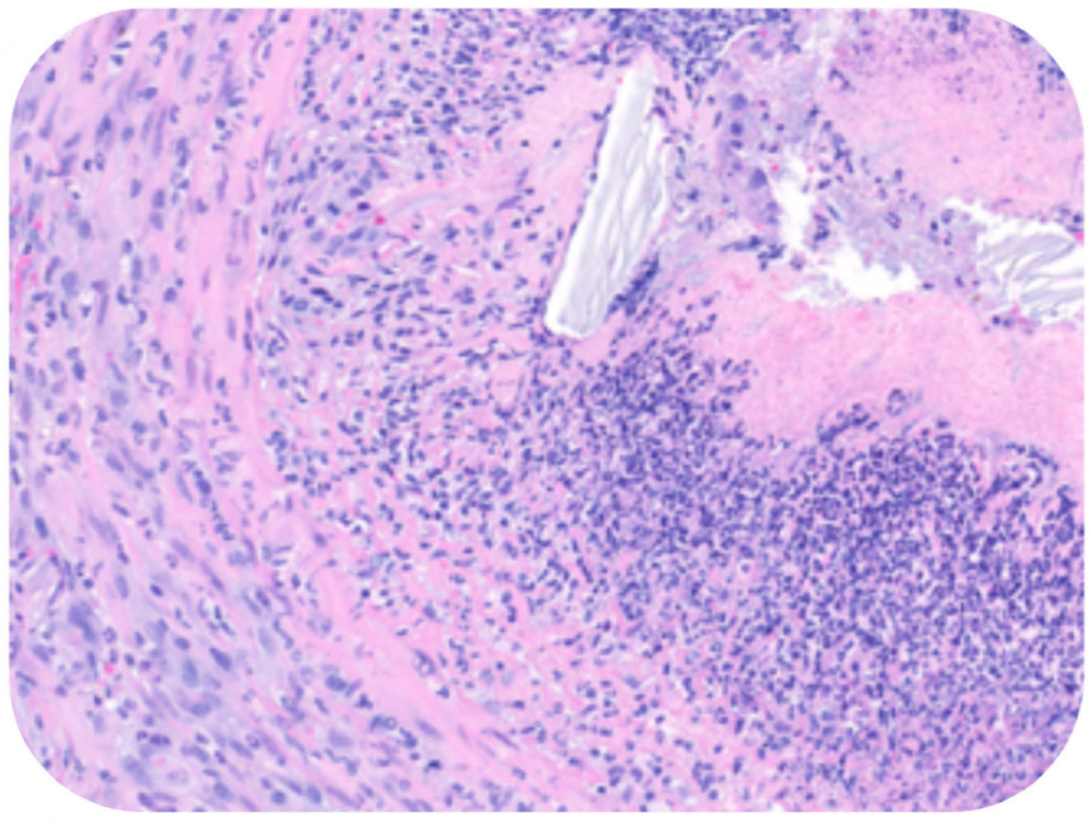


【圖80】



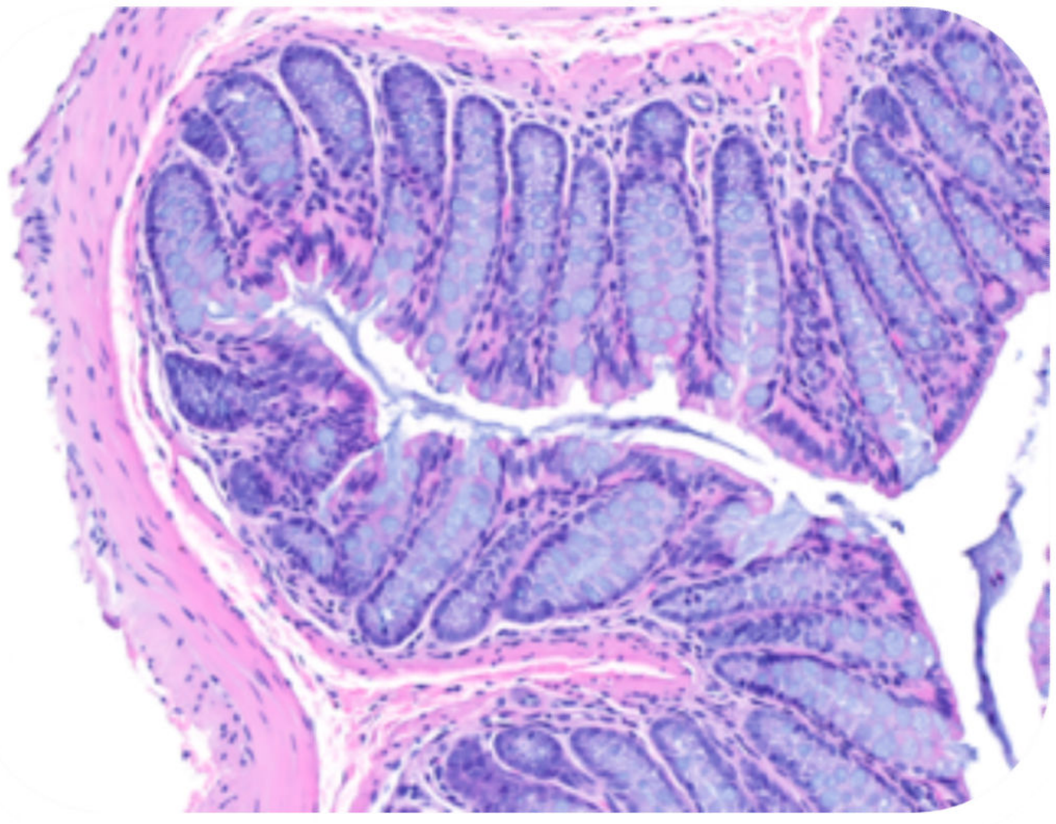
疾病：用SEQ ID NO: 5治療

【圖81C】



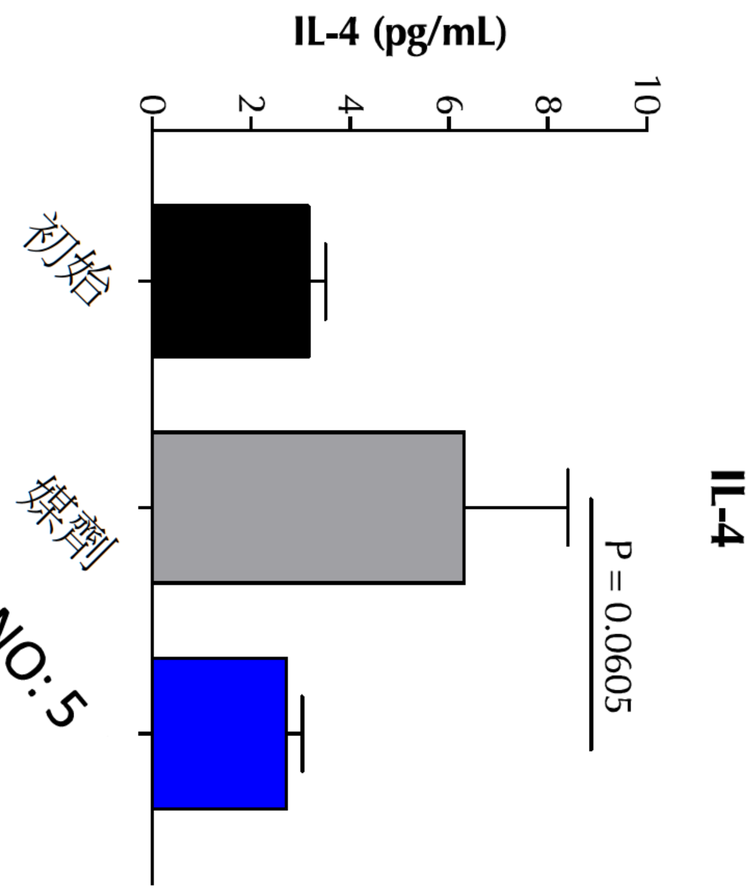
疾病：用媒劑/安慰劑治療

【圖81B】

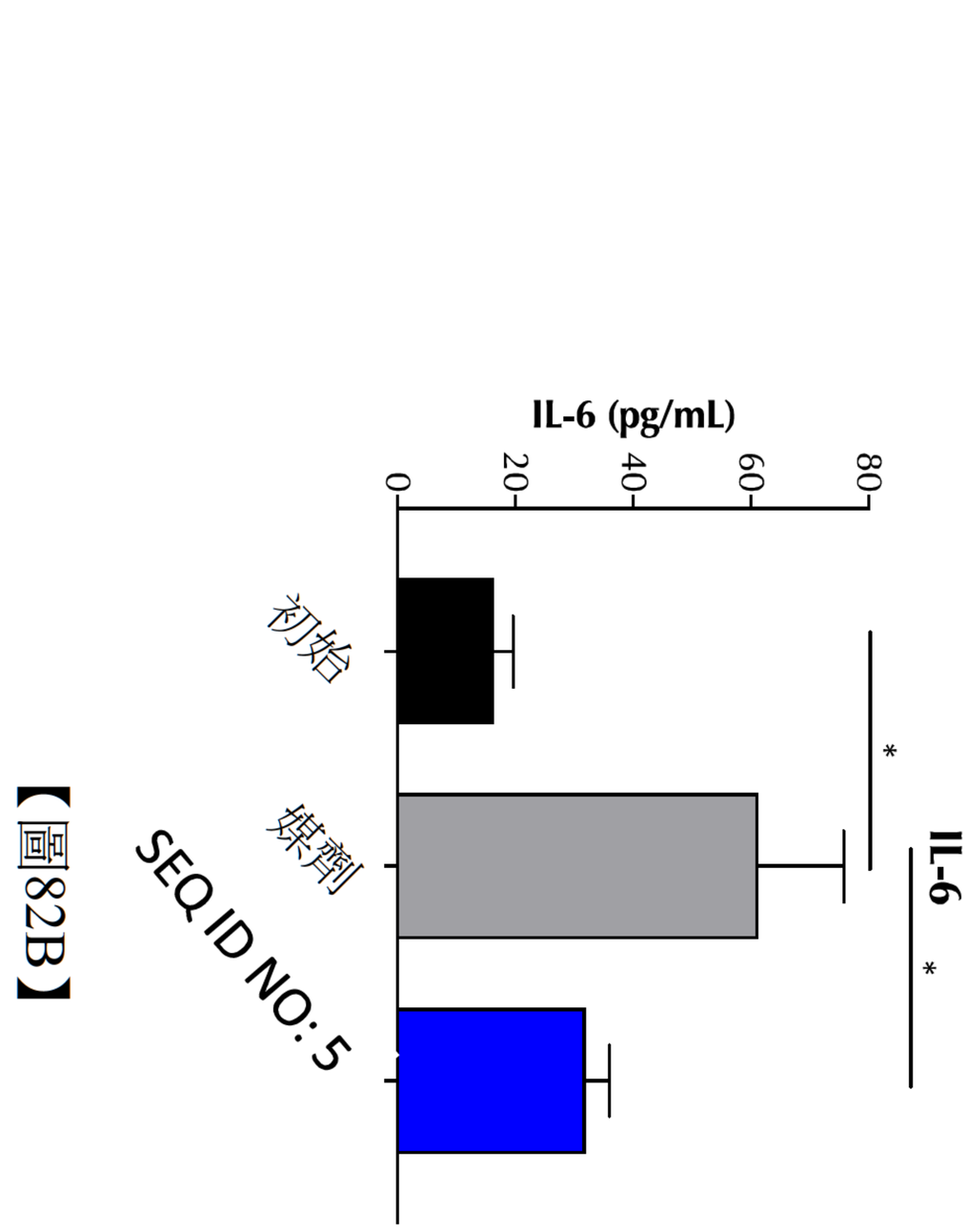


初始(無疾病)

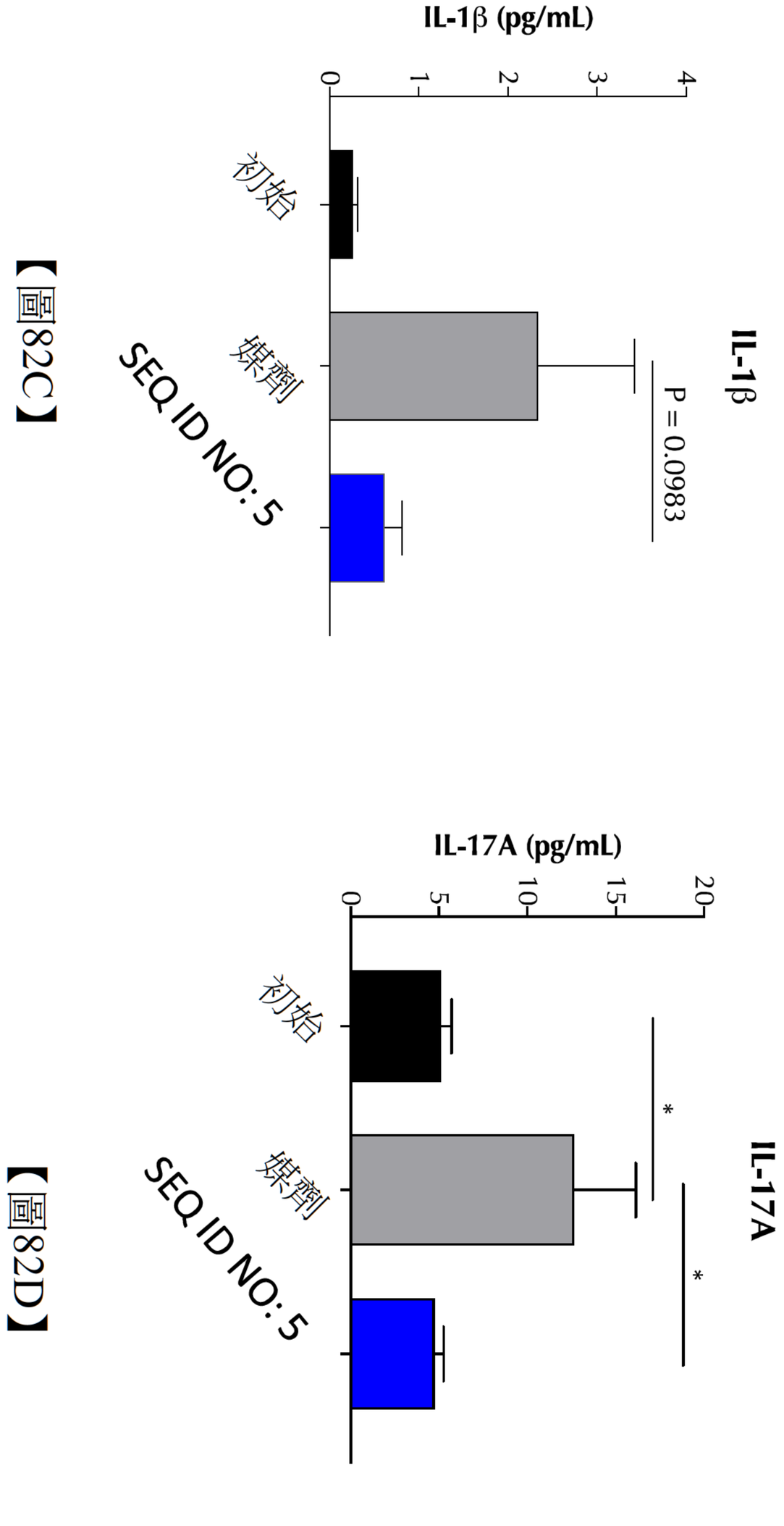
【圖81A】


IL-4 (pg/mL)
0
2
4
6
8
10
IL-4
P = 0.0605
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

【圖82A】


IL-6 (pg/mL)
0
20
40
60
80
IL-6
*
*
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

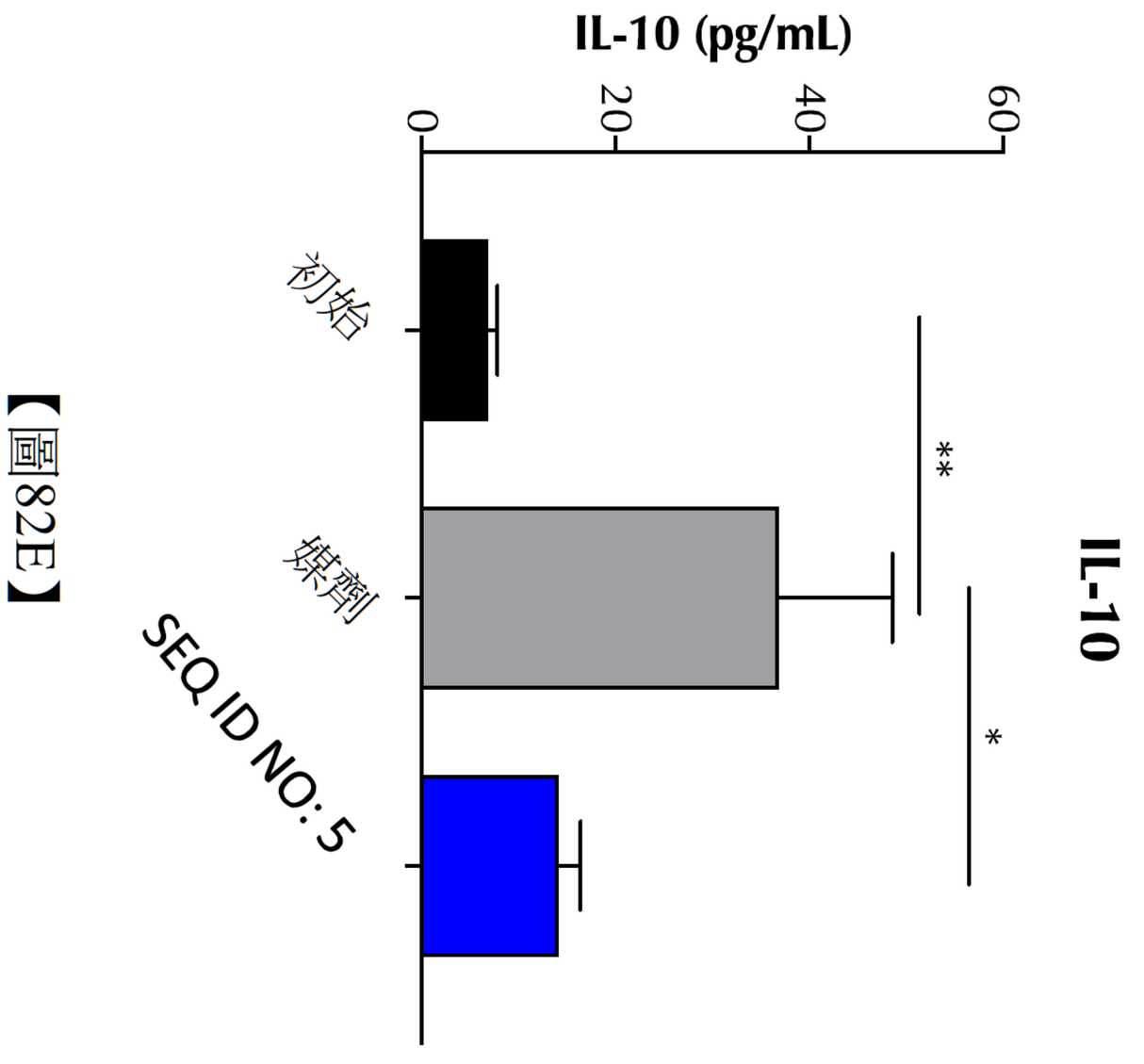
【圖82B】


IL-1β (pg/mL)
0
1
2
3
4
IL-1β
P = 0.0983
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

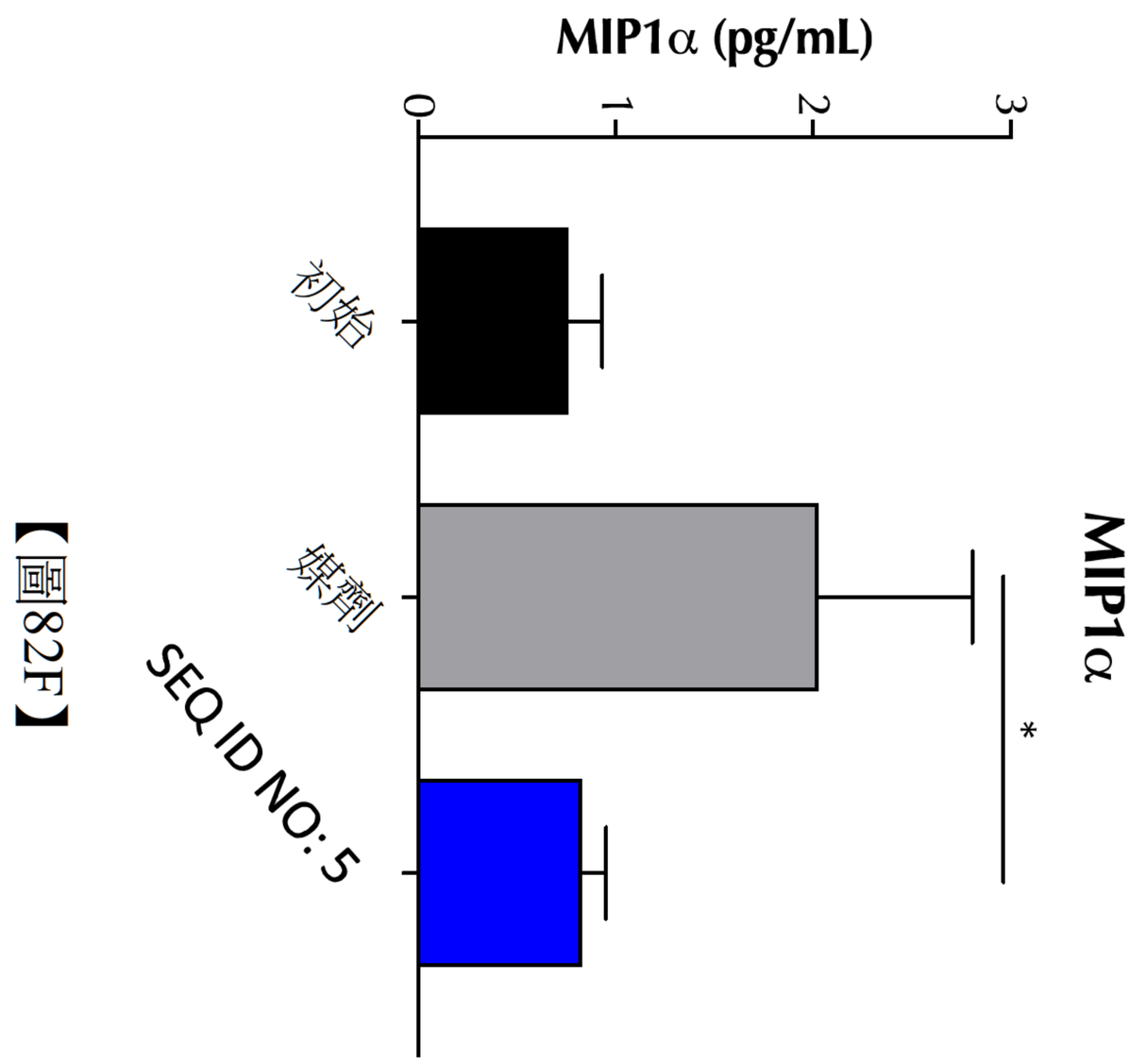
【圖82C】

IL-17A (pg/mL)
0
5
10
15
20
IL-17A
*
*
初始
媒劑
SEQ ID NO: 5

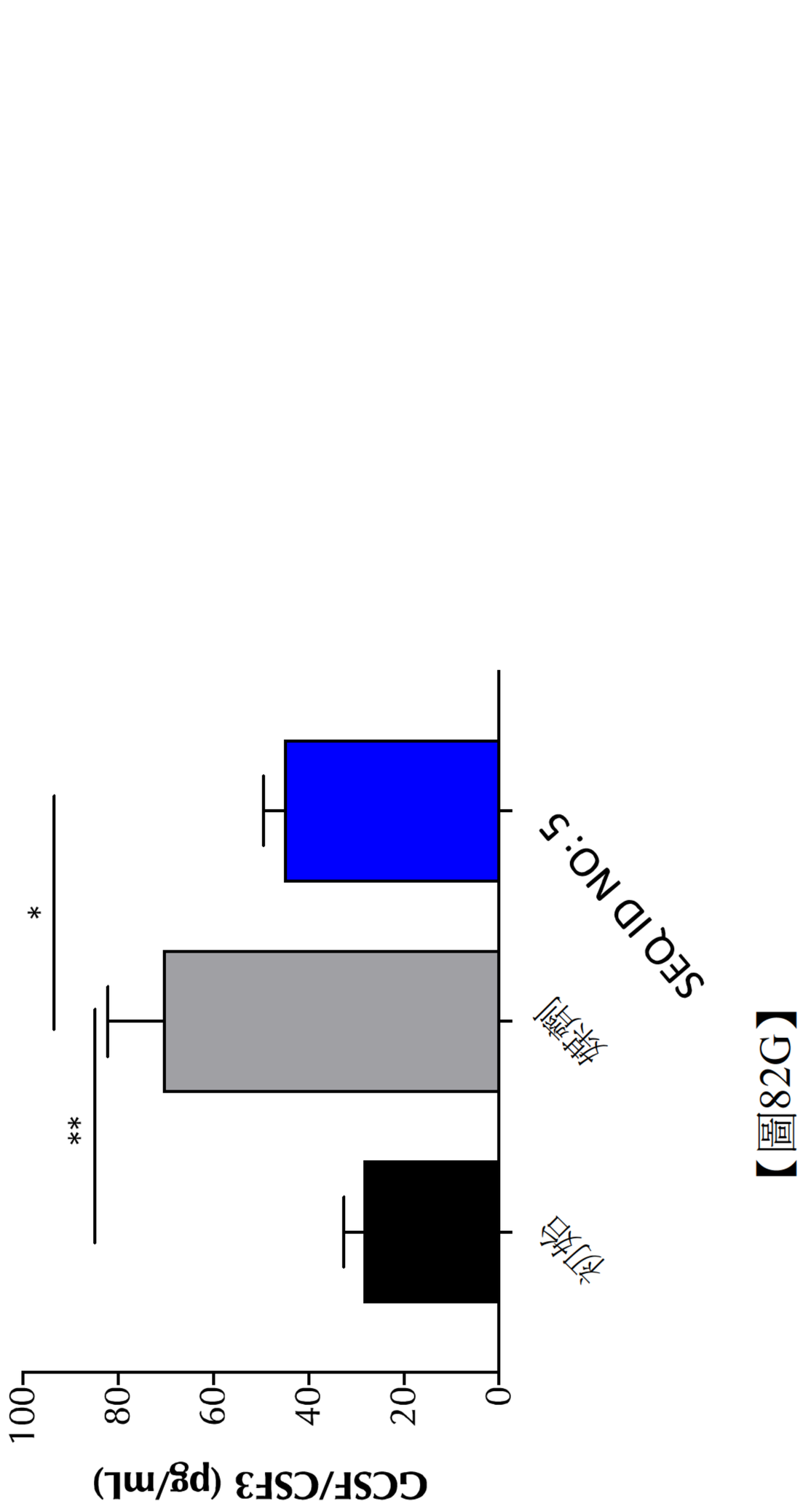
【圖82D】


IL-10 (pg/mL)
0
20
40
60
IL-10
**
*
初始
媒劑
SEQ ID NO:5

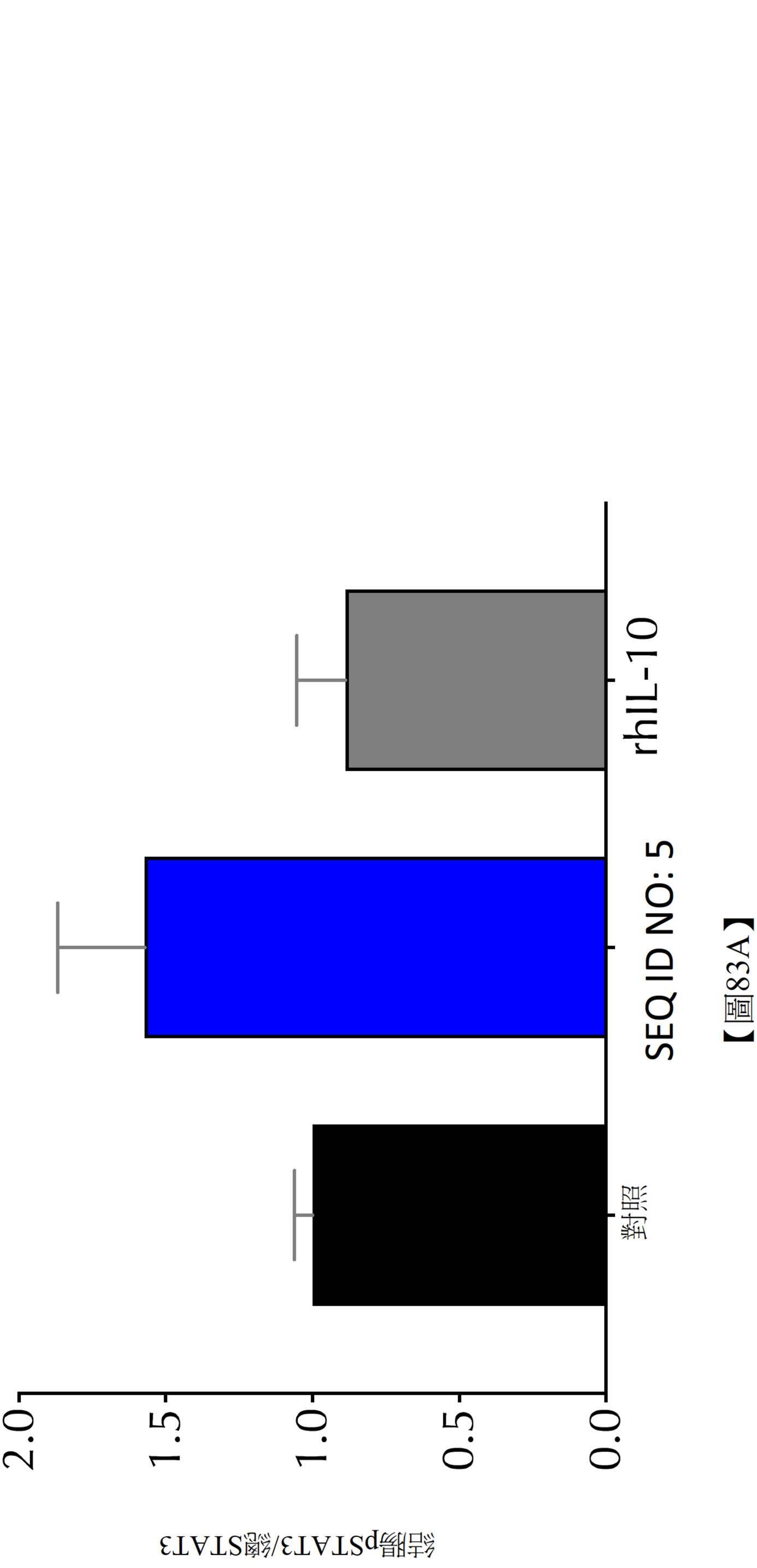
【圖82E】


MIP1α (pg/mL)
0
1
2
3
MIP1α
*
初始
媒劑
SEQ ID NO:5

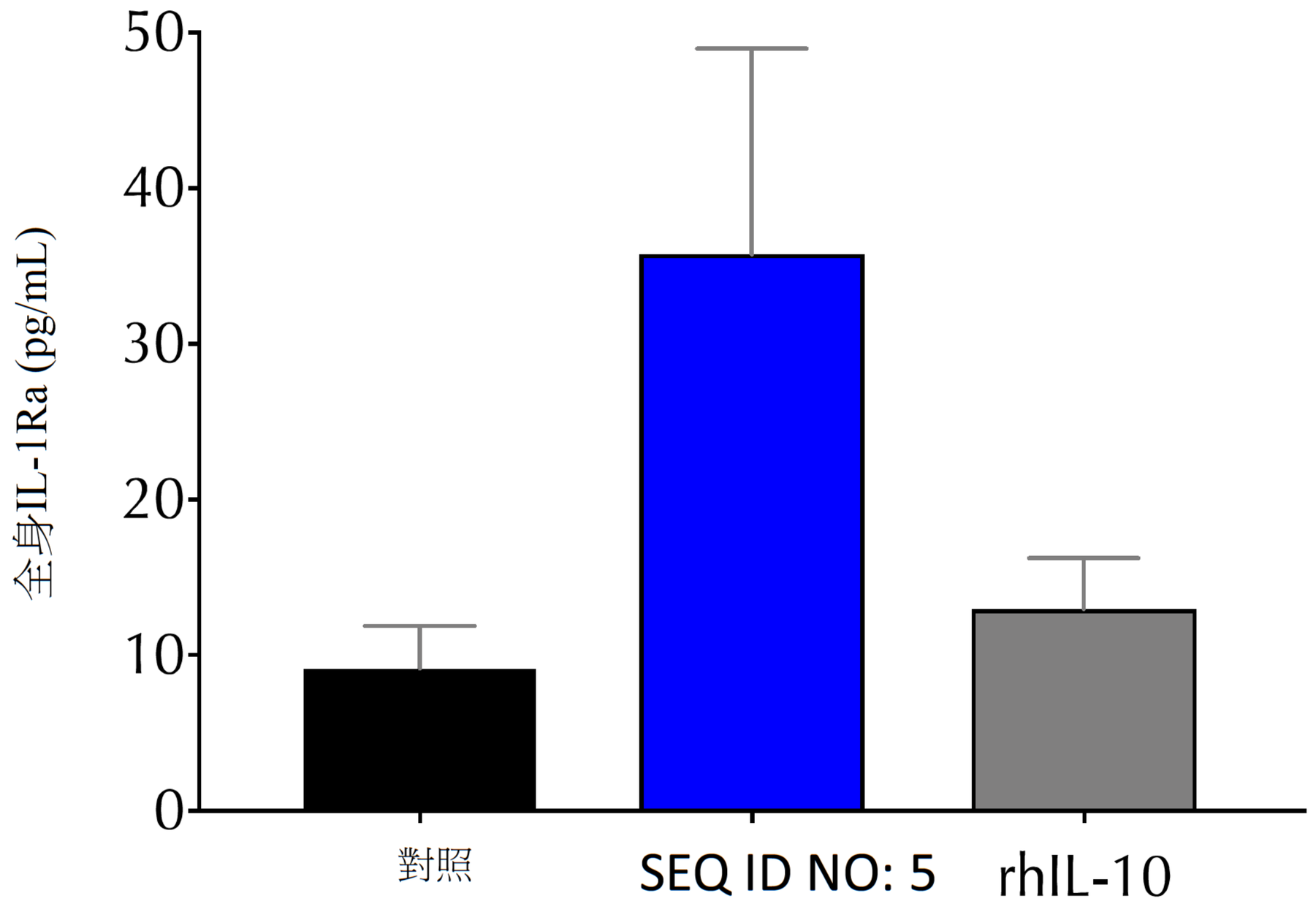
【圖82F】



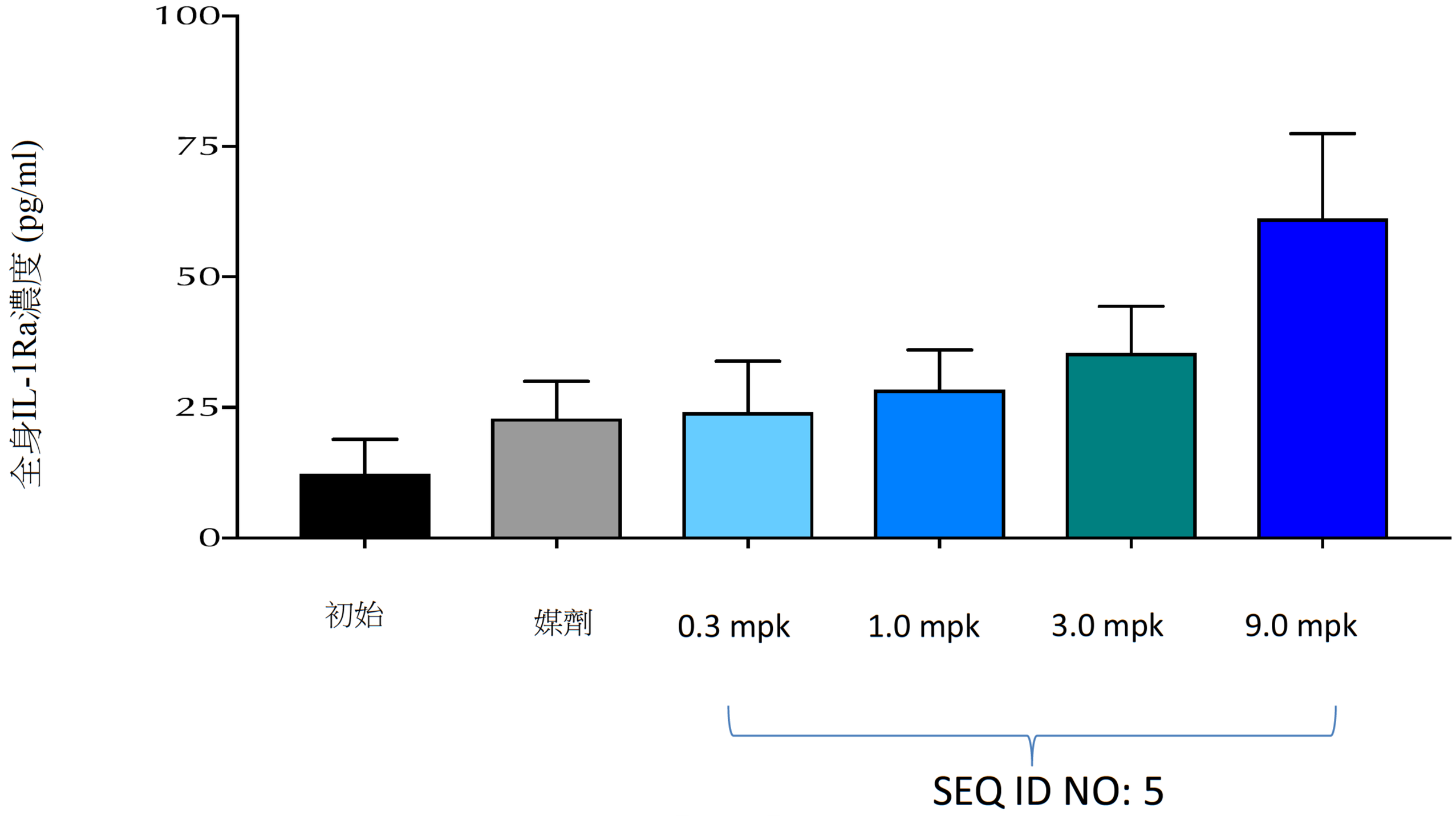
【圖82G】



【圖83A】

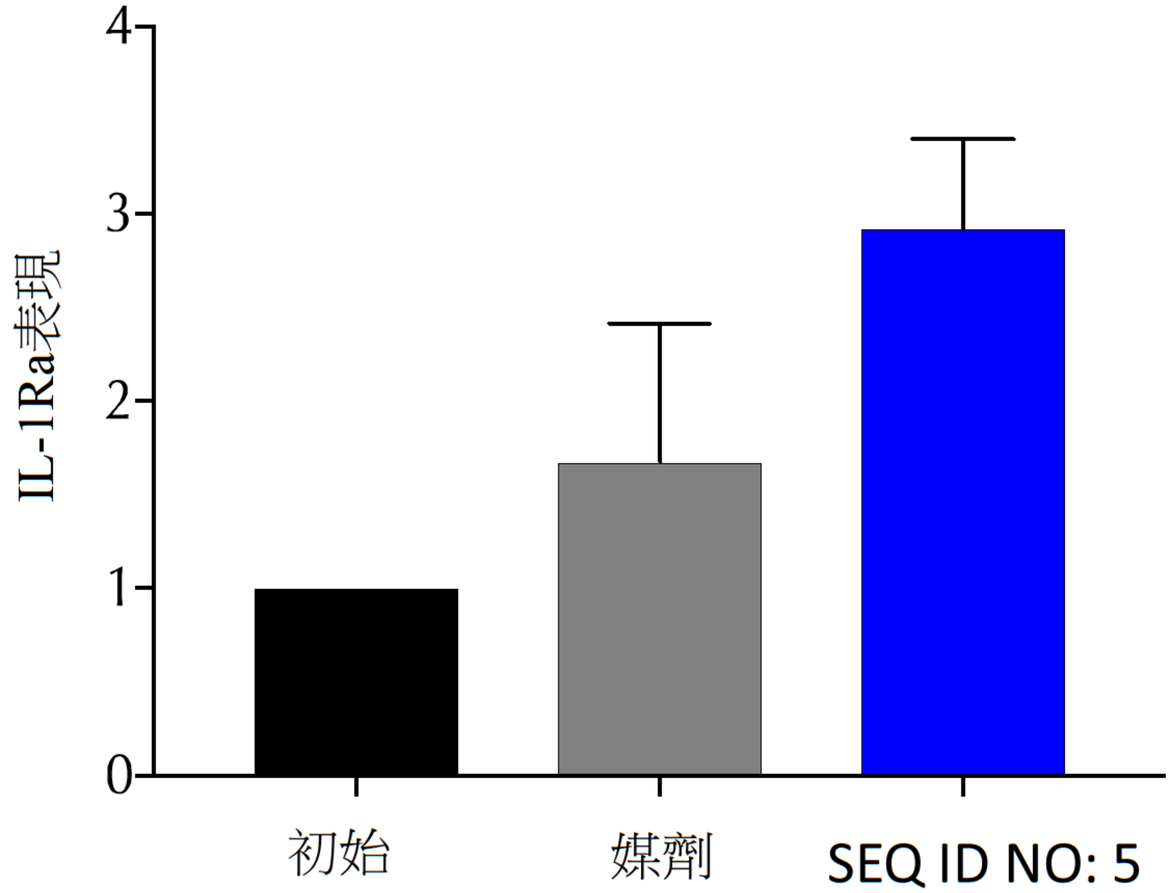


【圖83B】


全身IL-1Ra濃度 (pg/ml)
100
75
50
25
0
初始
媒劑
0.3 mpk
1.0 mpk
3.0 mpk
9.0 mpk
SEQ ID NO: 5

