



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 103269679 B

(45)授权公告日 2019.04.12

(21)申请号 201180061614.5

(22)申请日 2011.12.19

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103269679 A

(43)申请公布日 2013.08.28

(30)优先权数据
61/424903 2010.12.20 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2013.06.20

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2011/065912 2011.12.19

(87)PCT国际申请的公布数据
W02012/087970 EN 2012.06.28

(73)专利权人 纳幕尔杜邦公司
地址 美国特拉华州威尔明顿

(72)发明人 L.A.巴特里克 S.D.坎宁安
R.迪科西莫 K.A.福塞
T.M.格鲁伯 S.L.海尼 M.S.佩恩
P.E.鲁维耶 H.王

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001
代理人 邹雪梅 李炳爱

(51)Int.Cl.

A61K 8/37(2006.01)

A61K 8/65(2006.01)

A61K 8/66(2006.01)

A61K 8/35(2006.01)

A61Q 11/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 101558161 A,2009.10.14,说明书第5页第15行-第6页第17行,第32页第2段.

CN 101394832 A,2009.03.25,说明书第2页第[0005]段-第18页第[0073]段.

US 2008/0152600 A1,2008.06.26,说明书第2页第[0016]段-第3页第[0047]段,第14页第[0180]段,第15页第[0181]-[0182]段,第27页第[0278]段-第28页[0284]段.

US 2008/0152600 A1,2008.06.26,说明书第2页第[0016]段-第3页第[0047]段,第14页第[0180]段,第15页第[0181]-[0182]段,第27页第[0278]段-第28页[0284]段.

审查员 师晓荣

权利要求书11页 说明书71页
序列表269页

(54)发明名称

用于口腔护理产品的酶促过酸生产

(57)摘要

本文所公开的是使用基于过酸的有益剂处理口腔表面的组合物和方法。所述过酸有益剂可用于口腔表面的漂白、美白、消毒、脱色、除臭、减少或除去生物膜、以及它们的组合。使用具有过水解活性的CE-7糖酯酶(过水解酶),在过氧源存在的情况下从羧酸酯底物中酶促制备所述过酸。融合蛋白包含直接地或通过任选的接头联接到对口腔表面具有亲和力的肽组分上的过水解酶,它可用于靶向所述过水解活性到所述口腔表面上。

1. 方法, 包括:

1) 提供一组反应组分, 所述反应组分包括:

a) 至少一种选自下列的底物:

i) 具有下列结构的酯:



其中X=式R₆C(O)O的酯基;

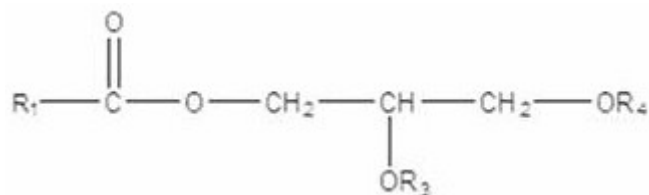
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分, 其中对于R₆=C2-C7, R₆任选地包含一个或多个醚键;

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分; 其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基, 或不超过一个酯基或羧酸基; 其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数; 并且

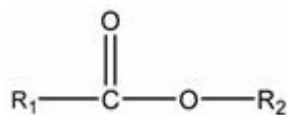
其中在25°C下, 所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

ii) 具有下列结构的甘油酯:



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基, 并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

iii) 一种或多种下式的酯:



其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基, 并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH, 并且n为1至10; 和

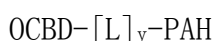
iv) 选自下列的乙酰化糖: 乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;

b) 过氧源; 和

c) 具有过水解活性的酶催化剂, 其中所述酶催化剂包含含有下列通式结构的融合蛋白:



或



其中

PAH为具有过水解活性的酶; 其中所述酶是具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的糖酯酶, 所述特征基序包括:

i) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

ii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和

iii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序;

OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分,其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422;其中所述肽组分是单链可变片段抗体(scFv)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽;L为长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;并且y为0或1;以及

2) 在适宜的反应条件下混合(1)的反应组分,从而酶促产生至少一种过酸;以及

3) 使口腔表面与所述至少一种过酸接触,从而所述口腔表面收到基于过酸的益处,所述益处选自漂白或牙齿美白、以及它们的组合,

其中所述方法用于非治疗和非诊断目的。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述反应组分在所述口腔中混合。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述反应组分在接触所述口腔表面之前,在所述口腔之外混合。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中所述具有过水解活性的酶在产生所述过酸有益剂之前在所述口腔中存在。

5. 方法,包括:

1) 提供一组反应组分,所述反应组分包括:

a) 至少一种选自下列的底物:

i) 具有下列结构的酯:



其中X=式R₆C(O)O的酯基;

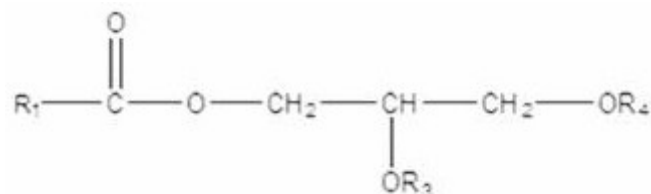
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7, R₆任选地包含一个或多个醚键;

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分;其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基,或不超过一个酯基或羧酸基;其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

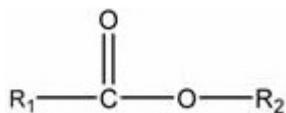
其中在25℃下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

ii) 具有下列结构的甘油酯:



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

iii) 一种或多种下式的酯:



其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

- iv) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;
- b) 过氧源;和
- c) 具有过水解活性的酶催化剂,其中所述酶催化剂包含具有下列通式结构的融合蛋白:

PAH-[L]_y-OCBD

或

OCBD-[L]_y-PAH

其中

PAH为具有过水解活性的酶;其中所述酶是具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的糖酯酶,所述特征基序包括:

- i) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序;
- ii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和
- iii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序;

OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分,其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422;

其中所述肽组分是单链可变片段抗体(scFv)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽;

L为任选的长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;并且

y为0或1;

- 2) 在适宜的反应条件下混合(1)的反应组分,从而酶促产生至少一种过酸;以及
- 3) 使口腔表面与所述至少一种过酸接触,从而所述口腔表面收到基于过酸的益处,所述益处选自漂白或牙齿美白、以及它们的组合,

其中所述方法用于非治疗和非诊断目的。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述对口腔表面具有亲和力的肽组分为缺乏免疫球蛋白折叠的单链多肽。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述单链多肽包含至少一种口腔表面结合肽,所述口腔表面结合肽的长度在15至60个氨基酸的范围内并且对所述口腔表面具有10⁻⁵M或更小的K_D值或MB₅₀值。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述单链多肽包含2至50个口腔表面结合肽,其中所述口腔表面结合肽独立地并且任选地被长度在1至100个氨基酸的范围内的多肽间隔区分开。

9. 根据权利要求1或权利要求5所述的方法,其中所述口腔表面为牙齿表面。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中所述牙齿表面包括牙釉、牙膜或它们的组合。

11. 根据权利要求7所述的方法,其中所述口腔表面结合肽为牙釉结合肽。

12. 根据权利要求7所述的方法,其中所述口腔表面结合肽为牙膜结合肽。

13. 根据权利要求1或权利要求5所述的方法,其中在混合所述一组反应组分5分钟内产生500ppb至10,000ppm的浓度的过酸。

14. 根据权利要求13所述的方法, 其中使所述过酸与所述口腔护理表面接触小于1小时。

15. 根据权利要求1或权利要求5所述的方法, 其中所述过酸为过乙酸。

16. 根据权利要求15所述的方法, 其中在混合所述反应组分5分钟内酶促产生有效浓度的过乙酸并且使所述过乙酸与所述口腔表面接触。

17. 根据权利要求1或权利要求5所述的方法, 其中所述底物包括甘油三乙酸酯。

18. 融合蛋白, 包含下列通式结构:

PAH-[L]_y-OCBD

或

OCBD-[L]_y-PAH

其中

1) PAH为具有过水解活性的酶; 其中所述酶是具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的糖酯酶, 所述特征基序包括:

i) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

ii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序; 和

iii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序;

2) OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分, 其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422; 其中所述肽组分是单链可变片段抗体(scFv)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽;

3) L为长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头; 并且

4) y为0或1。

19. 根据权利要求18所述的融合蛋白, 其中所述具有过水解活性的酶为来自耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)的芳基酯酶。

20. 根据权利要求18或权利要求19所述的融合蛋白, 其中所述对口腔表面具有亲和力的肽组分为缺乏免疫球蛋白折叠的单链多肽。

21. 根据权利要求20所述的融合蛋白, 其中所述单链多肽包含至少一种长度在15至60个氨基酸的范围内的口腔表面结合肽。

22. 根据权利要求21所述的融合蛋白, 其中所述至少一种口腔表面结合肽具有 10^{-5} M或更小的K_D值或MB₅₀值。

23. 根据权利要求20所述的融合蛋白, 其中所述单链多肽包含2至50个口腔表面结合肽, 其中所述口腔表面结合肽独立地并且任选地被长度在1至100个氨基酸的范围内的多肽间隔区分开。

24. 根据权利要求18和19中任一项所述的融合蛋白, 其中所述对口腔表面具有亲和力的肽组分包含不超过200个氨基酸的长度。

25. 口腔护理产品, 包括:

1) 包含权利要求18的融合蛋白的酶催化剂;

2) 至少一种选自下列的底物:

a) 具有下列结构的酯:

[X]_mR₅

其中X=式R₆C(O)O的酯基；

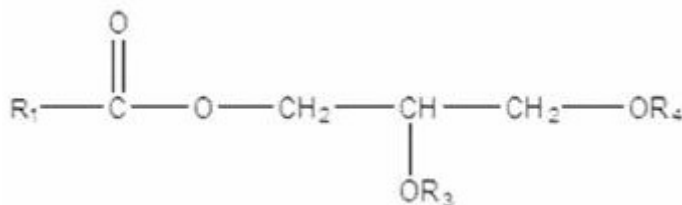
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分，其中对于R₆=C2-C7，R₆任选地包含一个或多个醚键；

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分；其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基，或不超过一个酯基或羧酸基；其中R₅任选地包含一个或多个醚键；

M为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数；并且

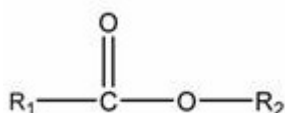
其中在25℃下，所述酯具有至少5ppm的水中溶解度；

b) 具有下列结构的甘油酯：



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O)；

c) 一种或多种下式的酯：



其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH，并且n为1至10；和

c) 选自下列的乙酰化糖：乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖；

3) 过氧源；和

4) 口腔上可接受的载体介质。

26. 口腔护理产品，包括：

1) 权利要求18的融合蛋白，

2) 至少一种选自下列的底物：

a) 具有下列结构的酯：



其中X=式R₆C(O)O的酯基；

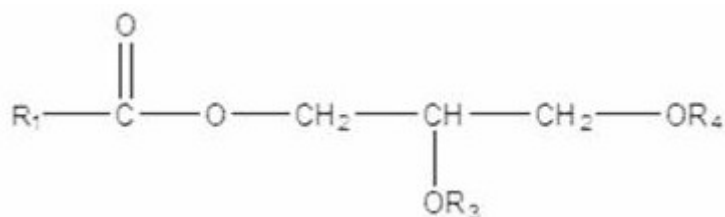
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分，其中对于R₆=C2-C7，R₆任选地包含一个或多个醚键；

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分；其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基，或不超过一个酯基或羧酸基；其中R₅任选地包含一个或多个醚键；

M为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数；并且

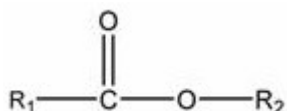
其中在25℃下，所述酯具有至少5ppm的水中溶解度；

b) 具有下列结构的甘油酯:



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

c) 一种或多种下式的酯:



其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

d) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;

3) 过氧源;和

4) 口腔上可接受的载体介质。

27. 根据权利要求25或权利要求26所述的口腔护理产品,其中所述口腔护理产品为下列的形式:粉末、糊料、凝胶、液体、软膏剂、片剂或它们的任何组合。

28. 根据权利要求27所述的口腔护理产品,其中所述液体为漱口水。

29. 根据权利要求26所述的口腔护理产品,其中所述口腔护理产品为牙膏、牙科用乳膏、牙胶、牙粉、漱口水、口气清新剂、牙贴或牙线。

30. 根据权利要求26所述的口腔护理产品,其中所述口腔护理产品为美白牙贴或牙托的形式。

31. 根据权利要求25或权利要求26所述的口腔护理产品,其中在使用所述口腔护理产品之前,所述酶催化剂与所述底物、所述过氧源、或所述底物和所述过氧源二者保持分离。

32. 分离的对口腔表面具有亲和力的多肽,其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422。

33. 具有过水解活性的酶催化剂在口腔护理产品中的用途,所述酶催化剂用于通过使用至少一种底物和过氧源来产生有效浓度的至少一种过酸以美白、消毒、脱色、除臭、或从口腔表面除去生物膜,

其中至少一种底物选自:

i) 具有下列结构的酯:



其中X=式R₆C(O)O的酯基;

R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7,R₆任选地包含一个或多个醚键;

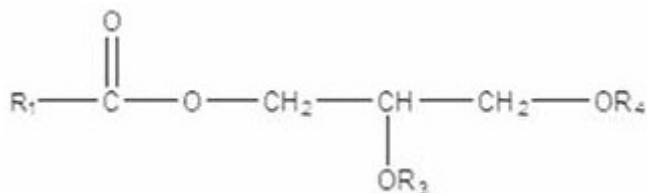
R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六

元环状芳族或杂芳族部分；其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基，或不超过一个酯基或羧酸基；其中R₅任选地包含一个或多个醚键；

m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数；并且

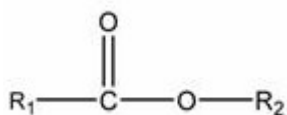
其中在25℃下，所述酯具有至少5ppm的水中溶解度；

ii) 具有下列结构的甘油酯：



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O)；

iii) 一种或多种下式的酯：



其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH，并且n为1至10；和

iv) 选自下列的乙酰化糖：乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖；

其中所述酶催化剂包含融合蛋白，所述融合蛋白包含下列通式结构：

PAH-[L]_y-OCBD

或

OCBD-[L]_y-PAH

其中

1) PAH为具有过水解活性的酶；其中所述酶是具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的糖酯酶，所述特征基序包括：

i) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序；

ii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序；和

iii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序；

2) OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分，其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422；其中所述肽组分是单链可变片段抗体(scFv)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽；

3) L为长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头；并且

4) y为0或1，

其中所述用途用于非治疗和非诊断目的。

34. 具有过水解活性的酶催化剂在口腔护理产品中的用途，所述酶催化剂用于通过使用至少一种底物和过氧源来产生有效浓度的至少一种过酸以口腔漂白，

其中至少一种底物选自：

i) 具有下列结构的酯:



其中X=式R₆C(=O)O的酯基;

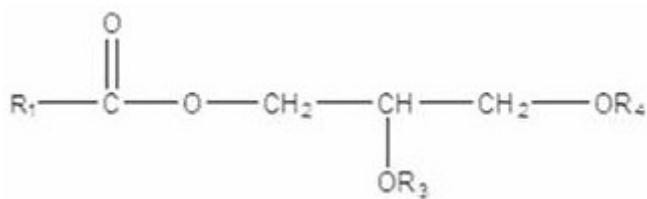
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7,R₆任选地包含一个或多个醚键;

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分;其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基,或不超过一个酯基或羧酸基;其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

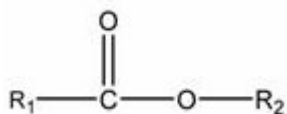
其中在25℃下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

ii) 具有下列结构的甘油酯:



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(=O);

iii) 一种或多种下式的酯:



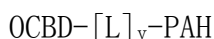
其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

iv) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;

其中所述酶催化剂包含融合蛋白,所述融合蛋白包含下列通式结构:



或



其中

1) PAH为具有过水解活性的酶;其中所述酶是具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的糖酯酶,所述特征基序包括:

i) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

ii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和

iii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序;

2) OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分,其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422;其中所述肽组分是单链可变片段抗体(scFv)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽;

3) L为长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;并且

4) y为0或1,

其中所述用途用于非治疗和非诊断目的。

35.过酸生成组合物在制备试剂中的用途,所述试剂用于治疗或预防龋齿、齿龈炎、口腔念珠菌病、或牙周炎,所述过酸生成组合物包括:

1) 具有过水解活性的酶催化剂,其中所述酶催化剂包含具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的酶,所述特征基序包括:

a) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

b) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和

c) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序;

其中所述具有过水解活性的酶为融合蛋白的形式,所述融合蛋白包含至少一个对口腔表面具有亲和力的部分,其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422;和

2) 至少一种选自下列的底物:

a) 具有下列结构的酯:



其中X=式R₆C(O)O的酯基;

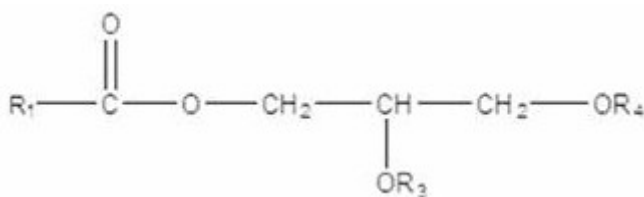
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7,R₆任选地包含一个或多个醚键;

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分;其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基,或不超过一个酯基或羧酸基;其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

M为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

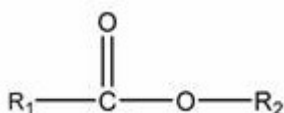
其中在25℃下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

b) 具有下列结构的甘油酯:



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

c) 一种或多种下式的酯:



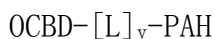
其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

- d) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;和
 3) 过氧源;
 从而在混合(1)、(2)和(3)时形成过酸。

36.融合蛋白通过使用至少一种底物和过氧源在口腔美白或漂白产品中的用途,所述融合蛋白包含下列通式结构:



或



其中至少一种底物选自:

- i) 具有下列结构的酯:



其中X=式R₆C(O)O的酯基;

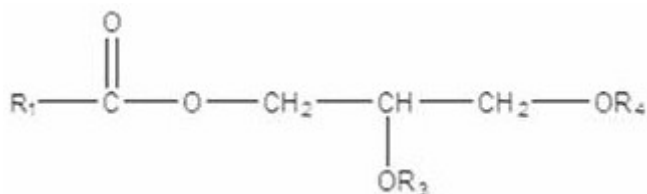
R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7,R₆任选地包含一个或多个醚键;

R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分;其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基,或不超过一个酯基或羧酸基;其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

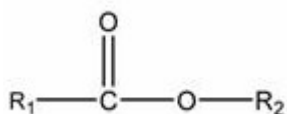
其中在25℃下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

- ii) 具有下列结构的甘油酯:



其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

- iii) 一种或多种下式的酯:



其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

- iv) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;

其中

1) PAH为具有过水解活性的酶,其氨基酸序列为SEQ ID NO: 460;其中所述酶是具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO: 2比对的CE-7特征基序的糖酯酶,所述特征基序包括:

- i) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置118-120的位置处的RGQ基序;
 - ii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和
 - iii) 在对应于SEQ ID NO: 2的位置298-299的位置处的HE基序;
- 2) OCBBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分,其氨基酸序列选自SEQ ID NO: 401、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422;其中所述肽组分是单链可变片段抗体(scFv)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽;
- 3) L为长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;并且
- 4) y为0或1,
- 其中所述用途用于非治疗和非诊断目的。

用于口腔护理产品的酶促过酸生产

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本专利申请要求2010年12月20日提交的美国临时专利申请61/424,903的权益,该专利全文以引用方式并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及包含至少一种用作口腔护理有益剂的过酸的个人护理产品领域。过酸在至少一种适宜的羧酸酯底物和过氧源存在的情况下酶促产生。具体地,具有过水解活性的酶催化剂用于制备过酸有益剂,其用于口腔护理产品。过水解酶可为经工程化以包含至少一个肽组分的融合蛋白(“靶向过水解酶”)形式,所述肽组分具有对口腔表面的亲和力,使得在期望表面上或接近期望表面处产生酶促产生的过酸。