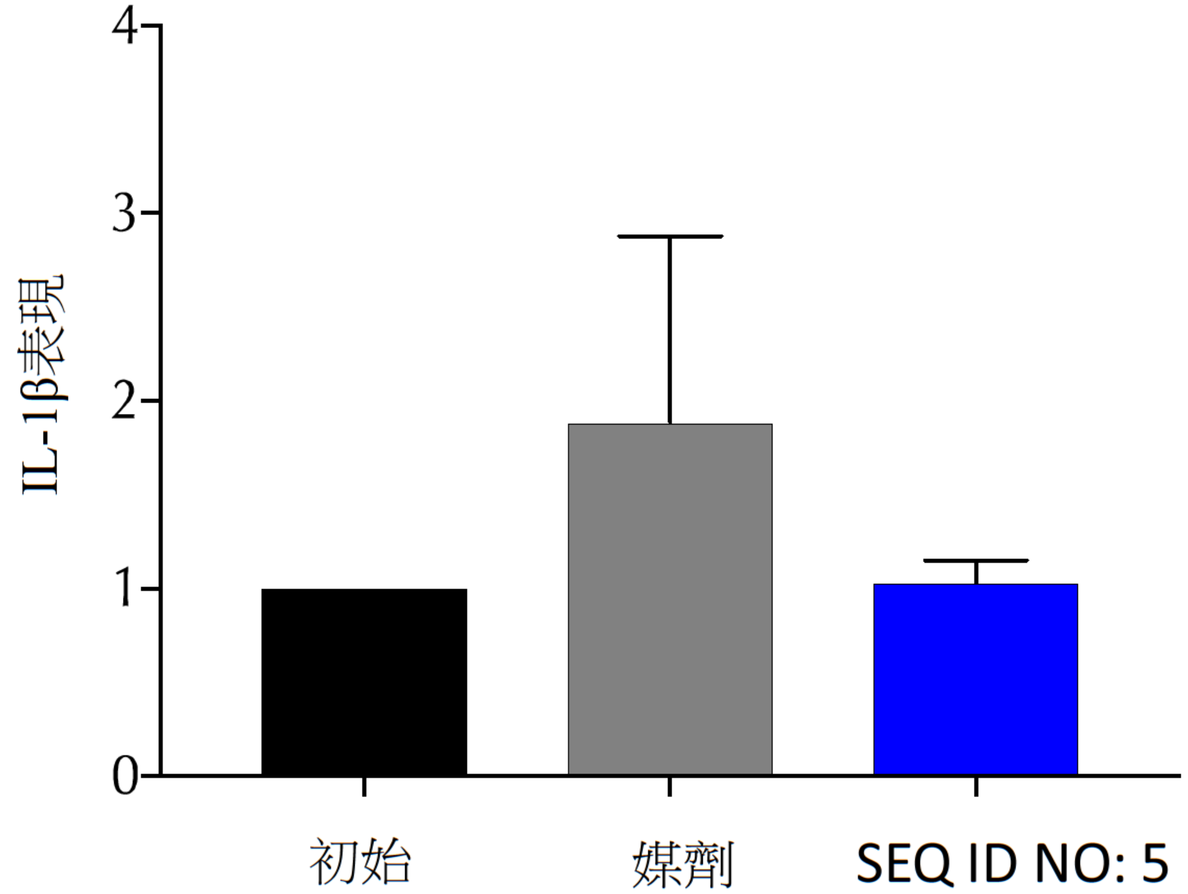
【圖84】

IL-1Ra

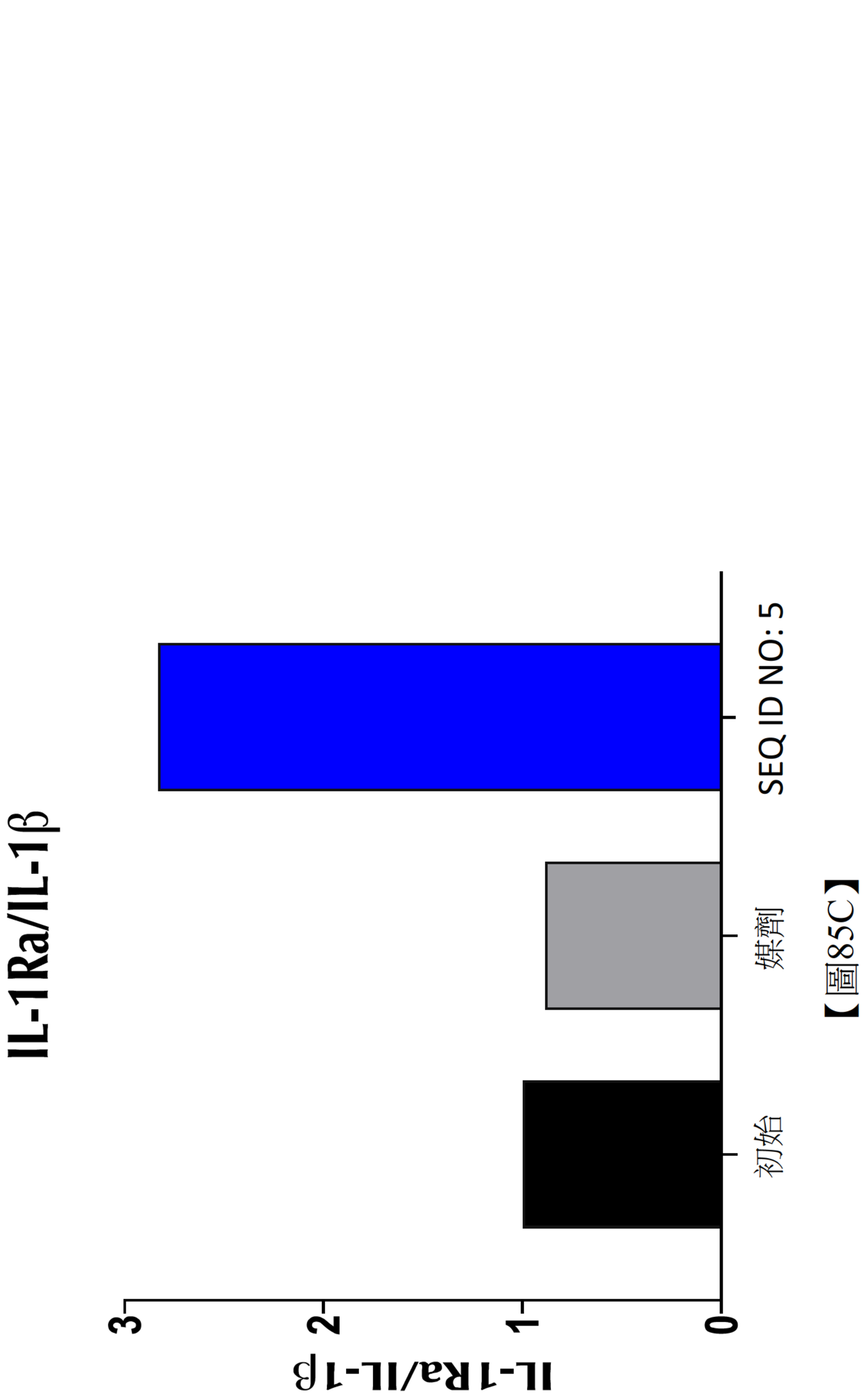


【圖85A】

IL-1β

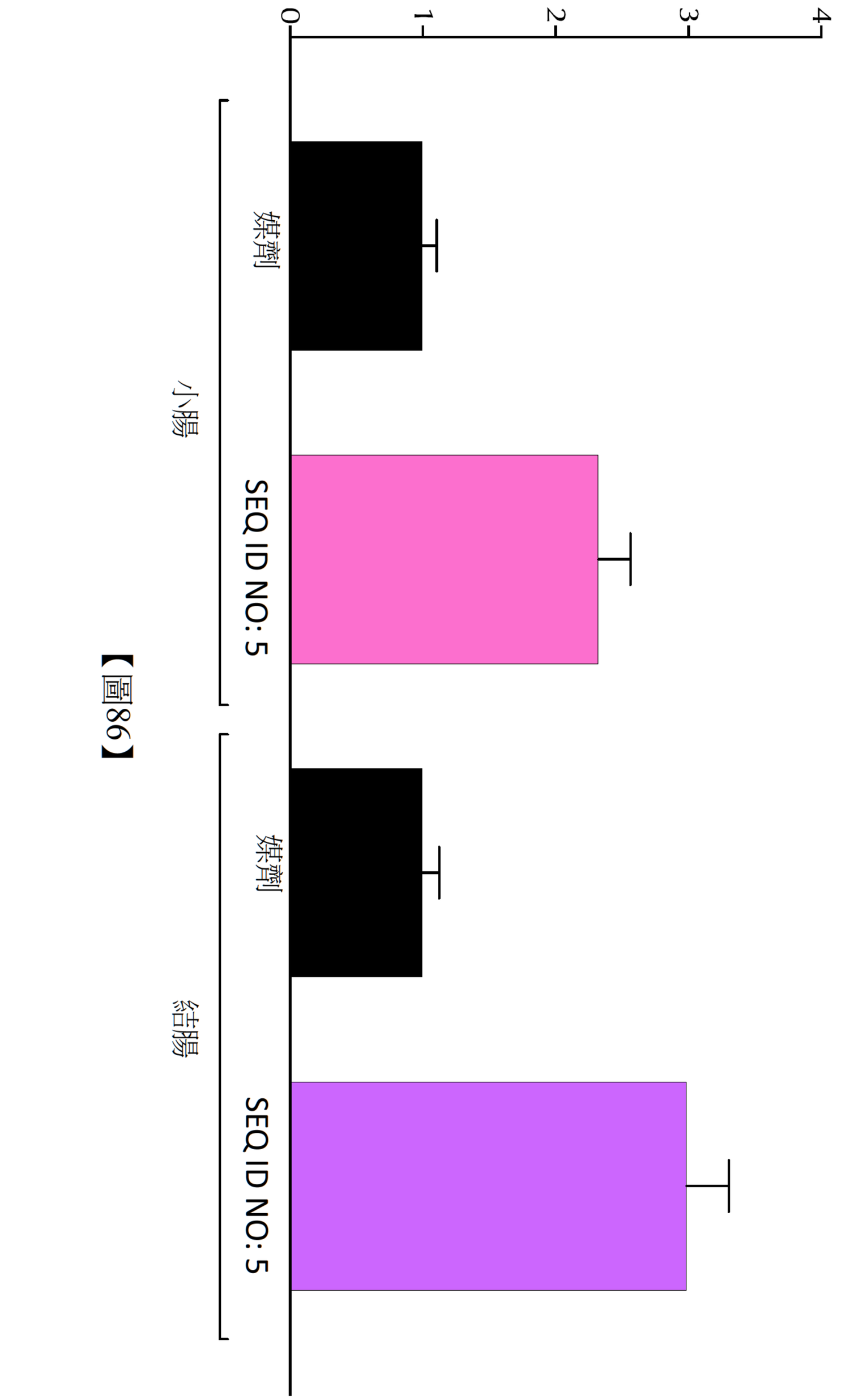


【圖85B】

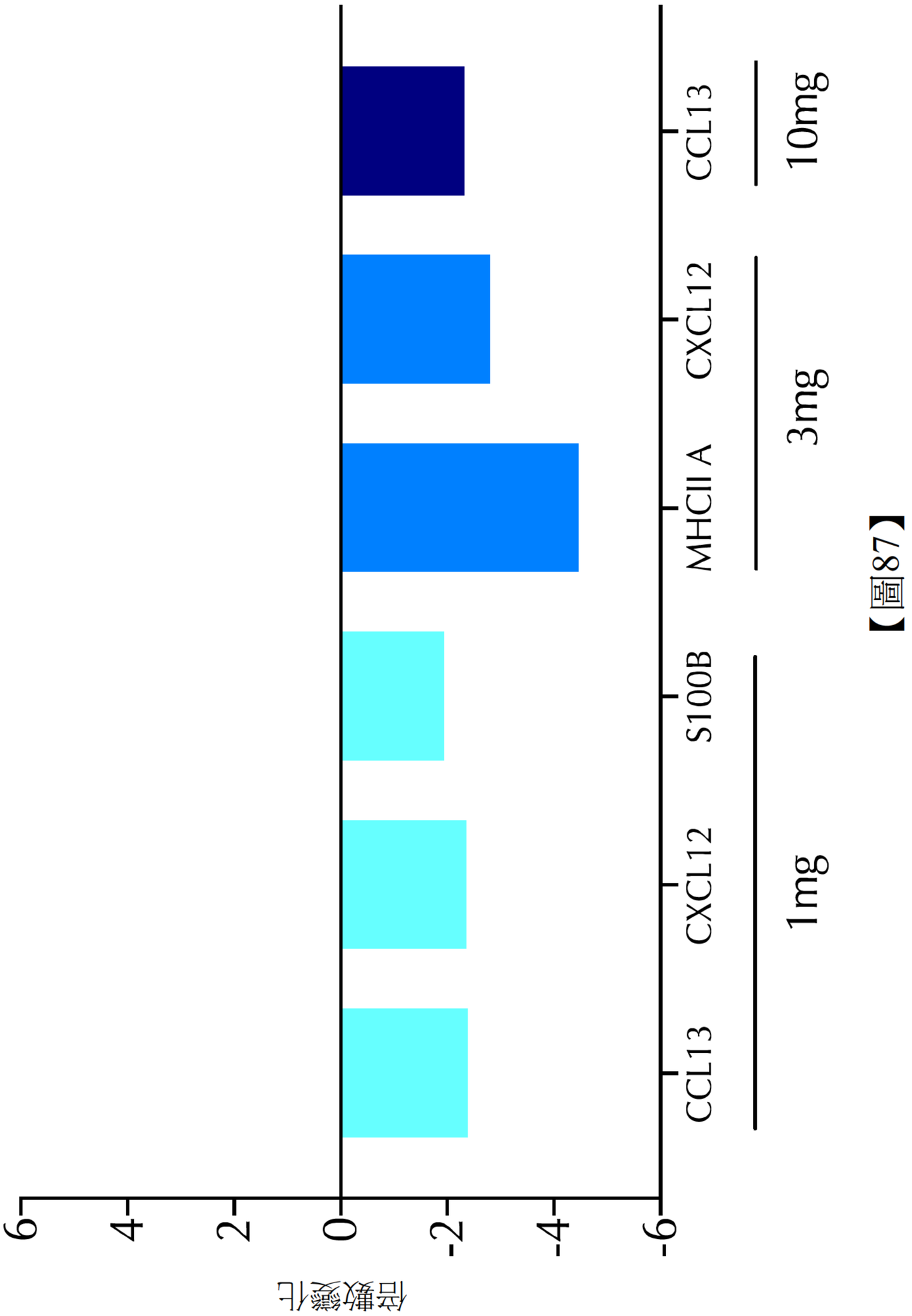


【圖85C】

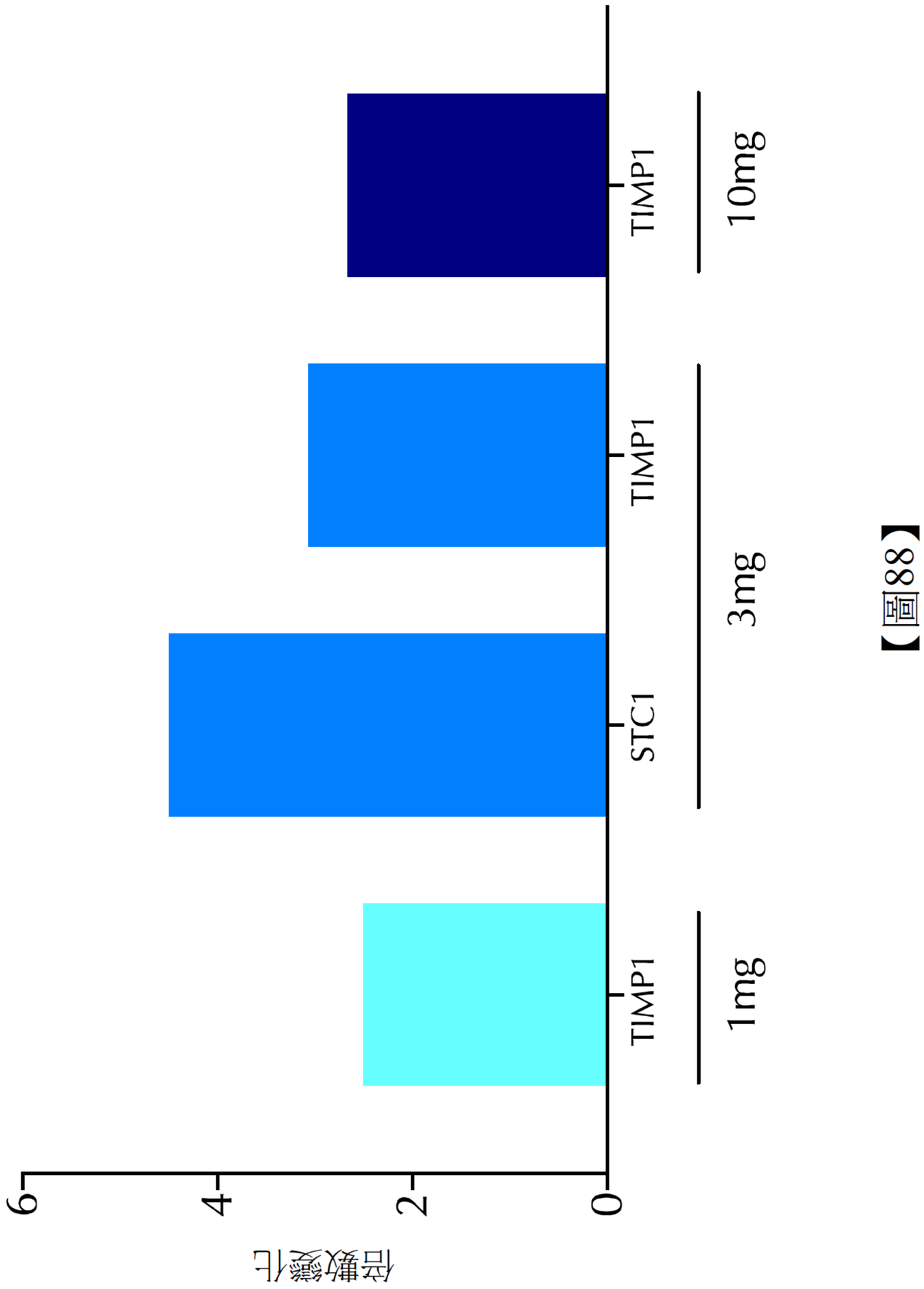
pSTAT3/總STAT3
倍數變化



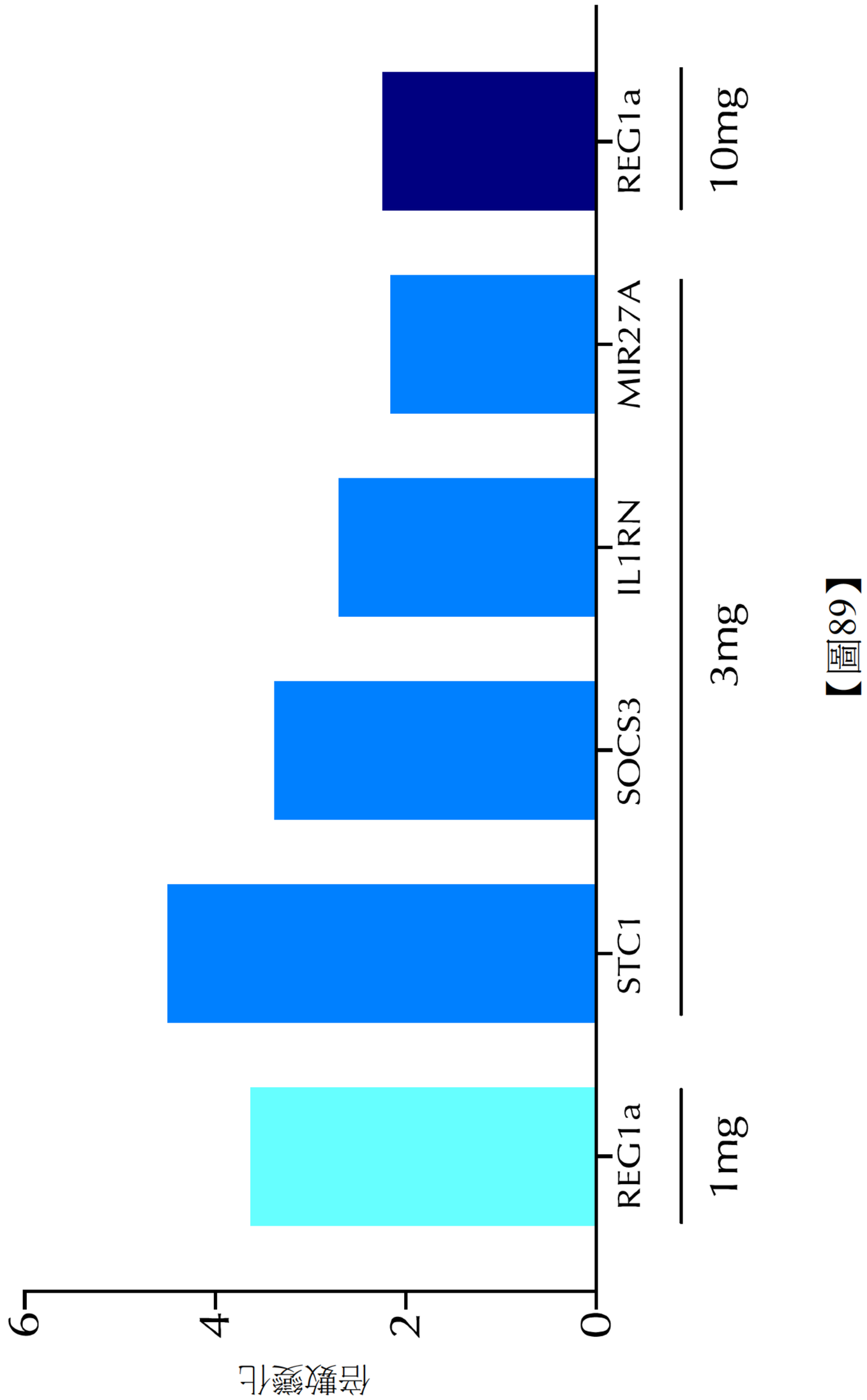
【圖86】


MHCII A
CXCL12
CCL13
3mg
S100B
CXCL12
CCL13
1mg
CCL13
10mg
6
4
2
0
-2
-4
-6
倍數變化

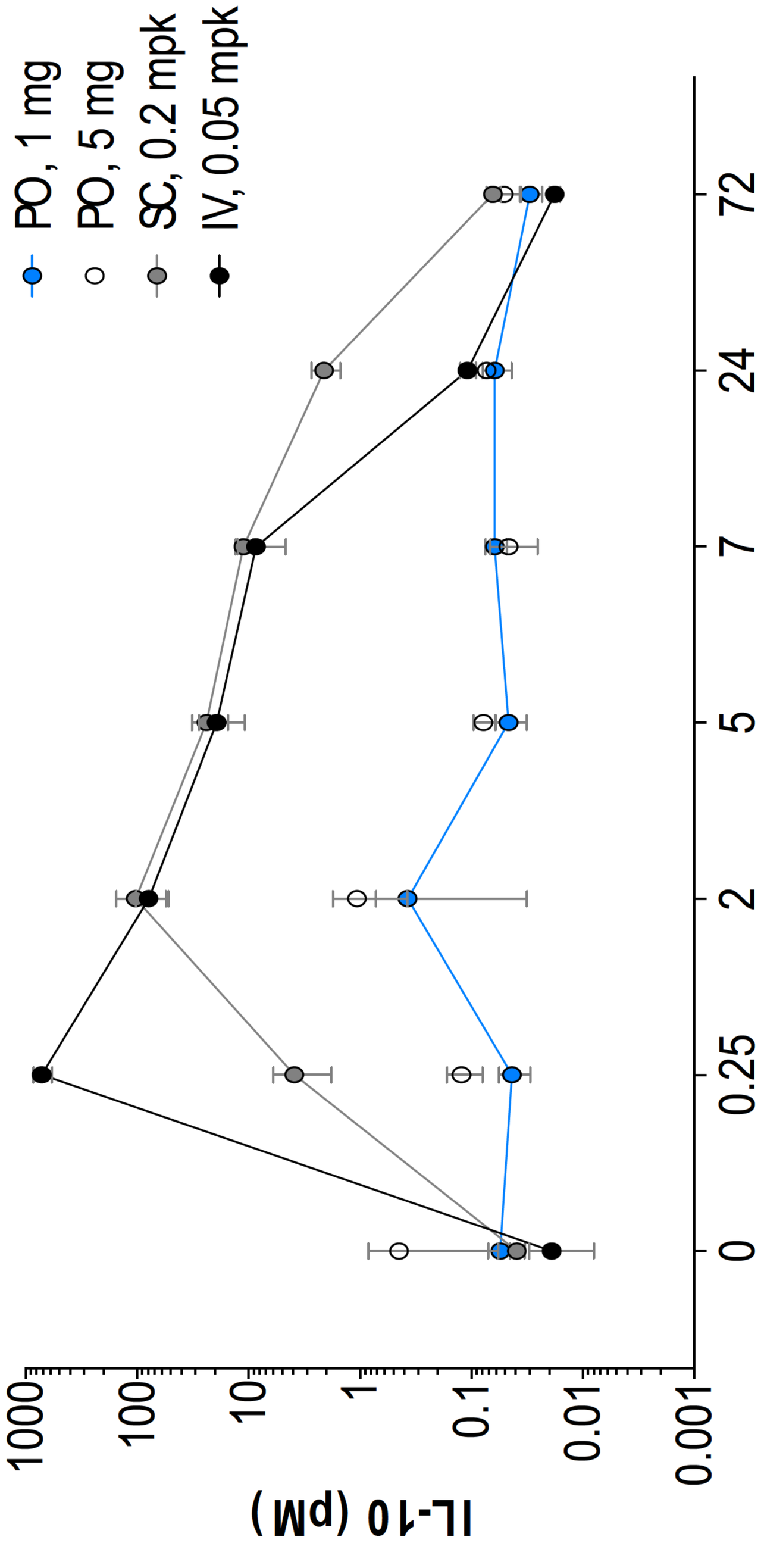
【圖87】



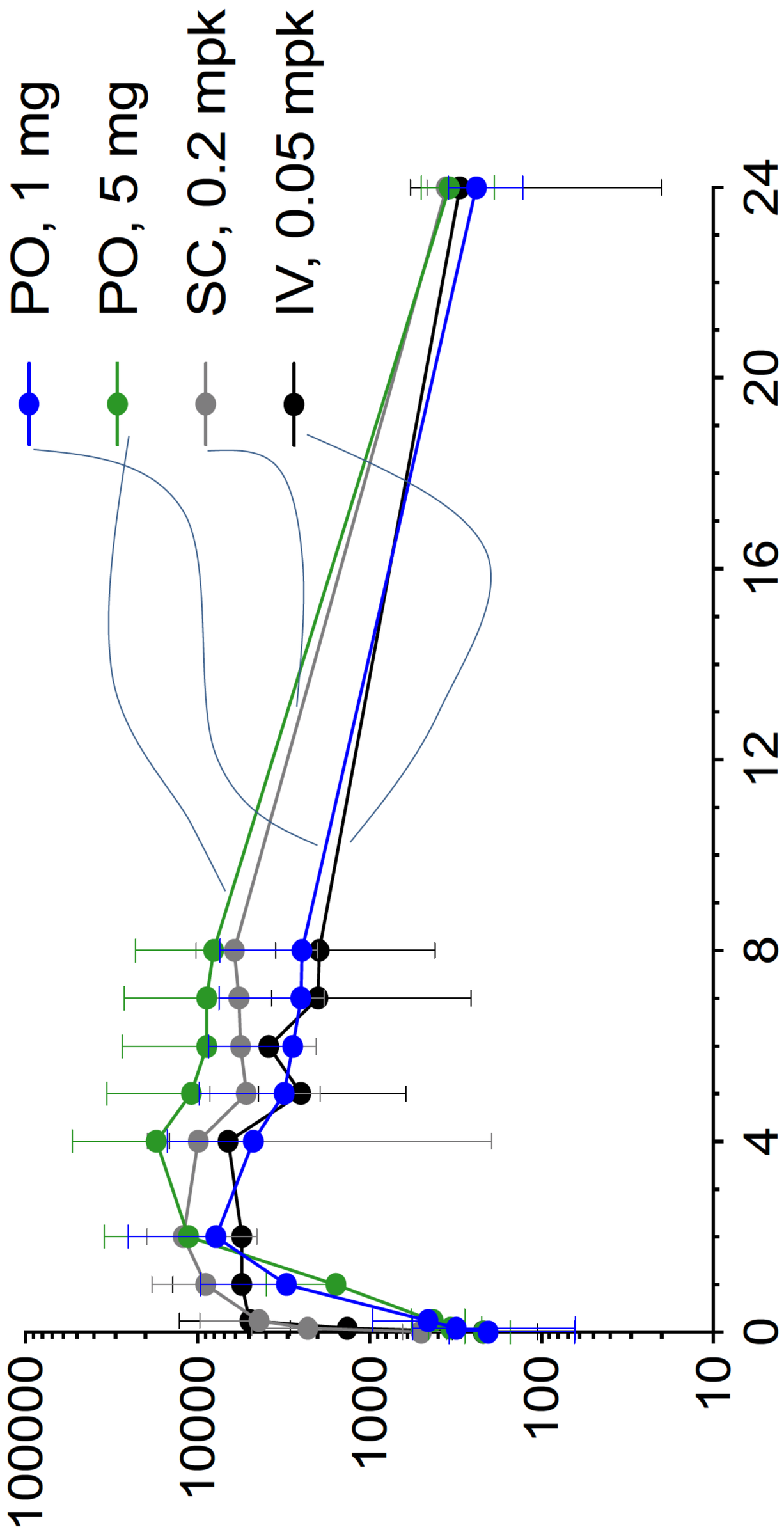
【圖88】



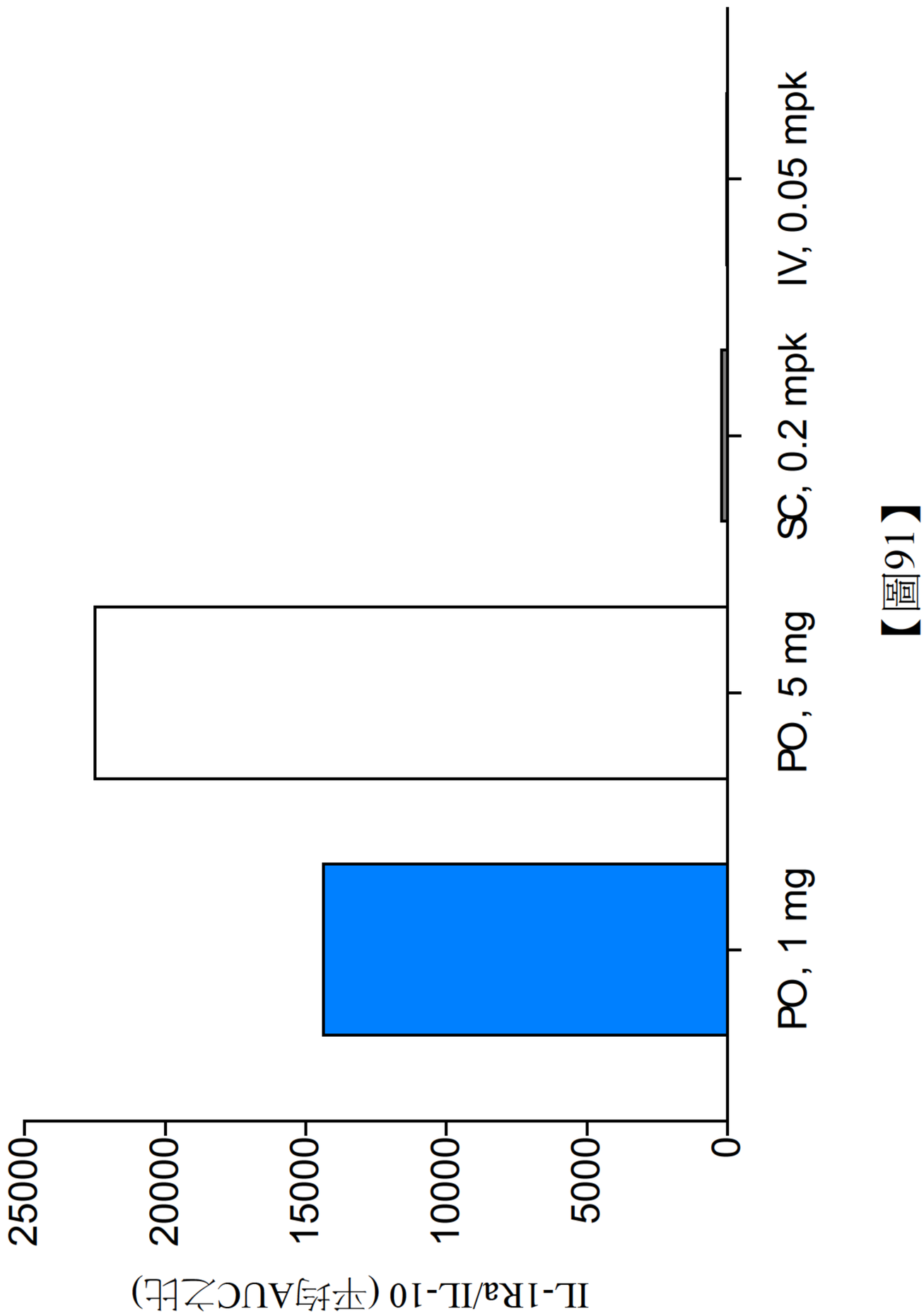
【圖8】


PO, 1 mg
PO, 5 mg
SC, 0.2 mpk
IV, 0.05 mpk
72
24
7
5
2
0.25
0
給藥後之小時數
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
IL-10 (pM)

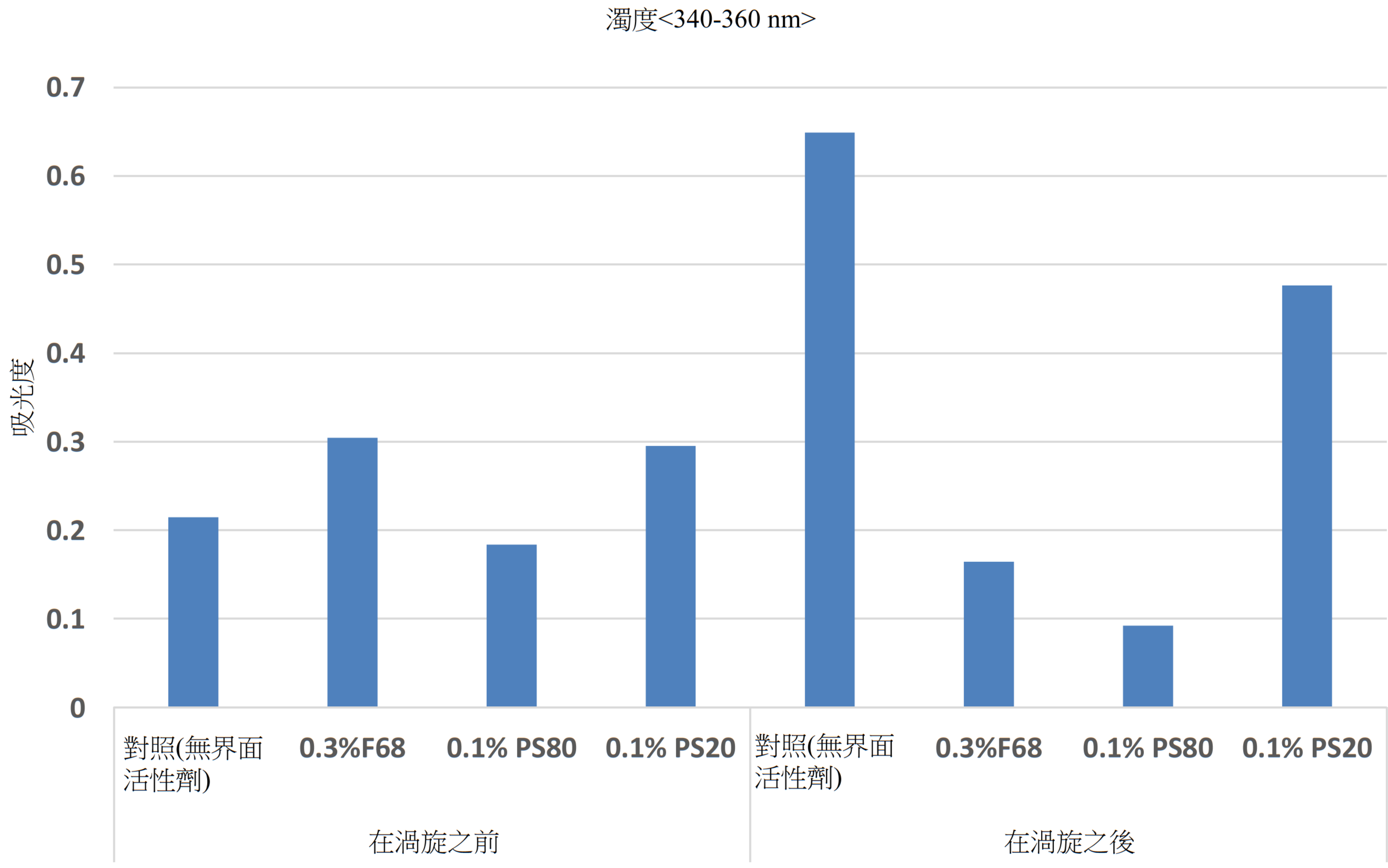
【圖90A】


PO, 1 mg
PO, 5 mg
SC, 0.2 mpk
IV, 0.05 mpk
pg/mL, IL-1Ra
100000
10000
1000
100
10
0
4
8
12
16
20
24
給藥後之小時數

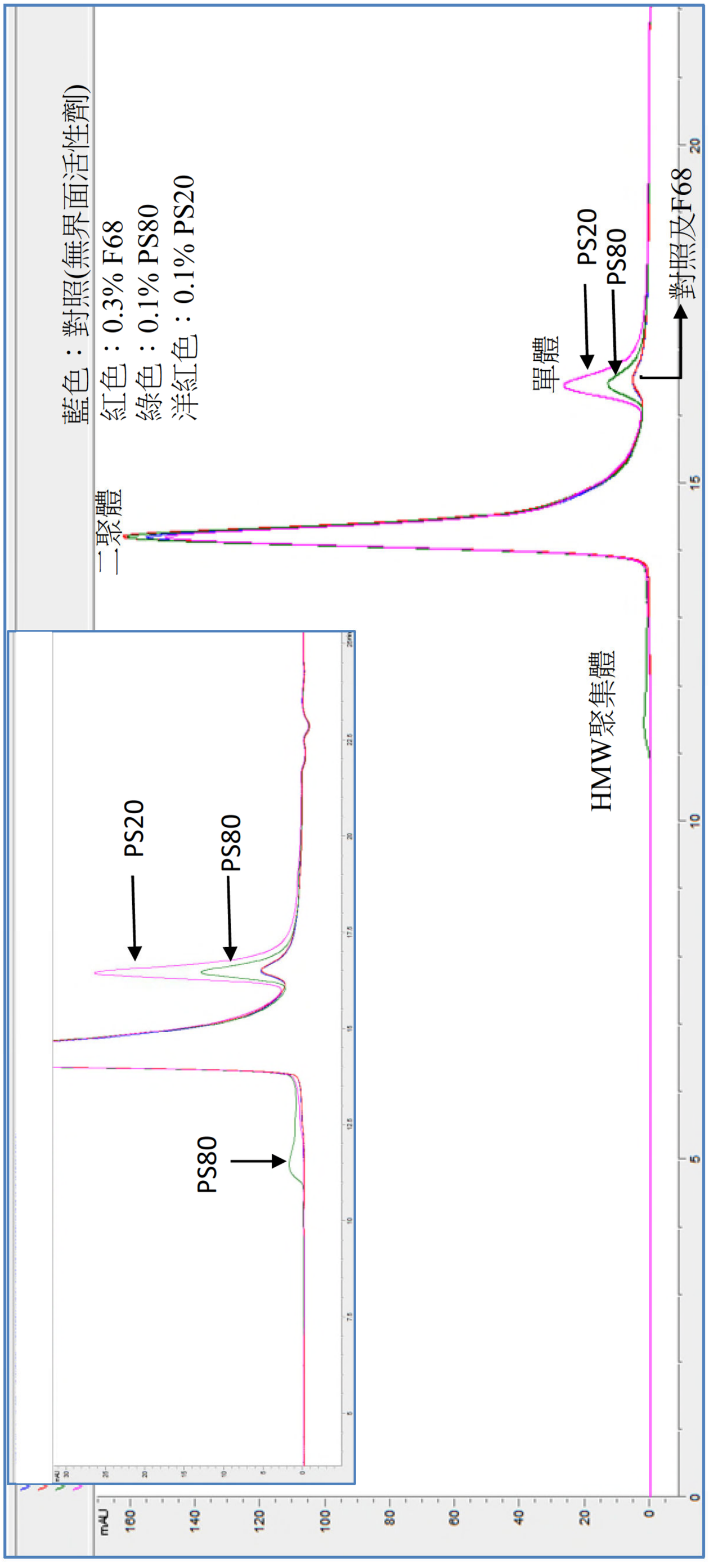
【圖90B】


IL-1Ra/IL-10 (平均AUC之比)
25000
20000
15000
10000
5000
0
PO, 1 mg
PO, 5 mg
SC, 0.2 mpk
IV, 0.05 mpk

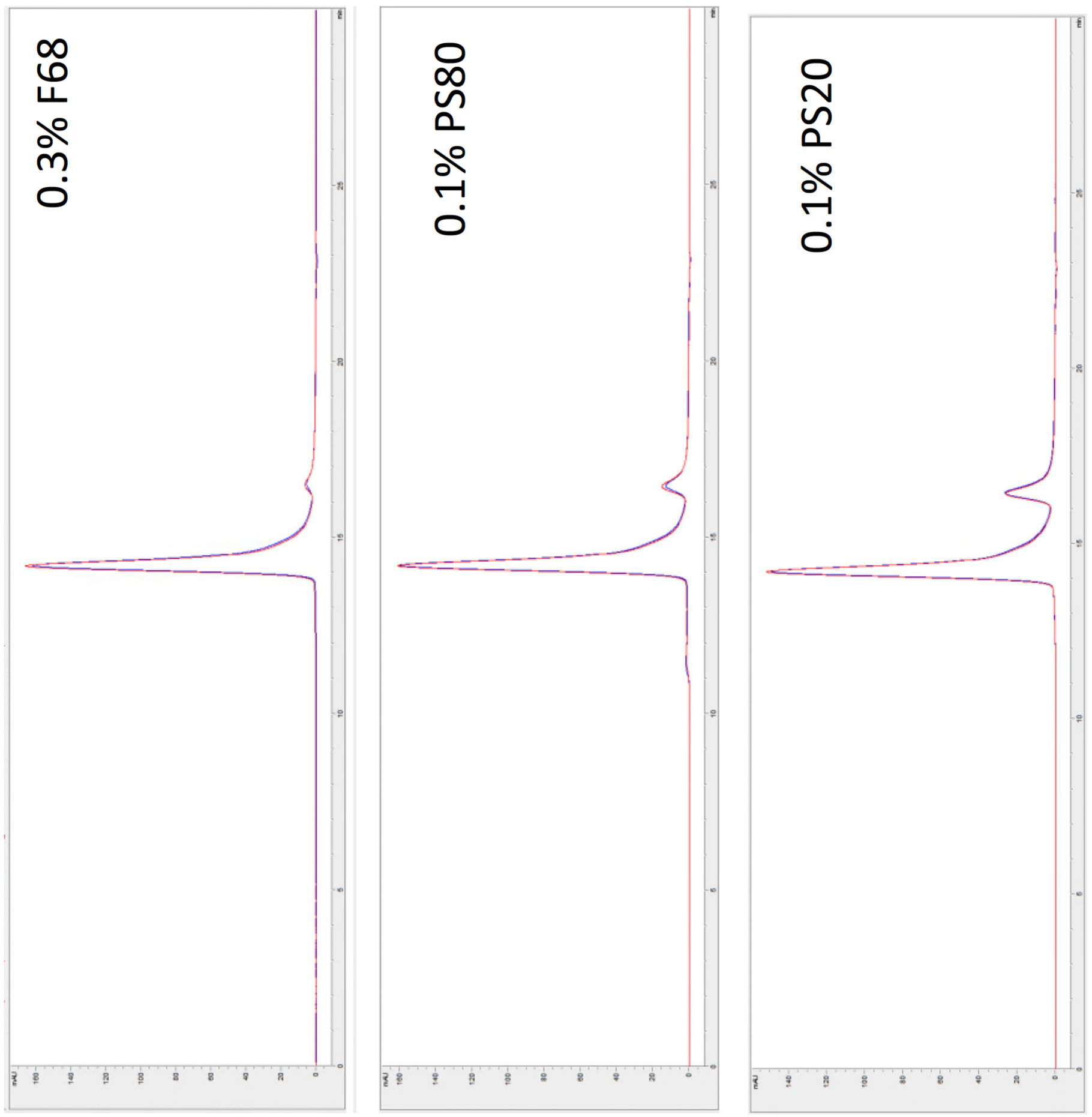
【圖91】


濁度<340-360 nm>
吸光度
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
對照(無界面活性劑)
0.3%F68
0.1% PS80
0.1% PS20
對照(無界面活性劑)
0.3%F68
0.1% PS80
0.1% PS20
在渦旋之前
在渦旋之後

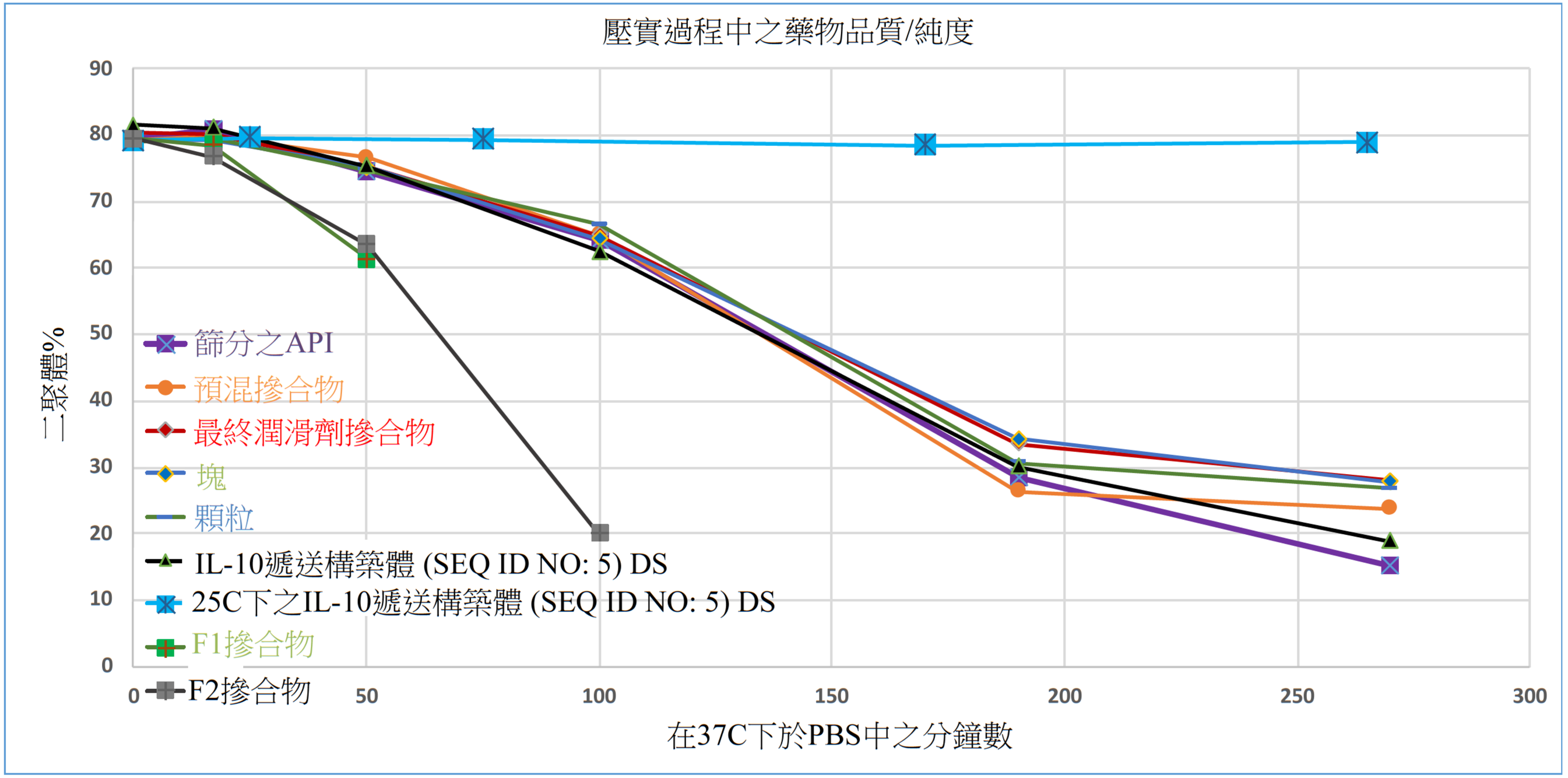
【圖92】


藍色：對照(無界面活性劑)
紅色：0.3% F68
綠色：0.1% PS80
洋紅色：0.1% PS20
二聚體
單體
PS20
PS80
對照及F68
HMW聚集體
PS20
PS80
PS80
mAU
160
140
120
100
80
60
40
20
0
20
15
10
5
0

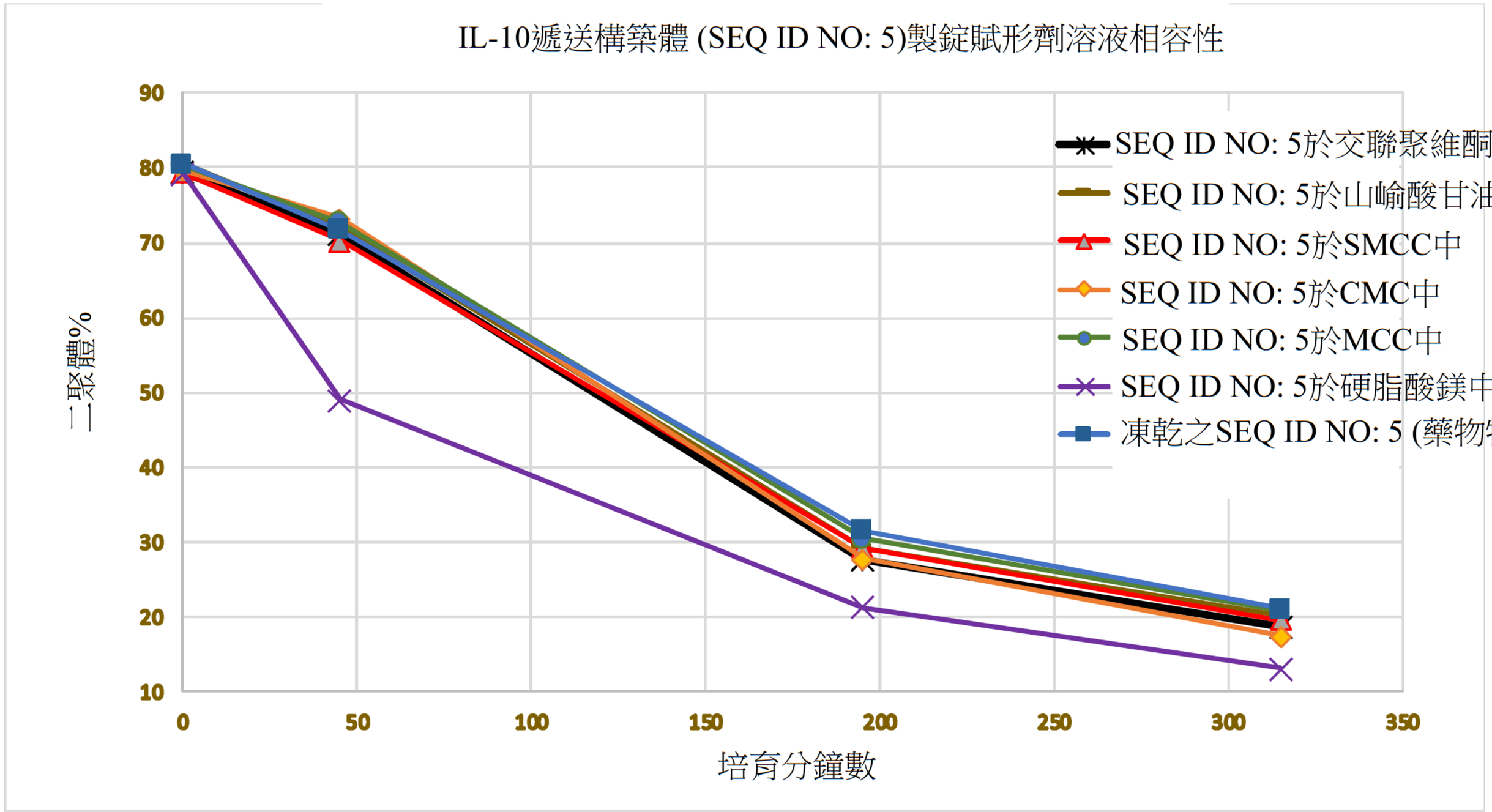
【圖93】



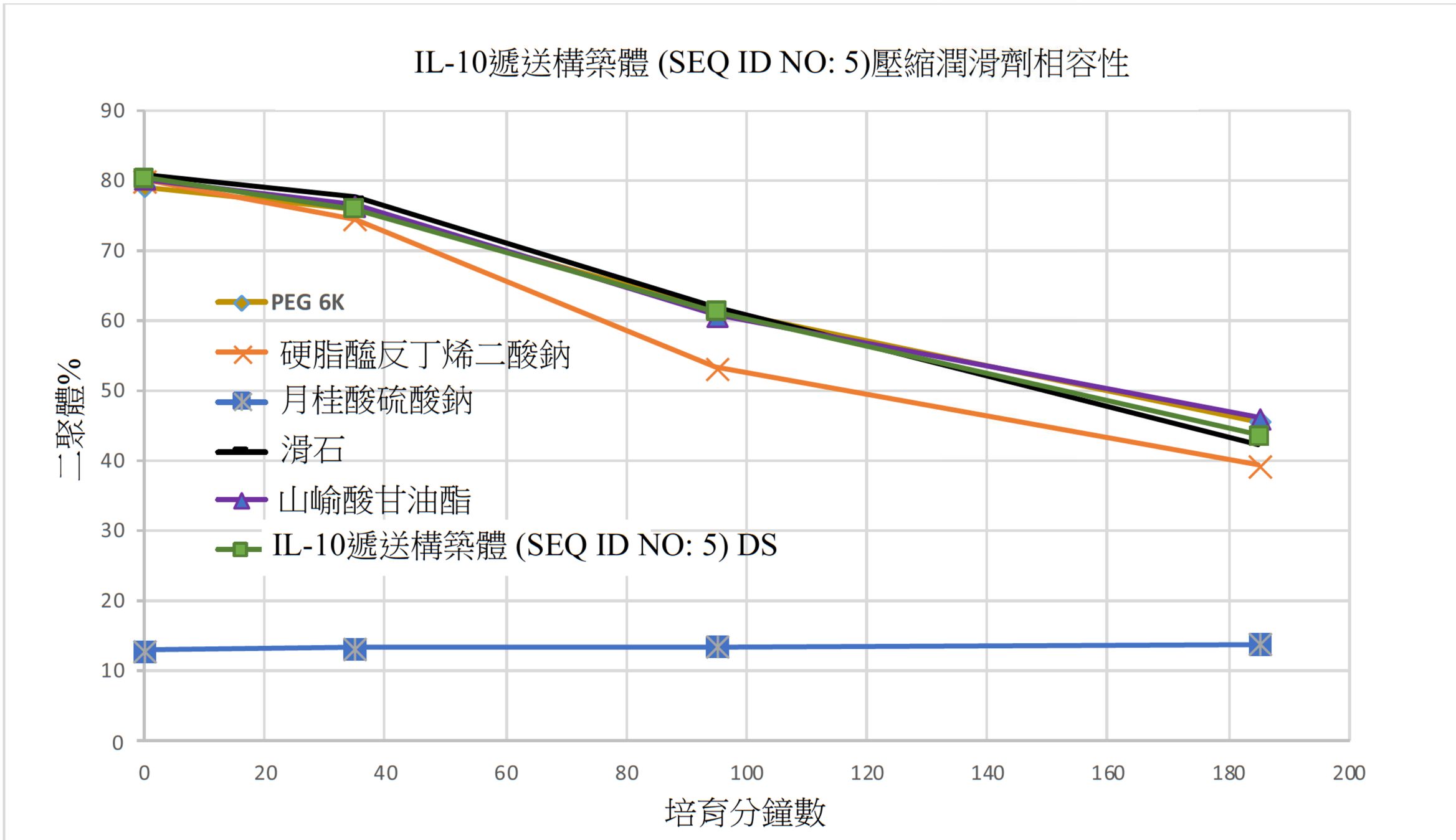
【圖94】


壓實過程中之藥物品質/純度
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
50
100
150
200
250
300
%聚體之二
篩分之API
預混摻合物
最終潤滑劑摻合物
塊
顆粒
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5) DS
25C下之IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5) DS
F1摻合物
F2摻合物
在37C下於PBS中之分鐘數

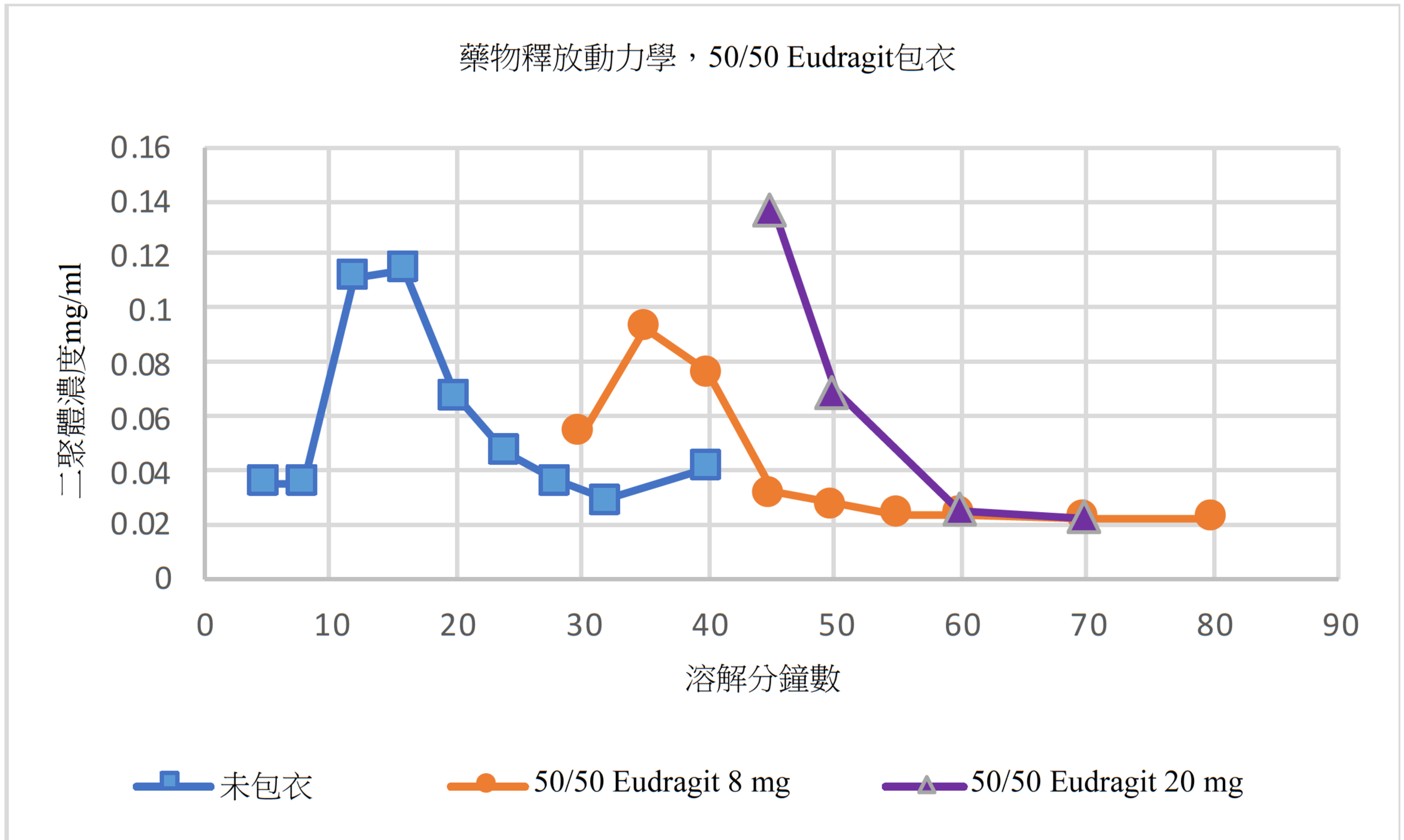
【圖95】


IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5)製錠賦形劑溶液相容性
二聚體%
培育分鐘數
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
50
100
150
200
250
300
350
SEQ ID NO: 5於交聯聚維酮中
SEQ ID NO: 5於山嵛酸甘油酯中
SEQ ID NO: 5於SMCC中
SEQ ID NO: 5於CMC中
SEQ ID NO: 5於MCC中
SEQ ID NO: 5於硬脂酸鎂中
凍乾之SEQ ID NO: 5 (藥物物質)

【圖96】

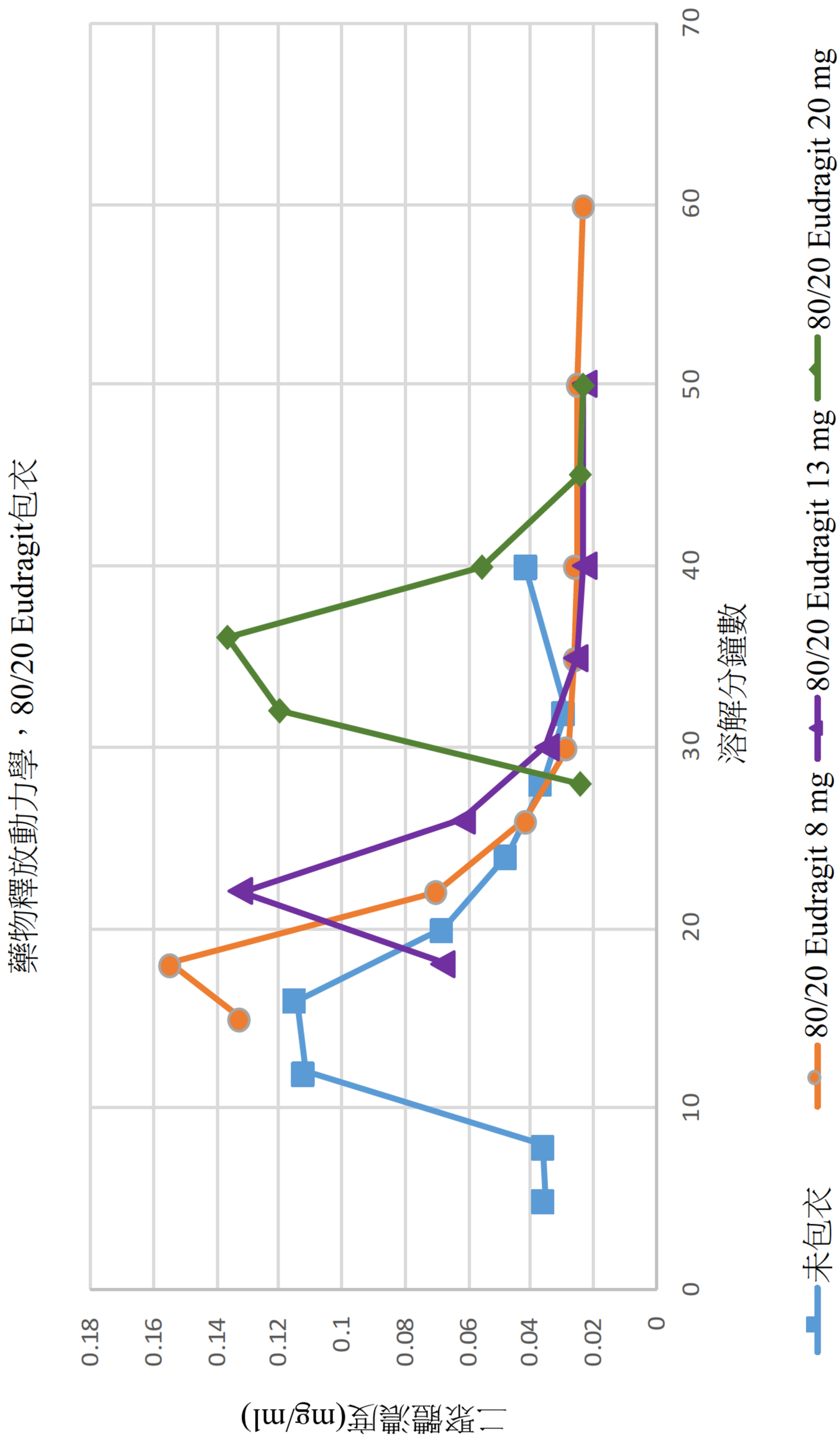

IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5)壓縮潤滑劑相容性
二聚體%
培育分鐘數
PEG 6K
硬脂醯反丁烯二酸鈉
月桂酸硫酸鈉
滑石
山嵛酸甘油酯
IL-10遞送構築體 (SEQ ID NO: 5) DS
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200

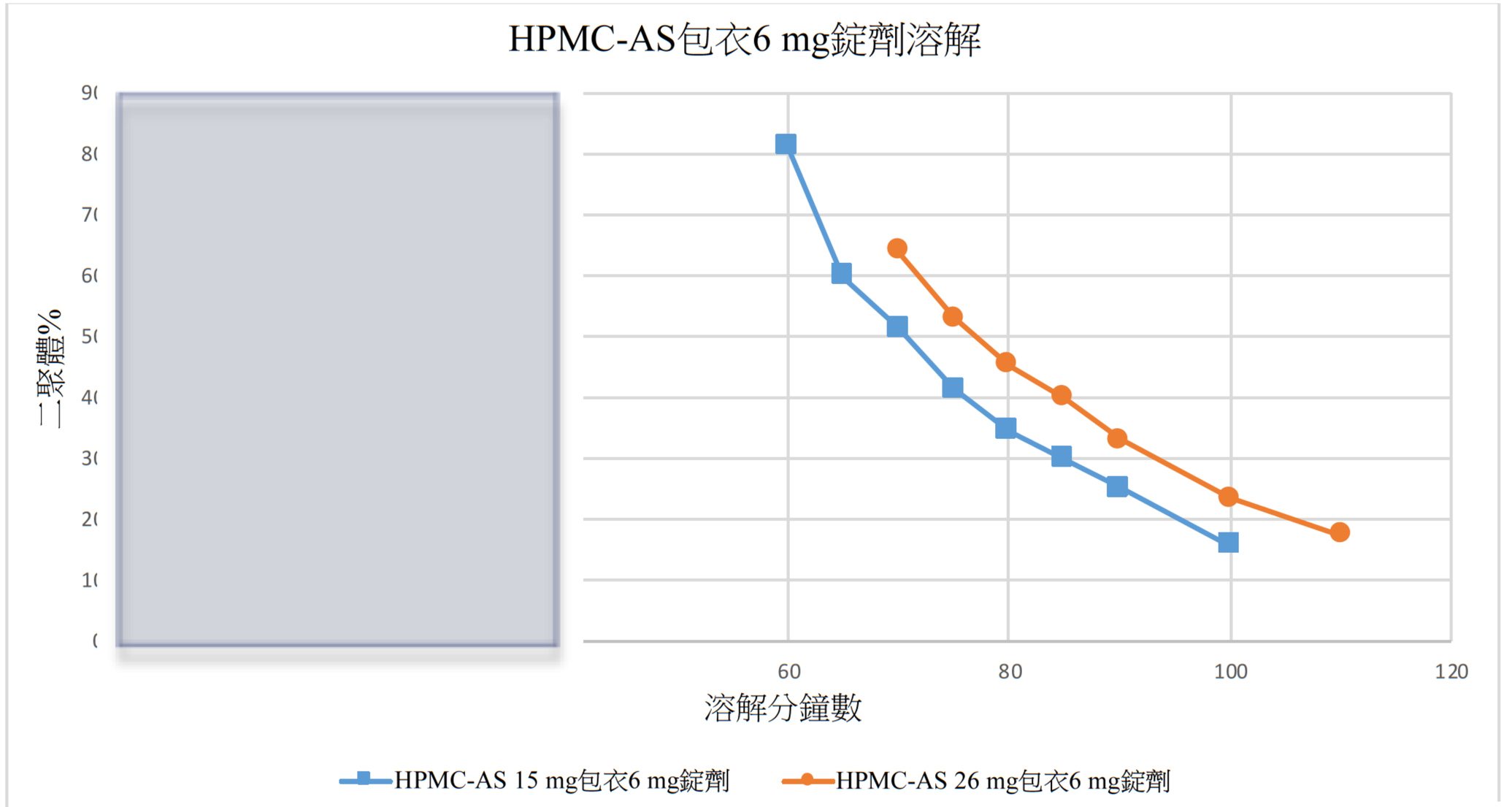
【圖97】


藥物釋放動力學，50/50 Eudragit包衣
二聚體濃度mg/ml
0.16
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
溶解分鐘數
未包衣
50/50 Eudragit 8 mg
50/50 Eudragit 20 mg