背景技术

[0004] 过氧羧酸(“过酸”)是有效的抗微生物剂。针对不希望有的微生物生长,对硬质表面、食物产品、活植物组织、和医疗设备进行清洁、消毒、和/或卫生处理的方法已有所描述(如美国专利公开6,545,047;美国专利公开6,183,807;美国专利公开6,518,307;美国专利公开5,683,724和美国专利公开6,635,286)。过酸可用于制备衣物洗涤剂所用的漂白组合物也有所报道(如美国专利公开3,974,082;美国专利公开5,296,161;以及美国专利公开5,364,554)。

[0005] 也已经公开了包含过酸的口腔护理组合物。授予Viscio,D.的美国专利公开5,302,375公开了用于美白牙齿的口腔护理组合物,其包含溶解在载体中的过乙酸,其中所述过乙酸通过混合水、乙酰水杨酸、和水溶性碱金属过碳酸盐在载体中原位产生。授予Church等人的美国专利公开5,279,816公开了包含过乙酸的组合物用于美白色斑或变色牙齿的用途。授予Montgomery,R.的美国专利公开6,221,341和7,189,385公开了适用于美白牙齿方法的过氧酸牙齿增白组合物。更具体地,通过混合过氧化氢前体、乙酸甘油酯、和水产生过乙酸组合物,用于经由化学过水解产生过乙酸。未描述酶促过水解。

[0006] 授予Concar等人的美国专利公开申请公布2009-0311198公开了包含具有过水解活性的耻垢分枝杆菌(*M. smegmatis*)酶以漂白牙齿的口腔组合物。未公开CE-7过水解酶用于产生过酸有益剂的用途。Concar等人也未描述口腔护理组合物中靶向过水解酶的用途。

[0007] 在身体护理产品中包括具有过水解活性的特定枯草菌溶素(subtilisin Carlsberg)蛋白酶变体在授予Wieland等人的美国专利公开7,510,859中公开。除特定蛋白酶变体之外的过水解酶未被描述,也没有任何有效的例子展示酶促产生过酸作为个人护理有益剂。

[0008] 授予DiCosimo等人的美国专利公开申请公布2008-0176783A1;2008-0176299A1;2009-0005590A1;和2010-0041752A1公开了结构上归类为糖酯酶CE-7家族的成员的酶(即,先锋霉素C脱乙酰酶[CAH]和乙酰木聚糖酯酶[AXE]),它们特征在于将羧酸酯底物(在合适的过氧来源如过氧化氢的存在下)转化成浓度足以用作消毒剂和/或漂白剂的过氧羧酸的

显著过水解活性。已证实,糖酯酶CE-7家族的一些成员具有足够的过水解活性,一旦将反应组分混合后,能在1分钟内由一元醇、二醇和甘油的乙酰酯生成4000至5000ppm的过乙酸,并在5分钟至30分钟内生成高达9000ppm的过乙酸(DiCosimo等人,美国专利2009-0005590A1)。美国专利公开申请公布2010-0087529A1描述了具有改善过水解活性的CE-7酶变体。虽然CE-7过水解酶具有优异的过水解活性,尚未公开它们在个人护理产品中的用途。同样地,需解决的一个问题是提供个人护理组合物和包括使用至少一种CE-7过水解酶以生产过酸有益剂的方法。

[0009] 过酸是强氧化剂,它可与多种物质发生反应,包括不是靶向期望益处的物质。同样地,某些个人护理应用可得益于通过在期望的靶向身体表面上或其附近的局部过酸生产将过酸有益剂靶向/集中在期望身体表面的能力。酶促过酸生产可通过将过水解酶定向于身体表面产生益处。附加益处可通过将过水解酶定向于递送材料以限制酶浓度并暴露于使用者来获得。

[0010] 已经报道了口腔护理组合物和/或用联接于口腔材料的酶处理口腔护理表面的方法。授予Simonson等人的美国专利公开4,138,476公开了处理牙斑的方法,所述方法包括使用经由复合试剂共价偶联到磷酸盐载体基团上的葡聚糖-降解酶,所述磷酸盐载体基团具有对牙齿表面的亲和力。据报道葡聚糖沉积物的酶促降解促进牙斑材料的溶解和分散。

[0011] 授予Budny等人的美国专利公开申请公布2005-0158253、美国专利公开6,830,745公开了一种双组分组合物,其包含用于酶促降解生物膜结构的锚定酶复合物和能够直接作用于细菌的第二锚定酶组分。生物膜降解酶是那些直接降解表多糖主链结构的酶。

[0012] 授予Budny,J.的美国专利公开5,871,714公开了用于控制细菌生长/定植(例如减少牙斑)的组合物,其包含降解联接到锚定分子上的牙斑基质的酶。未公开靶向过水解酶的用途。

[0013] 授予Beggs等人的美国专利公开5,490,988和EP0479,600B1公开了用作结合到目标位点的手段的抗体片段的用途,其中治疗剂通过附连于抗体片段的附加肽连接以将治疗剂附接于目标位点。公开了口腔护理产品,其包含具有对牙斑中细菌抗原组分的亲和力的改性抗体片段,用于递送治疗剂。治疗剂可为由酶或组合酶产生的细胞毒类药物,例如氧化酶与过氧化物酶组合形成的氧化卤。未描述靶向过水解酶用于生产过酸有益剂的用途。

[0014] 授予Beggs等人的EP0450,800B1公开了利用两种不同的酶一起用于杀灭口腔微生物区系中存在的菌种。第一种酶产生中间产物,其用作第二种酶的底物以产生对口腔内目标的活性剂。将每种酶附接到具有对口腔内目标表面的亲和力的抗体或抗体片段上,从而将应用的酶联接到彼此接近的目标位点。例示的是葡萄糖氧化酶的组合,其用于制备过氧化氢,然后过氧化氢可被过氧化物酶在卤离子或硫氰酸盐存在的情况下转化以分别产生次氯酸盐或亚硫氰酸盐。未描述靶向过水解酶用于生产过酸有益剂的用途。

[0015] 授予Beggs等人的EP0451,972B1描述了包含两种酶的产物,所述产物包含产生目标活性剂的第一种酶和产生中间产物的第二种酶,所述中间产物是第一种酶的底物;所述产物还包括附接或可附接到两种酶上以将所述酶联接在一起,从而形成结合到靶向细胞上的复合物的联接方法(即,抗体或抗体片段)。例示的是联接到过氧化物酶上的氧化酶(能够产生过氧化氢),其催化次氯酸盐或亚硫氰酸盐活性剂的形成。

[0016] 授予Beggs等人的EP0453,097B1描述了使用多个抗体或抗体片段将活性剂递送到

目标位点,所述抗体或抗体片段能够自组装以形成在活性剂和目标位点之间的桥接。活性剂是葡萄糖氧化酶或葡萄糖氧化酶和过氧化物酶的组合。未描述靶向过水解酶用于生产过酸有益剂的用途。

[0017] 由于它们的尺寸和成本,抗体、抗体片段(Fab)、单链融合可变区抗体(scFc)、骆驼科(Camelidae)抗体、和作为肽亲和材料的大支架展示蛋白的用途可能不适于一些个人护理应用。同样地,在某些低成本的化妆品应用中需要使用较短的、较便宜的肽亲和材料以定向递送有益剂。

[0018] 具有对身体表面强亲和力以将化妆品有益剂定向于身体表面的较短的、生物淘选的肽的用途已经有所描述(美国专利公开7,220,405;7,309,482;7,285,264和7,807,141;美国专利公开申请公布2005-0226839A1;2007-0196305A1;2006-0199206A1;2007-0065387A1;2008-0107614A1;2007-0110686A1;2006-0073111A1;2010-0158846;2010-0158847;和2010-0247589;以及公布的PCT专利申请W02008/054746;W02004/048399、和W02008/073368)。授予Huang等人的美国专利公开7,807,141公开了肽基口腔护理表面试剂,其适于将口腔护理有益剂联接到牙齿表面。对口腔表面具有亲和力以联接活性CE-7过水解酶(即,“靶向过水解酶”)用于生产过酸有益剂的肽材料的用途尚未有所描述。

[0019] 同样地,需解决的一个附加问题是提供适于将酶促过酸生产定向于口腔表面的组合物和方法。

发明内容

[0020] 本发明提供了方法和组合物,所述组合物包括酶促生产并递送基于过酸的有益剂到口腔表面的组分。

[0021] 在一个实施例中,提供了口腔护理组合物和方法,所述方法使用CE-7过水解酶酶促生产过酸有益剂用于口腔护理用途,例如口腔表面漂白、牙齿美白、消毒、脱色、除臭、治疗龋齿、预防龋齿、减少与龋齿相关联的口腔细菌、以及治疗或除去口腔生物膜(例如牙斑)。

[0022] 在一个实施例中,提供了方法,所述方法包括:

[0023] 1) 提供一组反应组分,所述反应组分包括:

[0024] a) 至少一种选自下列的底物:

[0025] i) 具有下列结构的酯:

[0026] $[X]_m R_5$

[0027] 其中X=式R₆C(O)O的酯基;

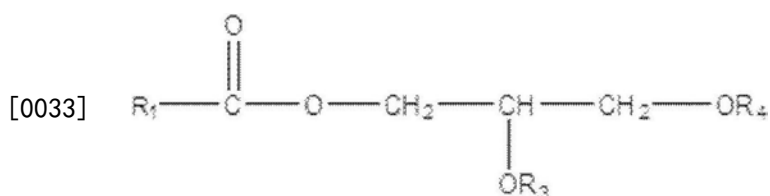
[0028] R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7,R₆任选地包含一个或多个醚键;

[0029] R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分;其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基,或不超过一个酯基或羧酸基;其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

[0030] m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

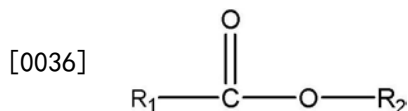
[0031] 其中在25°C下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

[0032] ii) 具有下列结构的甘油酯:



[0034] 其中 R_1 = 任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基, 并且 R_3 和 R_4 各自为H或 $\text{R}_1\text{C}(\text{O})$;

[0035] iii) 一种或多种下式的酯:



[0037] 其中 R_1 为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基, 并且 R_2 为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ 、或 $(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_n\text{H}$, 并且 n 为1至10; 和

[0038] iv) 选自下列的乙酰化糖: 乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;

[0039] b) 过氧源; 和

[0040] c) 具有过水解活性的酶催化剂, 其中所述酶催化剂包含具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO:2比对的CE-7特征基序的酶, 所述特征基序包括:

[0041] i) 在对应于SEQ ID NO:2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

[0042] ii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置179-183的位置处的GXSQG基序; 和

[0043] iii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置298-299的位置处的HE基序; 和

[0044] 2) 在适宜的反应条件下混合(1)的反应组分, 从而酶促产生至少一种过酸; 和

[0045] 3) 使口腔表面与所述至少一种过酸接触, 从而所述口腔表面收到基于过酸的益处, 所述益处选自漂白、牙齿美白、消毒、脱色、除臭、减少或除去生物膜、以及它们的组合。

[0046] 在一个实施例中, 所述口腔表面是牙釉、牙膜、口腔内的软组织(例如牙龈、舌头)、或口腔生物膜(例如口腔牙斑)。

[0047] 在另一个实施例中, 提供了组合物和方法, 它们包括使用融合蛋白(即, “靶向过水解酶”), 其包含过水解酶和对口腔表面具有亲和力的肽组分, 其中所述两种组分可任选地被肽间隔区分开。

[0048] 在一个实施例中, 提供了方法, 所述方法包括:

[0049] 1) 提供一组反应组分, 所述反应组分包括:

[0050] a) 至少一种选自下列的底物:

[0051] i) 具有下列结构的酯:

[0052] $[\text{X}]_m\text{R}_5$

[0053] 其中 X = 式 $\text{R}_6\text{C}(\text{O})\text{O}$ 的酯基;

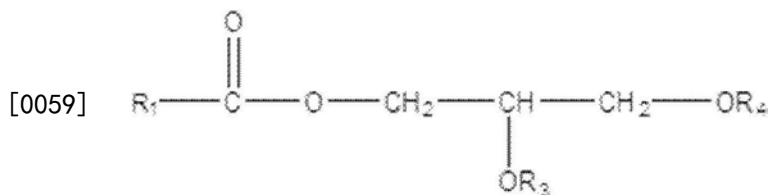
[0054] R_6 = 任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分, 其中对于 $\text{R}_6 = \text{C}2-\text{C}7$, R_6 任选地包含一个或多个醚键;

[0055] R_5 = 任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分; 其中 R_5 中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基或不超过一个酯基或羧酸基; 其中 R_5 任选地包含一个或多个醚键;

[0056] m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

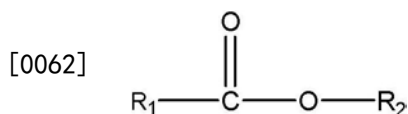
[0057] 其中在25℃下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

[0058] ii) 具有下列结构的甘油酯:



[0060] 其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

[0061] iii) 一种或多种下式的酯:



[0063] 其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、(CH₂CH₂O)_n、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

[0064] iv) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;

[0065] b) 过氧源;和

[0066] c) 具有过水解活性的酶催化剂,其中所述酶催化剂包含融合蛋白,所述融合蛋白具有下列通式结构:

[0067] PAH-[L]_y-OCBD

[0068] 或

[0069] OCBD-[L]_y-PAH

[0070] 其中

[0071] PAH为具有过水解活性的酶;

[0072] OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分;并且

[0073] L为任选的长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;

[0074] 并且

[0075] y为0或1;

[0076] 2) 在适宜的反应条件下混合(1)的反应组分,从而酶促产生至少一种过酸;以及

[0077] 3) 使口腔表面与所述至少一种过酸接触,从而所述口腔表面收到基于过酸的益处,所述益处选自漂白、牙齿美白、消毒、脱色、除臭、减少或除去生物膜、以及它们的组合。

[0078] 所述融合蛋白可包含过水解酶,其选自脂肪酶、蛋白酶、酯酶、酰基转移酶、芳基酯酶、糖酯酶、以及它们的组合。

[0079] 在一个实施例中,融合蛋白包含来自耻垢分枝杆菌的过水解芳基酯酶(ArE)。在另一个实施例中,所述融合蛋白包含过水解酶,其具有与S54V耻垢分枝杆菌芳基酯酶SEQ ID NO:460具有至少95%的同一性的氨基酸序列。

[0080] 在一个实施例中,所述融合蛋白包含来自荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)的过水解酯酶。在另一个实施例中,所述融合蛋白包含过水解酶,其具有与荧

光假单胞菌芳基酯酶SEQ ID NO:477具有至少95%的同一性的氨基酸序列。

[0081] 在另一个实施例中,所述融合蛋白包含过水解酶,其具有选自SEQ ID NO:424、425、426、427、428、429、430、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、476、477、478和479的氨基酸序列。

[0082] 在另一个实施例中,所述融合蛋白包含CE-7过水解酶,其具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO:2比对的CE-7特征基序,所述特征基序包括:

[0083] i) 在对应于SEQ ID NO:2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

[0084] ii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和

[0085] iii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置298-299的位置处的HE基序。

[0086] 在另一个实施例中,对口腔表面具有亲和力的肽组分优选地为单链肽,其包含至少一种口腔表面结合肽。在另一个实施例中,口腔表面结合肽为对牙釉、牙膜、或牙釉和牙膜二者具有亲和力的肽。

[0087] 在另一个实施例中,提供了融合蛋白,所述融合蛋白包含下列通式结构:

[0088] PAH-[L]_y-OCBD

[0089] 或

[0090] OCBD-[L]_y-PAH

[0091] 其中

[0092] 1) PAH为具有过水解活性的酶;

[0093] 2) OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分;

[0094] 3) L为任选的长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;并且

[0095] 4) y为0或1。

[0096] 在另一个实施例中,提供了融合蛋白,所述融合蛋白包含下列通式结构:

[0097] PAH-[L]_y-OCBD

[0098] 或

[0099] OCBD-[L]_y-PAH

[0100] 其中

[0101] a) PAH为具有过水解活性的CE-7糖酯酶;所述PAH具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO:2比对的CE-7特征基序,所述特征基序包括:

[0102] i) 在对应于SEQ ID NO:2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

[0103] ii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和

[0104] iii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置298-299的位置处的HE基序;并且

[0105] b) OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分;

[0106] c) L为任选的长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头;并且

[0107] d) y为0或1。

[0108] 在另一个实施例中,提供了口腔护理产品,所述口腔护理产品包括:

[0109] 1) 包含任何上述过水解融合蛋白的酶催化剂;

[0110] 2) 至少一种选自下列的底物:

[0111] a) 具有下列结构的酯:

[0112] $[X]_m R_5$

[0113] 其中X=式R₆C(O)O的酯基；

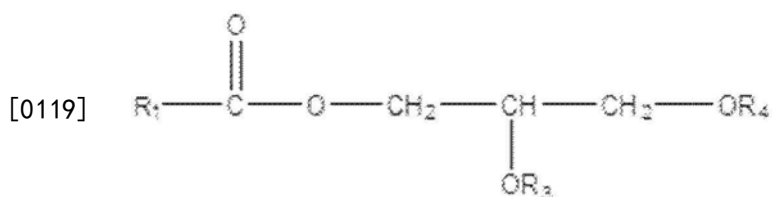
[0114] R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分，其中对于R₆=C2-C7，R₆任选地包含一个或多个醚键；

[0115] R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分；其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基，或不超过一个酯基或羧酸基；其中R₅任选地包含一个或多个醚键；

[0116] m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数；并且

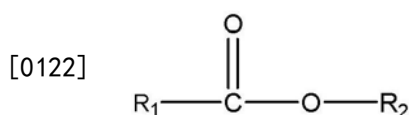
[0117] 其中在25℃下，所述酯具有至少5ppm的水中溶解度；

[0118] b) 具有下列结构的甘油酯：



[0120] 其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O)；

[0121] c) 一种或多种下式的酯：



[0123] 其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、(CH₂CH₂O)_n、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH，并且n为1至10；和

[0124] d) 选自下列的乙酰化糖：乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖；

[0125] 3) 过氧源；和

[0126] 4) 口腔上可接受的载体介质。

[0127] 在另一个实施例中，提供了口腔护理产品，所述口腔护理产品包括：

[0128] 1) 具有过氧化水解活性的酶催化剂，其中所述酶催化剂包含具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO:2比对的CE-7特征基序的酶，所述特征基序包括：

[0129] a) 在对应于SEQ ID NO:2的位置118-120的位置处的RGQ基序；

[0130] b) 在对应于SEQ ID NO:2的位置179-183的位置处的GXSQG基序；和

[0131] c) 在对应于SEQ ID NO:2的位置298-299的位置处的HE基序；

[0132] 和

[0133] 2) 至少一种选自下列的底物：

[0134] a) 具有下列结构的酯：

[0135] $[X]_m R_5$

[0136] 其中X=式R₆C(O)O的酯基；

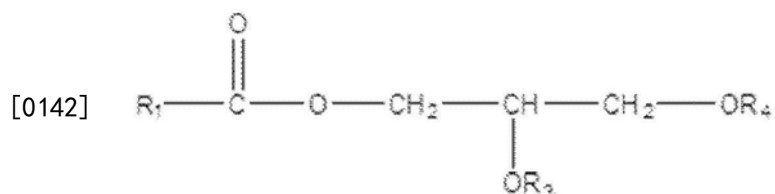
[0137] R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分，其中对于R₆=C2-C7，R₆任选地包含一个或多个醚键；

[0138] R_5 = 任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分；其中 R_5 中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基或不超过一个酯基或羧酸基；其中 R_5 任选地包含一个或多个醚键；

[0139] m 为1至 R_5 中碳原子数量的范围内的整数；并且

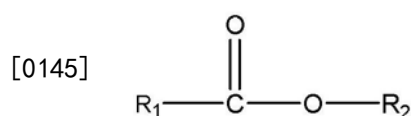
[0140] 其中在25℃下，所述酯具有至少5ppm的水中溶解度；

[0141] b) 具有下列结构的甘油酯：



[0143] 其中 R_1 = 任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且 R_3 和 R_4 各自为H或 $R_1C(O)$ ；