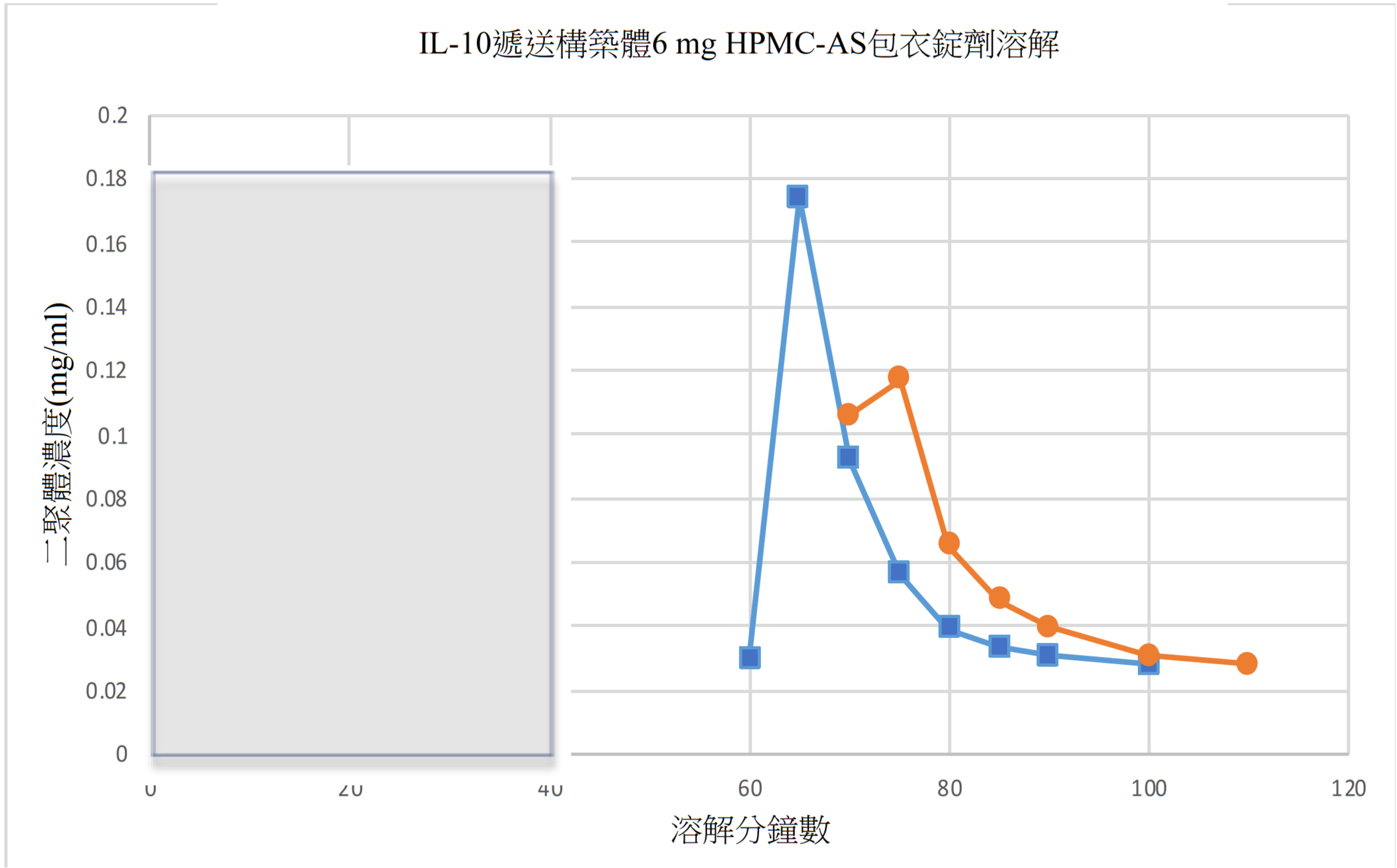
【圖98】

【圖99】


藥物釋放動力學，80/20 Eudragit包衣
溶解分鐘數
二聚體濃度(mg/ml)
0
10
20
30
40
50
60
70
0
0.02
0.04
0.06
0.08
0.1
0.12
0.14
0.16
0.18
未包衣
80/20 Eudragit 8 mg
80/20 Eudragit 13 mg
80/20 Eudragit 20 mg

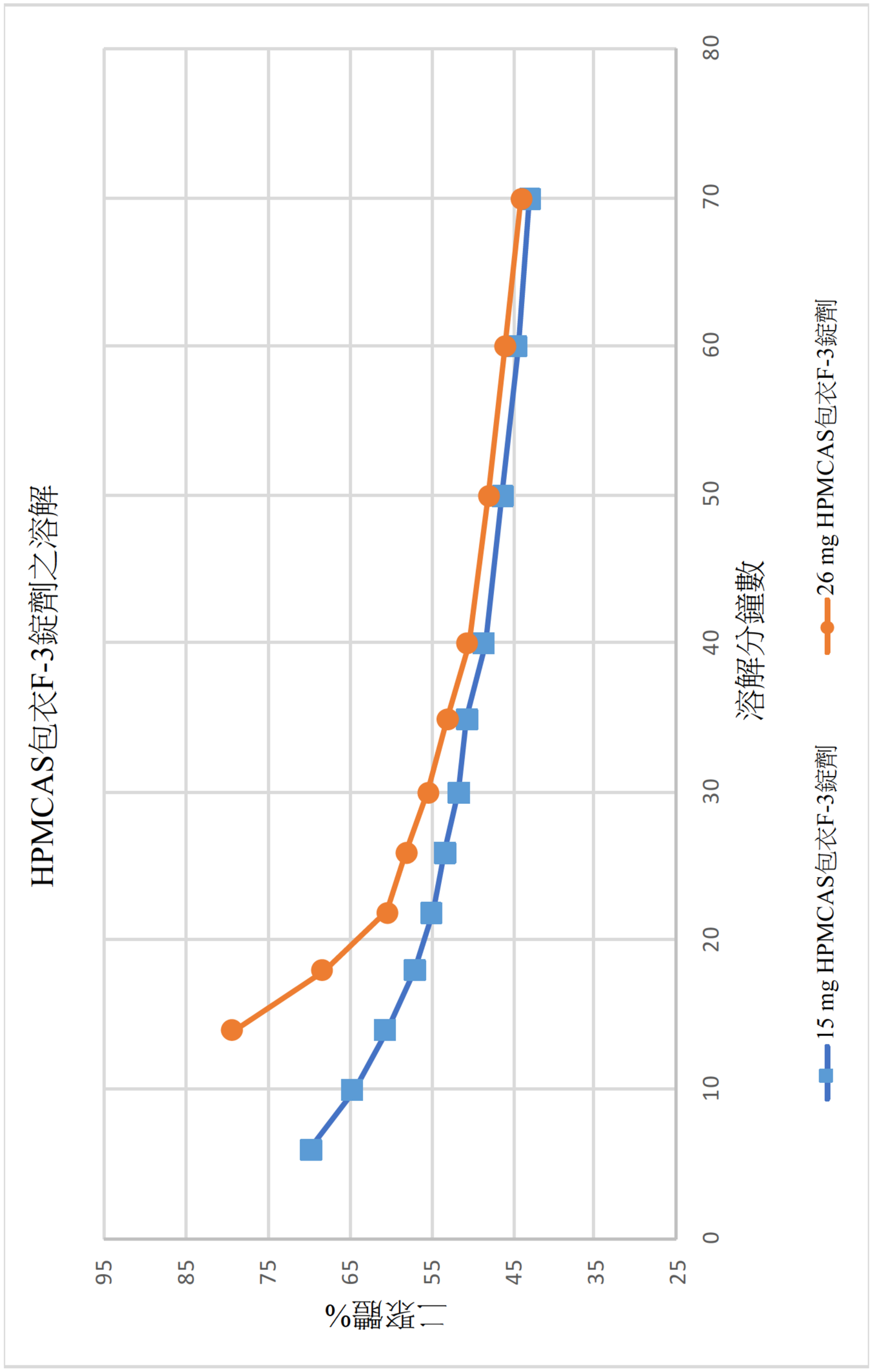

HPMC-AS包衣6 mg錠劑溶解
一一致體%
溶解分鐘數
HPMC-AS 15 mg包衣6 mg錠劑
HPMC-AS 26 mg包衣6 mg錠劑
pH 1.5
pH 7.0

【圖100】

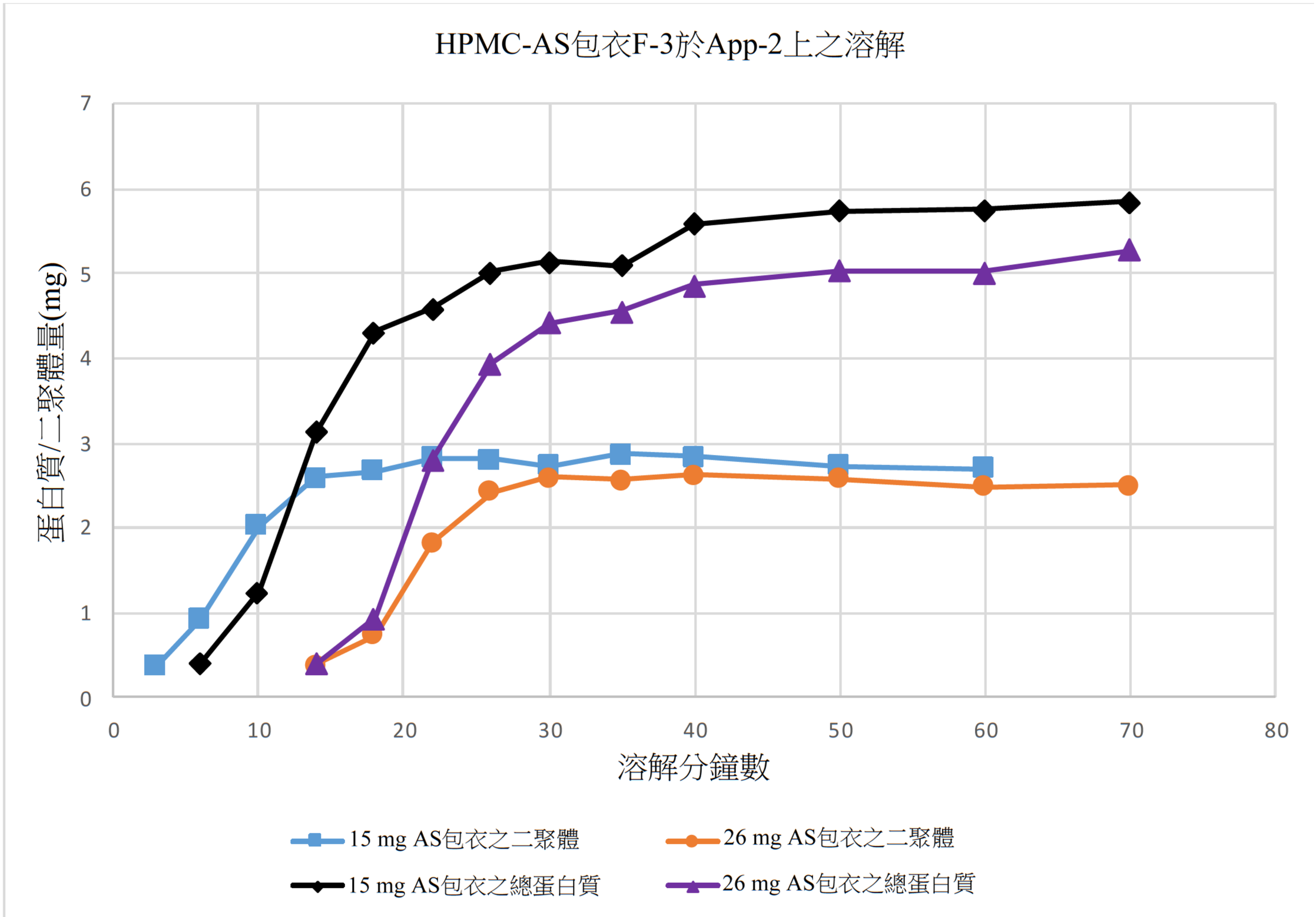


【圖101】

110年2月5日 修正日
20210521

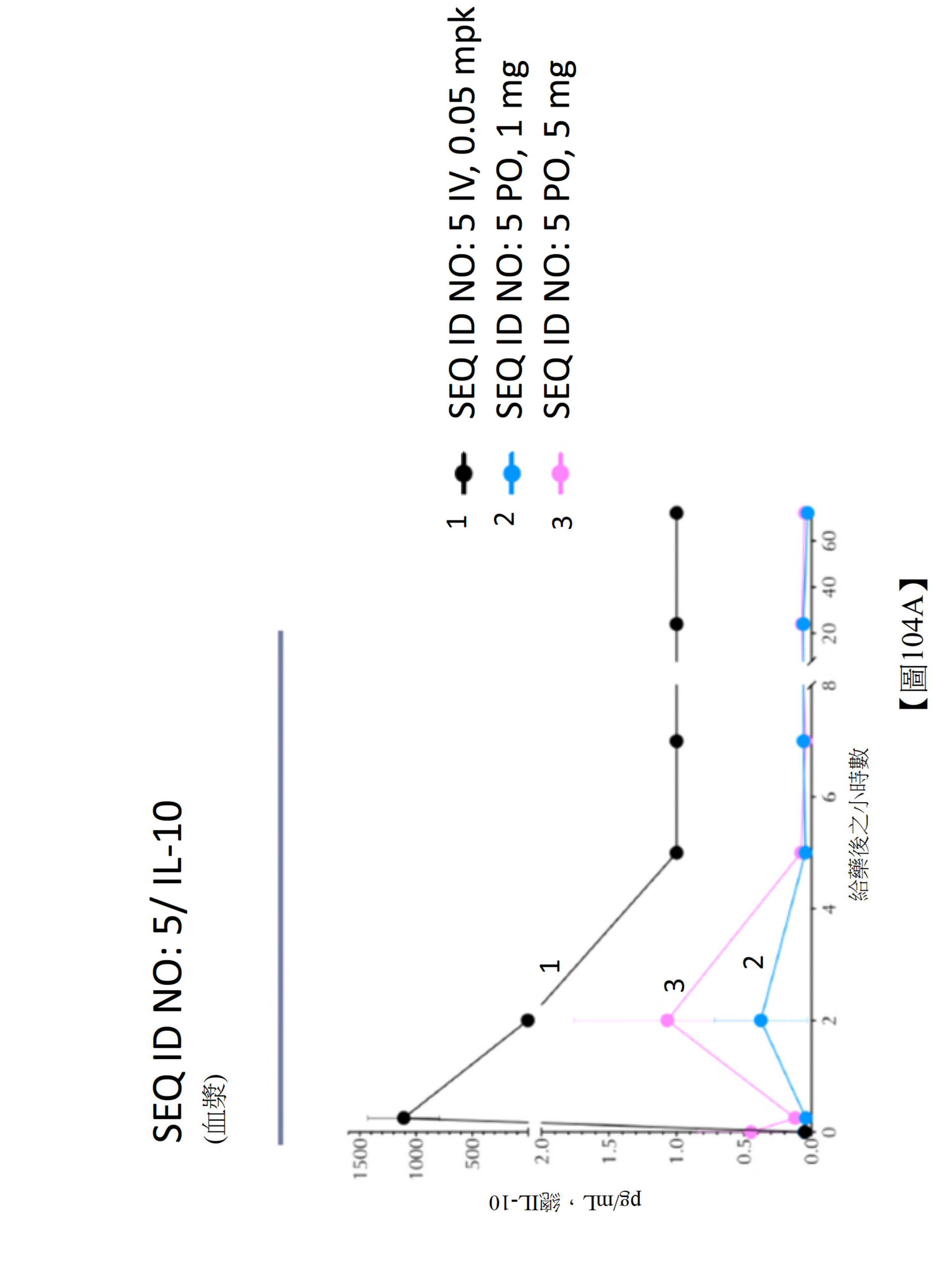

HPMCAS包衣F-3錠劑之溶解
溶解分鐘數
二氯體%
26 mg HPMCAS包衣F-3錠劑
15 mg HPMCAS包衣F-3錠劑
0
10
20
30
40
50
60
70
80
25
35
45
55
65
75
85
95

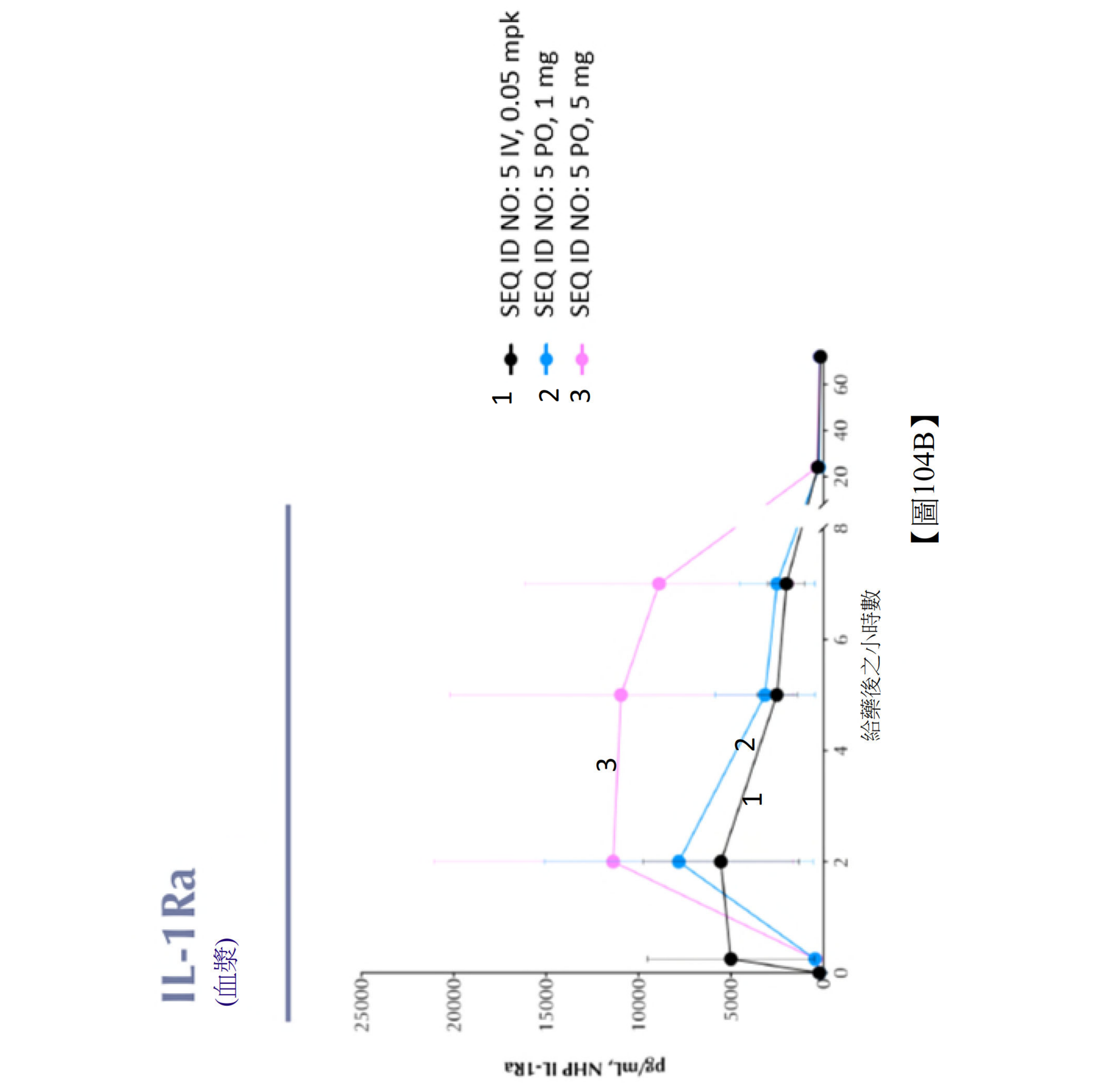
【圖102】


HPMC-AS包衣F-3於App-2上之溶解
蛋白質/二聚體量(mg)
溶解分鐘數
0
1
2
3
4
5
6
7
0
10
20
30
40
50
60
70
80
15 mg AS包衣之二聚體
26 mg AS包衣之二聚體
15 mg AS包衣之總蛋白質
26 mg AS包衣之總蛋白質

【圖103】

【圖104A】

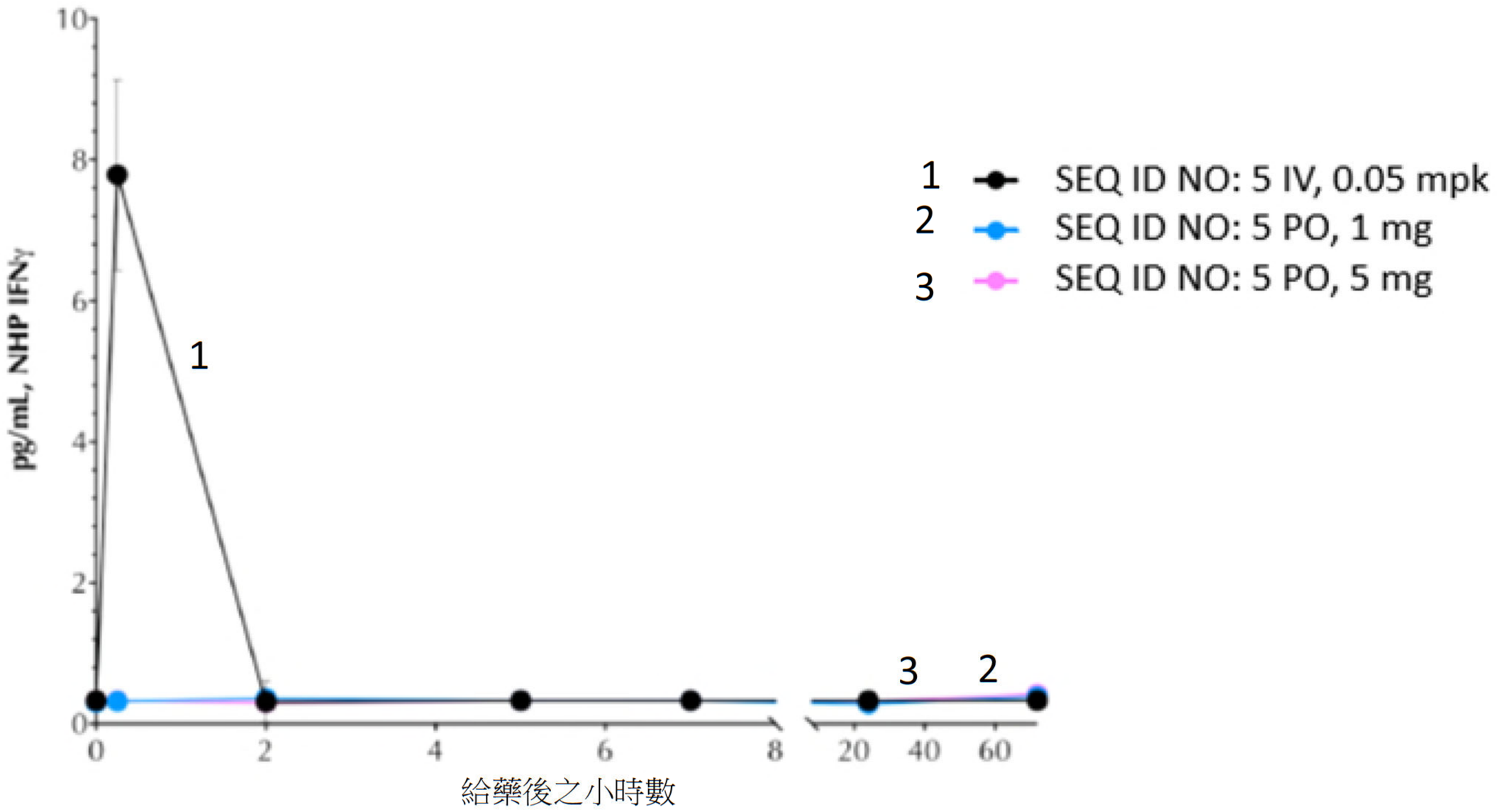

SEQ ID NO: 5/ IL-10
(血漿)
pg/mL，總IL-10
給藥後之小時數
1
2
3
SEQ ID NO: 5 IV, 0.05 mpk
SEQ ID NO: 5 PO, 1 mg
SEQ ID NO: 5 PO, 5 mg


IL-1Ra
(血漿)
1 SEQ ID NO: 5 IV, 0.05 mpk
2 SEQ ID NO: 5 PO, 1 mpk
3 SEQ ID NO: 5 PO, 5 mpk
pg/mL, NHP IL-1Ra
給藥後之小時數
0
2
4
6
8
20
40
60
5000
10000
15000
20000

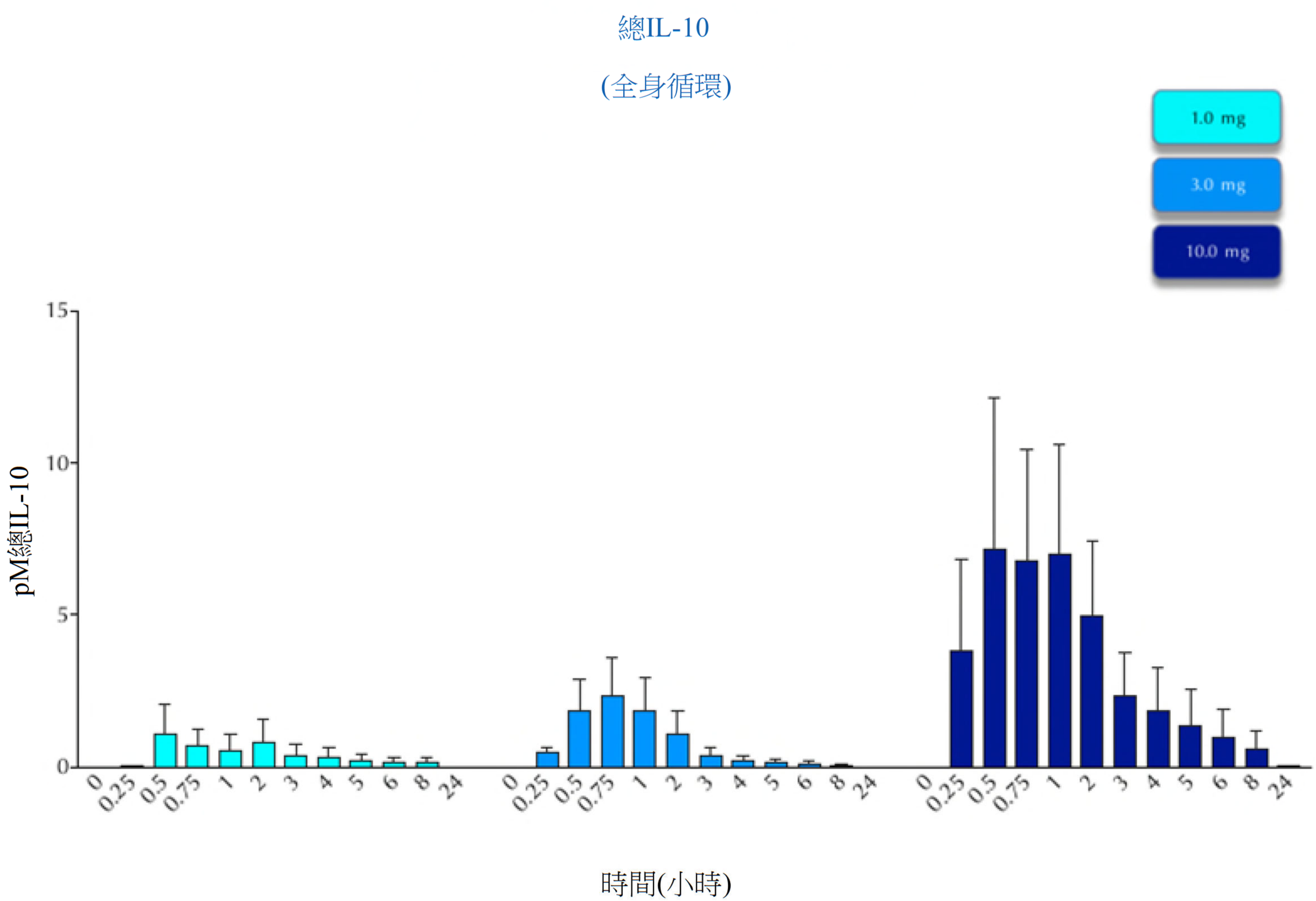
【圖104B】

IFN-γ

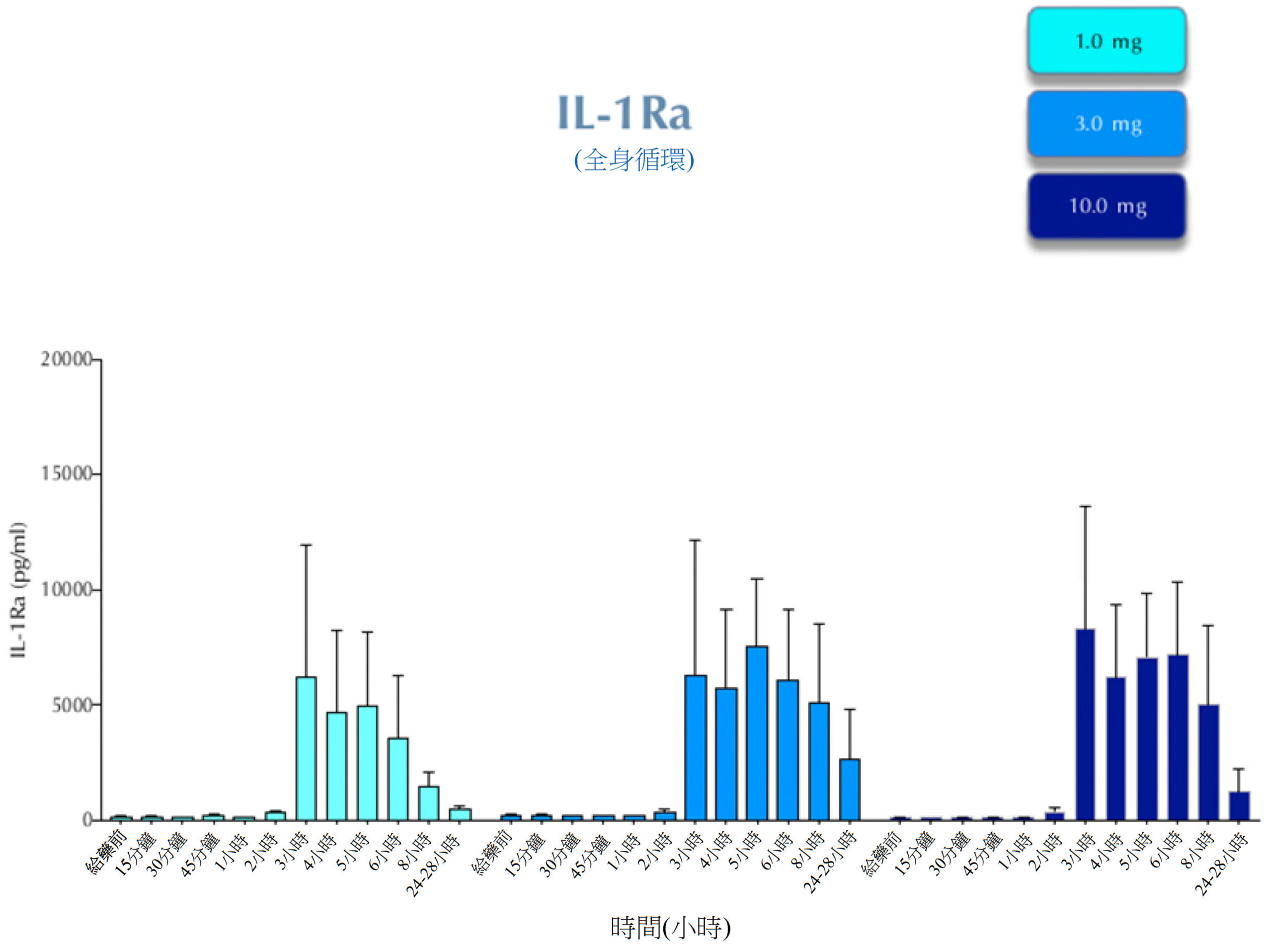
(血漿)



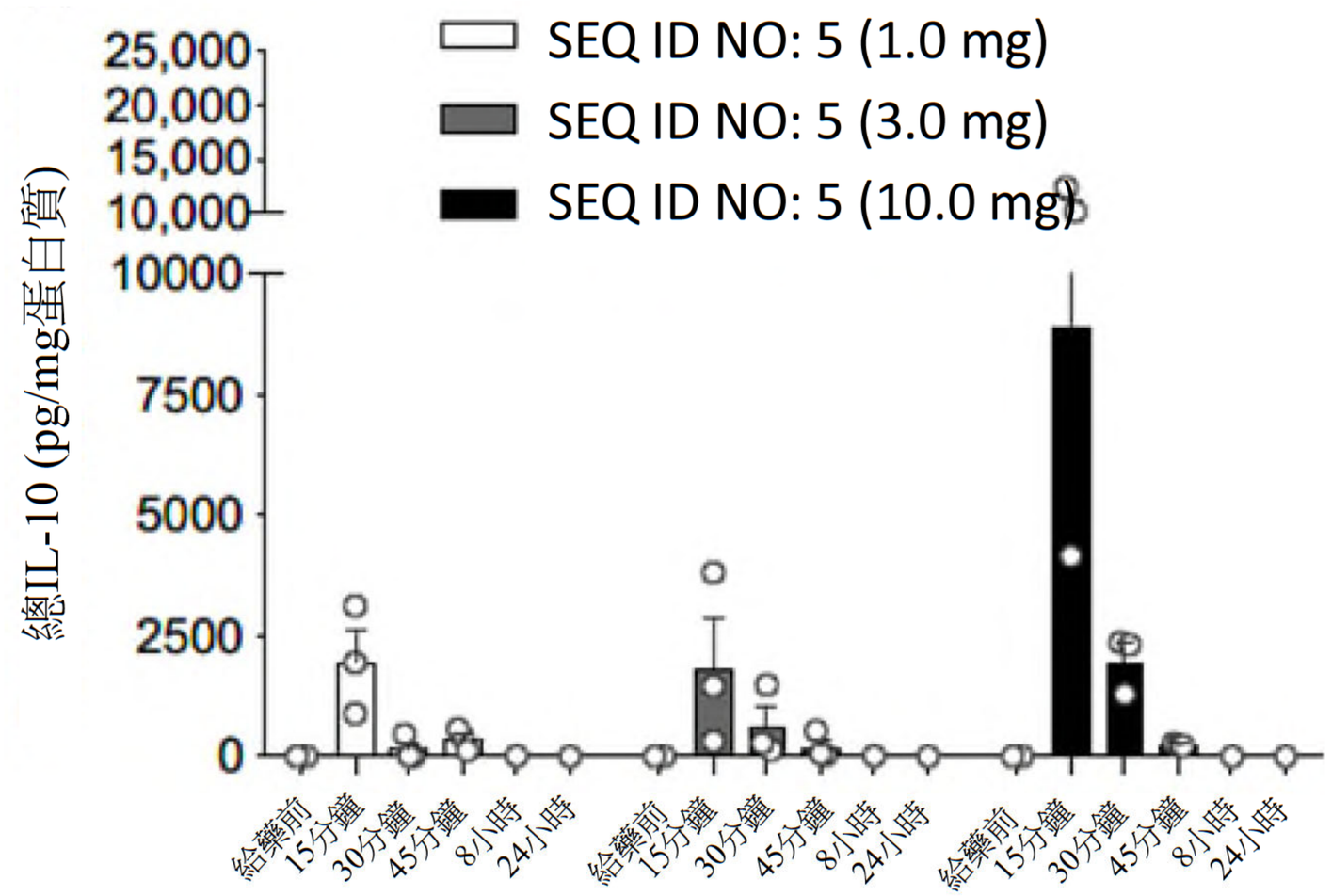
【圖104C】


總IL-10
(全身循環)
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg
pM總IL-10
15
10
5
0
0
0.25
0.5
0.75
1
2
3
4
5
6
8
24
時間(小時)