[0144] c) 一种或多种下式的酯：



[0146] 其中 R_1 为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且 R_2 为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、 $(CH_2CH_2O)_n$ 、或 $(CH_2CH(CH_3)-O)_nH$ ，并且 n 为1至10；和

[0147] d) 选自下列的乙酰化糖：乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖；

[0148] 3) 过氧源；和

[0149] 4) 口腔上可接受的载体介质。

[0150] 在另一个实施例中，提供了分离的对口腔表面具有亲和力的多肽，所述多肽具有选自SEQ ID NO:399、400、401、402、403、404、405、406、407、408、409、410、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421和422的氨基酸序列。

[0151] 在另一个实施例中，也提供了在口腔护理产品中使用具有过水解活性的CE-7糖酯酶以产生有效浓度的至少一种过酸，用于漂白、美白、消毒、脱色、除臭或从口腔材料/表面除去生物膜的方法。

[0152] 在另一个实施例中，提供了过酸生成组合物的用途，所述过酸生成组合物用于治疗或预防龋齿、牙龈炎、口腔念珠菌病、或牙周炎，所述过酸生成组合物包括：

[0153] a) 具有过氧化水解活性的酶催化剂，其中所述酶催化剂包含具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO:2比对的CE-7特征基序的酶，所述特征基序包括：

[0154] i) 在对应于SEQ ID NO:2的位置118-120的位置处的RGQ基序；

[0155] ii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置179-183的位置处的GXSSG基序；和

[0156] iii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置298-299的位置处的HE基序；

[0157] 和

[0158] b) 至少一种选自下列的底物：

[0159] 1) 具有下列结构的酯：

[0160] $[X]_mR_5$

[0161] 其中X=式R₆C(O)O的酯基；

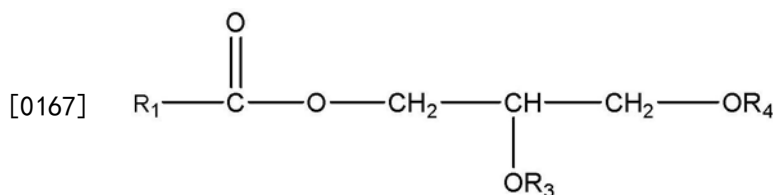
[0162] R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分，其中对于R₆=C2-C7，R₆任选地包含一个或多个醚键；

[0163] R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族或六元环状芳族或杂芳族部分；其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基或不超过一个酯基或羧酸基；其中R₅任选地包含一个或多个醚键；

[0164] m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数；并且

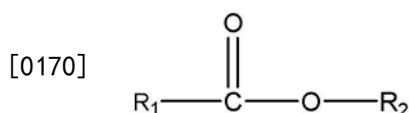
[0165] 其中在25℃下，所述酯具有至少5ppm的水中溶解度；

[0166] 2) 具有下列结构的甘油酯：



[0168] 其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O)；

[0169] 3) 一种或多种下式的酯：



[0171] 其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、(CH₂CH₂O)_n、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH，并且n为1至10；和

[0172] d) 选自下列的乙酰化糖：乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖；和

[0173] c) 过氧源；

[0174] 从而在混合时同时形成过酸或以逐步方式(但是不以特定顺序)，通过(a)、(b)、和(c)形成过酸。

[0175] 在另一个实施例中，提供了在口腔产品中使用包含下列通式结构的融合蛋白的方法，其包括：

[0176] PAH-[L]_y-OCBD

[0177] 或

[0178] OCBD-[L]_y-PAH

[0179] 其中

[0180] 1) PAH为具有过水解活性的酶，其具有与SEQ ID NO:460具有至少95%的氨基酸同一性的氨基酸序列；

[0181] 2) OCBD为对口腔表面具有亲和力的肽组分；

[0182] 3) L为长度在1至100个氨基酸的范围内的肽接头；并且

[0183] 4) y为0或1。

[0184] 本文所述的多个酯底物(表20)当与过氧化氢反应以产生过乙酸时，尤其易受化学过水解的影响。在另一个实施例中，提供了个人护理产品，其包括过酸前体，所述过酸前体

选自1,2,3,5-四-O-乙酰基-呋喃核糖;1,2,3,4-四-O-乙酰基-吡喃核糖;2-乙酰氨基-2-脱氧-1,3,4,6-四乙酰-β-D-吡喃葡萄糖;β-D-吡喃葡萄糖;1,2,3,4-四乙酸酯;2,3,4,6-四乙酰-β-D-吡喃葡萄糖;1,3,4,6-四-O-乙酰基-吡喃甘露糖;和α-D-五乙酸甘露糖酯。在一个优选的实施例中,个人护理产品是口腔护理产品。

[0185] 在另一个实施例中,也提供了方法,其包括:

[0186] a) 提供一组反应组分,所述反应组分包括:

[0187] i) 过酸前体,其选自1,2,3,5-四-O-乙酰基-呋喃核糖;1,2,3,4-四-O-乙酰基-吡喃核糖;2-乙酰氨基-2-脱氧-1,3,4,6-四乙酰-β-D-吡喃葡萄糖;β-D-吡喃葡萄糖;1,2,3,4-四乙酸酯;2,3,4,6-四乙酰-β-D-吡喃葡萄糖;1,3,4,6-四-O-乙酰基-吡喃甘露糖;和α-D-五乙酸甘露糖酯;和

[0188] ii) 过氧源;

[0189] b) 使身体表面与有效量的过乙酸接触,所述过乙酸通过在水存在的情况下混合所述反应组分产生;从而所述过乙酸向所述身体表面提供益处。

[0190] 在一个优选的方面,在上述方法中的身体表面是口腔组织,例如牙齿和/或牙龈。

[0191] 生物序列简述

[0192] 下面的序列遵循37C.F.R. §§1.821-1.825 (“对包含核苷酸序列和/或氨基酸序列公开内容的专利申请的要求-序列规则”(“Requirements for Patent Applications Containing Nucleotide Sequences and/or Amino Acid Sequence Disclosures-the Sequence Rules”)),并且符合世界知识产权组织(World Intellectual Property Organization) (WIPO) ST.25标准(2009)以及European Patent Convention (EPC) 和Patent Cooperation Treaty (PCT) 的序列表要求(规则5.2和49.5 (a-bis) 以及行政指令(Administrative Instructions)的208节和附录C)。用于核苷酸和氨基酸序列数据的符号和格式遵循如37C.F.R. §1.822所示的规定。

[0193] SEQ ID NO:1是编码来自枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) ATCC®31954™的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列。

[0194] SEQ ID NO:2是来自枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) ATCC®31954™的先锋霉素C脱乙酰酶的氨基酸序列。

[0195] SEQ ID NO:3是编码来自枯草芽孢杆菌枯草亚种(*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis*) 菌株168的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列。

[0196] SEQ ID NO:4是来自枯草芽孢杆菌枯草亚种(*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis*) 菌株168的先锋霉素C脱乙酰酶的氨基酸序列。

[0197] SEQ ID NO:5是编码来自枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) ATCC®6633™的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列。

[0198] SEQ ID NO:6是来自枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) ATCC®6633™的先锋霉素C脱乙酰酶的氨基酸序列。

[0199] SEQ ID NO:7是编码来自地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*) ATCC®14580™的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列。

[0200] SEQ ID NO:8是来自地衣芽孢杆菌 ATCC®14580™的先锋霉素C脱乙酰酶的推导

氨基酸序列。

[0201] SEQ ID NO:9是编码来自短小芽孢杆菌 (*B. pumilus*) PS213的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0202] SEQ ID NO:10是来自短小芽孢杆菌PS213的乙酰木聚糖酯酶的推导氨基酸序列。

[0203] SEQ ID NO:11是编码来自热纤梭菌 (*Clostridium thermocellum*) ATCC® 27405™的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0204] SEQ ID NO:12是来自热纤梭菌 (*Clostridium thermocellum*) ATCC® 27405™的乙酰木聚糖酯酶的推导氨基酸序列。

[0205] SEQ ID NO:13是编码来自那不勒斯栖热袍菌 (*Thermotoga neapolitana*) 的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0206] SEQ ID NO:14是来自那不勒斯栖热袍菌 (*Thermotoga neapolitana*) 的乙酰木聚糖酯酶的氨基酸序列。

[0207] SEQ ID NO:15是编码来自海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) MSB8的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0208] SEQ ID NO:16是来自海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) MSB8的乙酰木聚糖酯酶的氨基酸序列。

[0209] SEQ ID NO:17是编码来自热厌氧杆菌属 (*Thermoanaerobacterium* sp.) JW/SL YS485的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0210] SEQ ID NO:18是热厌氧杆菌属 (*Thermoanaerobacterium* sp.) JW/SL YS485乙酰木聚糖酯酶的推导氨基酸序列。

[0211] SEQ ID NO:19是来自芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) NRRL B-14911的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列。应该指出的是,编码来自芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) NRRL B-14911的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列在GENBANK® 登录号ZP_01168674中据报告似乎会编码在N端增加的15个氨基酸,根据与其他先锋霉素C脱乙酰酶的序列比对,以及根据报告长度(340个氨基酸)与其他CAH酶的观测长度(通常为318至325个氨基酸;参见美国专利公开申请公布US-2010-0087528-A1;其以引用方式并入本文),这可能是不正确的。同样地,本文报告的核酸序列编码来自芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) NRRL B-14911的先锋霉素C脱乙酰酶的序列,该序列无以GENBANK® 登录号ZP_01168674报告的N-末端的15个氨基酸。

[0212] SEQ ID NO:20是来自芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) NRRL B-14911的先锋霉素C脱乙酰酶的推导氨基酸序列,其由核酸序列SEQ ID NO:19编码。

[0213] SEQ ID NO:21是编码来自耐盐芽孢杆菌 (*Bacillus halodurans*) C-125的先锋霉素C脱乙酰酶的核酸序列。

[0214] SEQ ID NO:22是来自耐盐芽孢杆菌 (*Bacillus halodurans*) C-125的先锋菌素C脱乙酰酶的推导氨基酸序列。

[0215] SEQ ID NO:23是编码来自克劳氏芽孢杆菌 (*Bacillus clausii*) KSM-K16的先锋菌素C脱乙酰酶的核酸序列。

[0216] SEQ ID NO:24是来自克劳氏芽孢杆菌 (*Bacillus clausii*) KSM-K16的先锋菌素C脱乙酰酶的推导氨基酸序列。

[0217] SEQ ID NO:25是编码枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) ATCC®29233™的先锋霉素C脱乙酰酶 (CAH) 的核酸序列。

[0218] SEQ ID NO:26是枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) ATCC®29233™先锋菌素C脱乙酰酶 (CAH) 的推导氨基酸序列。

[0219] SEQ ID NO:27是那不勒斯栖热袍菌 (*Thermotoga neapolitana*) 乙酰木聚糖酯酶变体的推导氨基酸序列,所述变体来自美国专利公开申请公布2010-0087529 (其全文以引用方式并入本文),其中在位置277的Xaa残基是Ala、Val、Ser、或Thr。

[0220] SEQ ID NO:28是海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) MSB8乙酰木聚糖酯酶变体的推导氨基酸序列,所述变体来自美国专利公开申请公布2010-0087529,其中在位置277的Xaa残基是Ala、Val、Ser、或Thr。

[0221] SEQ ID NO:29是莱廷格热袍菌 (*Thermotoga lettingae*) 乙酰木聚糖酯酶变体的推导氨基酸序列,所述变体来自美国专利公开申请公布2010-0087529,其中在位置277的Xaa残基是Ala、Val、Ser、或Thr。

[0222] SEQ ID NO:30是*Thermotoga petrophila*乙酰木聚糖酯酶变体的推导氨基酸序列,所述变体来自美国专利公开申请公布2010-0087529,其中在位置277的Xaa残基是Ala、Val、Ser、或Thr。

[0223] SEQ ID NO:31是栖热袍菌属 (*Thermotoga* sp.) RQ2乙酰木聚糖酯酶变体的推导氨基酸序列,所述变体来源于“RQ2 (a)”,其来自美国专利公开申请公布2010-0087529,其中在位置277的Xaa残基是Ala、Val、Ser、或Thr。

[0224] SEQ ID NO:32是栖热袍菌属 (*Thermotoga* sp.) RQ2乙酰木聚糖酯酶变体的推导氨基酸序列,所述变体来源于“RQ2 (b)”,其来自美国专利公开申请公布2010-0087529,其中在位置278的Xaa残基是Ala、Val、Ser、或Thr。

[0225] SEQ ID NO:33是莱廷格热袍菌 (*Thermotoga lettingae*) 乙酰木聚糖酯酶的推导氨基酸序列。

[0226] SEQ ID NO:34是*Thermotoga petrophila*乙酰木聚糖酯酶的推导氨基酸序列。

[0227] SEQ ID NO:35是来自栖热袍菌属 (*Thermotoga* sp.) RQ2 (本文称为“RQ2 (a)”) 的第一乙酰木聚糖酯酶的推导氨基酸序列。

[0228] SEQ ID NO:36是栖热袍菌属 (*Thermotoga* sp.) RQ2第二乙酰木聚糖酯酶 (本文称为“RQ2 (b)”) 的推导氨基酸序列。

[0229] SEQ ID NO:37是编码解糖热厌氧杆菌 (*Thermoanaerobacterium saccharolyticum*) 先锋霉素C脱乙酰酶 (CAH) 的经密码子优化的核酸序列。

[0230] SEQ ID NO:38是解糖热厌氧杆菌 (*Thermoanaerobacterium saccharolyticum*) 先锋霉素C脱乙酰酶 (CAH) 的推导氨基酸序列。

[0231] SEQ ID NO:39是编码来自乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) (GENBANK®登录号EU255910) 的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0232] SEQ ID NO:40是来自乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) (GENBANK®登录号ABX75634.1) 的乙酰木聚糖酯酶的氨基酸序列。

[0233] SEQ ID NO:41是编码来自百脉根中慢生根瘤菌 (*Mesorhizobium loti*) (

GENBANK®登录号NC_002678.2)的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0234] SEQ ID NO:42是来自百脉根中慢生根瘤菌(*Mesorhizobium loti*) (GENBANK®登录号BAB53179.1)的乙酰木聚糖酯酶的氨基酸序列。

[0235] SEQ ID NO:43是编码来自嗜热脂肪芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*) (GENBANK®登录号AF038547.2)的乙酰木聚糖酯酶的核酸序列。

[0236] SEQ ID NO:44是来自嗜热脂肪芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*) (GENBANK®登录号AAF70202.1)的乙酰木聚糖酯酶的氨基酸序列。

[0237] SEQ ID NO:45是编码乙酰木聚糖酯酶变体(变体“A3”)的核酸序列,所述变体相对于野生型海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)乙酰木聚糖酯酶氨基酸序列具有下列取代:(F24I/S35T/Q179L/N275D/C277S/S308G/F317S)。

[0238] SEQ ID NO:46是“A3”乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0239] SEQ ID NO:47是编码N275D/C277S乙酰木聚糖酯酶变体的核酸序列。

[0240] SEQ ID NO:48是N275D/C277S乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0241] SEQ ID NO:49是编码C277S/F317S乙酰木聚糖酯酶变体的核酸序列。

[0242] SEQ ID NO:50是C277S/F317S乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0243] SEQ ID NO:51是编码S35T/C277S乙酰木聚糖酯酶变体的核酸序列。

[0244] SEQ ID NO:52是S35T/C277S乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0245] SEQ ID NO:53是编码Q179L/C277S乙酰木聚糖酯酶变体的核酸序列。

[0246] SEQ ID NO:54是Q179L/C277S乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0247] SEQ ID NO:55是编码乙酰木聚糖酯酶变体843H9的核酸序列,所述变体相对于野生型海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)乙酰木聚糖酯酶氨基酸序列具有下列取代:(L8R/L125Q/Q176L/V183D/F247I/C277S/P292L)。

[0248] SEQ ID NO:56是843H9乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0249] SEQ ID NO:57是编码乙酰木聚糖酯酶变体843F12的核酸序列,所述变体相对于野生型海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)乙酰木聚糖酯酶氨基酸序列具有下列取代:K77E/A266E/C277S。

[0250] SEQ ID NO:58是843F12乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0251] SEQ ID NO:59是编码乙酰木聚糖酯酶变体843C12的核酸序列,所述变体相对于野生型海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)乙酰木聚糖酯酶氨基酸序列具有下列取代:F27Y/I149V/A266V/C277S/I295T/N302S。

[0252] SEQ ID NO:60是843C12乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0253] SEQ ID NO:61是编码乙酰木聚糖酯酶变体842H3的核酸序列,所述变体相对于野生型海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)乙酰木聚糖酯酶氨基酸序列具有下列取代:L195Q/C277S。

[0254] SEQ ID NO:62是842H3乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。

[0255] SEQ ID NO:63是编码乙酰木聚糖酯酶变体841A7的核酸序列,所述变体相对于野生型海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)乙酰木聚糖酯酶氨基酸序列具有下列取代:Y110F/C277S。

- [0256] SEQ ID NO:64是841A7乙酰木聚糖酯酶变体的氨基酸序列。
- [0257] SEQ ID NO:65-221、271、和368是对毛发具有亲和力的肽的氨基酸序列的非限制性列表。
- [0258] SEQ ID NO:217-269是对皮肤具有亲和力的肽的氨基酸序列。
- [0259] SEQ ID NO:270-271是对指/趾甲具有亲和力的肽的氨基酸序列。
- [0260] SEQ ID NO:272-382是对口腔表面具有亲和力的肽的氨基酸序列。SEQ ID NO:272-291和312-382对牙膜具有亲和力。SEQ ID NO:292-311对牙釉具有亲和力。
- [0261] SEQ ID NO:383-396是肽接头/间隔区的氨基酸序列。
- [0262] SEQ ID NO:397是表达质粒pLD001的核酸序列。
- [0263] SEQ ID NO:398是测序引物的核酸序列。
- [0264] SEQ ID NO:399-410是实例2的牙釉结合和牙膜结合肽的氨基酸序列。
- [0265] SEQ ID NO:411是具有如表4所示的C-末端赖氨酸的牙齿结合肽DenP03的氨基酸序列。
- [0266] SEQ ID NO:412-422是具有如表4所示的C-末端赖氨酸的牙釉结合肽和牙膜结合肽的氨基酸序列。
- [0267] SEQ ID NO:423是肽HC263的氨基酸序列。
- [0268] SEQ ID NO:424是海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) 变体C277S的氨基酸序列, 在本专利申请中所述变体也称为酶“EZ-1”。
- [0269] SEQ ID NO:425-430和437-467以及479是如表5和/或表6所公开的多个过水解酶构建体的氨基酸序列。
- [0270] SEQ ID NO:431-436和468-475是实例4所公开的多个靶序列的氨基酸序列。
- [0271] SEQ ID NO:476是海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) 变体HTS-007-D5的氨基酸序列, 其具有下列取代: C277T/R296P。
- [0272] SEQ ID NO:477是荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 酯酶的氨基酸序列, 所述酯酶具有过水解活性 (美国专利公开7,384,787; “L29P”变体。注意取代编号按照不包括初始甲硫氨酸残基的引用专利。SEQ ID NO:477包括在残基位置编号30的L29P取代, 因为在该序列中包括初始甲硫氨酸)。
- [0273] SEQ ID NO:478是野生型耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*) 芳基酯酶的氨基酸序列 (美国专利公开7,754,460)。

具体实施方式

- [0274] 在本公开中, 使用了大量的术语和缩写。除非另外特别说明, 下述定义适用。
- [0275] 如本文所用, 涉及元素或组分实例 (即出现的事物) 的数目在本发明元素或组分前的冠词“一个”、“一种”及“所述”旨在是非限制性的。因此, 应将“一个”和“一种”理解为包括一个 (种) 或至少一个 (种), 并且元件或组分的词语单数形式也包括复数指代, 除非有数字明显表示单数。
- [0276] 如本文所用, 术语“包含”意指如权利要求中提及的所述特征、整数、步骤或成分的存在, 但它不预先排除一种或多种其他特征、整数、步骤、成分或其组的存在或添加。术语“包含”旨在包括由术语“基本上由...组成”和“由...组成”涵盖的实施例。类似地, 术语“基