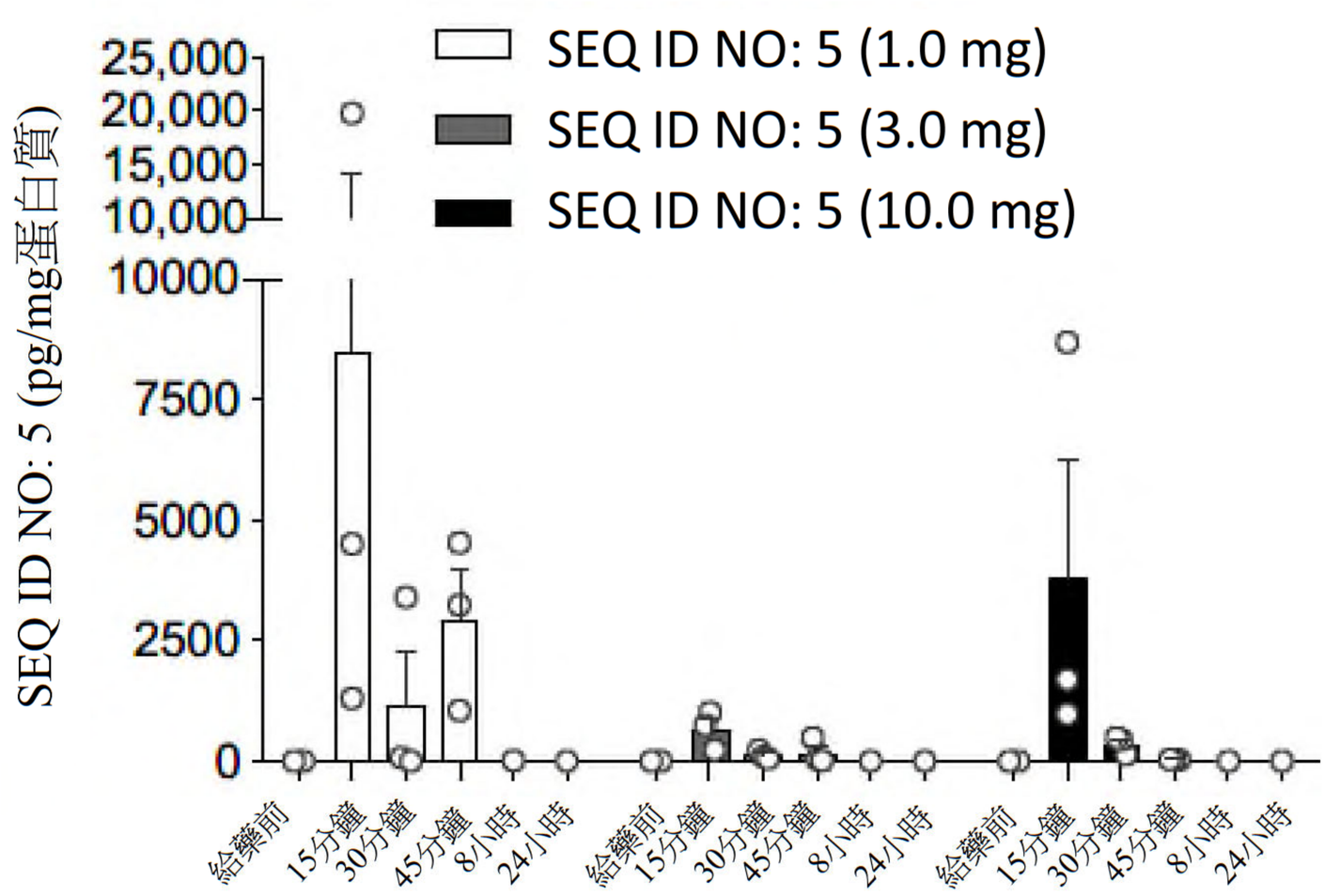
【圖105A】


IL-1Ra
(全身循環)
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg
IL-1Ra (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
1小時
2小時
3小時
4小時
5小時
6小時
8小時
24-28小時
時間(小時)

【圖105B】

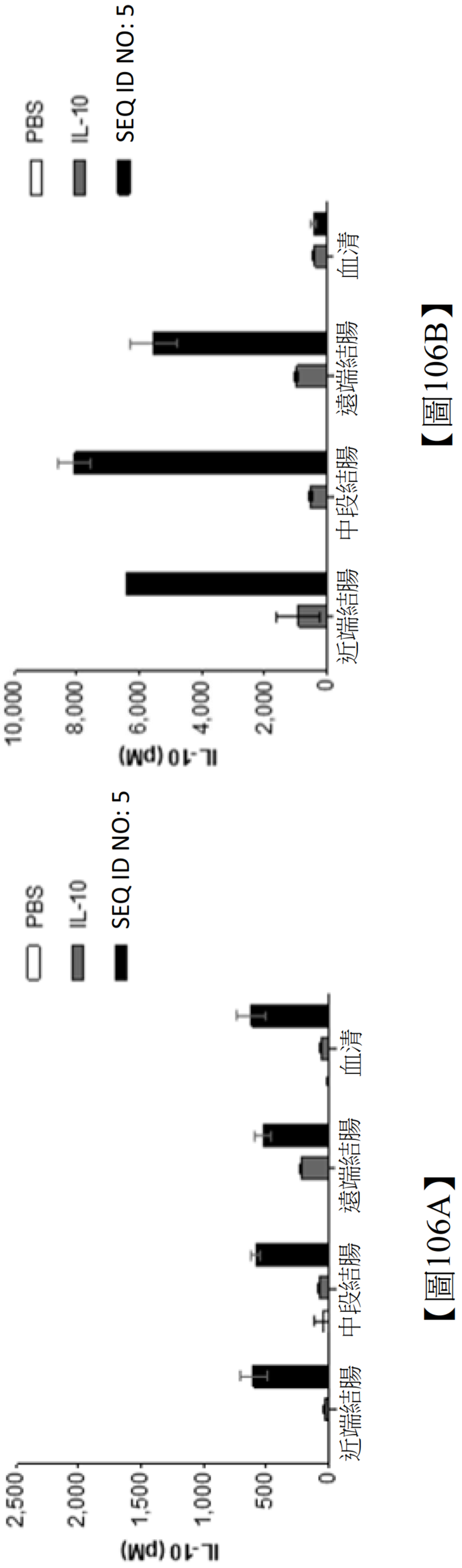


【圖105C】



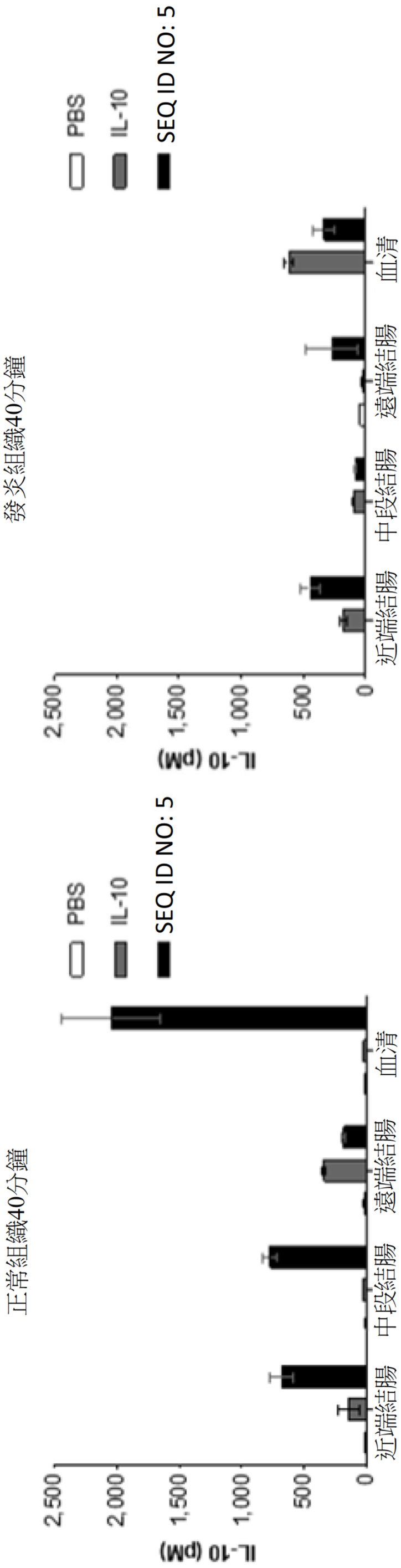
【圖105D】

20210521


PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
發炎組織10分鐘
IL-10 (pM)
10,000
8,000
6,000
4,000
2,000
0
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清
正常組織10分鐘
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0

【圖106B】

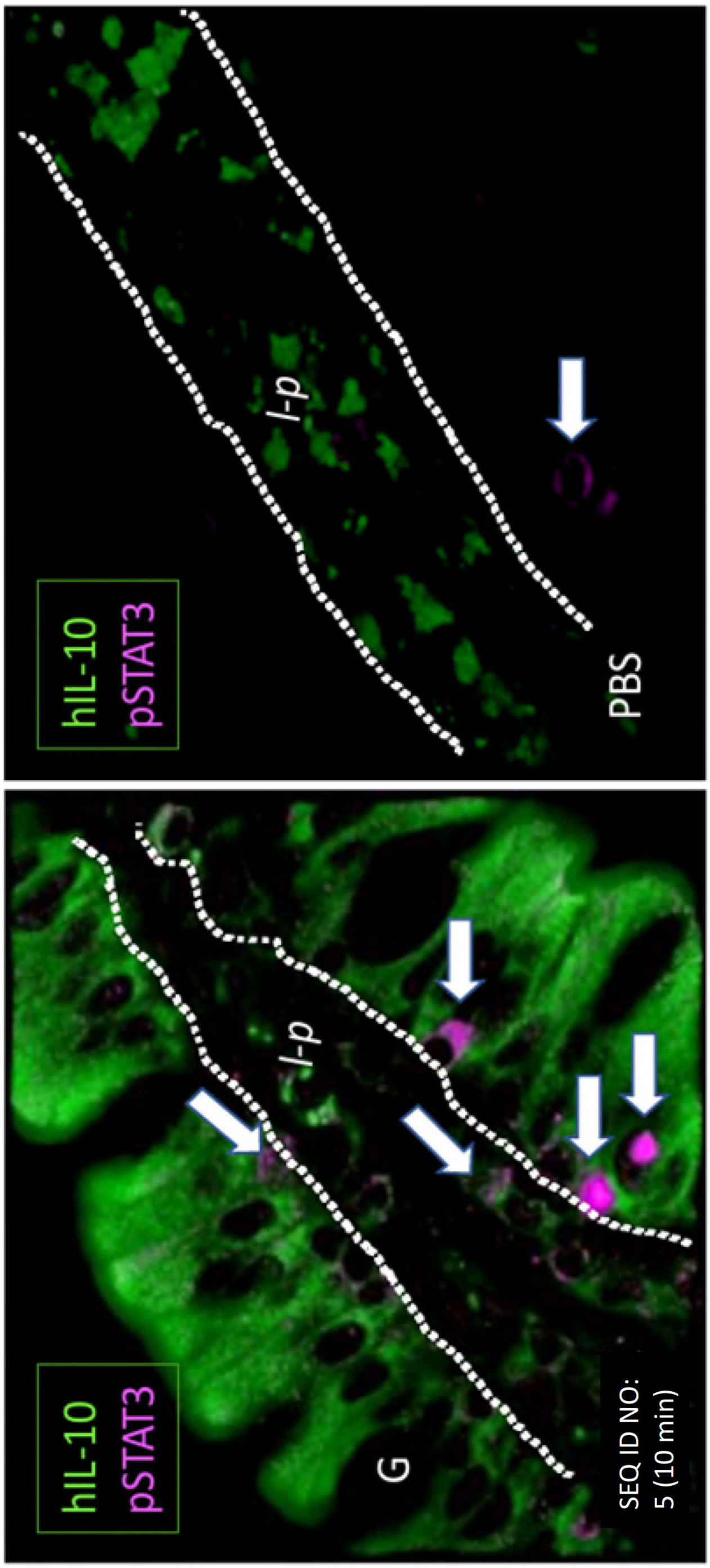
【圖106A】


PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
發炎組織40分鐘
IL-10 (pM)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清

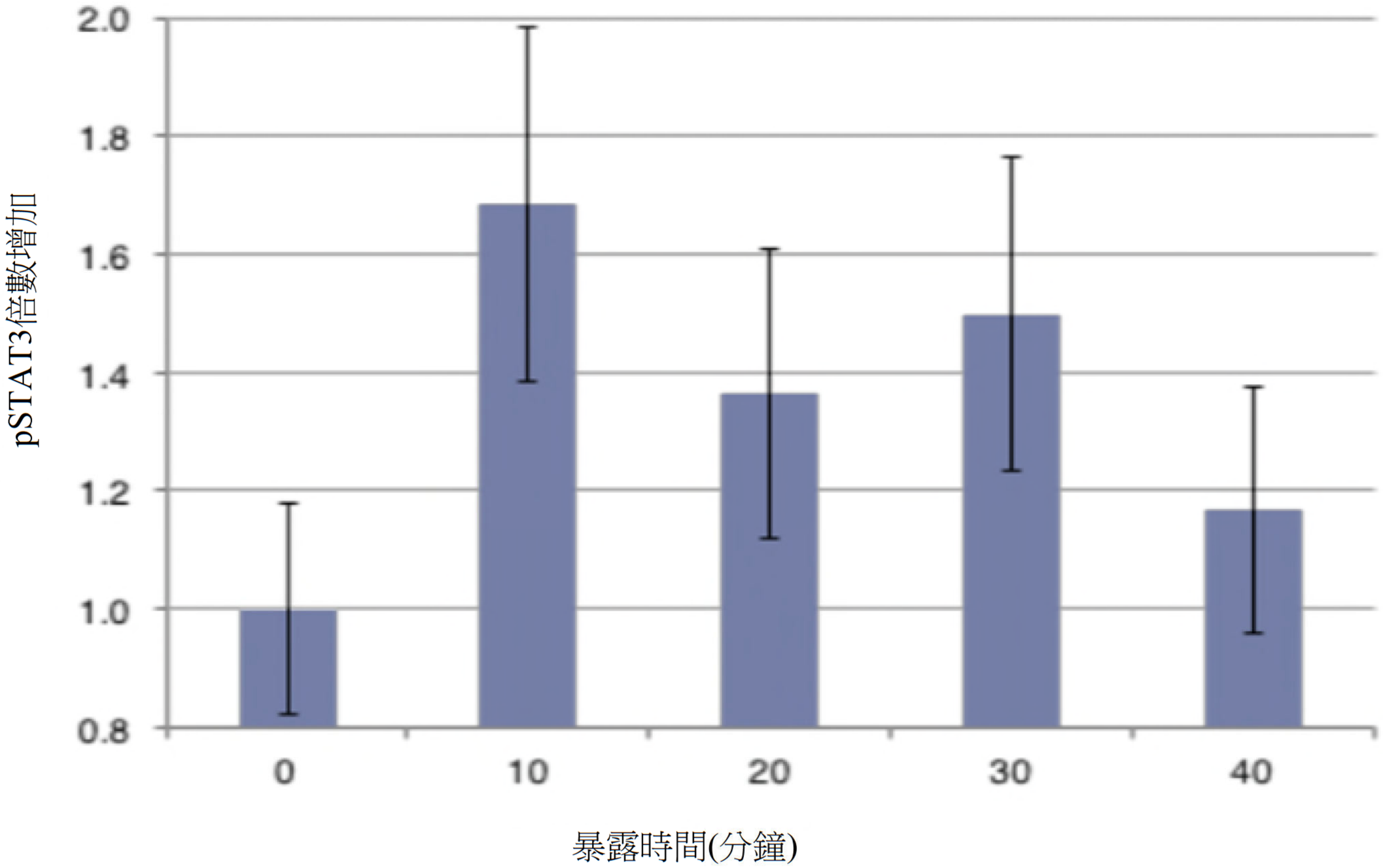
【圖106D】

PBS
IL-10
SEQ ID NO: 5
正常組織40分鐘
IL-10 (pM)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
近端結腸
中段結腸
遠端結腸
血清

【圖106C】



【圖107】



【圖108】

rhIL-10

SEQ ID NO: 5

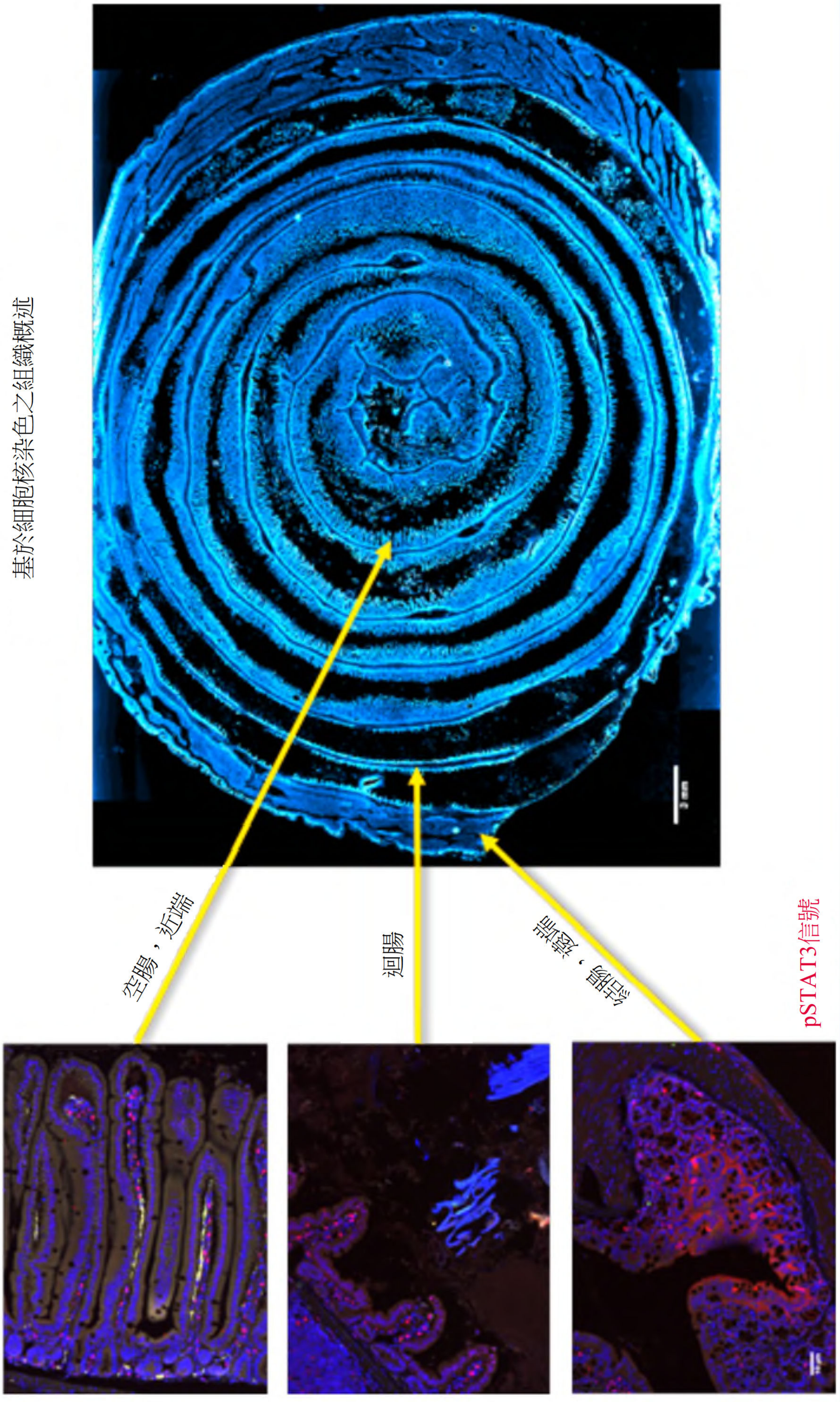
IL-10 KO小鼠

BALB/c小鼠

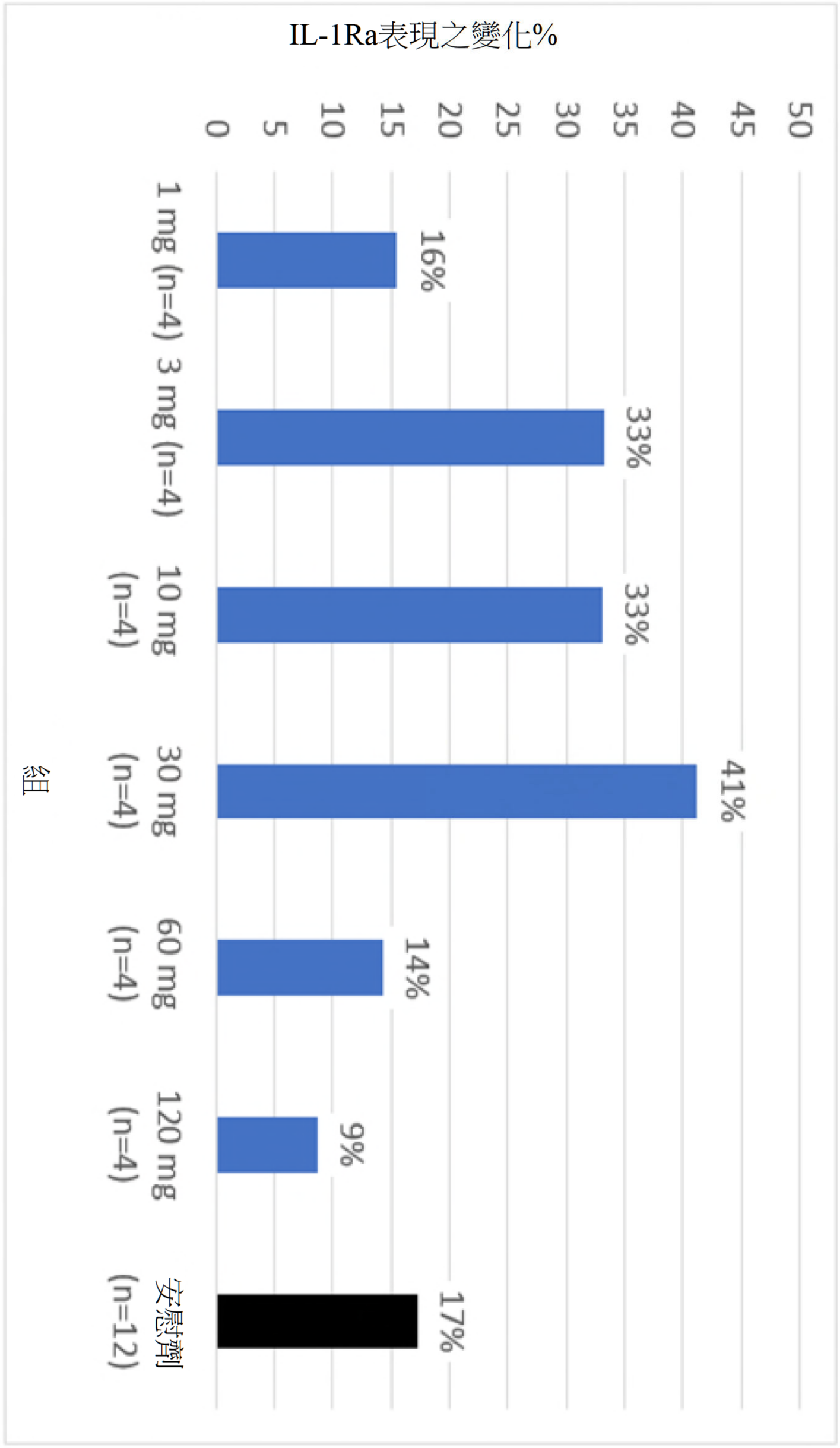
史泊格多利大白鼠

細胞核IL-10 pSTAT3

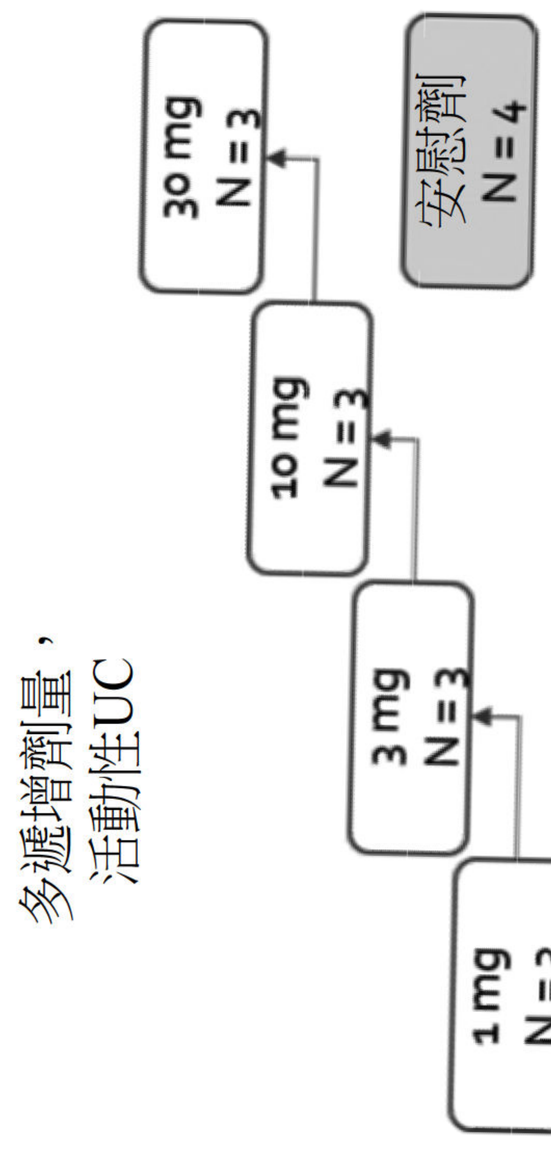
【圖10】【圖109】



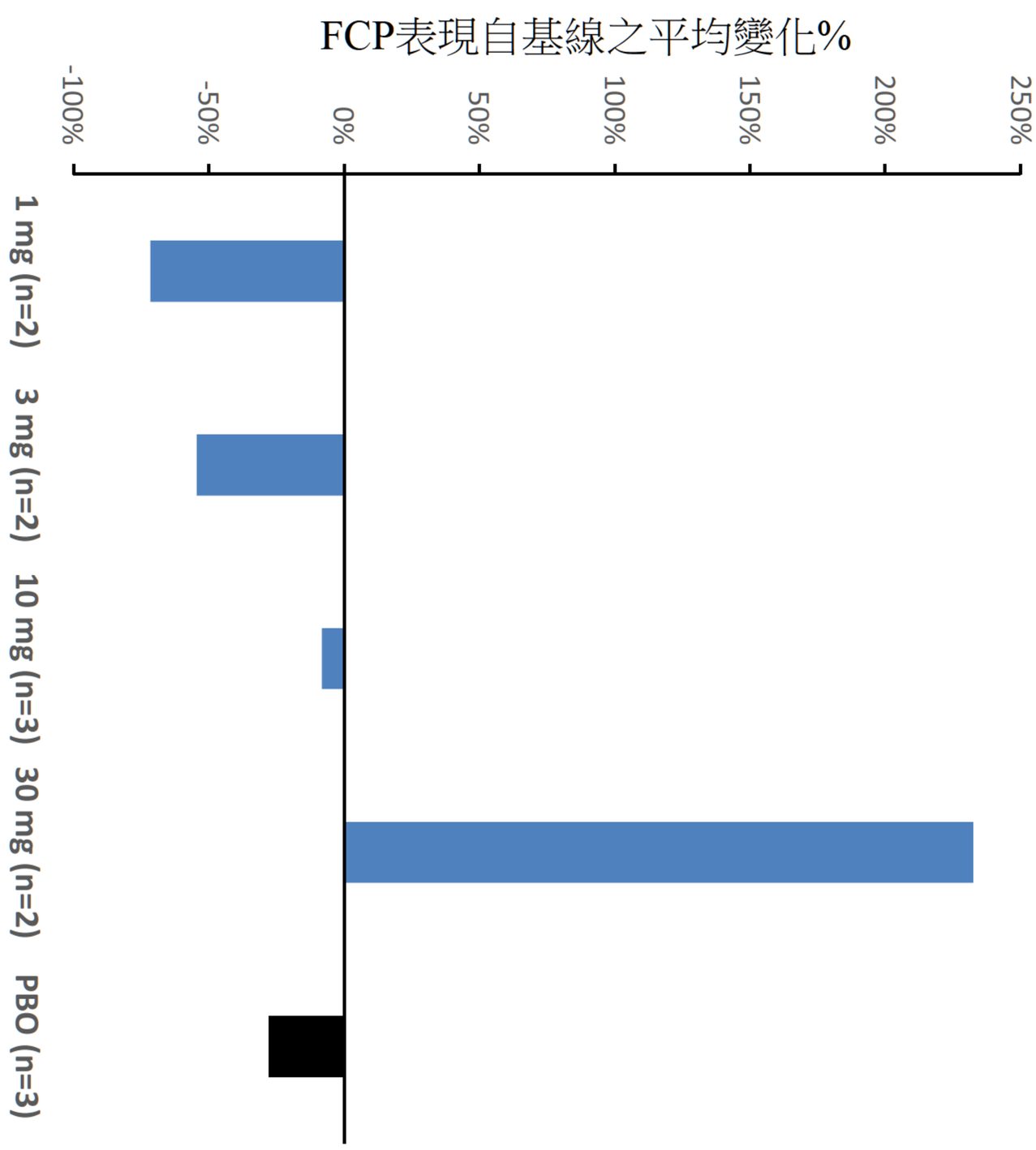
【圖110】


IL-1Ra表現之變化%
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
16%
33%
33%
41%
14%
9%
17%
安慰劑 (n=12)
30 mg (n=4)
60 mg (n=4)
120 mg (n=4)
3 mg (n=4)
10 mg (n=4)
組別

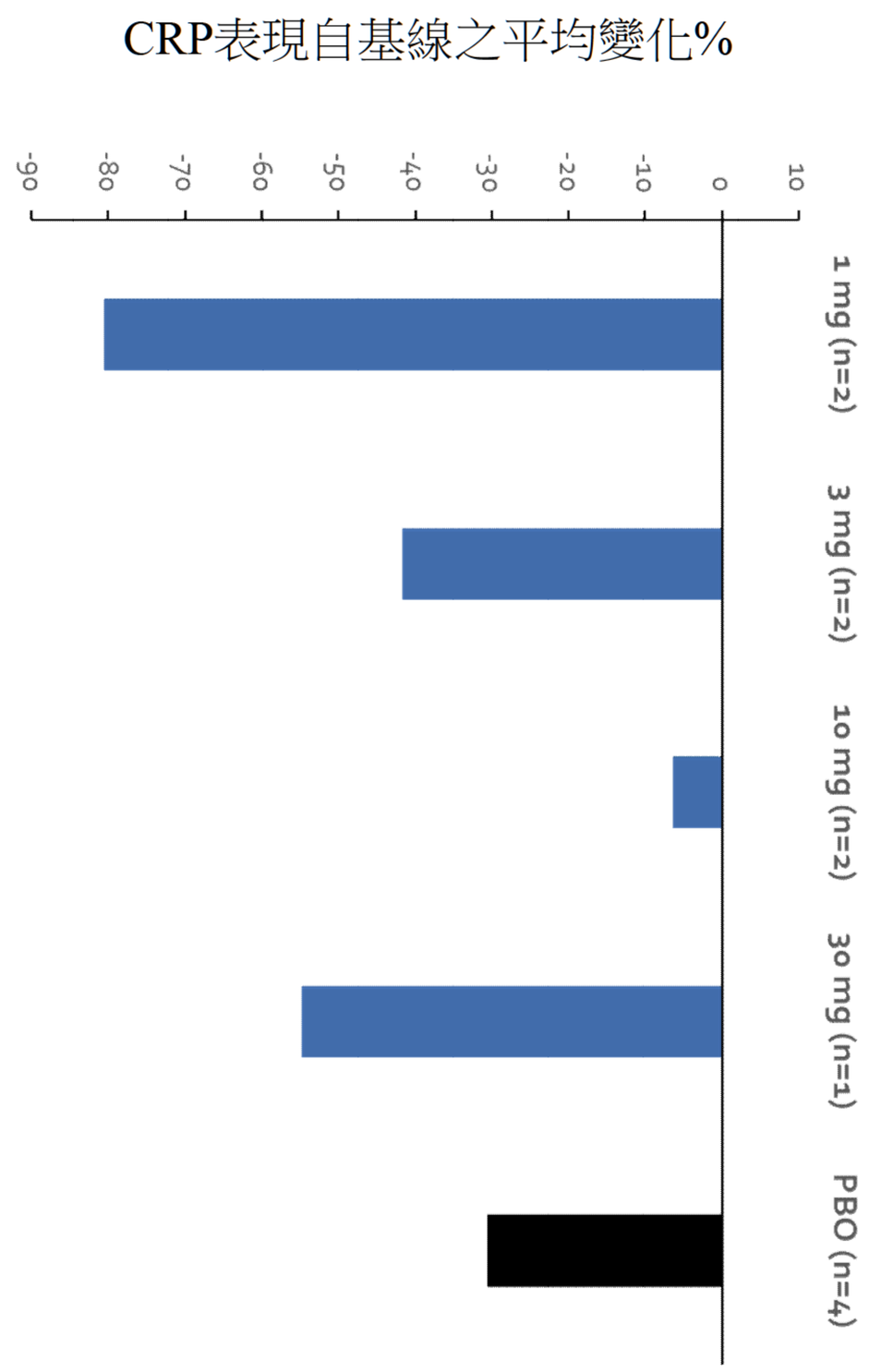
【圖111】



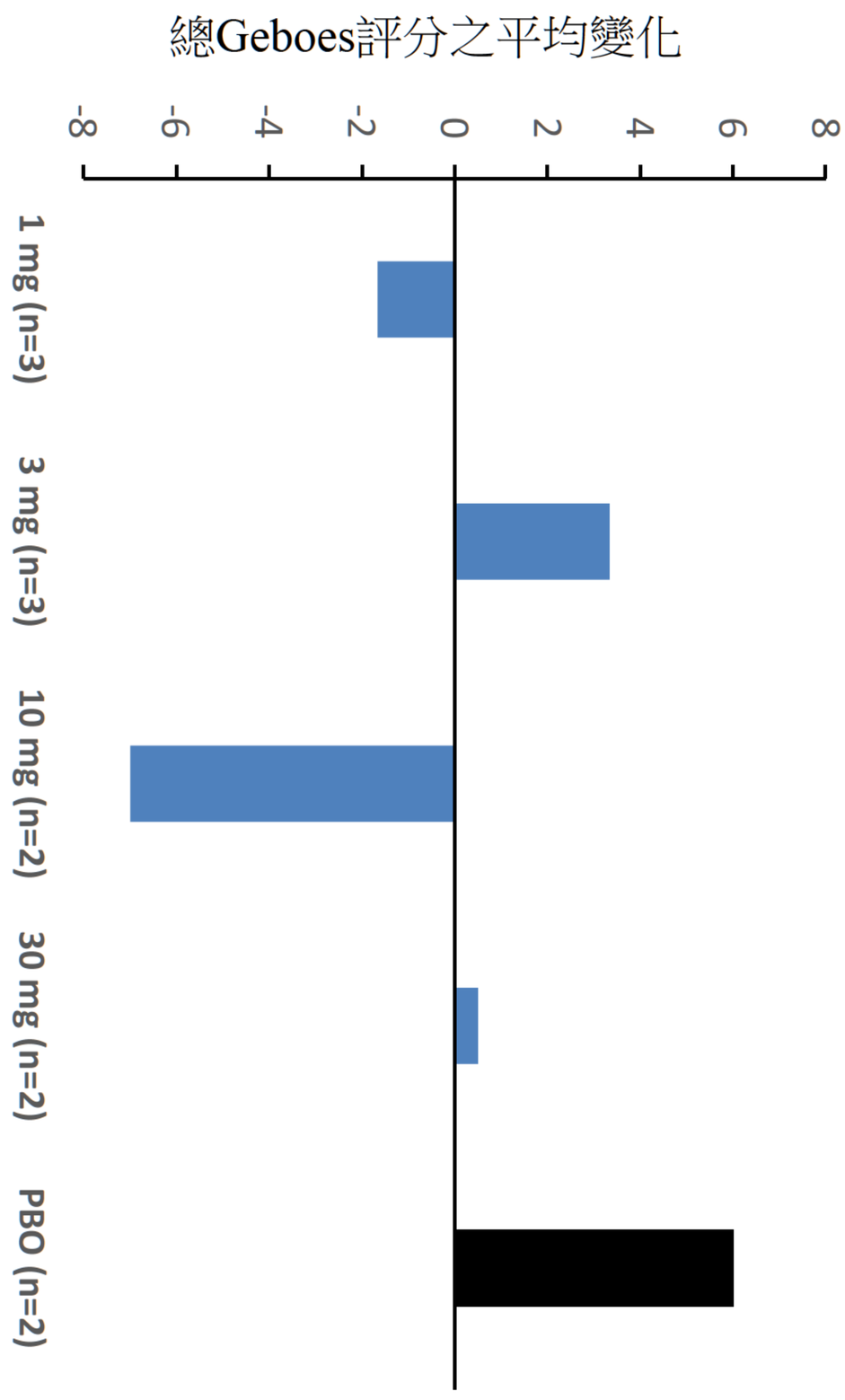
【圖112】


FCP表現自基線之平均變化%
-100%
-50%
0%
50%
100%
150%
200%
250%
1 mg (n=2)
3 mg (n=2)
10 mg (n=3)
30 mg (n=2)
PBO (n=3)

【圖113】

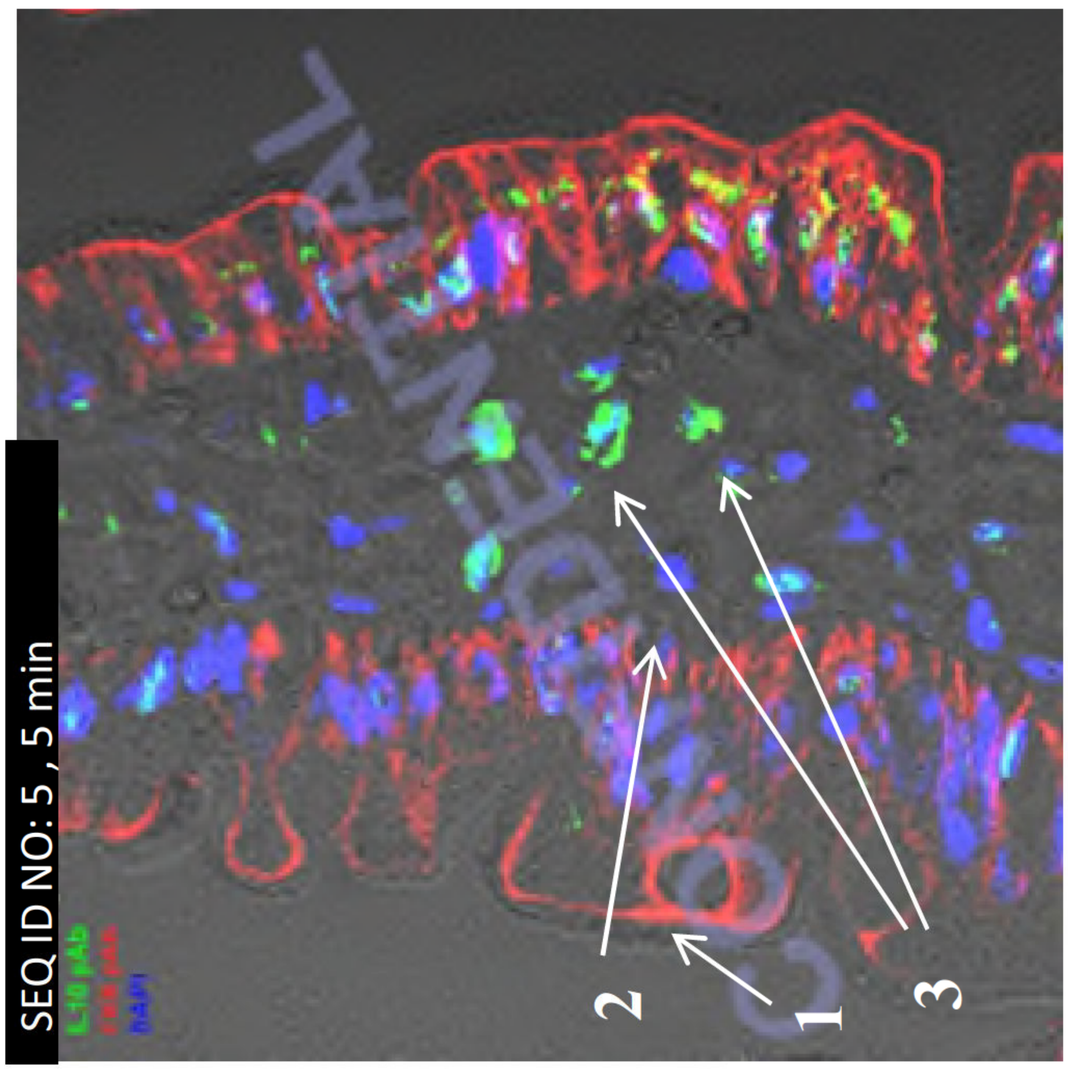

CRP表現自基線之平均變化%
-90
-80
-70
-60
-50
-40
-30
-20
-10
0
10
1 mg (n=2)
3 mg (n=2)
10 mg (n=2)
30 mg (n=1)
PBO (n=4)

【圖114】

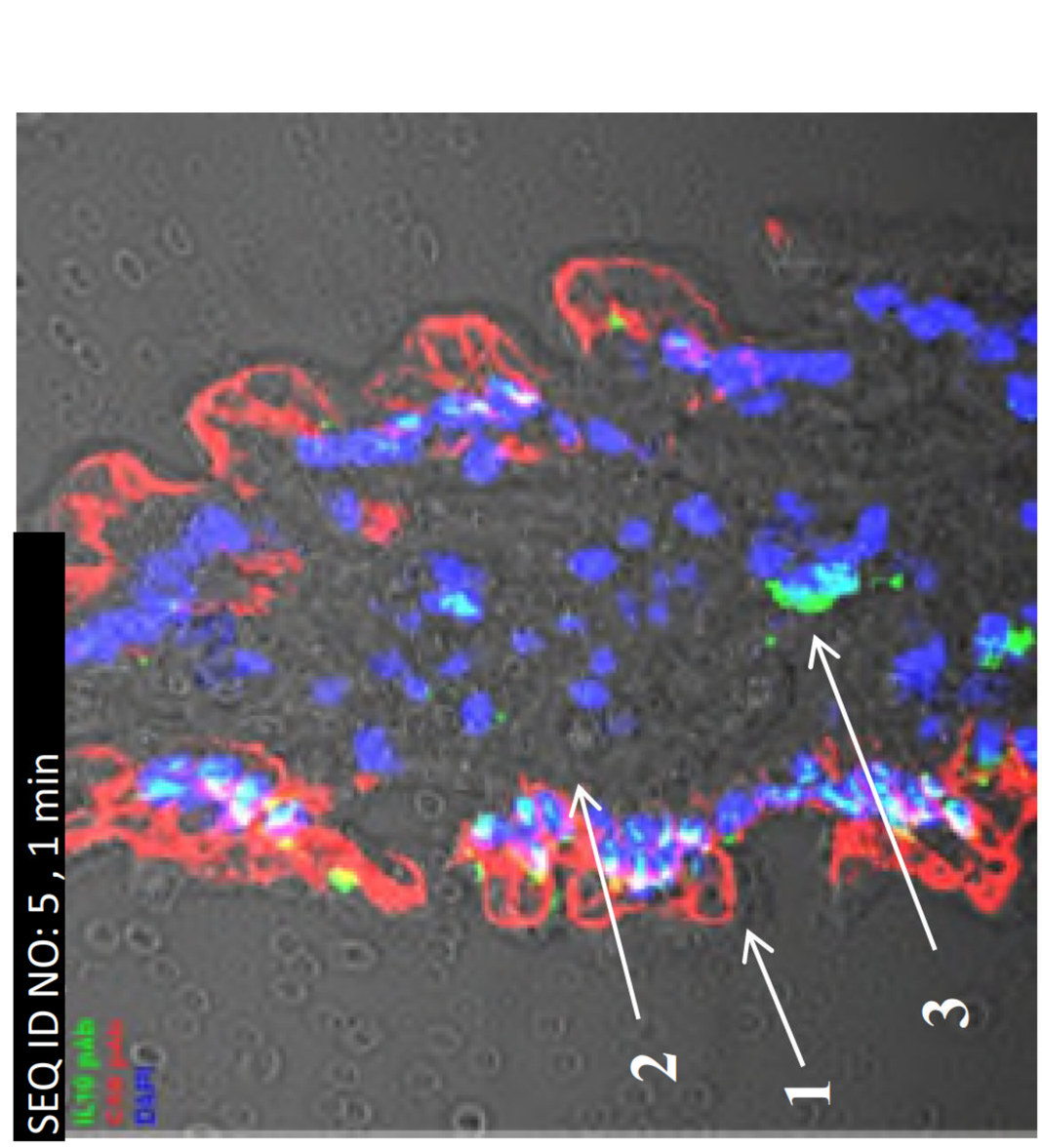

總Geboes評分之平均變化
-8
-6
-4
-2
0
2
4
6
8
1 mg (n=3)
3 mg (n=3)
10 mg (n=2)
30 mg (n=2)
PBO (n=2)

【圖115】

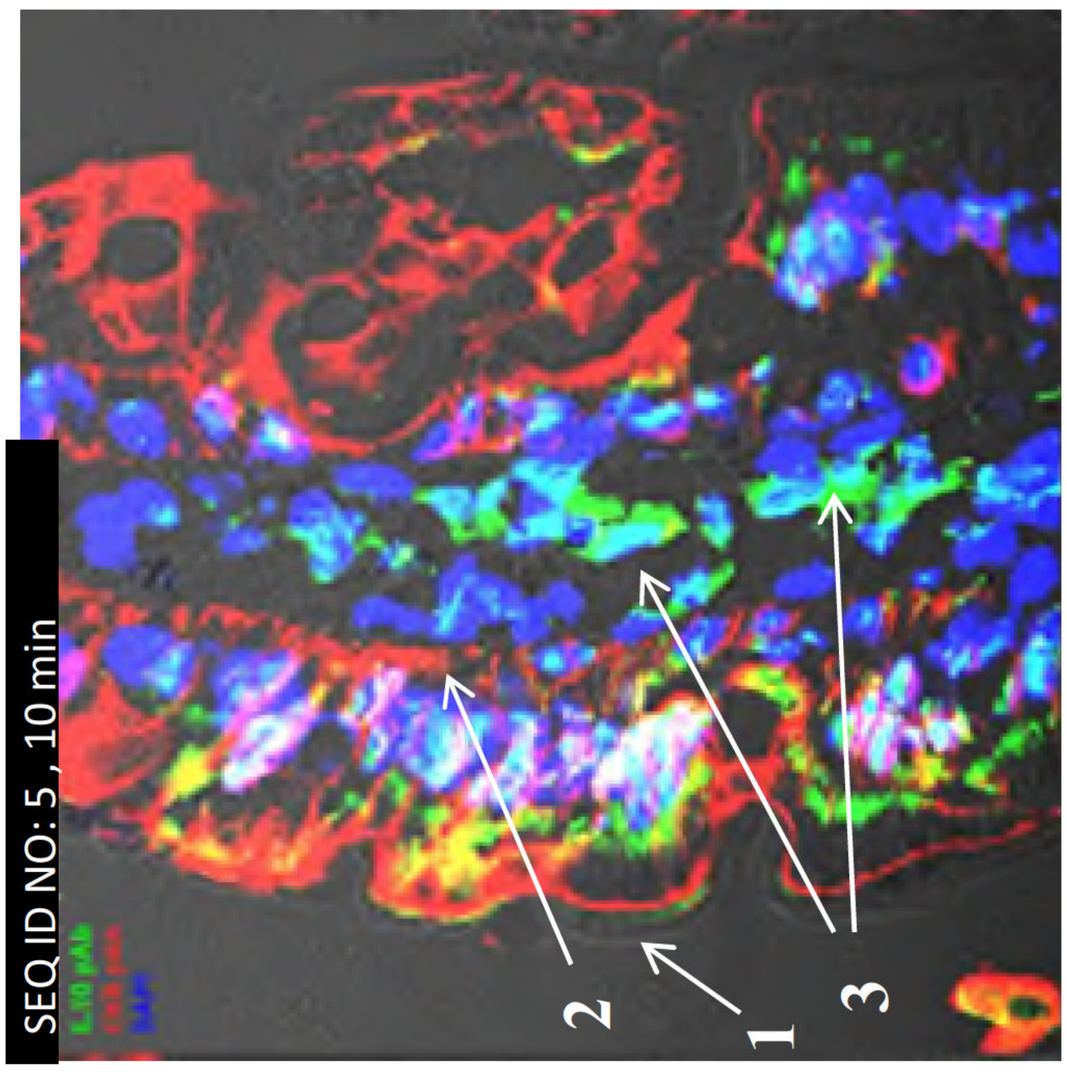
【圖116】


SEQ ID NO: 5 , 5 min
IL10 pAb
DAPI
1
2
3

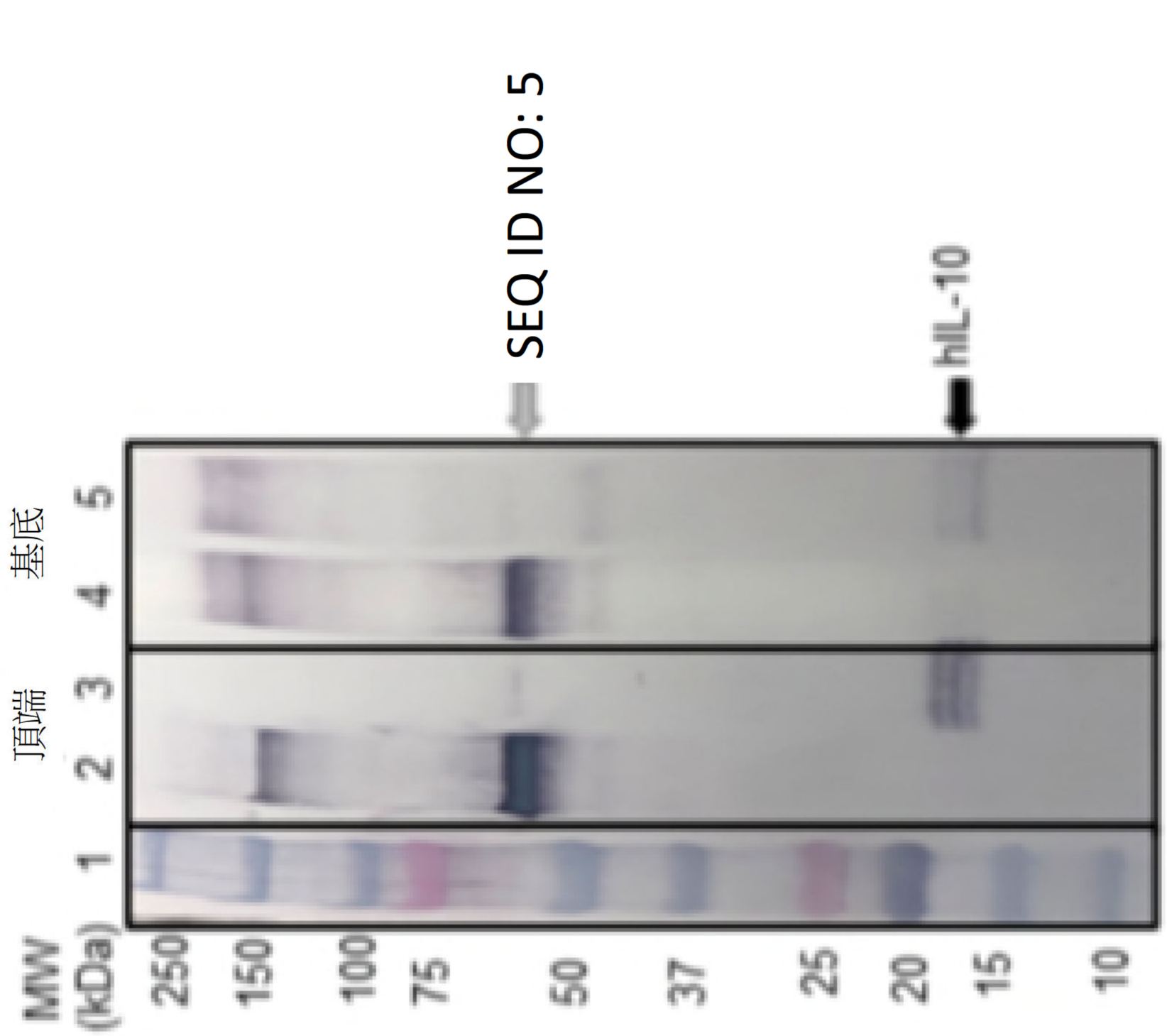
【圖117B】


SEQ ID NO: 5 , 1 min
IL10 pAb
DAPI
1
2
3

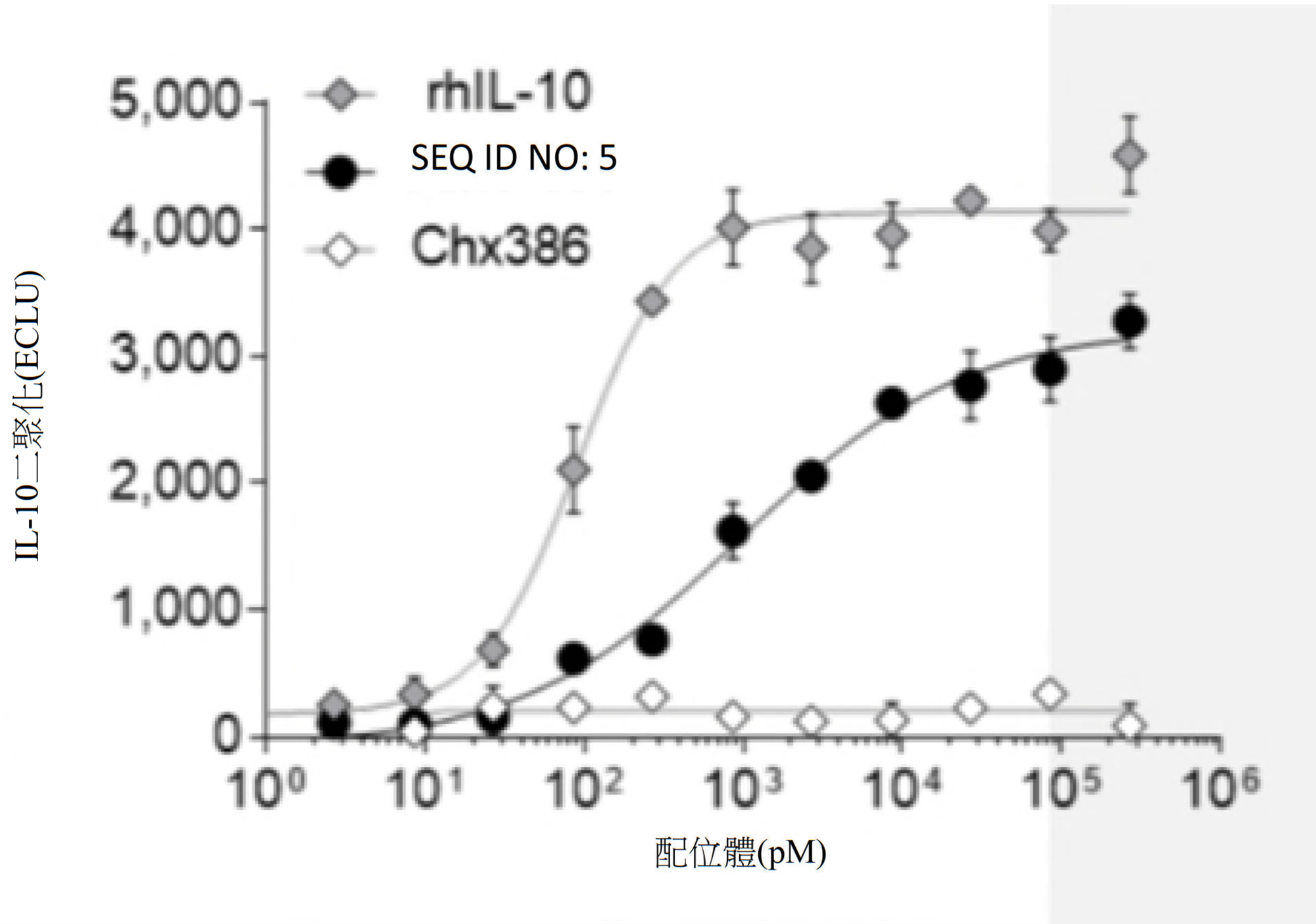
【圖117A】



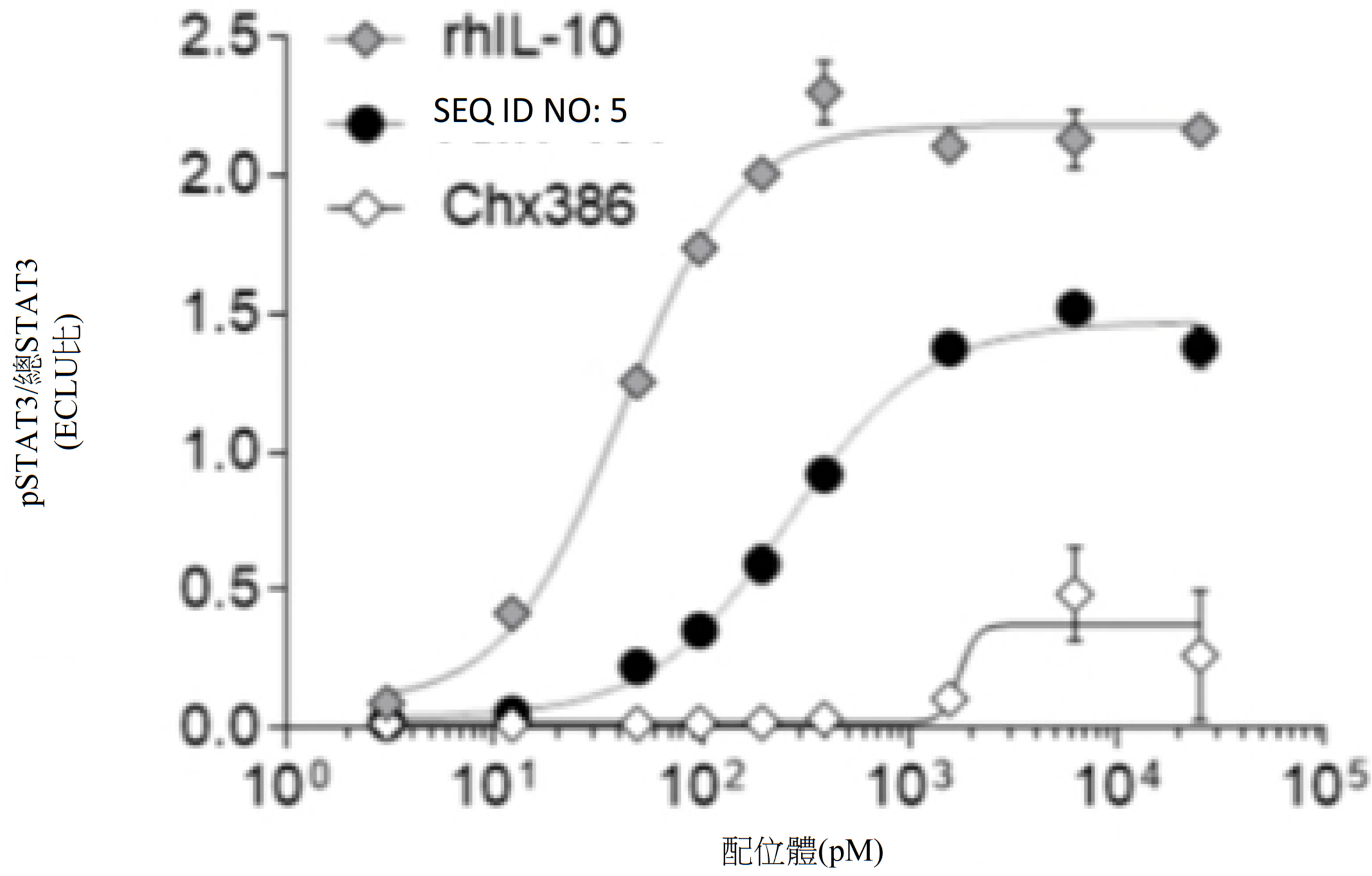
【圖117C】


SEQ ID NO: 5
hIL-10
MW (kDa)
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
頂端
基底
1
2
3
4
5

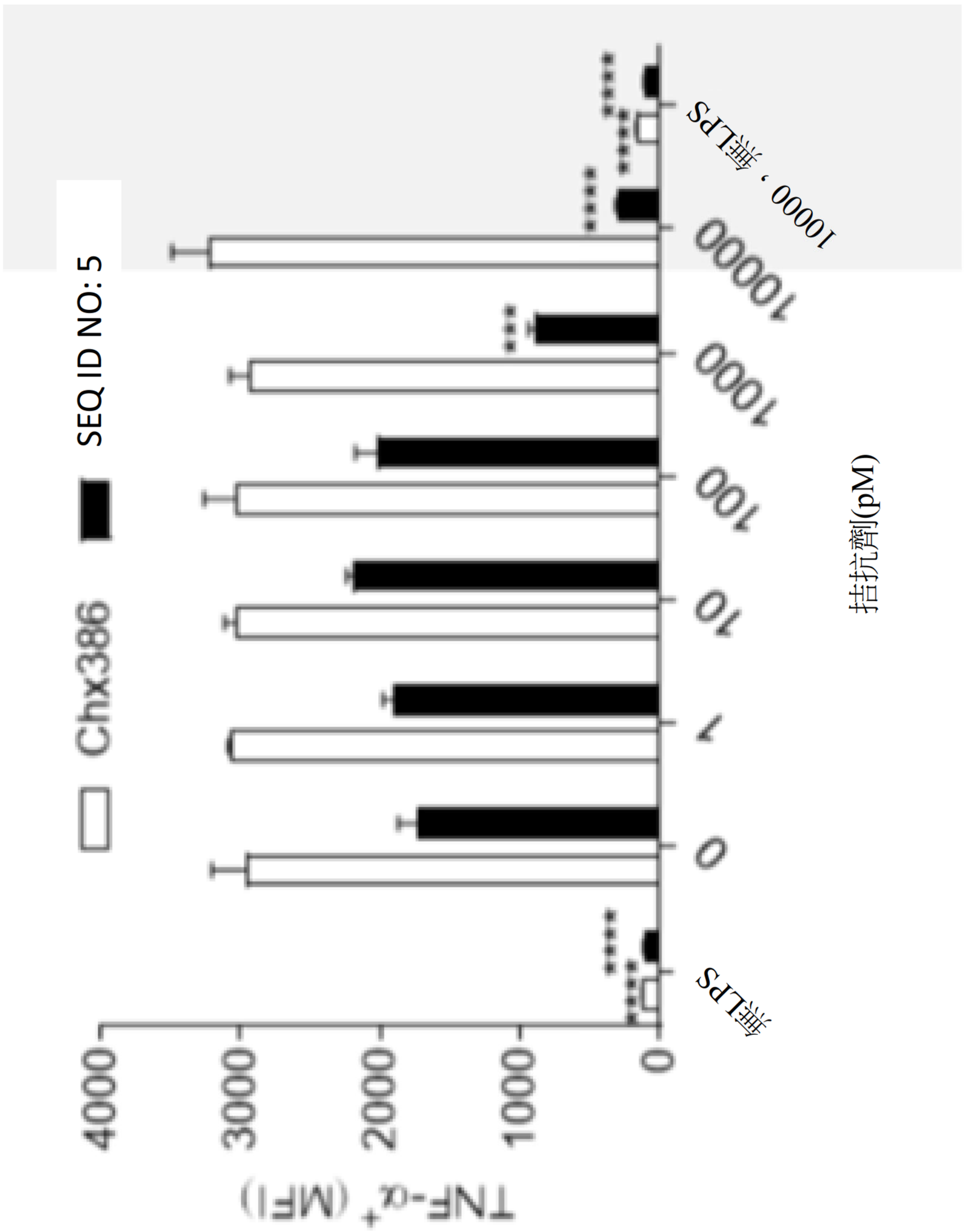
【圖118】


rhIL-10
SEQ ID NO: 5
Chx386
IL-10二聚化(ECLU)
5,000
4,000
3,000
2,000
1,000
0
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
配位體(pM)

【圖119】

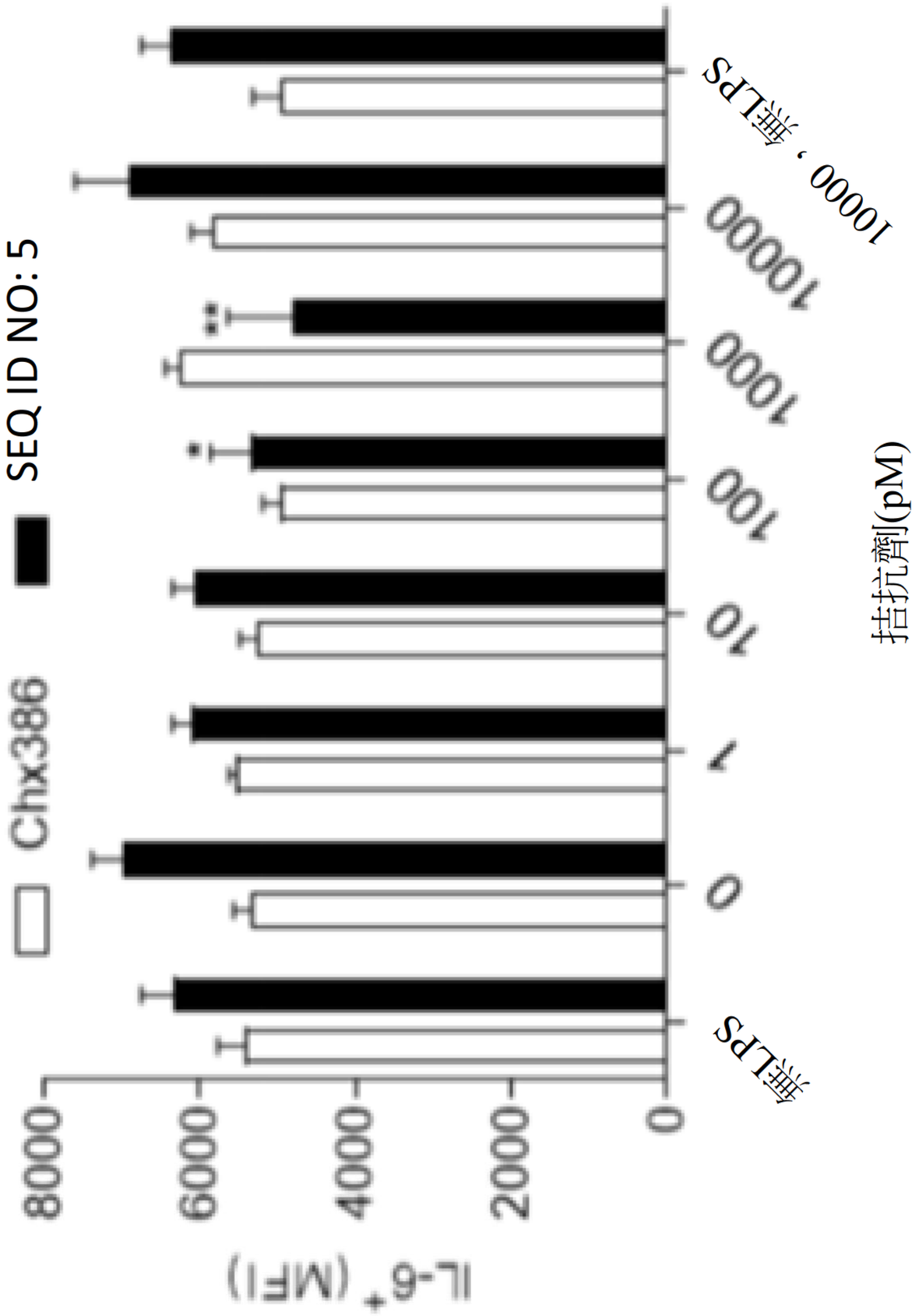

rhIL-10
SEQ ID NO: 5
Chx386
pSTAT3/總STAT3
(ECLU比)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
配位體(pM)

【圖120】

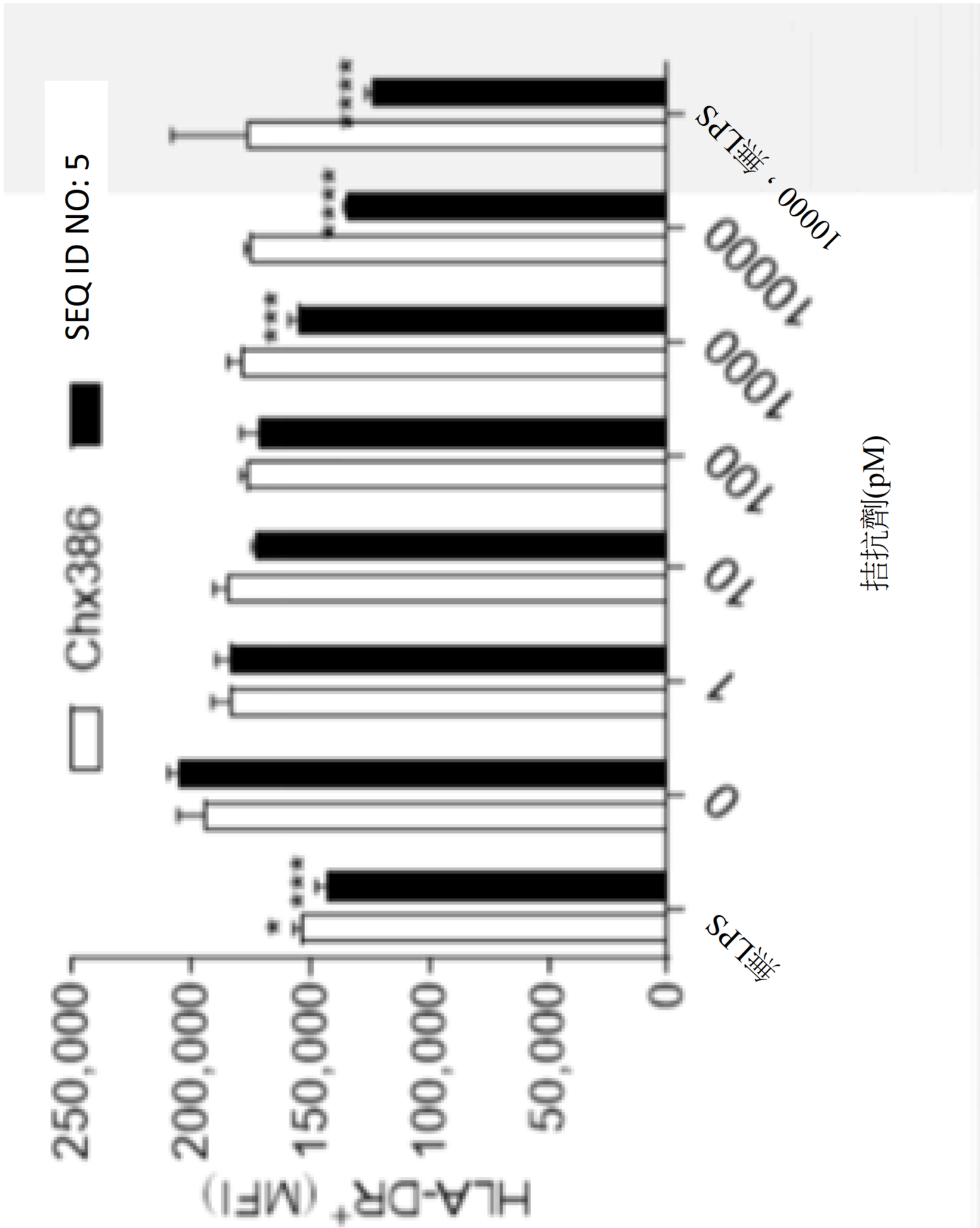

SEQ ID NO: 5
Chx386
TNF-α+ (MFI)
4000
3000
2000
1000
0
無LPS
0
1
10
100
1000
10000
10000，無LPS
拮抗劑(pM)