本上由...组成”旨在包括由术语“由...组成”涵盖的实施例。

[0277] 如本文所用,修饰成分或反应物的量使用的术语“约”是指可以通过例如下列方式而发生的用数字表示的量的变化:在真实世界中用于制备浓缩物或使用溶液的一般测量和液体处理操作;通过这些操作中非故意的误差;通过用于制备组合物或执行方法的成分的制造、来源或纯度中的差异等等。术语“约”还涵盖由于相对于由特定起始混合物所得的组合物的不同平衡条件而不同的量。无论是否通过术语“约”来修饰,权利要求都包括量的等同量。

[0278] 当存在时,所有范围是包括端值在内的和可以组合的。例如,当列出范围“1至5”时,所列范围应被视为包括范围“1至4”、“1至3”、“1-2”、“1-2和4-5”、“1-3和5”等等。

[0279] 如本文所用,“接触”是指使组合物与目标身体表面接触一段足以达到期望结果(结合目标表面、基于过酸的效应等)的时间。在一个实施例中,“接触”可以指使包含(或能够制备)有效浓度过酸的组合物与目标身体表面接触一段足以达到期望结果的时间。在另一个实施例中,“接触”也可以指使个人护理组合物的至少一种组分如一种或多种反应组分(用于酶促过水解)与目标身体表面接触。接触包括通过喷洒、处理、浸入、冲洗、倾注、混合、组合、涂抹、涂覆、施加、粘附以及其他方式,使包含有效浓度的过酸的过酸溶液或组合物、形成有效浓度过酸的溶液或组合物或形成有效浓度过酸的组合物组分与身体表面相连。

[0280] 如本文所用,术语“底物”、“适用底物”和“羧酸酯底物”可互换地具体指:

[0281] (a) 一种或多种具有下列结构的酯:

[0282] $[X]_m R_5$

[0283] 其中X为式 $R_6C(O)O$ 的酯基;

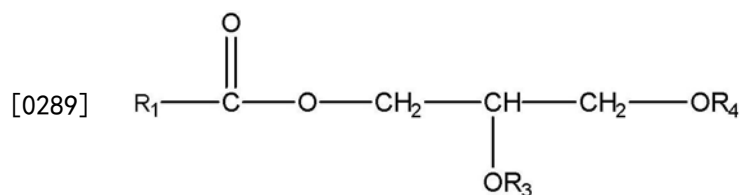
[0284] R_6 为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于 $R_6=C2-C7$, R_6 任选地包含一个或多个醚键;

[0285] R_5 为任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族或六元环状芳族或杂芳族部分;其中 R_5 中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基或不超过一个酯基,并且其中 R_5 任选地包含一个或多个醚键;

[0286] m 为1至 R_5 中碳原子数量的范围内的整数,

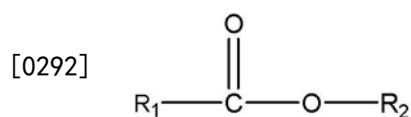
[0287] 在25℃下,所述一种或多种酯具有至少5ppm的水中溶解度;或

[0288] (b) 一种或多种具有下列结构的甘油酯:



[0290] 其中 R_1 为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且 R_3 和 R_4 各自为H或 $R_1C(O)$;或

[0291] (c) 一种或多种下式的酯:



[0293] 其中 R_1 为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且 R_2 为C1-

C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ 、或 $(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_n\text{H}$,并且n为1至10;或

[0294] (d) 一种或多种乙酰化单糖、乙酰化二糖、或乙酰化多糖;或

[0295] (e) (a) 至 (d) 的任何组合。

[0296] 如本文所用,术语“过酸(peracid)”与过氧酸(peroxyacid)、过氧羧酸(peroxycarboxylic acid)、过氧酸(peroxy acid)、过羧酸(percarboxylic acid)和过氧性酸(peroxoic acid)同义。

[0297] 如本文所用,术语“过乙酸”缩写为“PAA”,并与过氧乙酸、乙过氧酸以及CAS登记号79-21-0的所有其他同义词同义。

[0298] 如本文所用,术语“甘油一乙酸酯”与甘油单乙酸酯、甘油一醋酸酯和甘油单醋酸酯同义。

[0299] 如本文所用,术语“甘油二乙酸酯”与二乙酸甘油酯、甘油二醋酸酯、二醋酸甘油酯以及CAS登记号25395-31-7的所有其他同义词同义。

[0300] 如本文所用,术语“甘油三乙酸酯”与三乙酸甘油酯、三醋酸甘油酯、甘油三醋酸酯、1,2,3-三乙酰氧基丙烷;1,2,3-丙三醇三乙酸酯以及CAS登记号102-76-1的所有其他同义词同义。

[0301] 如本文所用,术语“甘油一丁酸酯”与一丁酸甘油酯、甘油单丁酸酯和一丁酸甘油基酯同义。

[0302] 如本文所用,术语“甘油二丁酸酯”与二丁酸甘油酯和二丁酸甘油基酯同义。

[0303] 如本文所用,术语“甘油三丁酸酯”与三丁酸甘油酯、1,2,3-三丁酰基甘油以及CAS登记号60-01-5的所有其他同义词同义。

[0304] 如本文所用,术语“甘油一丙酸酯”与一丙酸甘油酯、甘油单丙酸酯和一丙酸甘油基酯同义。

[0305] 如本文所用,术语“甘油二丙酸酯”与二丙酸甘油酯和二丙酸甘油基酯同义。

[0306] 如本文所用,术语“甘油三丙酸酯”与三丙酸甘油基酯、三丙酸甘油酯、1,2,3-三丙酰基甘油以及CAS登记号139-45-7的所有其他同义词同义。

[0307] 如本文所用,术语“乙酰化糖(acetylated sugar/acetylated saccharide)”是指包含至少一个乙酰基的单糖、二糖和多糖。例子包括但不限于葡萄糖五乙酸酯;木糖四乙酸酯;乙酰化木聚糖;乙酰化木聚糖片段; β -D-呋喃核糖-1,2,3,5-四乙酸酯;三-O-乙酰基-D-半乳糖;和三-O-乙酰基-葡萄糖。

[0308] 如本文所用,术语“烃基”和“烃基部分”指直链、支化或环状碳原子排列,碳原子通过碳-碳单键、双键或三键和/或醚键连接,并且相应的被氢原子取代。此类烃基可以是脂族的和/或芳族的。烃基基团的例子包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、环丙基、环丁基、戊基、环戊基、甲基环戊基、己基、环己基、苄基和苯基。在一个优选的实施例中,烃基部分为直链、支化或环状排列的碳原子,其中碳原子通过碳-碳单键和/或醚键连接且氢原子被相应取代。

[0309] 如本文所用,术语1,2-乙二醇;1,2-丙二醇;1,3-丙二醇;1,2-丁二醇;1,3-丁二醇;2,3-丁二醇;1,4-丁二醇;1,2-戊二醇;2,5-戊二醇;1,5-戊二醇;1,6-戊二醇;1,2-己二醇;2,5-己二醇;1,6-己二醇;以及它们的混合物的“单酯”和“二酯”是指:所述化合物包含

由式RC(O)O表示的至少一个酯基,其中R为C1-C7直链的烃基部分。在一个实施例中,羧酸酯底物选自丙二醇二乙酸酯(PGDA)、乙二醇二醋酸酯(EDGA)、以及它们的混合物。

[0310] 如本文所用,术语“丙二醇二乙酸酯(propylene glycol diacetate)”与1,2-丙二醇二乙酸酯(1,2-diacetoxypropane)、丙二醇二乙酸酯(propylene diacetate)、1,2-丙二醇二乙酸酯(1,2-propanediol diacetate)、以及CAS登记号623-84-7的所有其他同义词同义。

[0311] 如本文所用,术语“乙二醇二醋酸酯(ethylene glycol diacetate)”与1,2-乙二醇二醋酸酯(1,2-diacetoxyethane)、乙二醇二乙酸酯(ethylene diacetate)、乙二醇二乙酸酯(glycol diacetate)、以及CAS登记号111-55-7的所有其他同义词同义。

[0312] 如本文所用,术语“合适的酶促反应混合物”、“适于原位产生过酸的组分”、“合适的反应组分”、“合适的含水反应混合物”、“反应混合物”和“产生过酸的组分”是指反应物和过水解酶催化剂在其中发生接触的材料和水。产生过酸的组分将至少包括具有过水解活性的酶,优选地其中所述过水解酶为至少一种CE-7过水解酶(任选地为靶向身体表面的融合蛋白形式)、至少一种适宜的羧酸酯底物、过氧源、和水(包含过氧源例如过氧化氢的水溶液)。在一个实施例中,任何不属于CE-7类糖酯酶(前提条件)的过水解酶以具有至少一种肽组分的融合蛋白形式使用,所述肽组分具有对目标表面,优选口腔表面的亲和力。

[0313] 如本文所用,术语“过水解”定义为所选底物与过氧化物的形成过酸的反应。一般地,无机过氧化物与所选底物在催化剂存在下反应以生成过氧羧酸。如本文所用,术语“化学过水解”包括其中底物(过氧羧酸前体)与过氧化氢源组合的过水解反应,其中过氧羧酸在不存在酶催化剂的情况下形成。如本文所用,术语“酶促过水解”包括过水解反应,其中羧酸酯底物(过酸前体)与过氧化氢源和水反应,从而酶催化剂催化过酸的形成。

[0314] 如本文所用,术语“过水解酶活性”是指每单位质量(例如毫克)的蛋白、细胞干重或固定化催化剂重量所具有的催化剂活性。

[0315] 如本文所用,“一个酶活性单位”或“一个活性单位”或“U”定义为,在指定温度每分钟产生1 μ mol过氧羧酸产物所需的过水解酶活性的量。

[0316] 如本文所用,术语“酶催化剂”和“过水解酶催化剂”是指包含具有过水解活性的酶的催化剂,并且可以是完整微生物细胞、透化的微生物细胞、微生物细胞提取物的一种或多种细胞成分、部分纯化的酶或纯化的酶的形式。酶催化剂也可被化学改性(如通过聚乙二醇化作用或与交联试剂反应)。还可以使用本领域技术人员熟知的方法将过水解酶催化剂固定到可溶性或不溶性支持体上;参见例如Immobilization of Enzymes and Cells;Gordon F.Bickerstaff编辑;Humana Press,Totowa,NJ,USA;1997。在一个实施例中,可将过水解酶催化剂非共价地或共价地固定在口腔护理贴(例如美白牙贴)或牙托的内部或上面。固定化酶可直接联接到聚合物载体和/或在口腔护理贴或牙托内的组分(例如二氧化钛、羟基磷灰石、口服可接受的粘合剂、聚乙烯、聚丙烯等)上。在另一个实施例中,非共价地固定到所述口腔护理贴或牙托上可通过使用对口腔护理贴或牙托内部或上面的材料具有强亲和力的肽结合域(例如包括通过任选的肽间隔区联接到肽结合域的过水解酶的融合蛋白)完成。在另一个实施例中,牙托是可变形的牙托。在另一个实施例中,在形成牙印模后将过水解酶催化剂固定化在可变形牙托的内部或上面。

[0317] 如本文所用,“乙酰木聚糖酯酶”是指催化乙酰木聚糖以及其他乙酰化糖的脱乙酰

作用的酶(E.C.3.1.1.72;AXEs)。如本文所述,提供了具有显著过水解活性的归类为乙酰木聚糖酯酶的几种酶。

[0318] 如本文所用,术语“先锋霉素C脱乙酰酶”和“先锋霉素C乙酰水解酶”是指催化先锋霉素如先锋霉素C和7-氨基头孢烷酸的脱乙酰作用的酶(E.C.3.1.1.41)(Mitsushima等人,(1995),Appl.Env.Microbiol.61(6):2224-2229)。本文提供了具有显著过水解活性的多个先锋霉素C脱乙酰酶的氨基酸序列。

[0319] 如本文所用,术语“枯草芽孢杆菌ATCC[®]31954TM”是指保藏于美国典型培养物保藏中心(ATCC)的细菌细胞,其国际保藏登录号为ATCC[®]31954TM。如本文所描述,来自枯草芽孢杆菌ATCC[®]31954TM的具有显著过水解酶活性的酶为SEQ ID NO:2(参见美国专利公开申请公布2010-0041752)。

[0320] 如本文所用,术语“海栖热袍菌MSB8”是指,据报道称其具有乙酰木聚糖酯酶活性的一种细菌细胞(GENBANK[®]NP_227893.1;参见美国专利公开申请公布2008-0176299)。来自海栖热袍菌MSB8并具有过水解酶活性的酶的氨基酸序列以SEQ ID NO:16提供。

[0321] 如本文所用,“分离的核酸分子”、“分离的多核苷酸”和“分离的核酸片段”将可以互换使用,并指单链或双链RNA或DNA的聚合物,任选地包含合成的、非天然的或改变的核苷酸碱基。DNA聚合物形式的分离型核酸分子可由cDNA、基因组DNA或合成DNA的一个或多个片段构成。

[0322] 术语“氨基酸”是指蛋白质或多肽的基本化学结构单元。在本文中使用下列缩写来表示具体的氨基酸:

氨基酸	三字母 缩写	单字母 缩写
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酰胺	Gln	Q
谷氨酸	Glu	E
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
[0323] 异亮氨酸	Ile	I
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V
任何氨基酸或如本文所定义的	Xaa	X

[0324] 例如,在本领域中熟知的是,导致在给定位点产生化学等价的氨基酸但不影响编码蛋白的功能性质的基因改变是常见的。出于本发明的目的,将替换定义为下列五组之一的互换:

[0325] 1. 小的脂族非极性残基或稍微极性的残基:Ala、Ser、Thr (Pro、Gly);

[0326] 2. 极性的、带负电荷的残基和它们的酰胺:Asp、Asn、Glu、Gln;

[0327] 3. 极性的、带正电荷的残基:His、Arg、Lys;

[0328] 4. 大的脂族非极性残基:Met、Leu、Ile、Val (Cys); 以及

[0329] 5. 大的芳族残基:Phe、Tyr和Trp。

[0330] 因此,氨基酸丙氨酸(疏水性氨基酸)的密码子可被编码另一种疏水性较弱的残基(例如甘氨酸)或疏水性较强的残基(例如缬氨酸、亮氨酸或异亮氨酸)的密码子替换。类似地,导致一个带负电荷的残基替换为另一个带负电荷的残基(例如,天冬氨酸替代谷氨酸)或一个带正电荷的残基替换为另一个带正电荷的残基(例如,赖氨酸替换精氨酸)的改变也可以预期产生功能上等价的产物。导致蛋白质分子的N末端和C末端部分改变的核苷酸变化也将预计不会改变该蛋白质的活性。所提出的修饰中的每一种均完全在本领域常规技术内,如测定编码产物生物活性的保留情况。

[0331] 如本文所用,术语“特征基序”和“诊断基序”指具有给定活性的酶家族中共有的保守结构。可使用特征基序定义和/或鉴定对给定底物家族具有相似酶活性的结构相关的酶家族。特征基序可为单个邻接氨基酸序列或不邻接的保守基序的集合,它们一起形成特征基序。通常,保守基序以氨基酸序列表示。在一个实施例中,过水解酶包含CE-7糖酯酶特征基序。

[0332] 如本文所用,术语“密码子优化的”在其涉及用于转化不同宿主的核酸分子的基因或编码区时是指在不改变由DNA编码的多肽的情况下,改变核酸分子的基因或编码区中的密码子以反映宿主生物体典型的密码子使用情况。

[0333] 如本文所用,“合成的基因”可由使用本领域技术人员已知的方法化学合成的寡核苷酸基本单位组装而成。将这些构件进行连接并退火以形成基因节段,该基因节段随后在酶促作用下装配而构建成完整的基因。当涉及DNA序列时,“化学合成的”是指体外装配组分核苷酸。可以采用完善建立的方法来完成DNA的手工化学合成或可使用许多种可商业获得的机器的其中一种来完成自动化学合成。因此,基于核苷酸序列的优化以反映宿主细胞的密码子偏好性,可以定制基因用以优化基因表达。如果密码子使用偏向于宿主偏好的那些密码子,则技术人员会理解成功的基因表达的可能性。优选的密码子的确定可基于对来源于宿主细胞的基因(其中序列信息可获得)的检测。

[0334] 如本文所用,“基因”是指能够表达特定蛋白质的核酸分子,其包括编码序列前的调控序列(5'非编码序列)和编码序列后的调控序列(3'非编码序列)。“天然基因”指自然状态下与其自身的调控序列一起的基因。“嵌合基因”指为非天然基因的任何基因,包含天然状态下不一起存在的调控序列和编码序列。因此,嵌合基因可包括源于不同来源的调控序列和编码序列,或包括源于同一来源但以不同于天然存在的方式排列的调控序列和编码序列。“内源性基因”指在生物体基因组中处于其天然位置的天然基因。“外来基因”是指正常情况下不存在于宿主生物中的基因,它通过基因转移导入宿主生物内。外来基因可以包含插入到非天然生物体内的天然基因或嵌合基因。“转基因”是已通过转化方法导入基因组内

的基因。

[0335] 如本文所用,“编码序列”是指编码特定氨基酸序列的DNA序列。“合适的调节序列”指位于编码序列的上游(5'非编码序列)、中间或下游(3'非编码序列)的核苷酸序列,其可影响相关编码序列的转录、RNA加工或稳定性、或翻译。调控序列可包括启动子、翻译前导序列、RNA加工位点、效应子结合位点和茎-环结构。

[0336] 如本文所用,术语“可操作地连接”是指单个核酸分子上的核酸序列的结合,使得其中一个核酸序列的功能受到另一个核酸序列的影响。例如,当启动子能够影响编码序列的表达(即,该编码序列受到该启动子的转录控制)时,则该启动子与该编码序列可操作地连接。编码序列可以按有义或反义的取向可操作地连接至调控序列。

[0337] 如本文所用的,术语“表达”指源于本发明的核酸分子的有义RNA(mRNA)或反义RNA的转录和稳定积聚。表达也可指将mRNA翻译成多肽。

[0338] 如本文所用,“转化”是指将核酸分子转移至宿主生物的基因组内,导致基因稳定遗传。在本发明中,宿主细胞的基因组包括染色体和染色体外(如质粒)基因。含有转化核酸分子的宿主生物被称为“转基因”、“重组”或“转化”生物。

[0339] 如本文所用,术语“序列分析软件”指可用于分析核苷酸或氨基酸序列的任何计算机算法或软件程序。“序列分析软件”可商购获得或独立开发。典型的序列分析软件将包括但不限于:GCG程序包(Wisconsin Package Version 9.0, Accelrys Software Corp., San Diego, CA)、BLASTP、BLASTN、BLASTX(Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410(1990))、和DNASTAR(DNASTAR, Inc. 1228 S. Park St. Madison, WI 53715 USA)、CLUSTALW(例如1.83版;Thompson等人,Nucleic Acids Research, 22(22):4673-4680(1994))、以及包含Smith-Waterman算法的FASTA程序(W.R.Pearson, Comput. Methods Genome Res., [Proc.Int.Symp.] (1994), Meeting Date 1992, 111-20, 编辑:Suhai, Sandor, Publisher: Plenum, New York, NY)、Vector NTI (Informax, Bethesda, MD) 和Sequencher v.4.05。在本专利申请的上下文中应当理解,使用序列分析软件进行分析时,分析结果将基于所参考程序的“默认值”,除非另外指明。如本文所用,“默认值”将指在首次初始化时由软件制造商为软件最初加载的任何值或参数集。

[0340] 术语“身体表面”是指可用作有益剂如过酸有益剂目标的任何人体表面。本发明方法和组合物涉及口腔护理用途和产品。同样地,身体表面包括口腔材料/表面。在一个实施例中,口腔材料包括牙釉、牙膜、软组织如颊、舌头、和牙龈,以及口腔生物膜(例如口腔牙斑)。

[0341] 如本文所用,术语“生物污染物”是指一种或多种不想要的和/或病原性的生物实体,包括但不限于微生物、孢子、病毒、朊病毒、以及它们的混合物。在一个实施例中,提供了一种方法用于酶促产生有效浓度的至少一种过酸,其用于减少和/或消除存在的生物污染物。