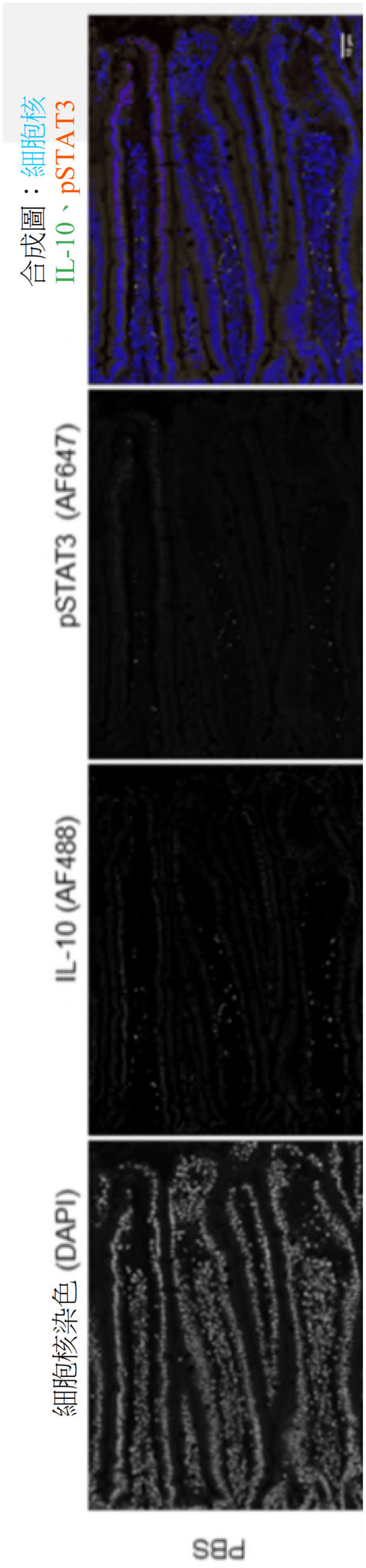
【圖121】

【圖122】

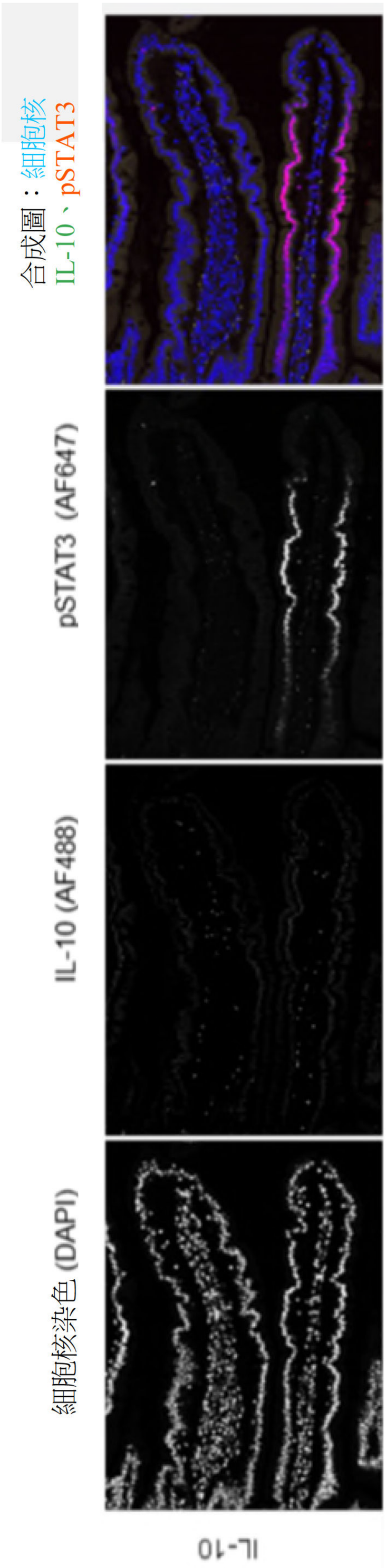

SEQ ID NO: 5
Chx386
IL-6+ (MFI)
8000
6000
4000
2000
0
無LPS
0
1
10
100
1000
10000
10000，無LPS
拮抗劑(pM)

【圖123】

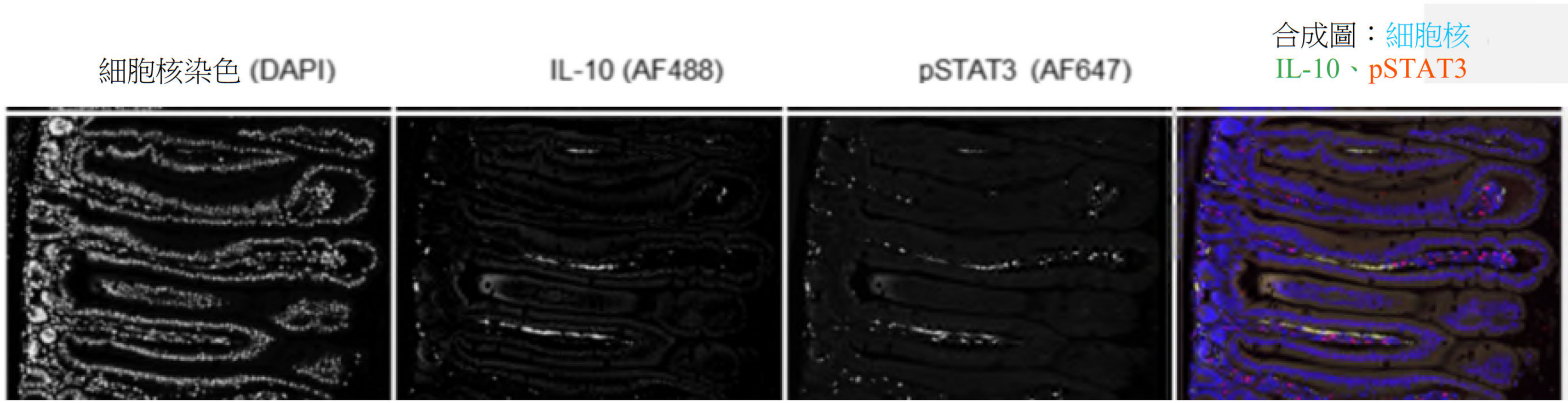

SEQ ID NO: 5
Chx386
HLA-DR+ (MFI)
250,000
200,000
150,000
100,000
50,000
0
無LPS
0
1
10
100
1000
10000
10000，無LPS
拮抗劑(pM)


合成圖：細胞核
IL-10、pSTAT3
pSTAT3 (AF647)
IL-10 (AF488)
細胞核染色 (DAPI)
PBS

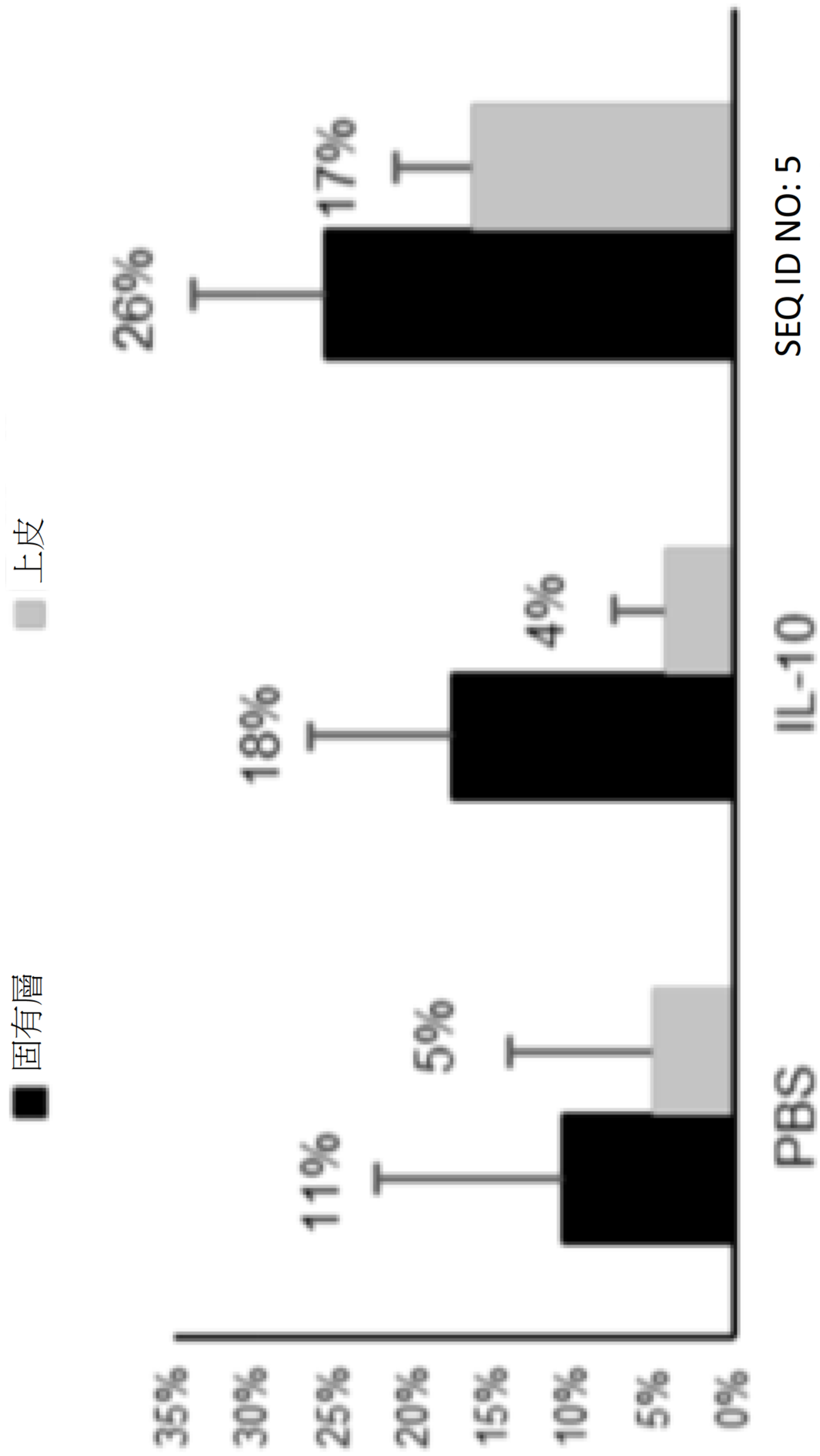
【圖124】


合成圖：細胞核
IL-10、pSTAT3
pSTAT3 (AF647)
IL-10 (AF488)
細胞核染色 (DAPI)
IL-10

【圖125】

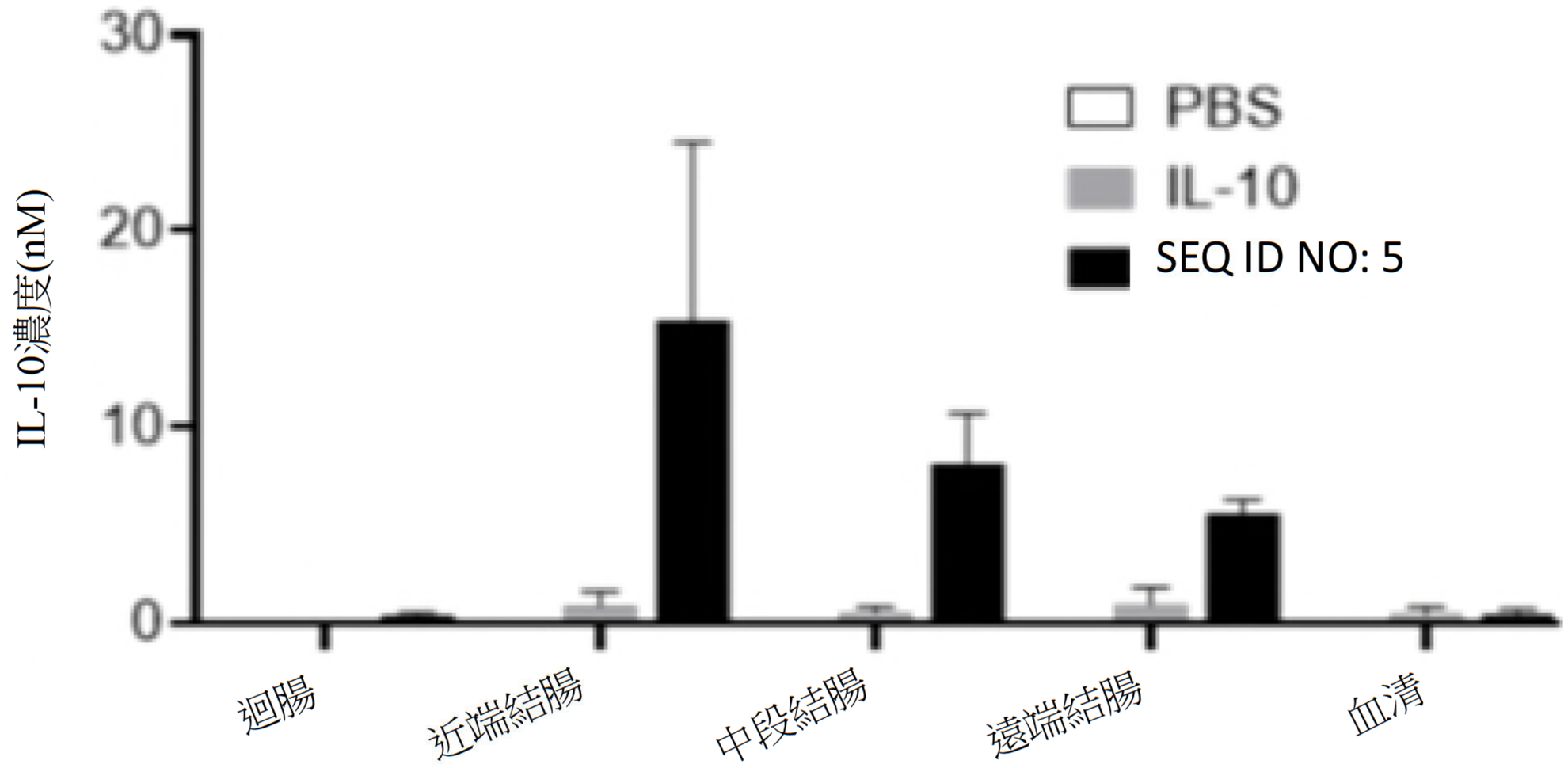


【圖126】


上皮
固有層
18%
4%
26%
17%
11%
5%
IL-10
SEQ ID NO: 5
PBS
35%
30%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
細胞核pSTAT (細胞之%)