[0342] 如本文所用,术语“消毒”指破坏或防止生物污染物生长的方法。如本文所用,术语“消毒剂”是指通过破坏、中和、或抑制生物污染物生长来进行消毒的制剂,其可包括在口腔内的生物污染物,例如与龋齿、牙龈炎、口腔念珠菌病、或牙周炎相关联的微生物。如本文所用,术语“消毒”指消毒的行为或过程。如本文所用,术语“防腐剂”是指抑制带病微生物生长的化学试剂。在一个方面,生物污染物是病原微生物。

[0343] 如本文所用,术语“卫生”指或涉及通常通过移除、阻止或控制可能危害健康的剂来恢复或保持健康。如本文所用,术语“卫生处理”指采取卫生措施保持卫生。如本文所用,术语“杀菌消毒剂”指消毒剂。如本文所用,术语“卫生处理”指卫生处理的行为或过程。

[0344] 如本文所用,术语“生物杀灭剂”是指灭活或破坏微生物的通常为广谱的化学试剂。将表现出灭活或破坏微生物能力的化学试剂称为具有“生物杀灭”活性。过酸可具有生物杀灭活性。典型的备选生物杀灭剂可包括例如氯、二氧化氯、氯异氰尿酸盐、次氯酸盐、臭氧、丙烯醛、胺、氯化酚醛树脂、铜盐、有机硫化合物和季铵盐。

[0345] 如本文所用,短语“最低生物杀灭浓度”指生物杀灭剂在特定接触时间内的最低浓度,其将产生期望的杀灭效果,不可逆的减少目标微生物的活体数量。效力可通过处理后活体微生物 \log_{10} 的减少来度量。在一个方面,处理后活体微生物的目标减少为至少 $3-\log_{10}$ 的减少,更优选至少 $4-\log_{10}$ 的减少,最优选至少 $5-\log_{10}$ 的减少。在另一方面,最低生物杀灭浓度为减少活体微生物细胞至少 $6-\log_{10}$ 。

[0346] 如本文所用,“清洁组合物”和“清洁制剂”是指发现用于从牙齿上除去非期望的化合物的组合物(漱口水、牙膏等)。术语涵盖选择用于期望特定类型清洁组合物的任何材料/化合物和产物形式(例如液体、糊料、凝胶、乳液、颗粒、或喷雾组合物),只要所述组合物与所述组合物中使用的过水解酶和其他酶相容即可。

[0347] 如本文所用,“口腔清洁组合物”是指牙粉、牙膏、牙胶、牙粉、漱口水、口喷剂、口胶、咀嚼式口香糖、锭剂、小药囊、片剂、生物凝胶、预防糊料、牙齿治疗溶液等。与本发明的过水解酶联合使用的口腔护理组合物是本领域熟知的(参见例如美国专利公开5,601,750; 6,379,653;和5,989,526,这些专利均全文以引用方式并入本文)。

[0348] 如本文所用,“药用的”是指术语描述的药、药物和/或惰性成分适于与人和其他动物的身体组织接触,无不适当的毒性、不相容性、不稳定性、过敏、变应性应答等,具有适当的合理效/险比。

[0349] 如本文所用,“个人护理产品”是指在毛发、皮肤、头皮、和牙齿的清洁、漂白和/或消毒中使用的产品,包括但不限于洗发剂、爽身水、沐浴凝胶、局部保湿剂、牙膏、牙胶、漱口剂、漱口水、抗牙斑漱口液、和/或其他局部清洁剂。在一些尤其优选的实施例中,这些产品用于人体,而在其它实施例中,这些产品用于除人之外的动物(例如兽医方面的用途)。

[0350] 如本文所用,术语“牙齿美白”和“牙齿漂白”互换使用,是指改善牙齿的亮白程度(例如美白)。所述术语意在涵盖任何适于美白牙齿的方法(包括本发明)、以及化学处理、弱酸处理、牙齿打磨美白、和激光牙齿美白。在尤其优选的实施例中,本发明提供了适于美白牙齿的过水解酶和包含过水解酶的组合物。

[0351] 如本文所用,牙齿中的“内源性色斑”是指由在釉质和下面的牙质内的生色原引起的颜色。人牙齿的内源性颜色随着年龄增长趋于变得更黄,这是由于釉质变薄和下面的泛黄牙质颜色变深。除去内源性色斑通常需要使用过氧化物或其他氧化化学物质,它们透过釉质并使内部的生色原脱色。

[0352] 与内源性色斑相比,“外源性色斑”当外源生色原物质结合到釉质上时在牙齿表面上形成,通常在天然涂覆牙齿的薄膜内。大多数人随时间在他们的牙齿上积累某些程度的不美观内源性色斑。这一牙齿变色过程受到一些因素的促进,它们是:(1)摄取包含单宁酸的食品和饮料如咖啡、茶、或红酒;(2)使用烟草产品;和/或(3)暴露于某些阳离子物质(例

如锡、铁、和洗必太)。这些物质趋于附着在釉质的羟基磷灰石结构上,其导致牙齿变色并同时降低牙齿洁白度。经过多年时间,外源性色斑可透过釉质层并导致内源性色斑。

[0353] 如本文所用,术语“脱臭”是指消除或预防难闻的气味。

[0354] 如本文所用,术语“脱色”或“褪色”是指从口腔表面除去色斑的过程。所述色斑可为内源性色斑、外源性色斑、或它们的组合。

[0355] 如本文所用,将在包含过水解酶的组合物中“增强的性能”定义为与其他组合物相比对漂白敏感性色斑提高的清洁性能,这在牙科领域中使用标准方法进行测定。在特定实施例中,本发明的过水解酶在氧化和色斑去除方面提供了增强的性能。在其他实施例中,本发明的过水解酶在色斑去除和/或脱色方面提供了增强的性能。

[0356] 如本文所用,“有效量的过水解酶”是指达到具体应用所需的酶活性必需的过水解酶量。此类有效量由本领域的普通技术人员容易地确定,并且其取决于多种因素,例如使用的特定酶变体、清洁用途、清洁组合物的具体组合物、以及是否需要液体或非液体(例如乳液)组合物等。

[0357] 如本文所用,术语“过氧源”和“过氧的来源”是指当在水溶液中时能够提供约1mM或更高浓度过氧化氢的化合物,包括但不限于过氧化氢、过氧化氢加合物(如尿素-过氧化氢加合物(过氧化脲))、过硼酸盐、以及过碳酸盐。如本文所述,在将反应组分组合后,通过含水反应制剂中的过氧化物提供的过氧化氢初始浓度为至少0.1mM或更高。在一个实施例中,在含水反应制剂中的过氧化氢浓度为至少0.5mM。在一个实施例中,在含水反应制剂中的过氧化氢浓度为至少1mM。在另一个实施例中,含水反应制剂中过氧化氢浓度为至少10mM。在另一个实施例中,在含水反应制剂中的过氧化氢浓度为至少100mM。在另一个实施例中,在含水反应制剂中的过氧化氢浓度为至少200mM。在另一个实施例中,在含水反应制剂中的过氧化氢浓度为500mM或更高。在另一个实施例中,在含水反应制剂中的过氧化氢浓度为1000mM或更高。含水反应制剂中过氧化氢与酶底物(如甘油三酯)的摩尔比(H_2O_2 :底物)可从约0.002至20、优选从约0.1至10、以及最优选从约0.5至5。

[0358] 如本文所用,术语“低聚糖”是指包含通过糖苷键连接的2至至少24个单糖单位的化合物。术语“单糖”是指具有经验式 $(CH_2O)_n$ 的化合物,其中 $n \geq 3$,碳骨架无支化,除了一个碳原子外每个都包含羟基,而剩余的那个碳原子则为1号碳并形成醛或酮。术语“单糖”也指细胞内的环状半缩醛或半缩酮形式。

[0359] 如本文所用,术语“赋形剂”是指制剂中用作活性成分载体的非活性物质。赋形剂可用于稳定制剂中的活性成分,例如活性成分的贮存稳定性。赋形剂有时也用于为含活性成分的制剂增量(bulk up)。如本文所述,“活性成分”可为具有过水解活性的酶、由过水解酶在适宜反应条件下产生的过酸、或它们的组合。

[0360] 术语“基本上不含水”将指制剂中的水浓度不会对存在于羧酸酯中的酶或酶粉的贮存稳定性产生不利影响。羧酸酯可包含极低浓度的水,例如,甘油三乙酸酯通常具有介于180ppm和300ppm之间的水。在一个实施例中,将过水解酶贮存在基本上不含水的羧酸酯底物中。在另一个实施例中,“基本上不含水”可指包含酶(或酶粉)和羧酸酯的制剂中水含量低于2000ppm、优选地低于1000ppm、更优选地低于500ppm、甚至更优选地低于250ppm。在一个实施例中,可将过水解酶贮存在水溶液中,如果设计制备体系使得所述酶在水溶液(例如不含显著浓度羧酸酯底物的溶液,所述底物能够在储存期间被所述酶水解)中稳定。在一个

实施例,可将过水解酶贮存在包含羧酸酯底物的混合物中,所述底物基本上不含水和一种或多种缓冲剂(例如碳酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、磷酸盐、焦磷酸盐、甲基膦酸盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、酒石酸盐、和马来酸盐的钠和/或钾盐)。

[0361] 具有过水解活性的酶

[0362] 具有过水解活性的酶可包括一些归类为脂肪酶、蛋白酶、酯酶、酰基转移酶、芳基酯酶、糖酯酶、以及它们的组合的酶,只要所述酶对一种或多种本发明底物具有过水解活性即可。例子可包括但不限于过水解蛋白酶(枯草菌溶素(subtilisin Carlsberg)变体;美国专利公开7,510,859)、过水解芳基酯酶(荧光假单胞菌;SEQ ID NO:477;美国专利公开7,384,787)、来自耻垢分枝杆菌的过水解芳基酯酶/酰基转移酶(SEQ ID NO:460和478;美国专利公开7,754,460;W02005/056782;和EP1689859B1)、和过水解糖酯酶。在一个优选的方面,过水解糖酯酶是CE-7糖酯酶。

[0363] 在一个实施例中,适宜的过水解酶可包括包含与本文报道的任何氨基酸序列具有至少30%、33%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的氨基酸同一性的酶,条件是非CE-7过水解酶受限于靶向过水解酶应用(即,不属于CE-7糖酯酶家族的过水解酶以融合蛋白形式使用,其包含至少一个肽靶向区域)。

[0364] 在另一个实施例中,适宜的过水解酶可包括包含与SEQ ID NO:460、477、和478具有至少30%、33%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的氨基酸同一性的酶,条件是非CE-7过水解酶受限于靶向过水解酶应用(即,不属于CE-7糖酯酶家族的过水解酶以融合蛋白形式使用,其包含至少一个肽靶向区域)。应当理解,用于鉴定基本上类似的过水解酶的百分比同一性比较和序列比对针对包括所述过水解酶的融合蛋白部分进行(即,不包括靶向区域和接头)。

[0365] 在另一个实施例中,所述融合蛋白包含过水解酶,其具有与S54V耻垢分枝杆菌芳基酯酶SEQ ID NO:460具有至少95%的同一性的氨基酸序列。

[0366] 在一个实施例中,所述融合蛋白包含来自荧光假单胞菌的过水解酯酶。在另一个实施例中,所述融合蛋白包含过水解酶,其具有与荧光假单胞菌芳基酯酶SEQ ID NO:477具有至少95%的同一性的氨基酸序列。

[0367] 在另一个实施例中,所述融合蛋白包含过水解酶,其具有选自SEQ IDNO:424、425、426、427、428、429、430、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、476、477、478、和479的氨基酸序列。

[0368] 在另一个实施例中,基本上类似的过水解酶可包括由多核苷酸序列编码的那些,所述序列在高严格杂交条件下(0.1X SSC,0.1%SDS,65℃并用2X SSC,0.1%SDS洗涤,然后用0.1X SSC,0.1%SDS在65℃下最后洗涤)杂交到编码任何本发明过水解酶的多核苷酸序列上,条件是非CE-7过水解酶受限于靶向过水解酶应用(即,不属于CE-7糖酯酶家族的过水解酶以融合蛋白形式使用,其包含至少一个肽靶向区域)。

[0369] CF-7过水解酶

[0370] 在一个优选的实施例中,口腔护理组合物和方法包括具有过水解活性的酶,其结构上归类为糖酯酶家族7(CE-7家族)的成员(参见Coutinho,P.M.,Henrissat,B.

“Carbohydrate-active enzymes:an integrated database approach”,Recent Advances in Carbohydrate Bioengineering,H.J.Gilbert、G.Davies、B.Henrissat和B.Svensson编辑,(1999) The Royal Society of Chemistry,Cambridge,第3-12页)。当与过氧源组合时,已证实酶的CE-7家族尤其能有效地由多种羧酸酯底物制备过氧羧酸(授予DiCosimo等人的美国专利公开7,794,378;7,951,566;7,723,083;和7,964,378以及美国专利公开申请公布2008-0176299、2010-0087529、2011-0081693、和2011-0236335;它们每个均以引用方式并入本文)。

[0371] CE-7家族的成员包括先锋霉素C脱乙酰酶(CAH,E.C.3.1.1.41)和乙酰木聚糖酯酶(AXE;E.C.3.1.1.72)。CE-7酯酶家族的成员共享保守的特征基序(Vincent等人,J.Mol.Biol.,330:593-606(2003))。包含CE-7特征基序(“CE-7过水解酶”)和/或基本上类似结构的过水解酶适用于本文所述的组合物和方法。用于鉴定基本上类似的生物分子的装置在本领域为人们所熟知(如序列比对方案、核酸杂交和/或保守特征基序的存在)。在一个方面,过水解酶包括包含CE-7特征基序的酶,并与本文提供的序列之一具有至少20%、优选至少30%、更优选至少33%、更优选至少40%、甚至更优选至少42%、甚至更优选至少50%、更优选至少60%、更优选至少70%、更优选至少80%、更优选至少90%、以及最优选至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的氨基酸同一性。

[0372] 如本文所用,短语“酶在结构上归类为CE-7”、“CE-7过水解酶”、或“在结构上归类为糖酯酶家族7的酶”将用于指代具有过水解活性并在结构上归类为CE-7糖酯酶的酶。该酶家族可通过特征基序的存在而定义(Vincent等人,同上)。CE-7酯酶的特征基序包括三个保守基序(相对于参考序列SEQ ID NO:2的残基位置编号;所述CE-7过水解酶来自枯草芽孢杆菌ATCC[®]31954[™]):

[0373] a) Arg118-Gly119-Gln120;

[0374] b) Gly179-Xaa180-Ser181-Gln182-Gly183;以及

[0375] c) His298-Glu299。

[0376] 通常,第180氨基酸残基位置的Xaa为甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、色氨酸或苏氨酸。属于催化三联体的三个氨基酸残基中的其中两个以粗体表示。在一个实施例中,第180氨基酸残基位置的Xaa选自:甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、色氨酸和苏氨酸。

[0377] 对CE-7糖酯酶家族中的保守基序的进一步分析指示存在附加的保守基序(在SEQ ID NO:2的氨基酸位置267-269的LXD),这可用于进一步确定属于CE-7糖酯酶家族的过水解酶。在另一个实施例中,上文定义的特征基序可包括附加的(第四)保守基序,其定义为:Leu267-Xaa268-Asp269。

[0378] 在氨基酸残基位置268的Xaa通常是异亮氨酸、缬氨酸、或甲硫氨酸。第四基序包括属于催化三联体(Ser181-Asp269-His298)的天冬氨酸残基(粗体)。

[0379] CE-7过水解酶可为融合蛋白形式,其具有至少一个对至少一个身体表面具有亲和力的肽组分。在一个实施例中,用于确定靶向过水解酶(融合蛋白)是否包含CE-7特征基序的所有比对将基于所述过水解酶的氨基酸序列进行,所述过水解酶无具有对身体表面的亲和力的肽组分。

[0380] 许多熟知的全局比对算法(即序列分析软件)可用于比对两个或更多个代表具有过水解酶活性的酶的氨基酸序列,以确定酶是否包含本发明的特征基序。比对序列与参考

序列(SEQ ID NO:2)进行比较以确定特征基序的存在。在一个实施例中,将利用参考氨基酸序列(如本文所用的得自枯草芽孢杆菌ATCC[®]31954[™]的过水解酶序列(SEQ ID NO:2))的CLUSTAL比对(例如CLUSTALW)用于鉴定属于CE-7酯酶家族的过水解酶。保守氨基酸残基的相对编号基于参考氨基酸序列的残基编号,用以说明在比对序列中的小插入或缺失(例如通常少于五个氨基酸)。

[0381] 可用于鉴定包含本发明特征基序(当与参考序列进行比较时)的序列的其他合适算法的例子包括但不限于Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol.48,443-453(1970);一种全局比对工具)和Smith-Waterman(J.Mol.Biol.147:195-197(1981);一种局部比对工具)。在一个实施例中,采用默认参数进行Smith-Waterman比对。合适的默认参数的例子包括使用BLOSUM62计分矩阵,其中GAP open penalty=10、以及GAP extension penalty=0.5。

[0382] 过水解酶之间的整体百分比同一性比较表明与SEQ ID NO:2具有低至33%的氨基酸同一性的酶(同时保留特征基序)表现出显著的过水解酶活性并且结构上归类为CE-7糖酯酶。在一个实施例中,适用的过水解酶包括包含CE-7特征基序并与SEQ ID NO:2具有至少20%,优选至少30%、33%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的氨基酸同一性的酶。

[0383] 具有过水解活性的适用CE-7糖酯酶的例子包括但不限于具有氨基酸序列如SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476的酶。在一个实施例中,所述酶包含选自14、16、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476的氨基酸序列。

[0384] 如本文所用,术语“CE-7变体”、“过水解酶变体”或“变体”将指具有基因修饰的CE-7过水解酶,在与变体来源的对应酶(通常野生型酶)进行比较时所述修饰引起至少一个氨基酸的添加、缺失、和/或取代;只要保留了CE-7特征基序和相关联的过水解活性即可。CE-7过水解酶变体也可在本发明组合物和方法中使用。CE-7变体的例子以SEQ ID NO:27、28、29、30、31、32、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476提供。在一个实施例中,所述变体可包括SEQ ID NO:27、28、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476。

[0385] 技术人员认识到基本上类似的CE-7过水解酶序列(保留特征基序)也可用于本发明的组合物和方法。在一个实施例中,基本上类似的序列通过它们在高严格条件下杂交到与本文例示的序列相关联的核酸分子上的能力进行定义。在另一个实施例中,可基于与本文提供的DNA或氨基酸序列的百分比同一性,使用序列对比算法定义基本上类似的酶。

[0386] 如本文所用,核酸分子可与另一个核酸分子(例如cDNA、基因组DNA、或RNA)杂交是指在适当的温度和溶液离子强度条件下,第一分子的单链可与其他分子退火。杂交和洗涤条件是熟知的并且例示于Sambrook, J. 和Russell, D., T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第三版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor (2001)。温度和离子强度条件确定杂交的“严格性”。可调整严格条件来筛选中度类似的分子,例如来自远缘生物的同源序列;与高度类似的分子,例如来自近缘生物的复制功能酶的基因。杂交后洗涤通常决定了严格条件。一组优选的条件使用一系列洗涤步骤,开始是6X SSC、0.5% SDS在室温下洗涤15分钟,然后用2X SSC、0.5% SDS在45℃下重复30分钟,再用0.2X SSC、0.5% SDS在50℃下重复洗涤两次,每次30分钟。一组更优选的条件使用更高

的温度,其中洗涤步骤与上述步骤相同,不同的是将最后两次用0.2XSSC、0.5%SDS洗涤30分钟的洗涤温度提高到了60℃。另一组优选的高严格杂交条件为:用0.1X SSC、0.1%SDS在65℃下处理,然后用2X SSC、0.1%SDS洗涤,最后用0.1X SSC、0.1%SDS在65℃下洗涤。

[0387] 杂交需要两种核酸含有互补序列,但取决于杂交的严格性,碱基之间可能会发生错配。用于使核酸杂交的合适的严格性取决于核酸的长度和互补的程度,它们是本领域内熟知的变量。两条核苷酸序列之间的相似性或同源性程度越高,具有那些序列的核酸的杂交体的 T_m 值就越大。核酸杂交的相对稳定性(对应较高的 T_m)按下列顺序依次降低:RNA:RNA、DNA:RNA、DNA:DNA。就长度大于100个核苷酸的杂交体而言,已经导出了用于计算 T_m 的公式(Sambrook和Russell,上文)。对于较短核酸(即寡核苷酸)的杂交,错配的位置变得更重要,而且寡核苷酸的长度决定了其特异性(Sambrook和Russell,同上)。在一个方面,可杂交核酸的长度为至少约10个核苷酸。优选地,可杂交核酸的最小长度为至少约15个核苷酸,更优选地为至少约20个核苷酸,甚至更优选地为至少30个核苷酸,甚至更优选地为至少300个核苷酸,最优选地为至少800个核苷酸。此外,技术人员将认识到,必要时可根据诸如探针长度之类的因素来调节温度和洗涤溶液的盐浓度。

[0388] 如本文所用,术语“百分比同一性”是两条或更多条多肽序列之间或两条或更多条多核苷酸序列之间的关系,该关系通过对序列进行比较确定。在本领域中,“同一性”还表示多肽或多核苷酸序列之间序列关联的程度,根据具体情况,它由这些序列的序列串之间的匹配程度确定。“同一性”和“相似性”可容易地通过已知方法计算出来,所述的方法包括但不限于下列文献中所描述的那些:Computational Molecular Biology (Lesk,A.M.编辑) Oxford University Press,NY(1988);Biocomputing:Informatics and Genome Projects (Smith,D.W.编辑) Academic Press,NY(1993);Computer Analysis of Sequence Data, Part I (Griffin,A.M.和Griffin,H.G.编辑) Humana Press,NJ(1994);Sequence Analysis in Molecular Biology (von Heinje,G.编辑) Academic Press(1987);和Sequence Analysis Primer (Gribskov,M.和Devereux,J.编辑) Stockton Press,NY(1991)。确定同一性和相似性的方法在可公开获得的计算机程序中编成了代码。序列比对和百分比同一性计算可通过LASERGENE生物信息学计算套件中的Megalign程序(DNASTAR Inc.,Madison,WI)、Vector NTI v.7.0 (Informax,Inc.,Bethesda,MD)、或EMBOSS Open Software Suite (EMBL-EBI;Rice等人,Trends in Genetics16,(6):276-277(2000))进行。序列的多重比对可通过CLUSTAL比对法(例如CLUSTALW;如1.83版)使用默认参数进行(Higgins和Sharp,CABIOS,5:151-153(1989);Higgins等人,Nucleic Acids Res.22:4673-4680(1994);以及Chenna等人,Nucleic Acids Res31(13):3497-500(2003)),可通过European Bioinformatics Institute(得自European Molecular Biology Laboratory)。CLUSTALW蛋白比对的合适参数包括GAP Existence penalty=15、GAP extension=0.2、matrix=Gonnet(例如Gonnet250)、Protein ENDGAP=-1、Protein GAPDIST=4、以及KTUPLE=1。在一个实施例中,使用默认设置进行快速或慢速比对,其中优选慢速比对。作为另外一种选择,可将使用CLUSTALW法(例如1.83版)的参数修改为也使用KTUPLE=1、GAP PENALTY=10、GAP extension=1、matrix=BLOSUM(如BLOSUM64)、WINDOW=5、以及TOPDIAGONALSSAVED=5。

[0389] 在一个方面,合适的分离型核酸分子编码下述多肽,其具有的氨基酸序列与本文

报道的氨基酸序列至少约20%，优选至少30%、33%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%相同。在另一方面，合适的分离型核酸分子编码下述多肽，其具有的氨基酸序列与本文报道的氨基酸序列至少约20%，优选至少30%、33%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%相同；条件是所述多肽保留CE-7特征基序。合适核酸分子不仅具有上述同源性，而且通常编码长度为约210个至340个氨基酸，约300个至约340个氨基酸，优选地约310个至约330个氨基酸，并且最优选地约318至约325个氨基酸的多肽，其中每个多肽特征在于具有过水解活性。

[0390] 靶向过水解酶

[0391] 如本文所用，术语“靶向过水解酶”和“具有过水解活性的靶向酶”将指包括至少一种融合到/联接到至少一个肽组分上的过水解酶(野生型或其变体)的融合蛋白，所述肽组分对目标表面，优选靶向身体表面具有亲和力。在靶向过水解酶内的过水解酶可为任何过水解酶并且可包括脂肪酶、蛋白酶、酯酶、酰基转移酶、芳基酯酶、糖酯酶、以及它们的组合，只要所述酶对一种或多种本发明底物具有过水解活性即可。例子可包括但不限于过水解蛋白酶(例如枯草杆菌蛋白酶变体；美国专利公开7,510,859)、过水解酯酶(例如荧光假单胞菌；美国专利公开7,384,787；SEQ ID NO:477)、和过水解芳基酯酶(例如耻垢分枝杆菌；美国专利公开7,754,460；WO2005/056782；和EP1689859B1；SEQ ID NO:460[S54V变体]与478[野生型])。

[0392] 在一个实施例中，所述融合蛋白包含过水解酶，其具有与S54V耻垢分枝杆菌芳基酯酶SEQ ID NO:460具有至少95%的同一性的氨基酸序列。

[0393] 在一个实施例中，所述融合蛋白包含来自荧光假单胞菌的过水解酯酶。在另一个实施例中，所述融合蛋白包含过水解酶，其具有与荧光假单胞菌芳基酯酶SEQ ID NO:477具有至少95%的同一性的氨基酸序列。

[0394] 在另一个实施例中，所述融合蛋白包含过水解酶，其具有选自SEQ ID NO:424、425、426、427、428、429、430、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、476、477、478、和479的氨基酸序列。

[0395] 如本文所用，术语“肽组分”、“对口腔表面具有亲和力的肽组分”、和“OCBD”将指融合蛋白组分，其不是包括通过肽键接合的两种或更多种氨基酸的至少一种聚合物的过水解酶部分；其中所述组分对目标口腔表面具有亲和力。

[0396] 在一个实施例中，对身体表面具有亲和力的肽组分可为抗体、Fab抗体片段、单链可变片段(scFv)抗体、骆驼科(Camelidae)抗体(Muyldermans, S., Rev. Mol. Biotechnol., (2001) 74:277-302)、非抗体支架展示蛋白(Hosse等人, Prot. Sci. (2006) 15(1):14-27和Binz, H.等人(2005) Nature Biotechnology 23, 1257-1268, 多种支架辅助方法回顾)或缺乏免疫球蛋白折叠的单链多肽。在另一方面，对身体表面具有亲和力的肽组分是缺乏免疫球蛋白折叠单链肽(即，身体表面结合肽或包括至少一个对口腔表面具有亲和力的身体表面结合肽的身体表面结合域)。在一个优选的实施例中，所述肽组分是单链肽，其包括一种或多种对口腔表面具有亲和力的身体表面结合肽。

[0397] 对口腔表面具有亲和力的肽组分可通过任选的肽接头分离自过水解酶。某些肽接

头/间隔区的长度为1至100或1至50个氨基酸。在一些实施例中,肽间隔区的长度为约1至约25个、3至约40个、或3至约30个氨基酸。在其它实施例中,间隔区的长度为约5至约20个氨基酸。可使用多发性的肽接头。在一个实施例中,存在至少一个肽接头并且它可重复至多10次。

[0398] 以前鉴定为对一个身体表面具有亲和力的肽也可对口腔护理表面具有亲和力。同样地,融合肽可包括至少一个以前报道对另一个身体表面如毛发(SEQ ID NO:65-221、271、和368);皮肤(SEQ ID NO:217-269);或指/趾甲(SEQ ID NO:270-271)具有亲和力的肽。在一个实施例中,融合肽包括至少一个口腔表面结合肽,其来自SEQ ID NO:272-382和399-422。在一个实施例中,融合肽包括至少一个口腔表面结合肽,其选自SEQ ID NO:272-382、399-410、和412-422;其中SEQ ID NO:272-291和312-382对牙膜具有亲和力;SEQ ID NO:292-311对牙釉具有亲和力;并且SEQ ID NO:399-410和412-422对牙釉或牙膜具有亲和力。一些身体表面结合肽可对多于一种身体表面具有强亲和力,并且同样地可用于靶向不同身体表面的过水解酶。在另一个实施例中,融合肽可包括设计对目标身体表面具有静电吸引的任何身体表面结合肽(例如经工程化以静电结合到目标身体表面上的身体表面结合肽)。

[0399] 在另一个实施例中,目标表面是包装部分和/或递送于口腔的方法的材料。选择对应用的一种或多种材料如聚合物、塑料和膜具有亲和力的肽组分。靶向过水解酶融合蛋白设计通过将过水解酶保持在可移除装置(例如但不限于牙托或口腔贴)上,允许进行受控的递送以及从使用者中除去过水解酶。

[0400] 靶向CE-7过水解酶

[0401] 在一个优选的实施例中,“靶向过水解酶”是具有过水解活性的靶向CE-7糖酯酶。如本文所用,术语“靶向CE-7过水解酶”和“靶向CE-7糖酯酶”将指包括至少一种融合到/联接到至少一个肽组分上的CE-7过水解酶(野生型过水解酶或其变体)的融合蛋白,所述肽组分对目标表面,优选目标身体表面具有亲和力。对身体表面具有亲和力的肽组分可为上述那些肽组分中的任何一种。在一个优选的方面,在靶向CE-7过水解酶中的肽组分是缺乏免疫球蛋白折叠单链肽(即,身体表面结合肽或包括至少一个对口腔表面具有亲和力的身体表面结合肽的身体表面结合域)。在一个优选的实施例中,所述肽组分是单链肽,其包括一种或多种对口腔表面具有亲和力的身体表面结合肽。

[0402] 对口腔表面具有亲和力的肽组分可通过任选的肽接头分离自CE-7过水解酶。某些肽接头/间隔区的长度为1至100或1至50个氨基酸。在一些实施例中,肽间隔区的长度为约1至约25个、3至约40个、或3至约30个氨基酸。在其它实施例中,间隔区的长度为约5至约20个氨基酸。可使用多发性的肽接头。

[0403] 同样地,靶向CE-7过水解酶的例子可包括但不限于具有选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476的氨基酸序列的任何CE-7过水解酶,所述氨基酸序列联接到对口腔表面具有亲和力的肽组分上。在一个优选的实施例中,靶向过水解酶的例子可包括但不限于具有选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476的氨基酸序列的任何CE-7过水解酶,所述氨基酸序列联接到对口腔表面具有亲和力的一个或多个身体表面结合肽上(任选地通过肽间隔区)。

[0404] 在另一个实施例中,靶向CE-7过水解酶可包括以前鉴定为对一个身体表面具有亲和力的肽,其也可对口腔护理表面具有亲和力。同样地,融合肽可包括至少一个以前报道对另一个身体表面如毛发(SEQ ID NO:65-221、271、和368);皮肤(SEQ ID NO:217-269);或指/趾甲(SEQ ID NO:270-271)。在一个实施例中,融合肽包括至少一个口腔表面结合肽,其来自SEQ ID NO:272-382和399-422。在一个实施例中,CE-7过水解酶融合肽包括至少一个口腔表面结合肽,其选自SEQ ID NO:272-382、399-410、和412-422;其中SEQ ID NO:272-291和312-382对牙膜具有亲和力;SEQ ID NO:292-311对牙釉具有亲和力;并且SEQ ID NO:399-410和412-422对牙釉或牙膜具有亲和力。一些身体表面结合肽可对多于一种身体表面具有强亲和力,并且同样地可用于靶向不同身体表面的过水解酶。在另一个实施例中,CE-7过水解酶融合肽可包括设计对目标身体表面具有静电吸引的任何身体表面结合肽(例如经工程化以静电结合到目标身体表面上的身体表面结合肽)。

[0405] 在另一个实施例中,目标表面是包装部分和/或递送于口腔的方法的材料。选择对应用的一种或多种材料如聚合物、塑料和膜具有亲和力的肽组分。靶向CE-7过水解酶融合蛋白设计通过将过水解酶保持在可移除装置(例如牙托或口腔贴)上,允许进行受控的递送以及从使用者中除去过水解酶。

[0406] 对身体表面具有亲和力的肽

[0407] 缺乏免疫球蛋白折叠的单链肽能够结合到口腔表面上,它称为“口腔表面结合肽”(OCBP)并且可包括例如结合到牙齿表面上的肽(牙齿结合肽)、对软组织如牙龈具有亲和力的肽、或对口服可接受的材料(其在口腔中使用是安全的)具有亲和力的肽。牙齿结合肽可包括对牙釉具有亲和力的肽(“牙釉结合肽”)和对牙膜具有亲和力的肽(“牙膜结合肽”)。

[0408] 本文提供了对至少一个身体表面具有亲和力的肽的非限制性列表,其包括那些对毛发具有亲和力的肽(毛发结合肽,其具有选自SEQ ID NO:65-221、271、和368的氨基酸序列)、对皮肤具有亲和力的肽(皮肤结合肽,其包含选自SEQ ID NO:217-269的氨基酸序列)、和对指/趾甲具有亲和力的肽(指/趾甲结合肽,其包含选自SEQ ID NO:270-271的氨基酸序列)。对口腔表面具有亲和力的肽(口腔结合肽)的例子包括选自SEQ ID NO:272-382和399-422的氨基酸序列。在一个优选的方面,对口腔表面具有亲和力的肽选自SEQ ID NO:272-382、399-410、和412-422;其中SEQ ID NO:272-291和312-382对牙膜具有亲和力;SEQ ID NO:292-311对牙釉具有亲和力;并且SEQ ID NO:399-410和412-422对牙釉或牙膜具有亲和力。

[0409] 在一个实施例中,也可对口腔表面具有亲和力的肽可包括SEQ ID NO.65-382、399-410、和412-422中的一个或多个。优选地,在本发明组合和方法中使用的肽选自SEQ ID NO:272-382、399-410、和412-422。在另一个实施例中,口腔表面结合肽可包括口腔某些表面的皮肤结合肽(例如牙龈)。在另一个实施例中,融合肽可包括设计对目标身体表面具有静电吸引的任何身体表面结合肽(例如经工程化以静电结合到目标身体表面上的身体表面结合肽)。

[0410] 在另一个实施例中,本发明的组合和方法包括至少一个口腔表面结合肽,其具有选自SEQ ID NO:399-410和412-422的氨基酸序列。

[0411] 在一些实施例中,口腔表面结合域由口腔表面结合肽构成,其长度为至多约60个氨基酸。在一个实施例中,口腔表面结合肽的长度为5至60个氨基酸。在其它实施例中,表面

结合肽的长度为7至50个氨基酸或7至30个氨基酸。在其他实施例中,那些口腔表面结合肽的长度为7至27个氨基酸。

[0412] 虽然包括口腔表面结合肽的融合肽是本发明的某些实施例,在本发明的其它实施例中,使用多个口腔表面结合肽可为有利的。包括多个,即,两个或更多个口腔表面结合肽能够提供例如比包括单个口腔表面结合肽的那些结合元件甚至更持久的肽组分。在一些实施例中,口腔表面结合域(即,多个,即,两个或更多个口腔表面结合肽)包括2个至约50个或2个至约25个口腔表面结合肽。其他实施例包括那些包括2个至约10个或2个至5个口腔表面结合肽的口腔表面结合域。

[0413] 多个结合元件(即,口腔表面结合肽或口腔表面结合域)可直接连接在一起、或它们能够使用肽间隔区连接在一起。某些肽接头/间隔区的长度为1至100或1至50个氨基酸。在一些实施例中,肽间隔区的长度为约1至约25个、3至约40个、或3至约30个氨基酸。在其它实施例中,肽间隔区的长度为约1至约20或约5至约20个氨基酸。

[0414] 口腔表面结合域和构成它们的较短的口腔表面结合肽能够使用本领域技术人员已知的任意数量的方法进行鉴定,包括例如任何已知的生物淘选技术如噬菌体展示、细菌展示、酵母展示、核糖体展示、mRNA展示、以及它们的组合。通常随机或基本上随机(在事件中存在偏差)的肽库对目标身体表面进行生物淘选以鉴定库中对目标身体表面具有亲和力的肽。

[0415] 生成肽随机库的方法是熟知的并且可通过多种技术完成,包括细菌展示(Kemp, D.J.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (7): 4520-4524 (1981), 和 Helfman 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80 (1): 31-35, (1983)), 酵母展示(Chien 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (21): 9578-82 (1991)), 联合固相肽合成(美国专利公开5,449,754、美国专利公开5,480,971、美国专利公开5,585,275、美国专利公开5,639,603)、和噬菌体展示技术(美国专利公开5,223,409、美国专利公开5,403,484、美国专利公开5,571,698、美国专利公开5,837,500); 核糖体展示(美国专利公开5,643,768; 美国专利5,658,754; 和美国专利公开7,074,557)、以及mRNA展示技术(PROFUSION™; 参见美国专利公开6,258,558; 6,518,018; 6,281,344; 6,214,553; 6,261,804; 6,207,446; 6,846,655; 6,312,927; 6,602,685; 6,416,950; 6,429,300; 7,078,197; 和6,436,665)。

[0416] 结合亲和力

[0417] 对口腔表面具有亲和力的肽组分包括 10^{-5} 摩尔(M)或更小的口腔表面结合亲和力。在某些实施例中,肽组分是一个或多个口腔表面结合肽和/或结合域,它们对人的毛发、皮肤、指/趾甲或口腔具有 10^{-5} 摩尔(M)或更小的结合亲和力。在一些实施例中,结合肽或域在至少约50-500mM盐存在的情况下将具有 10^{-5} M或更小的结合亲和力值。术语“结合亲和力”是指结合肽与它的相应底物相互作用的强度,在这种情况下为人的口腔表面(牙龈、牙齿等)。结合亲和力可根据结合肽的解离常数(K_D)、或“ MB_{50} ”进行定义或测量。

[0418] “ K_D ”对应于目标上的一半结合位点被占据时的肽浓度,即,此时具有肽结合(结合目标材料)的目标浓度等于无肽结合的目标浓度。解离常数越小,肽结合得越牢固。例如,具有纳摩尔(nM)解离常数的肽比具有微摩尔(μ M)解离常数的肽结合得更牢。本发明的某些实施例将具有的 K_D 值为 10^{-5} 或更小。

[0419] “ MB_{50} ”指结合肽的浓度提供的信号为在基于ELISA的结合测定法中获得的最大信

号的50%。参见例如美国专利公开申请公布2005/022683的实例3；其以引用方式并入本文。MB₅₀指示络合物组分的结合相互作用或亲和力的强度。MB₅₀值越低，肽与其对应底物的相互作用越强，即，“越好”。例如，具有纳摩尔 (nM) MB₅₀的肽比具有微摩尔 (μM) MB₅₀的肽结合得更牢。本发明的某些实施例将具有的MB₅₀值为10⁻⁵M或更小。

[0420] 在一些实施例中，对口腔表面具有亲和力的肽组分可具有结合亲和力，其通过K_D或MB₅₀值进行测量，该值小于或等于约10⁻⁵M、小于或等于约10⁻⁶M、小于或等于约10⁻⁷M、小于或等于约10⁻⁸M、小于或等于约10⁻⁹M、或小于或等于约10⁻¹⁰M。

[0421] 在一些实施例中，口腔表面结合肽和/或口腔表面结合域可具有结合亲和力，其通过K_D或MB₅₀值进行测量，该值小于或等于约10⁻⁵M、小于或等于约10⁻⁶M、小于或等于约10⁻⁷M、小于或等于约10⁻⁸M、小于或等于约10⁻⁹M、或小于或等于约10⁻¹⁰M。

[0422] 如本文所用，术语“强亲和力”将指具有的K_D或MB₅₀值小于或等于约10⁻⁵M、优选地小于或等于约10⁻⁶M、更优选地小于或等于约10⁻⁷M、更优选地小于或等于约10⁻⁸M、小于或等于约10⁻⁹M、或最优选地小于或等于约10⁻¹⁰M的结合亲和力。