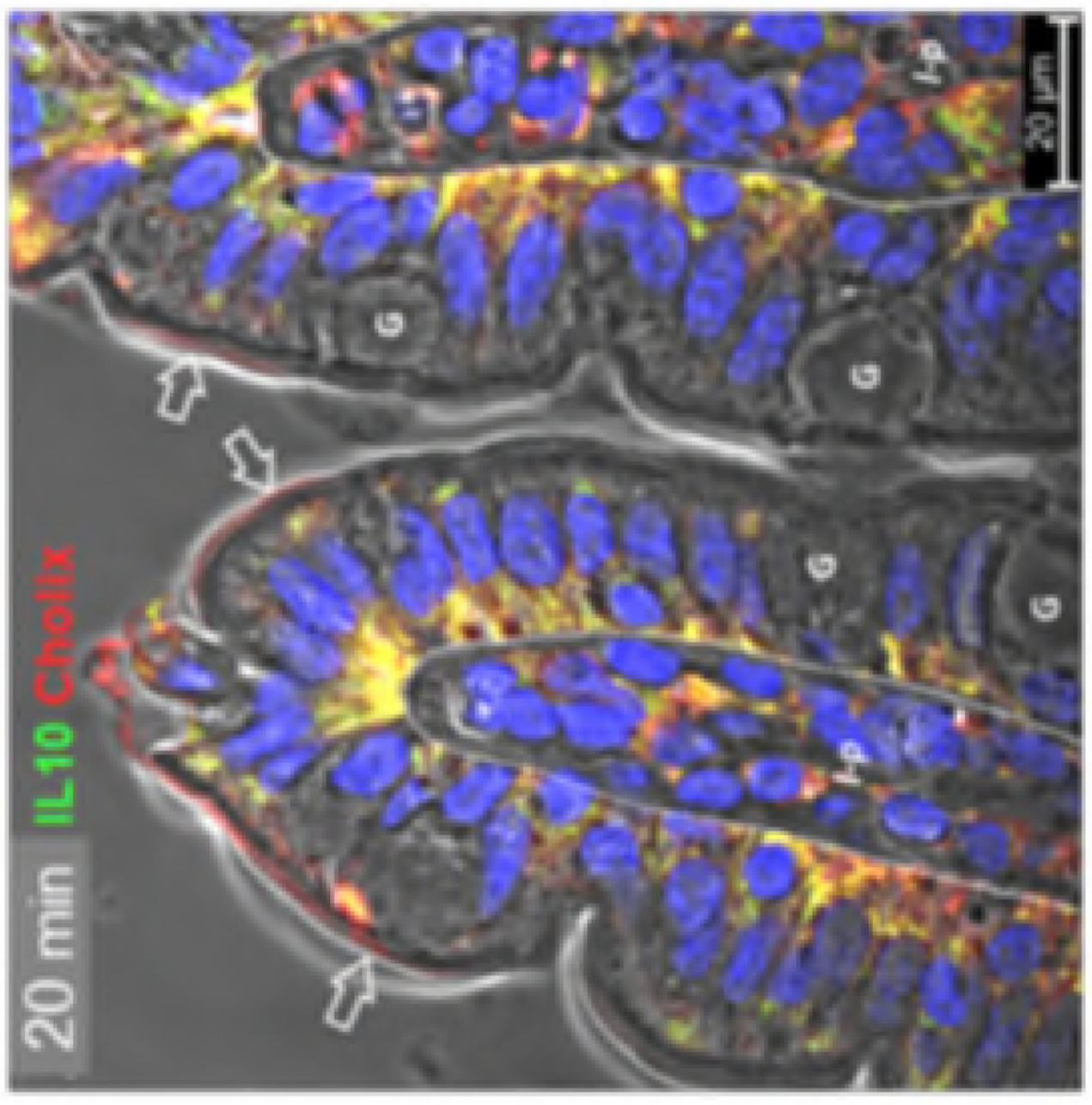
【圖127】

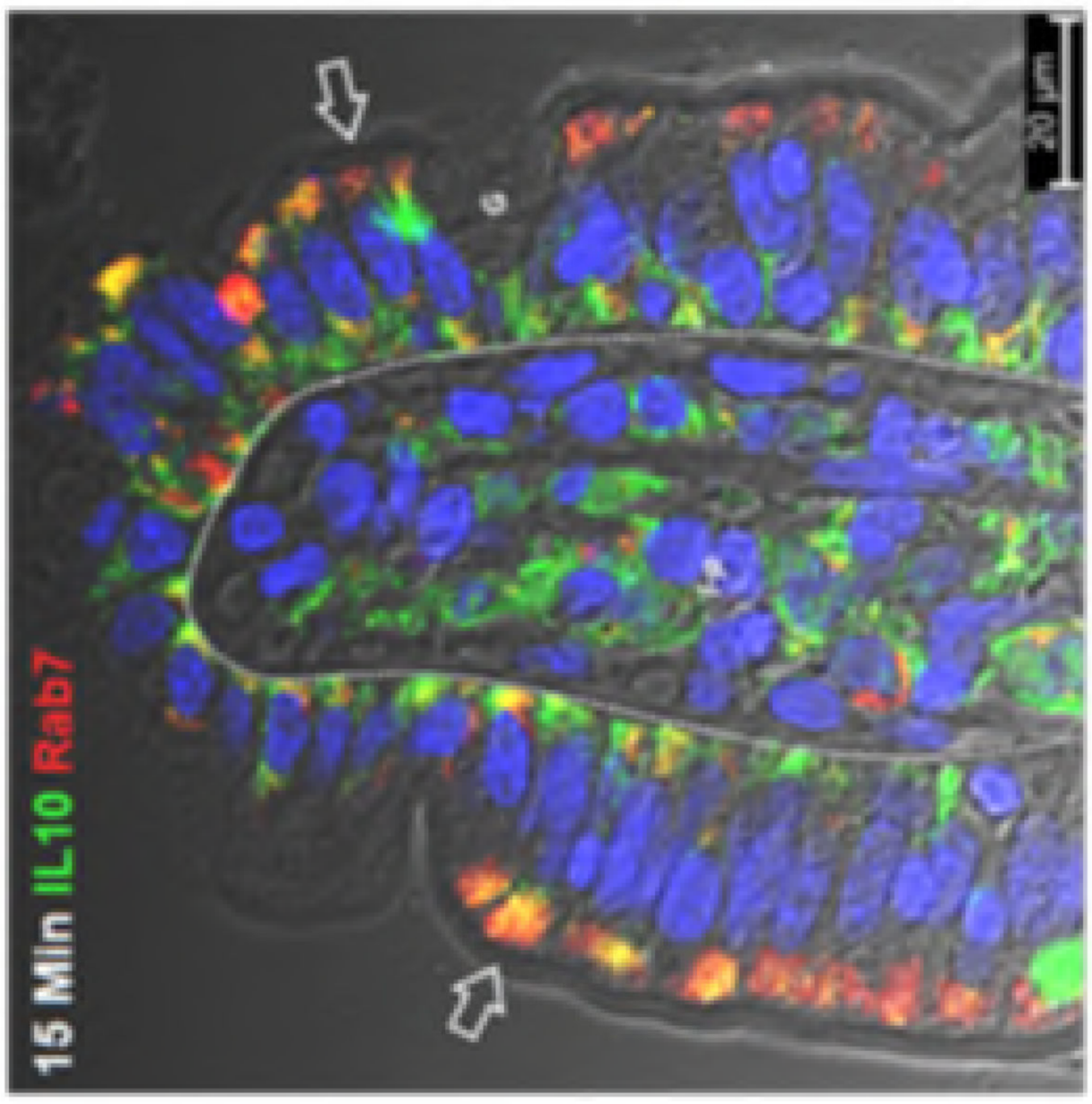
CD4+ CD45RB^{high} T細胞轉移結腸炎模型



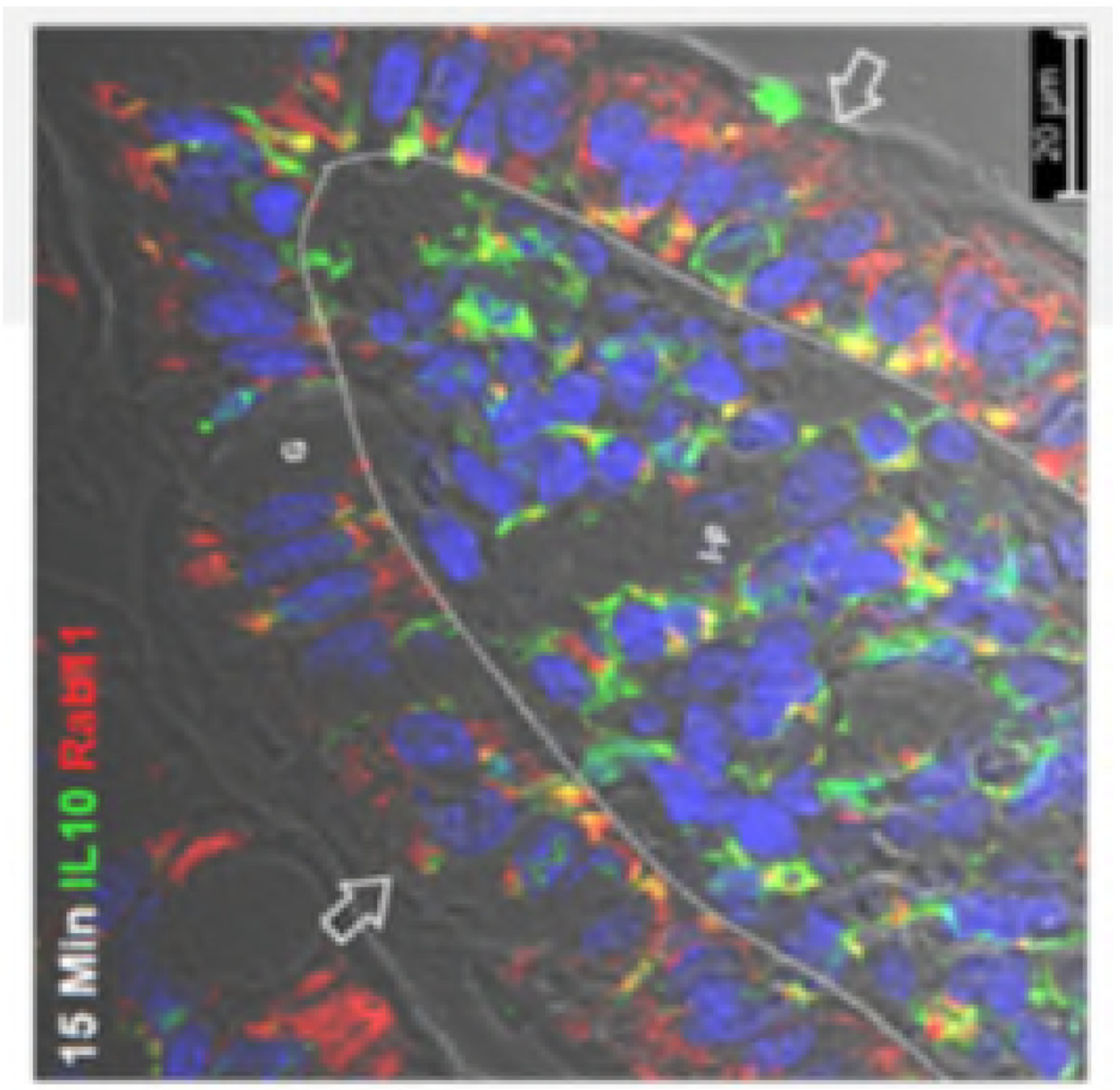
【圖128】

【圖129】

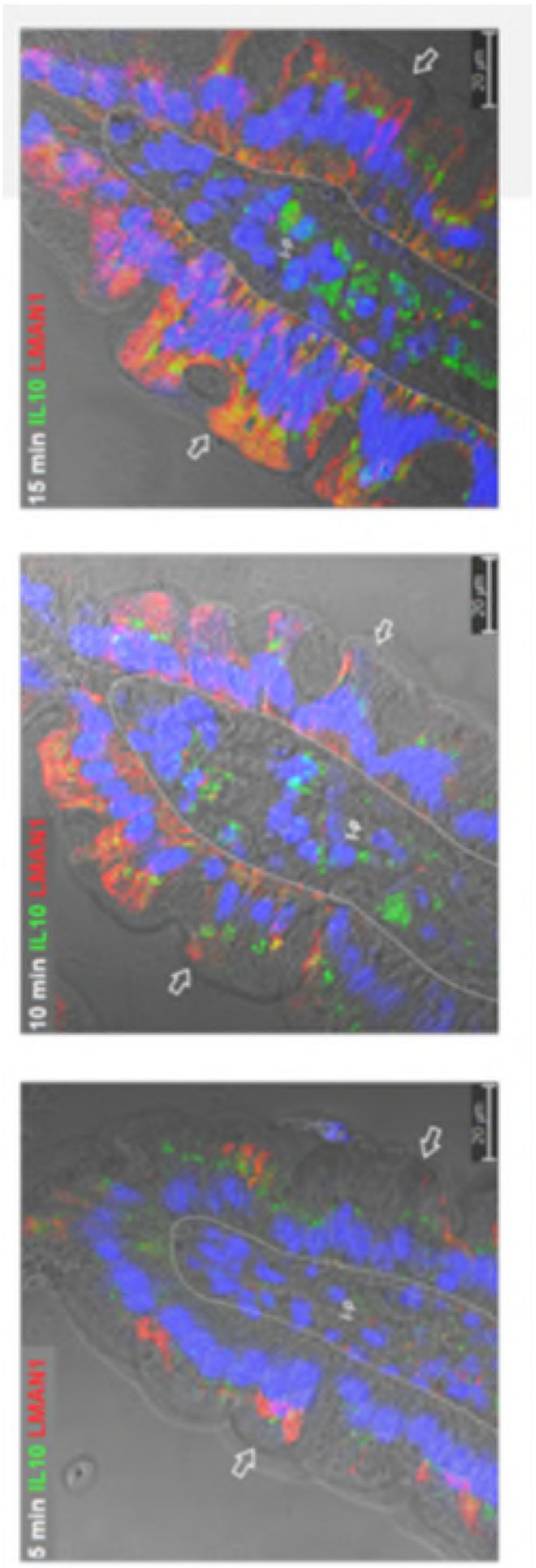




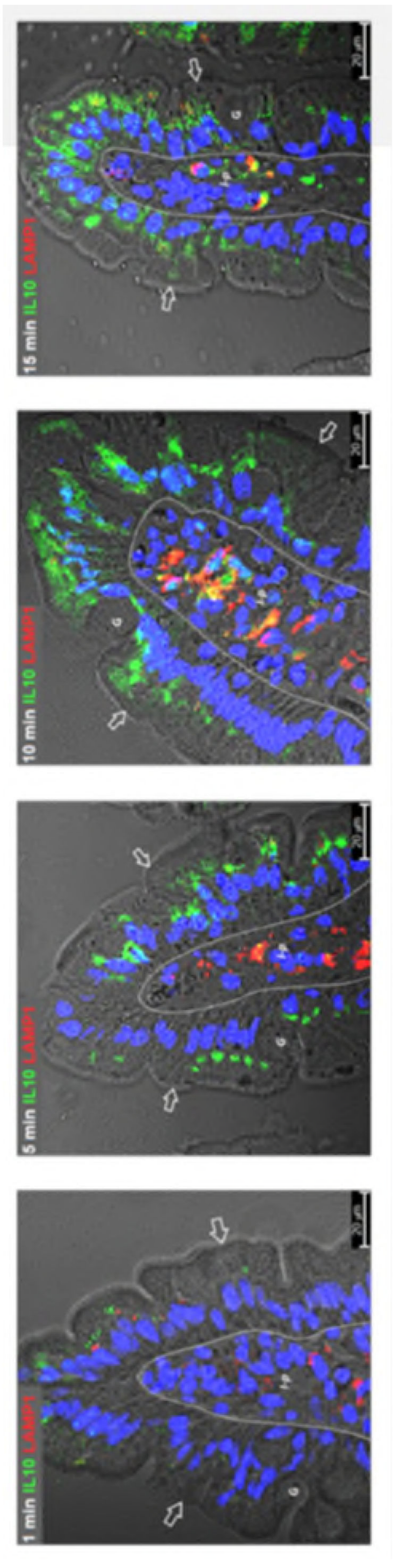
【圖130】



【圖131】

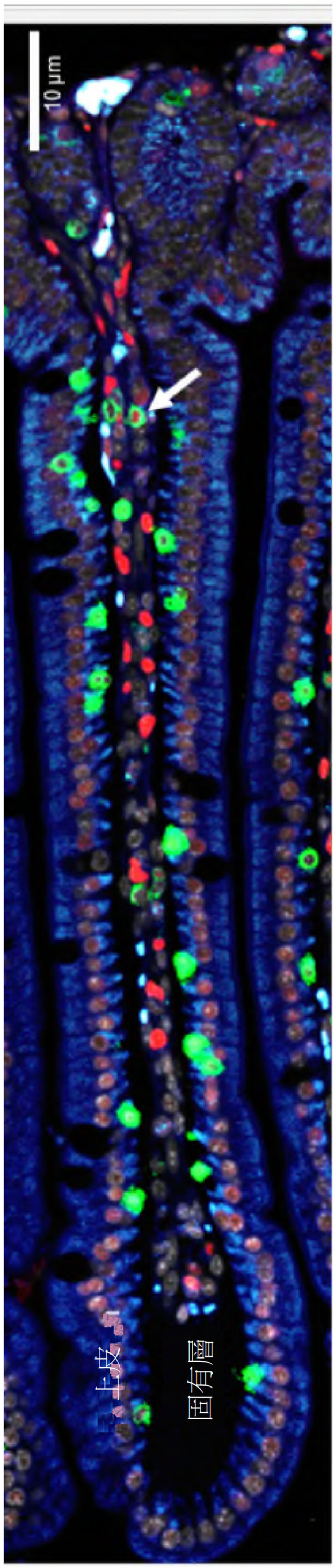

15 min IL10 LMAN1
10 min IL10 LMAN1
5 min IL10 LMAN1
1 min IL10 LMAN1

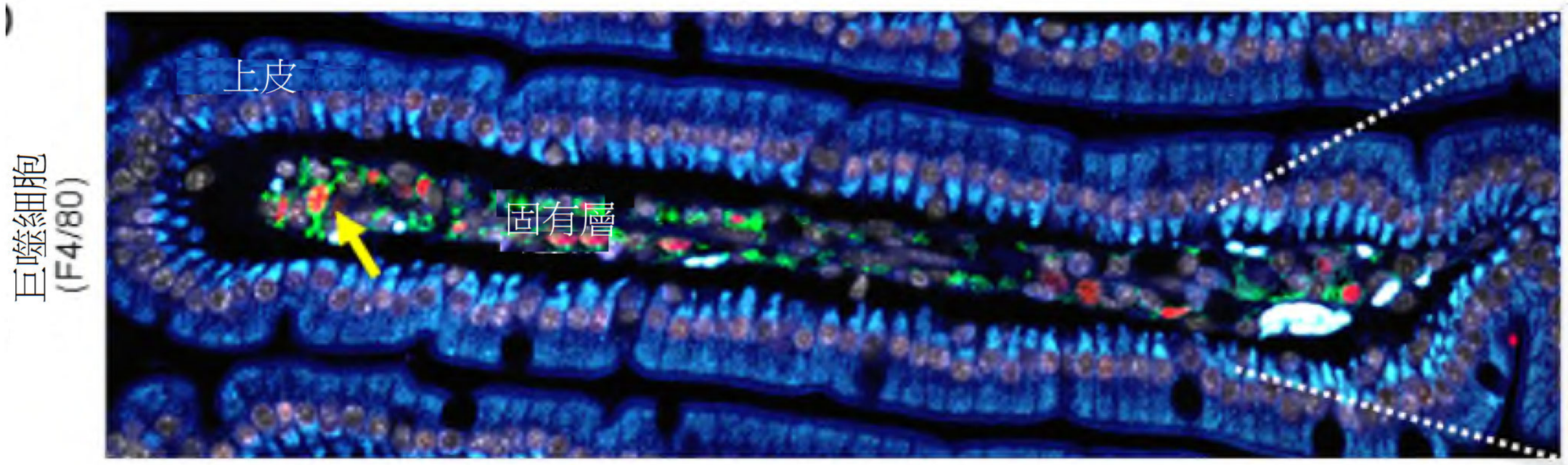
【圖132】


15 min IL10 LAMP1
10 min IL10 LAMP1
5 min IL10 LAMP1
1 min IL10 LAMP1

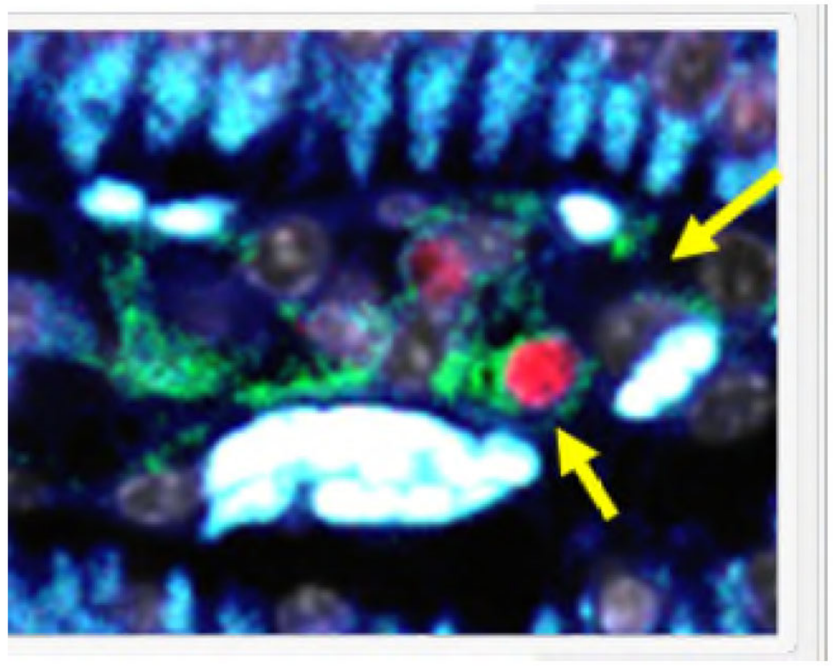
【圖133】

【圖134】

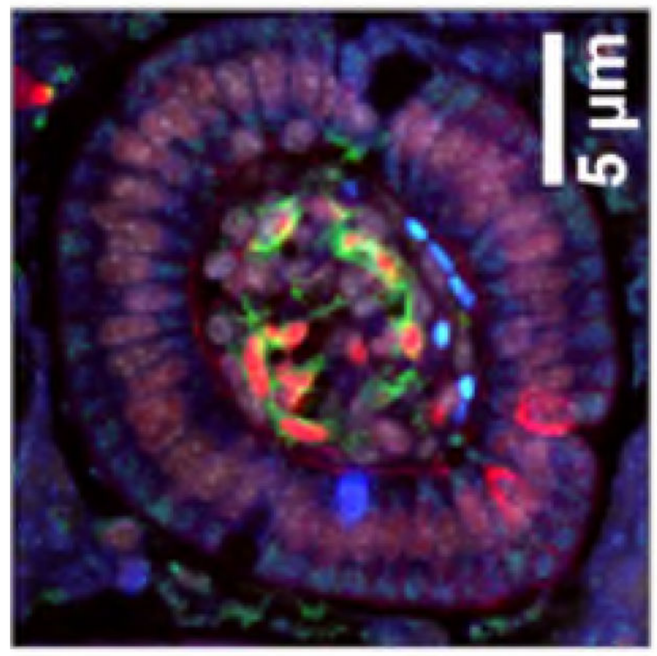


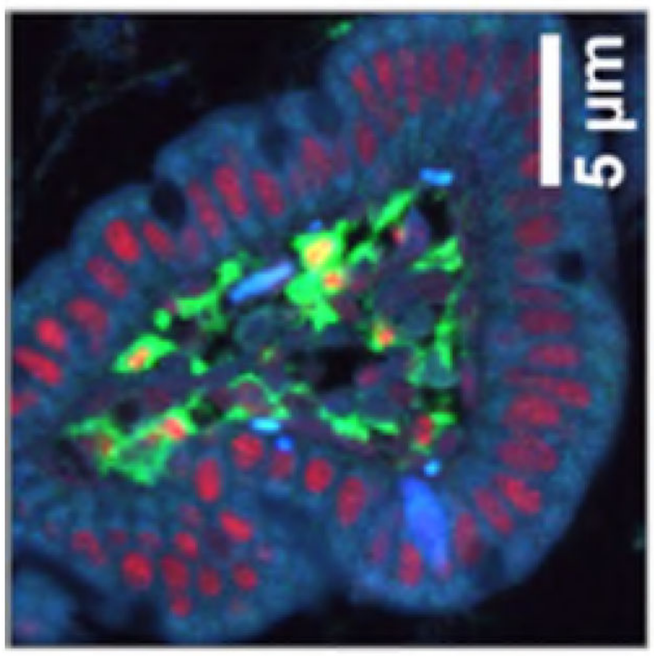


【圖135】

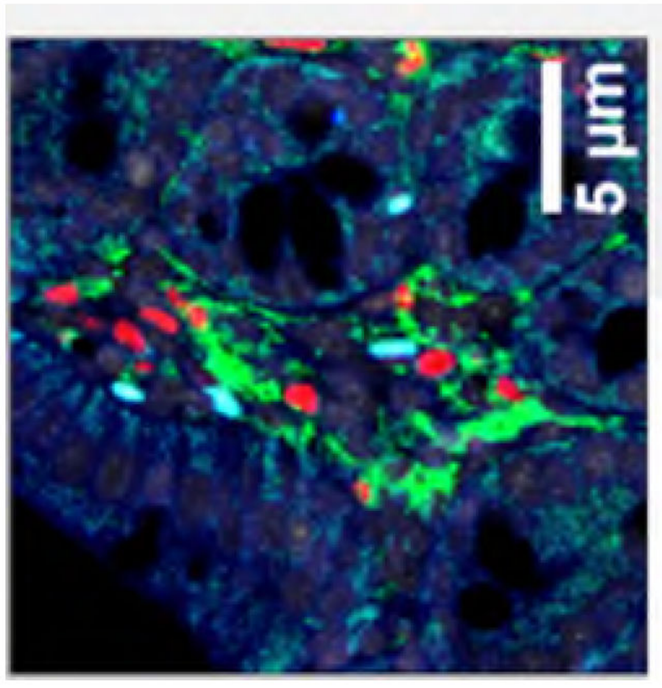


【圖136】

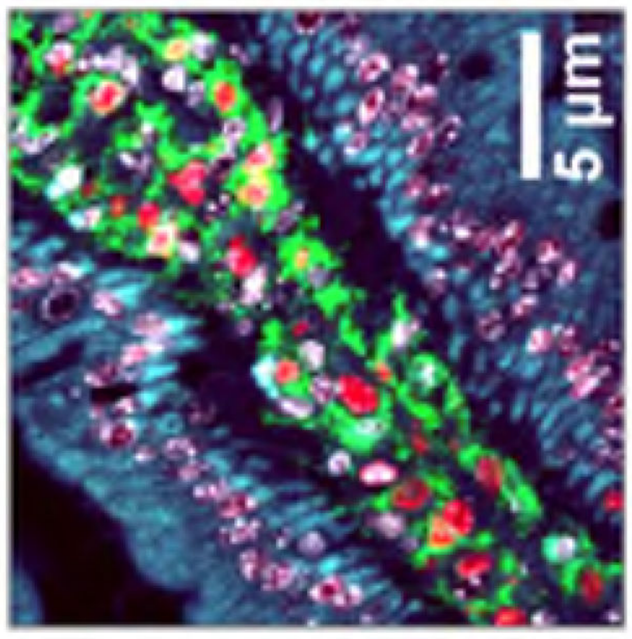


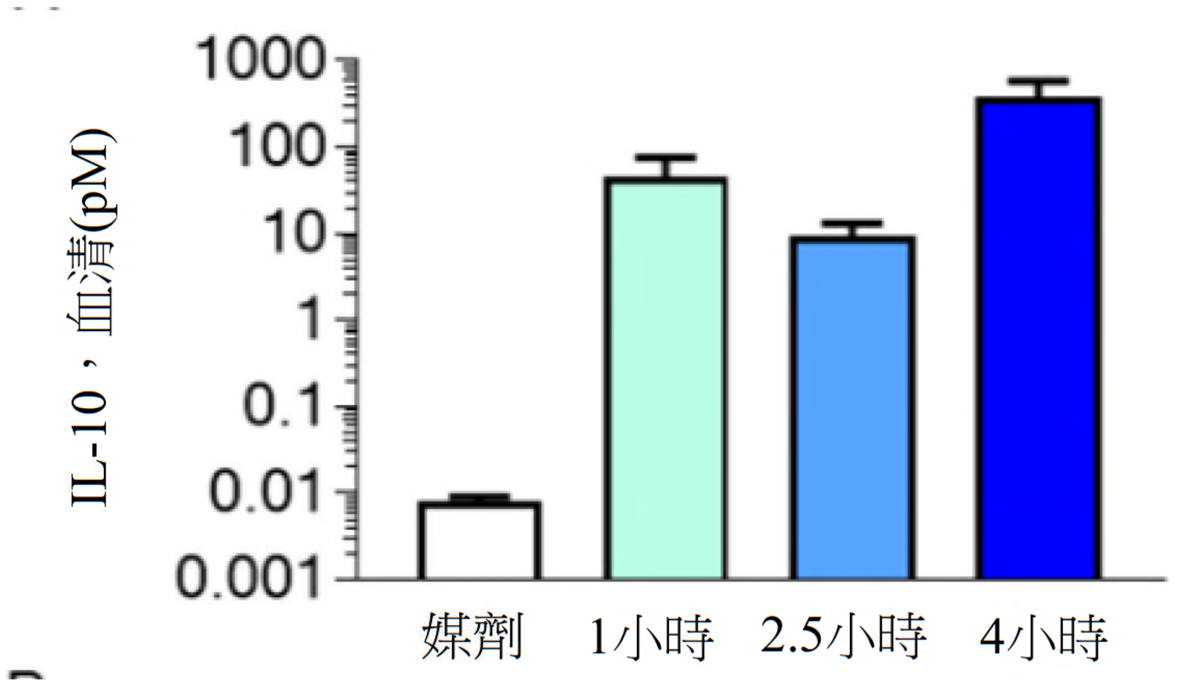


【圖137】

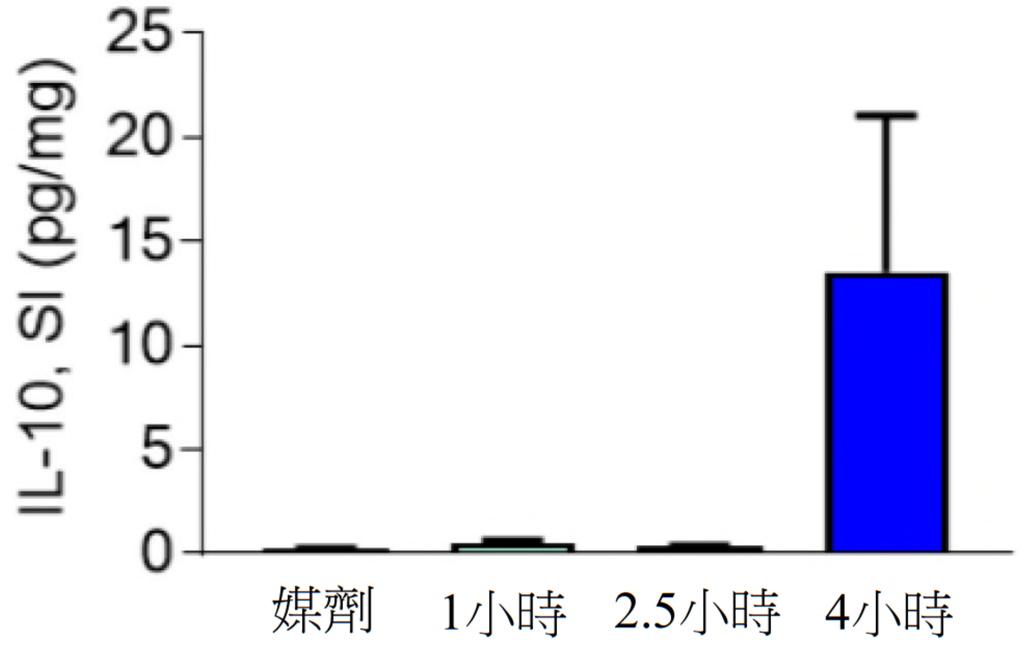


【圖138】



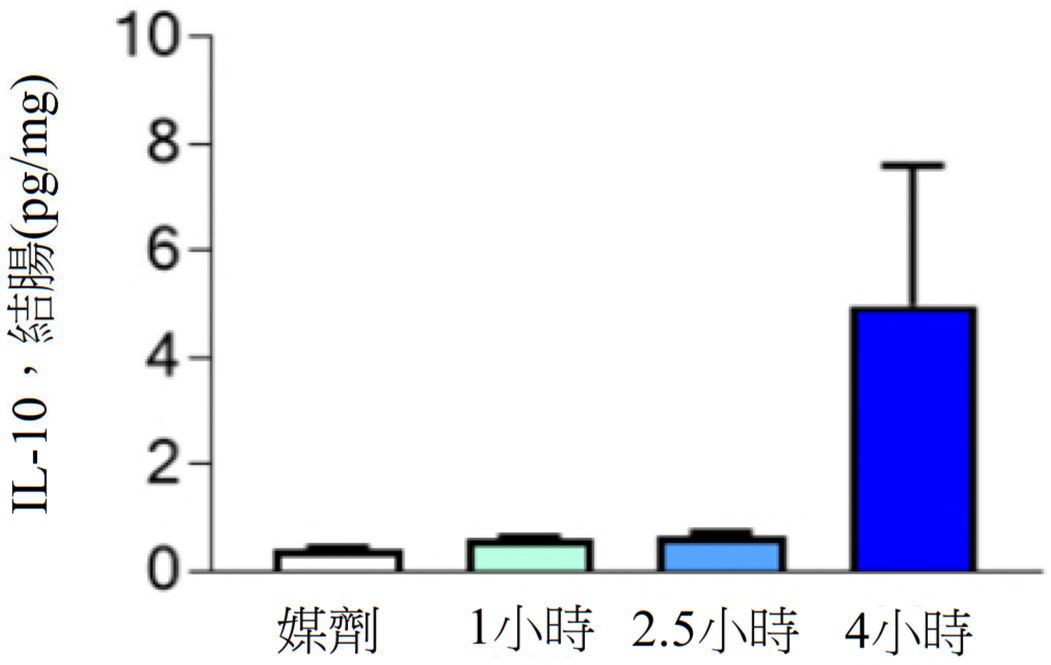


【圖139】

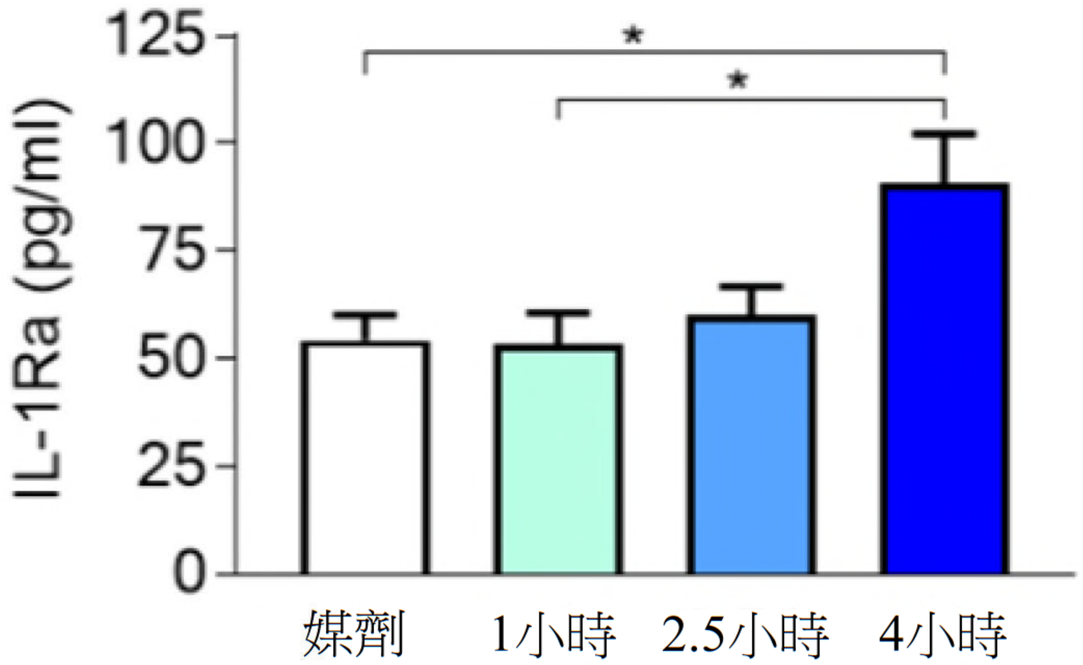


【圖140】

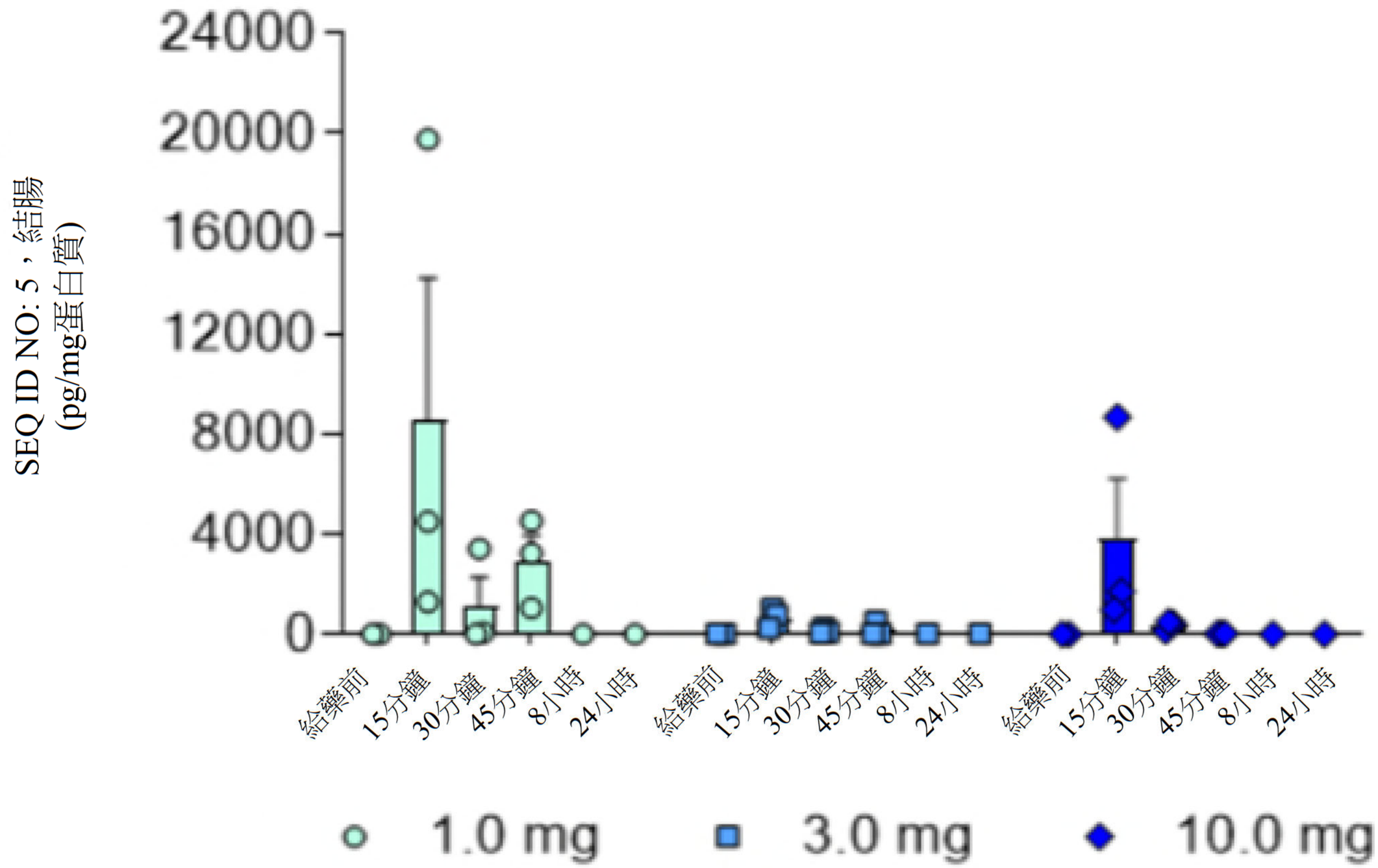
110年2月5日 修正日 20210521


IL-10，結腸(pg/mg)
10
8
6
4
2
0
媒劑
1小時
2.5小時
4小時

【圖141】

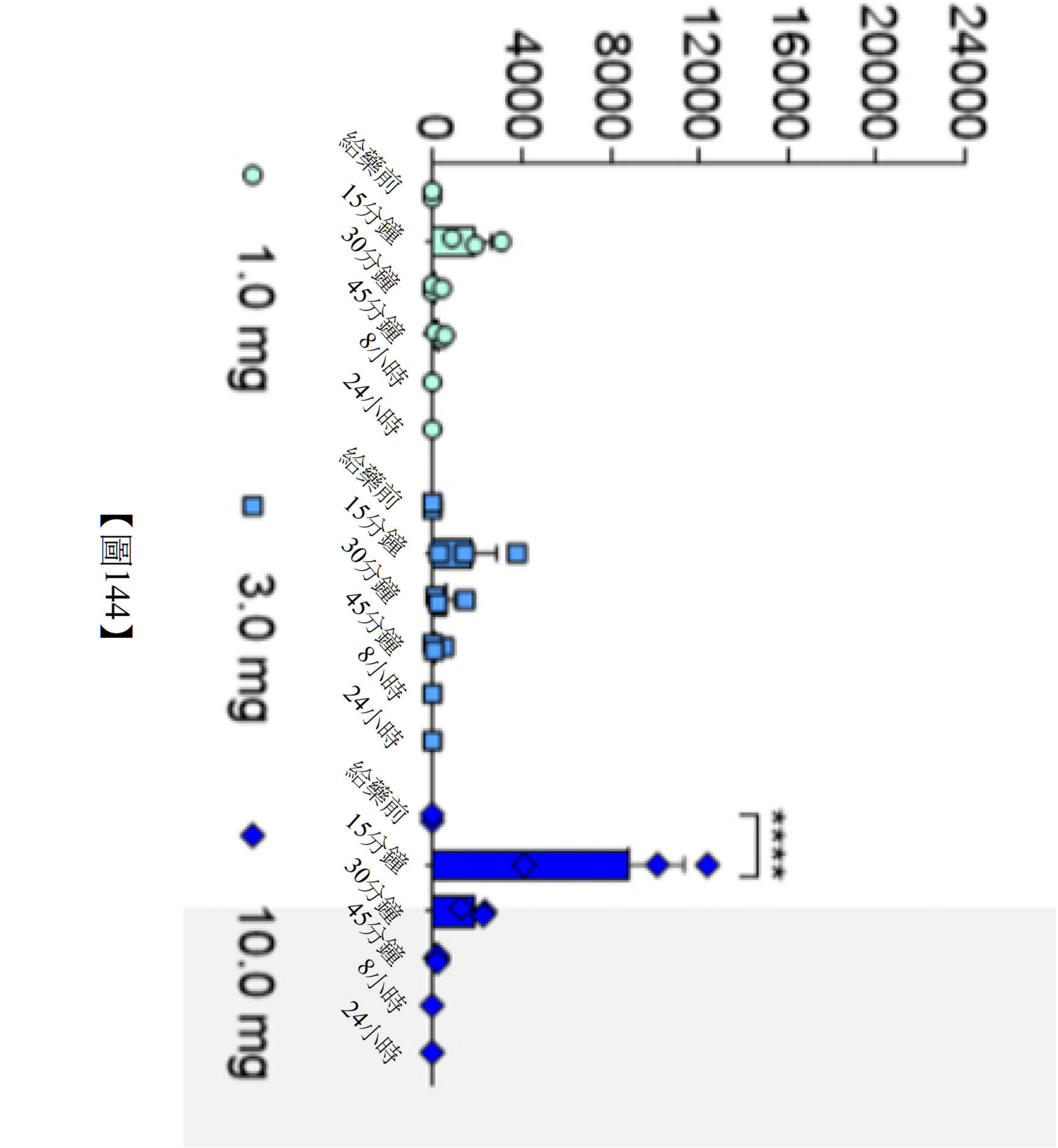

IL-1Ra (pg/ml)
125
100
75
50
25
0
*
*
媒劑
1小時
2.5小時
4小時

【圖142】

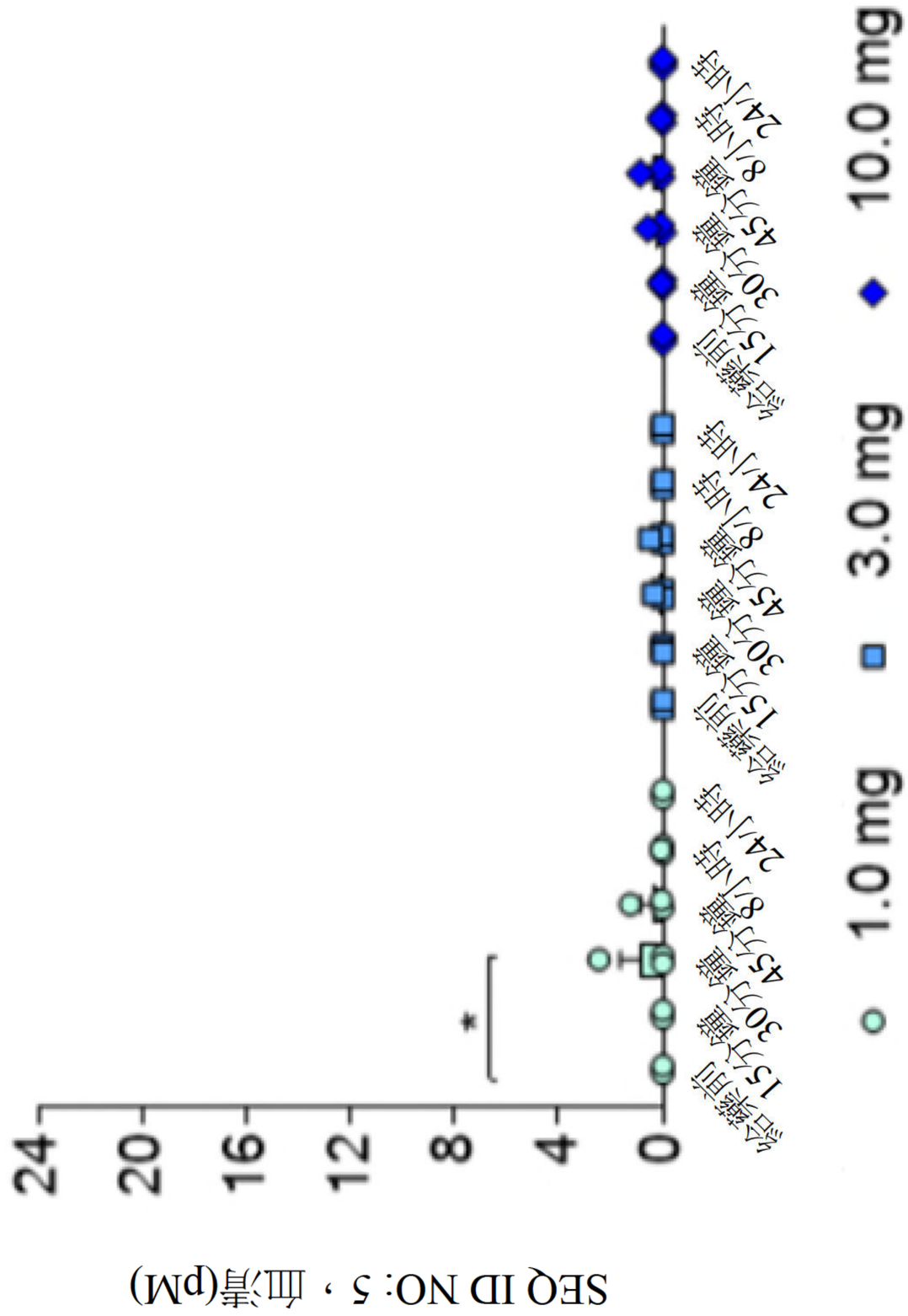

SEQ ID NO: 5，結腸
(pg/mg蛋白質)
24000
20000
16000
12000
8000
4000
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

【圖143】

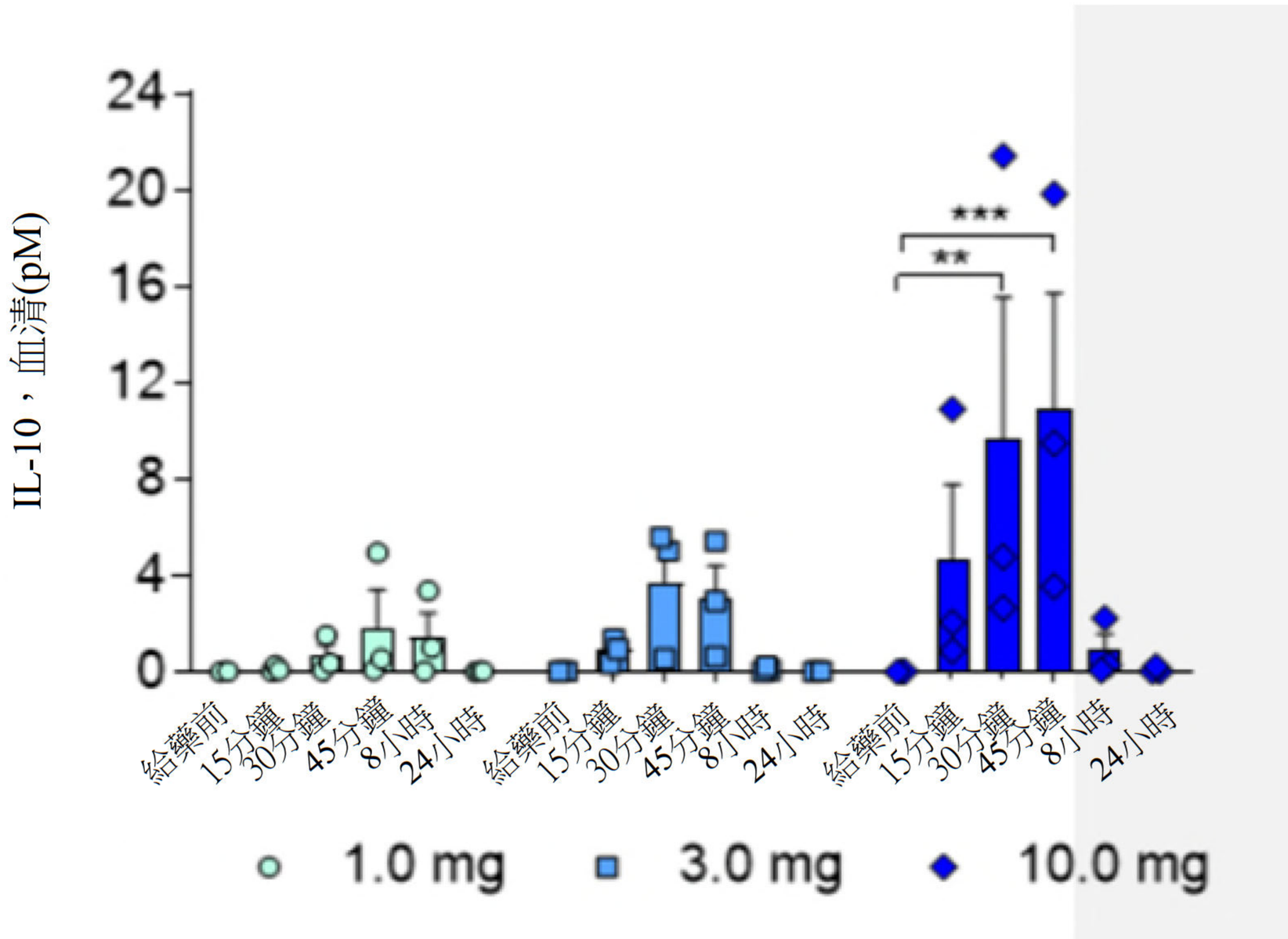
IL-10，結腸(pM)



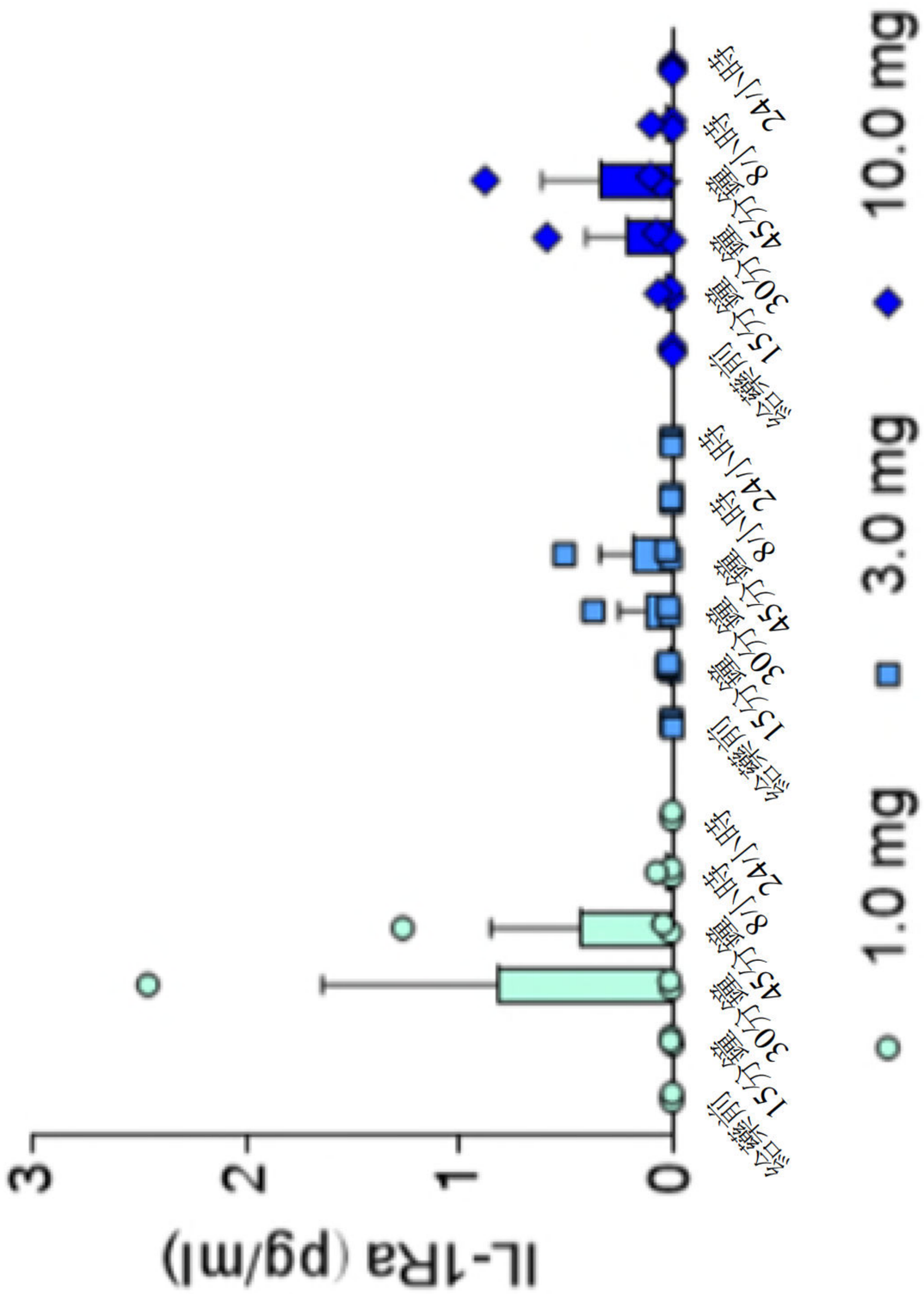
【圖144】


SEQ ID NO: 5，血清(pM)
24
20
16
12
8
4
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

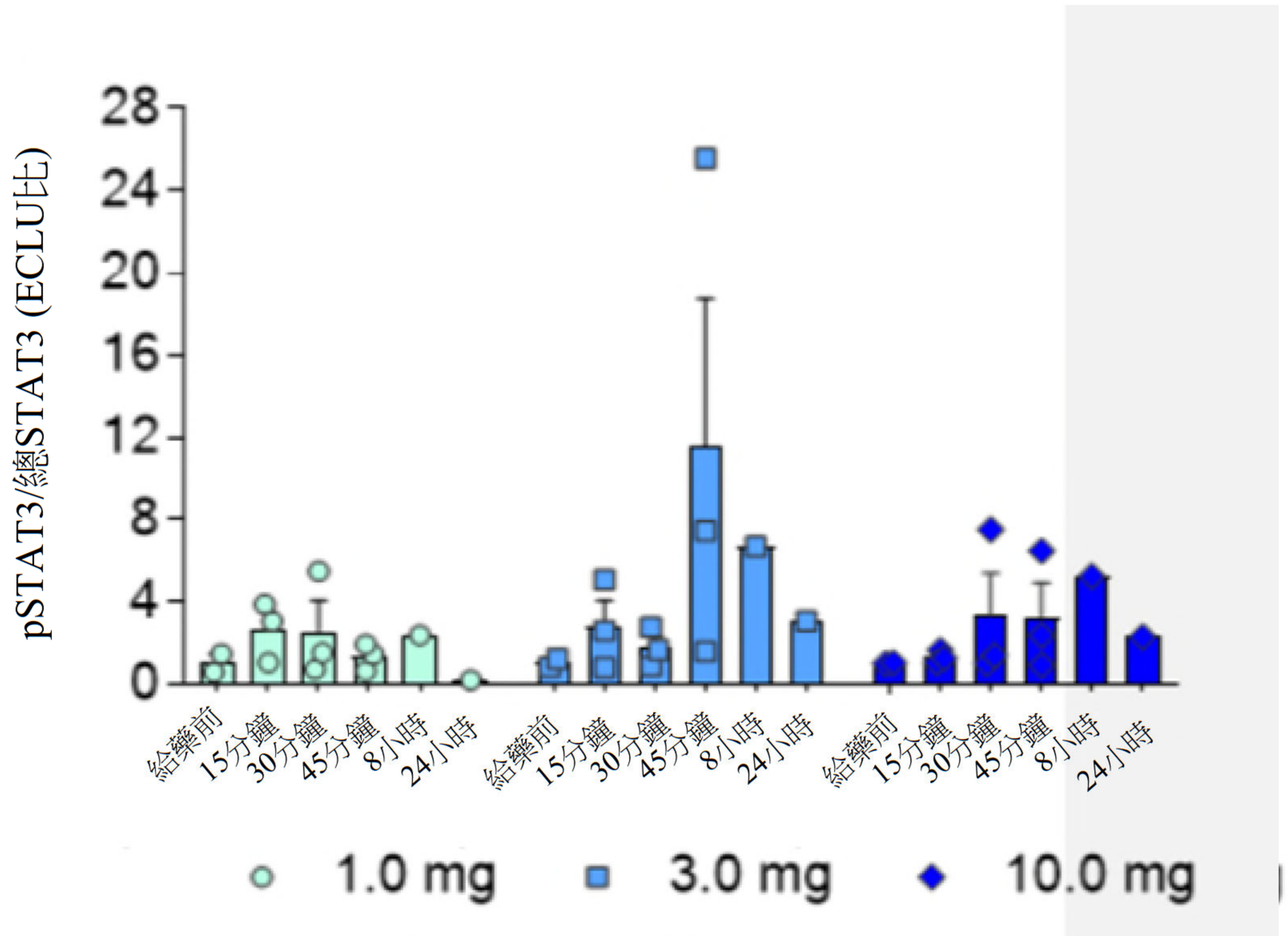
【圖145】


IL-10，血清(pM)
24
20
16
12
8
4
0
***
**
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

【圖146】



【圖147】


pSTAT3/總STAT3 (ECLU比)
28
24
20
16
12
8
4
0
給藥前
15分鐘
30分鐘
45分鐘
8小時
24小時
1.0 mg
3.0 mg
10.0 mg

【圖148】