[0423] 多组分过氧羧酸生成系统

[0424] 用于使多种活性组分分开与混合的系统 and 装置的设计是本领域已知的，并且一般将取决于各反应组分的物理形式。例如，多重活性流体(液体-液体)系统一般使用多室分配瓶或二相系统(例如美国专利公开申请公布2005/0139608；美国专利公开5,398,846；美国专利公开5,624,634；美国专利公开6,391,840；欧洲专利公开0807156B1；美国专利公开申请公布2005/0008526；以及PCT公开W000/61713)，例如在其中期望的漂白剂在混合反应性流体时产生的某些漂白应用中发现的。用于产生过氧羧酸的其他形式的多成分系统可以包括但不限于设计用于一种或多种固体成分或固体液体成分组合的那些，例如粉剂(例如美国专利5,116,575)、多层片(例如美国专利6,210,639)、具有多个隔室的水溶性包(例如美国专利6,995,125)和在水添加后反应的固体凝聚物(例如美国专利6,319,888)。

[0425] 在另一个实施例中，第一组分中的羧酸酯选自：甘油一乙酸酯、甘油二乙酸酯、甘油三乙酸酯以及它们的组合。在另一个实施例中，第一组分中的羧酸酯为乙酰化糖。在另一个实施例中，在第一组分中的酶催化剂可为微粒固体、液体或凝胶。在另一个实施例中，第一反应组分可为固体片或粉末。

[0426] 过氧羧酸反应性极强，其浓度通常会随着时间降低。尤其是市售的预先形成的过氧羧酸组合物更是如此，其通常缺乏长期稳定性。预先形成的过氧羧酸水溶液还可能在处理 and/或运输方面的困难，尤其是长距离运输大型容器 and/或高浓度过氧羧酸溶液时。此外，预先形成的过氧羧酸溶液可能无法提供特定目标应用所需的过氧羧酸浓度。因此，非常有必要将各种反应组分分开，尤其是液体制剂。

[0427] 通过将两种或更多种组分相结合来制备所需的过氧羧酸的多组分过氧羧酸生成系统已有所报道。各组分应操作安全并长期稳定(即，用混合后制备的过氧羧酸的浓度进行衡量)。在一个实施例中，多组分酶催化法过氧羧酸生成系统的贮存稳定性可以用酶催化剂的稳定性衡量。

[0428] 本文提供包含多组分过氧羧酸生成制剂的个人护理产品，其使用酶催化剂以快速制备具有期望过氧羧酸浓度的过酸水溶液。可以在临近使用前 and/或在应用场所(原位)进行混合。在一个实施例中，个人护理产品制剂将由至少两种组分构成，它们在使用前保持分

离。通过混合各组分将快速地形成过酸水溶液。设计每种组分使得所得过酸水溶液包含适于预期最终用途的有效过酸浓度。各组分的组成应被设计为：(1) 可提供长期的贮存稳定性，和/或 (2) 能够促进由过氧羧酸构成的合适含水反应制剂的形成。

[0429] 该多组分制剂可由至少两种基本上为液体的组分构成。在一个实施例中，该多组分制剂可为包含第一液体组分和第二液体组分的双组分制剂。术语“第一”或“第二”液体组分的使用是相对而言的，前提条件是包含指定成分的两种不同液体组分在使用前保持分离。至少，多组分过氧羧酸制剂包含 (1) 至少一种具有过水解活性的酶催化剂，其中所述至少一种酶优选地在结构上归类为CE-7酯酶，(2) 羧酸酯底物，以及 (3) 过氧源和水，其中当将组分混合后所述制剂酶促产生期望的过酸。

[0430] 应仔细选择和平衡在双组分制剂中使用的不同成分的类型和量以提供 (1) 每种组分的贮存稳定性，尤其是酶催化剂的过水解活性，和 (2) 提高溶解度的物理特性和/或有效形成期望过氧羧酸水溶液的能力 (例如，提高酯底物在含水反应混合物中的溶解度的成分和/或改变至少一种液体组分的粘度和/浓度的成分 [即，至少一种助溶剂，其不对酶的过水解活性具有显著的不利影响])。

[0431] 已经公开了用于改善酶促过酸生产体系的性能和/或催化剂稳定性的多种方法。美国专利公开申请公布2010-0048448A1描述了使用至少一种助溶剂提高溶解度和/或某些酯底物的混合特性。本发明的个人护理组合物和方法也可使用助溶剂。在一个实施例中，包含羧酸酯底物和过水解酶催化剂的组分包含Log P值小于约2的有机溶剂，其中将Log P定义为物质在辛醇与水之间的分配系数的对数，表示为 $P = \frac{[\text{溶质}]_{\text{辛醇}}}{[\text{溶质}]_{\text{水}}}$ 。描述了对酶活性无显著不良影响的log P值为2或更小的若干种共溶剂。在另一个实施例中，共溶剂在包含羧酸酯底物和酶的反应组分中的含量为约20重量%至约70重量%。包含羧酸酯底物和酶的反应组分可任选地包含一种或多种缓冲剂 (例如，碳酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、磷酸盐、焦磷酸盐、甲基膦酸盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、酒石酸盐、和马来酸盐的钠和/或钾盐)。

[0432] 美国专利公开申请公布2010-0086534A1描述了双组分体系的使用，其中所述第一组分包含液体羧酸酯和固体酶粉的制剂；其中所述酶粉包含如下物质的制剂：(a) 具有过水解活性的至少一个CE-7酯酶，和 (b) 至少一个低聚糖赋形剂；以及第二组分包含具有过氧源和过氧化氢稳定剂的水。本发明的个人护理组合物和方法可使用双组分制剂，它类似于在US2010-0086534A1中描述的体系。同样地，可使用低聚糖赋形剂以辅助稳定酶活性。在一个实施例中，其中所述寡聚糖赋形剂可具有至少约1250的数均分子量和至少约9000的重均分子量。在另一个实施例中，其中所述寡聚糖赋形剂具有至少约1700的数均分子量和至少约15000的重均分子量。在另一个实施例中，低聚糖是麦芽糖糊精。

[0433] 美国专利公开申请公布2010-0086535-A1也描述了一种双组分体系，其中第一组分包含液体羧酸酯和固体酶粉的制剂，所述制剂包含：(a) 包含至少一种具有过水解活性的CE-7酯酶的酶粉和至少一种低聚糖赋形剂，以及至少一种表面活性剂；和 (b) 至少一种缓冲剂，其中在优选的实施例中，缓冲剂作为单独的 (即与酶粉分开的) 不溶性组分添加到羧酸酯底物中；并且第二组分包含具有过氧源和过氧化氢稳定剂的水。本发明的个人护理组合物和方法可使用双组分制剂，它类似于在US2010-0086535A1中描述的体系。在一个实施例中，所述赋形剂可为具有至少约1250的数均分子量和至少约9000的重均分子量的寡聚糖赋

形剂。在另一个实施例中,其中所述寡聚糖赋形剂可具有至少约1700的数均分子量和至少约15000的重均分子量。在另一个实施例中,低聚糖是麦芽糖糊精。在另一个实施例中,任选的pH缓冲剂为碳酸氢盐缓冲剂。在另一个实施例中,过氧化氢稳定剂为TURPINAL® SL。

[0434] 酶粉

[0435] 在一些实施例中,个人护理组合物可使用酶催化剂,其形式为稳定的酶粉。制备和稳定包含酶粉的制剂的方法在美国专利公开申请公布2010-0086534和2010-0086535中有所描述。

[0436] 在一个实施例中,按酶粉干重计,酶在酶粉中的含量可在约5重量%至约75重量%的范围内。在酶粉/喷雾干燥混合物中,酶的优选重量百分比范围为约10重量%至50重量%,更优选的重量百分比范围为约20重量%至33重量%。

[0437] 在一个实施例中,酶粉还可包含赋形剂。在一个方面,按酶粉的干重计,赋形剂的含量在约95重量%至约25重量%的范围内。酶粉中赋形剂的优选重量%范围为约90重量%至50重量%,更优选的重量%范围为约80重量%至67重量%。

[0438] 在一个实施例中,用于制备酶粉的赋形剂可为低聚糖赋形剂。在一个实施例中,其中所述寡聚糖赋形剂具有至少约1250的数均分子量和至少约9000的重均分子量。在一些实施例中,所述寡聚糖赋形剂具有至少约1700的数均分子量和至少约15000的重均分子量。具体的低聚糖可包括但不限于麦芽糖糊精、木聚糖、甘露聚糖、岩藻依聚糖、半乳甘露聚糖、脱乙酰壳多糖、棉子糖、水苏(四)糖、果胶、胰岛素、果聚糖、graminan型果聚糖、支链淀粉、蔗糖、乳果糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖、纤维二糖、黑曲霉三糖、麦芽三糖、松三糖、麦芽三糖、棉子糖、蔗果三糖、以及它们的混合物。在一个优选的实施例中,低聚糖赋形剂为麦芽糖糊精。寡聚糖类赋形剂也可包括但不限于水溶性非离子型纤维素醚,如羟甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素、以及它们的混合物。在另一个实施例中,赋形剂可选自但不限于下列化合物中的一种或多种:海藻糖、乳糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨醇、葡萄糖、纤维二糖、 α -环糊精、和羧甲基纤维素。

[0439] 所述制剂可包含至少一种任选的表面活性剂,其中优选地存在至少一种表面活性剂。表面活性剂可包括但不限于离子型和非离子型表面活性剂或润湿剂,如乙氧基化蓖麻油、多糖醇解型甘油酯、乙酰化单酸甘油酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯、泊洛沙姆、聚氧化乙烯脂肪酸山梨糖醇酐酯、聚氧乙烯衍生物、单酸甘油酯或其乙氧基化衍生物、甘油二酯或其聚氧乙烯衍生物、多库酯钠、十二烷基硫酸钠、胆酸或其衍生物、卵磷脂、磷脂、乙二醇和丙二醇的嵌段共聚物、以及非离子有机硅树脂。优选的是,表面活性剂为聚氧化乙烯脂肪酸山梨糖醇酐酯,更优选的是聚山梨酸酯80。

[0440] 当制剂包含酶粉时,用于制备酶粉的表面活性剂的含量按酶粉中存在的蛋白重量计在约5重量%至0.1重量%的范围内,优选地在约2重量%至0.5重量%的范围内。

[0441] 酶粉可附加地包含一种或多种缓冲剂(如下列钠盐和/或钾盐:碳酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、磷酸盐、焦磷酸盐、甲基磷酸盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、酒石酸盐、和马来酸盐)、以及酶稳定剂(如乙二胺四乙酸、(1-羟基亚乙基)二膦酸)。

[0442] 通过对制剂进行喷雾干燥,以形成酶粉,例如大致在下列文献中所述:“Spray Drying Handbook”,第5版,K.Masters, John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y. (1991), 以及授予Platz, R.等人的PCT专利公布W097/41833和W096/32149。

[0443] 一般来讲,喷雾干燥包括将高度分散的液体、足量体积的热空气结合在一起,从而使液滴蒸发和干燥。通常将进料喷入经过滤的热空气流中,使溶剂蒸发,并将干燥产物送至收集器。然后将废气与溶剂一起排出。本领域的技术人员将会知道,可以用若干种不同类型的设备来提供所需的产物。例如,由Buchi Ltd. (Postfach, Switzerland) 或GEA Niro Corp. (Copenhagen, Denmark) 制造的市售喷雾干燥机可有效制备期望大小的颗粒。还将认识到,可以对这些喷雾干燥机进行改动或定制,特别是它们的雾化器,以用于专门的应用,例如采用双喷嘴技术同时喷雾两种溶液。更具体地讲,可从一个喷嘴中使油包水乳液雾化,同时可从第二喷嘴中使含防粘剂(如甘露糖醇)的溶液雾化。在其他情况下,可能期望的是用高压液相色谱(HPLC)泵通过定制的喷嘴推出料液。只要能够制备出具有正确形态和/或组成的微结构,那么设备的选择就不是关键性因素,根据本文的教导,其对技术人员而言将是显而易见的。

[0444] 对用于干燥喷雾材料的气体而言,其入口和出口温度均应使得不会导致喷雾材料中的酶发生降解。此类温度通常以实验方法确定,但一般来讲入口温度将在约50℃至约225℃的范围内,而出口温度将在约30℃至约150℃的范围内。优选的参数包括约20至150psi (0.14MPa至1.03MPa) 范围内的雾化压力,优选地在约30-40至100psi (0.21-0.28MPa至0.69MPa) 的范围内。使用的雾化压力通常为下列中的一者(MPa):0.14、0.21、0.28、0.34、0.41、0.48、0.55、0.62、0.69、0.76、0.83或以上。

[0445] 在一个实施例中,“基本上保留酶活性”是指:与制备由羧酸酯和酶粉构成的制剂之前酶粉的初始酶活性相比,酶粉或羧酸酯中的酶粉制剂在环境温度下长期贮存和/或在高温(高于环境温度)下短期贮存后可保留至少约75%的酶活性。长期贮存是指在环境温度下贮存约一年到约两年。在一个实施例中,短期贮存是指高温下的一段时间,即从40℃下制备由羧酸酯和酶粉构成的制剂起至40℃下约八周。在另一个实施例中,高温在约30℃至约52℃的范围内。在一个优选的实施例中,高温在约30℃至约40℃的范围内。

[0446] 在一些实施例中,与在40℃下制备由羧酸酯和酶粉构成的制剂之前酶粉的初始酶活性相比,在40℃下贮存八周后,在由羧酸酯和酶粉构成的制剂中,酶粉保留至少75%的酶活性。在其他实施例中,与在40℃下制备由羧酸酯和酶粉构成的制剂之前酶粉的初始酶活性相比,在40℃下贮存八周后,在由羧酸酯和酶粉构成的制剂中,酶粉保留至少一种酶的至少76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、或100%的酶活性。优选地,过水解活性如美国专利公开申请公布2010-0086510的实例8-13所述进行测量;但是可使用测量过水解活性的任何方法。

[0447] 可以通过下列方法进一步改善指定时间内的酶活性:如美国专利公开申请公布2010-0086534所述,将在约5.5至约9.5pH值范围内具有缓冲能力的缓冲剂添加到由羧酸酯和喷雾干燥的酶粉构成的制剂中。适用的缓冲剂可以包括但不限于下列钠盐、钾盐、或钠盐或钾盐的混合物:碳酸氢盐、焦磷酸盐、磷酸盐、甲基磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、酒石酸盐、马来酸盐或琥珀酸盐。在由羧酸酯和喷雾干燥的酶粉构成的制剂中使用的优选缓冲剂包括下列钠盐、钾盐、或钠盐或钾盐的混合物:碳酸氢盐、焦磷酸盐、磷酸盐、甲基磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、酒石酸盐、马来酸盐或琥珀酸盐。

[0448] 在羧酸酯和酶粉制剂中可存在缓冲剂的实施例中,按由羧酸酯和酶粉构成的制剂

中羧酸酯的重量计,缓冲剂的含量在约0.01重量%至约50重量%的范围内。按由羧酸酯和酶粉构成的制剂中羧酸酯的重量计,缓冲剂的含量可在约0.10%至约10%的更优选范围内。此外,在这些实施例,经测定,酶过水解活性之间的比较为:与在制备由羧酸酯、缓冲剂(在约5.5至约9.5pH值范围内具有缓冲能力)和酶粉构成的制剂之前酶粉的初始过水解活性相比,在40℃下贮存八周后在由羧酸酯、缓冲剂(在约5.5至约9.5pH值范围内具有缓冲能力)和酶粉构成的制剂中酶粉可保留至少一种酶的至少75%的过水解活性。

[0449] 本发明意在将干酶粉作为混在有机化合物中的制剂进行贮存,其中有机化合物为所述至少一种酶的底物,如甘油三乙酸酯。在不存在外加的过氧化氢的情况下,甘油三乙酸酯在水溶液中通常会被CE-7糖酯酶水解,生成甘油二乙酸酯和乙酸,而乙酸的生成则会导致反应混合物的pH值下降。酶在甘油三乙酸酯中保持长期贮存稳定性的一个必要条件是甘油三乙酸酯与甘油三乙酸酯中可能存在的任何水无明显的反应;在一种市售的甘油三乙酸酯(由Tessenderlo Group, Brussels, Belgium提供)中,水含量规范为0.03重量%(300ppm)。将酶贮存于甘油三乙酸酯中所发生的甘油三乙酸酯的任何水解会生成乙酸,这会导致CE-7过水解酶活性降低或失活;过水解酶通常在等于或低于5.0的pH下失活(参见授予DiCosimo, R.等人的美国专利公开申请公布2009-0005590)。为用于本发明而选择的赋形剂必须在由于制剂中存在低浓度的水而可能生成乙酸的条件下为有机底物中的酶提供稳定性。干燥酶粉可贮存为有机化合物中的制剂,所述有机化合物是至少一种酶的底物,其中所述制剂另外包含赋形剂和一种或多种缓冲剂(例如下列钠盐和/或钾盐:碳酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、磷酸盐、焦磷酸盐、甲基磷酸盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、酒石酸盐、和马来酸盐)。

[0450] 用于通过酶催化从羧酸酯和过氧化氢制备过酸的合适反应条件

[0451] 具有过水解活性的一种或多种酶可用于在本发明的个人护理组合物和方法中生成有效浓度的期望过酸。在具有过水解活性的酶催化剂存在的情况下,期望的过氧羧酸可通过羧酸酯与过氧源的反应进行制备,所述过氧源包括但不限于过氧化氢、过氧化锌、过氧化钠、过氧化脲、过氧化钙、过硼酸钠、过碳酸钠或过氧化氢复合物。

[0452] 在靶向过水解酶内的过水解酶可为任何过水解酶并且可包括脂肪酶、蛋白酶、酯酶、酰基转移酶、芳基酯酶、糖酯酶、以及它们的组合,只要所述酶对一种或多种本发明底物具有过水解活性即可。例子可包括但不限于过水解蛋白酶(枯草杆菌蛋白酶变体;美国专利公开7,510,859)、过水解酯酶(荧光假单胞菌;美国专利公开7,384,787;“L29P”变体SEQ ID NO:477)、和过水解芳基酯酶(耻垢分枝杆菌;美国专利公开7,754,460;W02005/056782;和EP1689859B1;SEQ ID NO:460[S54V变体]与478[野生型])。

[0453] 在一个实施例中,酶催化剂包含至少一种具有过水解酶活性的酶,其中所述酶在结构上归类为CE-7糖酯酶家族的成员(CE-7;参见上文Coutinho, P.M. 和Henrissat, B.)。在另一个实施例中,过水解酶催化剂在结构上被归类为先锋霉素C脱乙酰酶。在另一个实施例中,过水解酶催化剂在结构上被归类为乙酰木聚糖酯酶。

[0454] 在一个实施例中,过水解酶催化剂包含具有过水解活性和特征基序的酶,所述特征基序包括:

[0455] a) 与SEQ ID NO:2的氨基酸残基118-120比对的RGQ基序;

[0456] b) 与SEQ ID NO:2的氨基酸残基179-183比对的GXSQG基序;和

[0457] c) 与SEQ ID NO:2的氨基酸残基298-299比对的HE基序。

[0458] 在一个优选的实施例中,与参考序列SEQ ID NO:2的比对使用CLUSTALW进行。

[0459] 在另一个实施例中,该CE-7特征基序还可包含附加的(即,第四)基序,其被定义为当用CLUSTALW比对参考序列SEQ ID NO:2时在第267-269氨基酸残基位置的LXD基序。

[0460] 在另一个实施例中,过水解酶催化剂包含具有过水解酶活性的酶,所述酶具有选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476的氨基酸序列。

[0461] 在另一个实施例中,过水解酶催化剂包含具有过水解酶活性的酶,所述酶具有选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、424、437、和476的氨基酸序列,其中所述酶可具有一个或多个添加、缺失、或替换,只要保留特征基序并保持过水解活性即可。

[0462] 如上所述,CE-7过水解酶可为融合蛋白,其具有包含CE-7过水解酶的第一部分和包含肽组分的第二部分,所述肽组分对目标身体表面具有亲和力,使得所述过水解酶“靶向”期望的身体表面。在一个实施例中,任何CE-7过水解酶(通过存在的CE-7特征基序定义)可结合到能够使所述酶靶向身体表面的任何肽组分/结合元件上。在一个方面,具有对口腔表面的亲和力的肽组分可包括抗体、抗体片段(F_{ab})、以及单链可变片段(scFv;免疫球蛋白的重链(V_H)和轻链(V_L)的融合可变区)、单域骆驼抗体、支架展示蛋白、和缺乏免疫球蛋白折叠的单链亲和肽。包含抗体、抗体片段和其他免疫球蛋白来源的结合元件、以及大支架展示蛋白的组合物常常是不经济的。同样地,并且在一个优选的方面,肽组分/结合元件是缺乏免疫球蛋白折叠和/或免疫球蛋白域的单链亲和肽。短单链身体表面结合肽可根据经验产生(例如带正电的多肽靶向带负电的表面)或使用对靶向身体表面的生物淘选产生。使用任意数量的展示技术(例如噬菌体展示、酵母展示、细菌展示、核糖体展示、和mRNA展示)鉴定/获取亲和肽的方法是本领域为人们所熟知的。单个口腔表面结合肽可经由任选的间隔区/接头联接到一起以形成大的结合“域”(本文也称为结合“手”),从而促进过水解酶附接/定位于目标口腔表面。

[0463] 融合蛋白也可包括一个或多个肽接头/间隔区,其分开CE-7过水解酶口腔表面结合域和/或介于不同的口腔表面结合肽之间(例如当多个口腔表面结合肽联接在一起形成较大的靶向口腔表面结合域时)。可存在多个肽接头/间隔区并且接头的数量可重复至多10次。提供了示例性肽间隔区的非限制性列表,它们是氨基酸序列SEQ ID NO:383-396和在表5中示出的那些。

[0464] 上文描述了对口腔表面具有亲和力的适用的肽。使用任何上述“展示”技术鉴定附加的口腔表面结合肽的方法是为人们所熟知的,并且可用于鉴定附加的口腔表面结合肽。

[0465] 合适的羧酸酯底物可以包括具有下式的酯:

[0466] (a) 一种或多种具有下列结构的酯:

[0467] $[X]_m R_5$

[0468] 其中X为式 $R_6C(O)O$ 的酯基;

[0469] R_6 为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于 $R_6=C2-C7$, R_6 任选地包含一个或多个醚键;

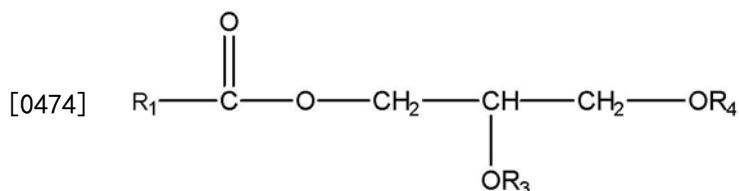
[0470] R_5 为任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部

分或六元环状芳族或杂芳族部分；其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基，或不超过一个酯基或羧酸基，并且其中R₅任选地包含一个或多个醚键；

[0471] m为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数，

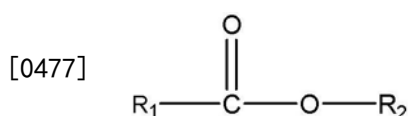
[0472] 在25℃下，所述一种或多种酯具有至少5ppm的水中溶解度；或

[0473] (b) 一种或多种具有下列结构的甘油酯：



[0475] 其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O)；或

[0476] (c) 一种或多种下式的酯：



[0478] 其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基，并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、(CH₂CH₂O)_n、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH，并且n为1至10；或

[0479] (d) 一种或多种乙酰化单糖、乙酰化二糖、或乙酰化多糖；或

[0480] (e) (a) 至 (d) 的任何组合。

[0481] 适合的底物还可以包括一种或多种选自酰化的单糖、二糖、和多糖的酰化的糖类。在另一个实施例中，酰化的糖类选自乙酰化木聚糖；乙酰化木聚糖片段；乙酰化木糖（例如木糖四乙酸酯）；乙酰化葡萄糖（例如α-D-葡萄糖五乙酸酯；β-D-葡萄糖五乙酸酯；1-硫代-β-D-葡萄糖-2,3,4,6-四乙酸酯）；β-D-半乳糖五乙酸酯；山梨醇六乙酸酯；蔗糖辛乙酸酯；β-D-呋喃核糖-1,2,3,5-四乙酸酯；β-D-呋喃核糖-1,2,3,4-四乙酸酯；三-O-乙酰基-D-半乳糖；三-O-乙酰基-D-葡萄糖烯糖；β-D-呋喃木糖四乙酸酯；α-D-吡喃葡萄糖五乙酸酯；β-D-吡喃葡萄糖-1,2,3,4-四乙酸酯；β-D-吡喃葡萄糖-2,3,4,6-四乙酸酯；2-乙酰氨基-2-脱氧-1,3,4,6-四乙酰-β-D-吡喃葡萄糖；2-乙酰氨基-2-脱氧-3,4,6-三乙酰-1-氯-α-D-吡喃葡萄糖；α-D-吡喃甘露糖五乙酸酯、和乙酰化纤维素。在一个优选的实施例中，乙酰化糖选自β-D-呋喃核糖-1,2,3,5-四乙酸酯；三-O-乙酰基-D-半乳糖；三-O-乙酰基-D-葡萄糖烯糖；蔗糖辛乙酸酯；和乙酰化纤维素。

[0482] 在另一个实施例中，附加的适用底物也可包括5-乙酰氧甲基-2-呋喃甲醛；3,4-二乙酰氧基-1-丁烯；4-乙酰氧基苯甲酸；乙酰香草醛；丙二醇甲醚乙酸酯；乳酸甲酯；乳酸乙酯；乙醇酸甲酯；乙醇酸乙酯；甲氧基乙酸甲酯；甲氧基乙酸乙酯；3-羟基丁酸甲酯；3-羟基丁酸乙酯；和2-乙酰柠檬酸三乙酯。

[0483] 在另一个实施例中，适合的底物选自：甘油一乙酸酯；甘油二乙酸酯；甘油三乙酸酯；甘油一丙酸酯；甘油二丙酸酯；甘油三丙酸酯；甘油一丁酸酯；甘油二丁酸酯；甘油三丁酸酯；葡萄糖五乙酸酯；木糖四乙酸酯；乙酰化木聚糖；乙酰化木聚糖片段；β-D-呋喃核糖-1,2,3,5-四乙酸酯；三-O-乙酰基-D-半乳糖；三-O-乙酰基-D-葡萄糖烯糖；下列物质的单酯或

二酯:1,2-乙二醇;1,2-丙二醇;1,3-丙二醇;1,2-丁二醇;1,3-丁二醇;2,3-丁二醇;1,4-丁二醇;1,2-戊二醇;2,5-戊二醇;1,5-戊二醇;1,6-戊二醇;1,2-己二醇;2,5-己二醇;1,6-己二醇;以及它们的混合物。在另一个实施例中,所述底物为包含一个或多个酯基的C1-C6多元醇。在一个优选的实施例中,在C1-C6多元醇上的一个或多个羟基被一个或多个乙酰氧基(例如1,3-丙二醇二乙酸酯;1,2-丙二醇二乙酸酯;1,4-丁二醇二乙酸酯;1,5-戊二醇二乙酸酯等)取代。在另一个实施例中,所述底物为丙二醇二乙酸酯(PGDA)、乙二醇二乙酸酯(EGDA)、或它们的混合物。

[0484] 在另一个实施例中,合适的底物选自甘油一乙酸酯、甘油二乙酸酯、甘油三乙酸酯、甘油一丙酸酯、甘油二丙酸酯、甘油三丙酸酯、甘油一丁酸酯、甘油二丁酸酯、和甘油三丁酸酯。在又一方面,所述底物选自甘油二乙酸酯和甘油三乙酸酯。在最优选的实施例中,适合的底物包括甘油三乙酸酯。

[0485] 在一个优选的实施例中,羧酸酯为选自甘油一乙酸酯、甘油二乙酸酯、甘油三乙酸酯和它们的组合(即混合物)的液体底物。羧酸酯在反应制剂中存在的浓度当酶催化过水解时足以产生期望浓度的过氧羧酸。羧酸酯不需要在反应制剂中完全溶解,但是其溶解度足以通过过水解酶催化剂将酯转化成相应的过氧羧酸。羧酸酯在反应制剂中的浓度为0.05重量%至40重量%,优选地为0.1重量%至20重量%,更优选地为0.5重量%至10重量%。

[0486] 过氧源可包括但不限于过氧化氢、过氧化氢加合物(如尿素-过氧化氢加合物(过氧化脲))、过硼酸盐、过碳酸盐和过氧化物盐。反应制剂中的过氧化化合物的浓度可介于0.0033重量%至约50重量%,优选地0.033重量%至约40重量%,更优选地0.1重量%至约30重量%的范围内。

[0487] 过氧源(即,过氧化氢)也可使用能够制备有效量过氧化氢的酶酶促产生。例如,可在本发明组合和方法中使用多种氧化酶以制备有效量的过氧化氢,所述酶包括但不限于葡萄糖氧化酶、乳糖氧化酶、碳水化合物氧化酶、醇氧化酶、乙二醇氧化酶、甘油氧化酶、和氨基酸氧化酶。

[0488] 已经报道多种过水解酶催化剂(全细胞、透化的全细胞、以及部分纯化的全细胞提取物)具有过氧化氢酶活性(EC111.1.6)。过氧化氢酶催化过氧化氢转化成氧和水。在一个方面,过水解催化剂缺乏过氧化氢酶活性。在另一方面,可将过氧化氢酶抑制剂加到反应制剂中。本领域的技术人员可以根据需要调节过氧化氢酶抑制剂的浓度。过氧化氢酶抑制剂的浓度通常在0.1mM至约1M的范围内;优选地在约1mM至约50mM的范围内;更优选地在约1mM至约20mM的范围内。

[0489] 在另一个实施例中,酶催化剂缺乏明显的过氧化氢酶活性,或可被工程化以降低或消除过氧化氢酶活性。可以用熟知的技术通过破坏负责过氧化氢酶活性的基因的表达来下调或消除宿主细胞中的过氧化氢酶活性,这些技术包括但不限于转座子诱变、RNA反义表达、定向诱变和随机诱变。在一个优选的实施例中,编码内源过氧化氢酶活性的基因被下调或破坏(即,敲除)。如本文所用,“被破坏的”基因是其中不再存在由改性基因编码的蛋白的活性和/或功能的基因。破坏基因的方法是本领域熟知的,包括但不限于插入、去除、或突变,只要相应蛋白的活性和/或功能不再存在即可。在另一个优选的实施例中,生产宿主是大肠杆菌生产宿主,其包含破坏的过氧化氢酶基因,该基因选自katG和katE(参见美国专利公开申请公布2008-0176299)。在另一个实施例中,生产宿主是大肠杆菌菌株,它包含下调

和/或破坏的katG和katE过氧化氢酶基因。

[0490] 含水反应制剂中的催化剂浓度取决于催化剂的催化比活性,并且经选择以获取期望的反应速率。过水解反应中的催化剂的重量通常在每mL总反应体积0.0001mg至10mg,优选地每mL总反应体积0.001mg至2.0mg的范围内。还可以使用本领域技术人员熟知的方法将催化剂固定到可溶性或不溶性支持体上;参见例如Immobilization of Enzymes and Cells;Gordon F.Bickerstaff编辑;Humana Press,Totowa,NJ,USA;1997。使用固定化催化剂允许在后续反应中进行回收和重复使用。酶催化剂的形式可以是完整的微生物细胞、透化的微生物细胞、微生物细胞提取物、部分纯化的酶或纯化的酶、以及它们的混合物。

[0491] 在一个方面,通过羧酸酯的化学法过水解和酶催化法过水解相结合产生的过氧羧酸浓度足以提供用于所选个人护理应用的过氧羧酸有效浓度。在另一方面,本发明的方法提供酶和酶底物的组合以生产期望有效浓度的过氧羧酸,其中在不加入酶的情况下,产生的过氧羧酸浓度显著更低。虽然在一些情况下通过无机过氧化物与酶底物的直接化学反应可基本上化学过水解酶底物,但生成的过氧羧酸浓度可能不足以在期望应用中提供有效的过氧羧酸浓度,并且加入合适的过水解酶催化剂到反应制剂中显著提高总过氧羧酸浓度。

[0492] 在10分钟内,优选地在5分钟内通过过水解至少一种羧酸酯生成的过氧羧酸(例如过乙酸)的浓度为至少约0.1ppm,优选地至少0.5ppm,1ppm,5ppm,10ppm,20ppm,100ppm,200ppm,300ppm,500ppm,700ppm,1000ppm,2000ppm,5000ppm或10,000ppm的过酸,用于启动过水解反应。包含过氧羧酸的产物制剂可任选地用水或主要包含水的溶液稀释以制备基于目标应用具有期望的较低浓度过氧羧酸的制剂。明显地,本领域的技术人员能够调节反应组分和/或稀释量以获得期望的过酸浓度,用于选择的个人护理产品。

[0493] 在一个方面,制备所需浓度过酸所需的反应时间不超过约二小时,优选地不超过约30分钟,更优选地不超过约10分钟,最优选地在约5分钟或更短的时间内。在其他方面,口腔表面接触根据本文所述方法在混合反应组分5分钟内形成的过氧羧酸。在一个实施例中,目标口腔表面与根据本文所述方法在组合所述反应组分约5分钟至约168小时内,或在约5分钟至约48小时内,或在组合所述反应组分约5分钟至2小时内,或在本文任何此类时间间隔内产生的过酸接触。

[0494] 根据本文所述方法形成的过酸用于个人护理产品/应用,其中所述过酸接触目标口腔表面以向口腔提供基于过酸的益处。在一个实施例中,用于为目标身体表面制备过酸的方法原位进行。

[0495] 可对反应温度进行选择,以控制反应速率和酶催化剂活性的稳定性。明显地,对于某些个人护理应用,目标身体表面的温度(例如在口腔内为37℃)可为反应温度。反应温度范围可以从仅高于反应制剂的凝固点(约0℃)至约95℃,优选的范围为5℃至约75℃,更优选的反应温度范围为约5℃至约55℃。

[0496] 包含过氧羧酸的最终反应制剂的pH值为约2至约9,优选约3至约8,更优选约5至约8,甚至更优选约5.5至约8,甚至更优选约6.0至约7.5。可以任选地通过添加合适的缓冲剂,包括但不限于磷酸盐、焦磷酸盐、碳酸氢盐、乙酸盐、或柠檬酸盐,来控制反应和最终反应制剂的pH值。当使用时,缓冲液浓度通常为0.1mM至1.0M,优选地1mM至300mM,最优选地10mM至100mM。

[0497] 在另一方面,酶过水解反应制剂可包含有机溶剂,其作为分散剂提高反应制剂中

的羧酸酯的溶解速率。此类溶剂包括但不限于丙二醇甲醚、丙酮、环己酮、二乙二醇丁醚、三丙二醇甲醚、二乙二醇单甲醚、丙二醇丁醚、二丙二醇甲醚、环己醇、苄醇、异丙醇、乙醇、丙二醇、以及它们的混合物。

[0498] 单步骤对多步骤施用方法

[0499] 通常用于酶促制备过酸有益剂的反应组分的最小组将包括 (1) 至少一种具有如本文所述的过水解活性的酶, 例如CE-7过水解酶 (任选地为靶向融合蛋白形式), (2) 至少一种适用的羧酸酯底物, 和 (3) 过氧源。

[0500] 个人护理组合物的过酸制备反应组分可在使用前保持分离。在一个实施例中, 混合过酸制备组分并且随后接触目标身体表面, 从而使所得基于过酸的有益剂提供对身体表面的益处。可混合所述组分并随后接触目标身体表面, 或可在目标身体表面上混合。在一个实施例中, 混合过酸制备组分, 使得过酸原位产生。

[0501] 也可使用多步骤施用。过酸制备体系组合物中的一个或两个单组分 (即, 在身体表面上依次施用三种基础反应组分中的至少一种) 可在施用酶促制备过酸所需的剩余组分之前接触口腔表面。在一个实施例中, 过水解酶先接触口腔表面, 随后羧酸酯底物和/或过氧源接触口腔表面 (即, “两步施用”)。在一个实施例中, 具有过水解活性的酶是靶向过水解酶, 将其施用于口腔表面, 随后混合酶促制备过酸所需的剩余组分。

[0502] 在一个优选的实施例中, 具有过水解活性的酶是“靶向CE-7过水解酶” (即, CE-7融合蛋白), 将其施用于口腔表面, 随后混合酶促制备过酸所需的剩余组分 (即, 两步施用方法)。靶向过水解酶在合适条件下接触口腔表面以促进融合蛋白非共价结合到口腔表面上。可使用任选的冲洗步骤以除去过多的和/或未结合的融合蛋白, 随后混合剩余的反应组分。

[0503] 在另一个实施例中, 将过水解酶 (任选地为靶向口腔表面的融合蛋白形式) 和羧酸酯施用于目标口腔表面, 随后加入过氧源。

[0504] 在另一个实施例中, 将过水解酶 (任选地为靶向口腔表面的融合蛋白形式) 和过氧源 (例如包含过氧化氢的水溶液) 施用于口腔表面, 随后加入羧酸酯底物。

[0505] 在另一个实施例中, 将过水解酶 (任选地为靶向口腔表面的融合蛋白形式) 和过氧源 (例如包含过氧化氢的水溶液) 施用于口腔表面, 随后加入羧酸酯底物。

[0506] 在另一个实施例中, 可将本文所述的任何组合物或方法组合形成试剂盒, 用于实施本发明。所述试剂盒可包括有利于酶促产生过酸的材料和试剂。示例性的试剂盒包括底物、过氧源、和具有过水解活性的酶催化剂, 其中所述酶催化剂可任选地靶向口腔表面。其他试剂盒组件可无限制地包括一种或多种下列组件: 样品管、固体载体、说明书材料、以及用于酶促制备过酸的其他溶液或其它化学试剂, 例如可接受的组分或载体。

[0507] 口腔护理组合物

[0508] 口服可接受的组分/载体

[0509] 本发明的组合物和方法也可包括口服可接受的载体以及附加的 (即, 除基于过酸的有益剂之外的制剂) 口腔护理有益剂。如本文所用, 术语“口腔护理有益剂”是应用于向口腔表面提供期望/益处或属性的化合物或物质的一般术语。在一个实施例中, 用于口腔表面的有益剂可包括 (除基于过酸的有益剂之外的制剂) 着色剂, 其包括但不限于白色颜料如二氧化钛和白色矿物如羟基磷灰石或锆石。在另一个实施例中, 口腔护理有益剂也可包括增白剂和附加的酶诸如, 例如, 氧化酶、过氧化物酶、蛋白酶、脂肪酶、糖苷酶、酯酶、和多糖水

解酶。在另一方面,有益剂可包括抗斑剂、防污剂、和抗微生物剂。抗微生物剂可包括但不限于抗微生物肽、爪蟾抗菌肽、抗菌肽、杀菌剂、三氯生、氯己定、十六烷基氯化吡啶鎓、季铵化合物、氯二甲苯酚、氯乙醇、邻苯二甲酸及其盐、百里酚、以及它们的组合。口腔护理有益剂也可包括防龋剂如氟化钠或单氟磷酸钠,以及调味剂如冬青、胡椒薄荷、或留兰香的油、或水杨酸甲酯、桉叶油素、或香草醛。口腔护理有益剂也可包括凉爽剂如琥珀酸盐基的凉爽剂化合物,以及流涎剂等等。如本文所用,术语“流涎剂”指当存在于口腔护理组合物中时促使使用者流涎更多的材料。在一个实施例中,有益剂是批准用于口腔护理产品的口部可接受的材料。在另一个实施例中,口部可接受的有益剂用于改善牙齿的美容外观。

[0510] 在口腔上可接受的载体介质中常用的组分的非限制性列表在White等人的美国专利公开6,740,311;Lawler等人的美国专利公开6,706,256;Fuglsang等人的美国专利公开6,264,925;和Ibrahim等人的美国专利公开申请公布2005-0069501中有所描述,上述文献每个均全文以引用方式并入本文。例如,口腔护理组合物可包含一种或多种下列物质:研磨剂、表面活性剂、抗氧化剂、螯合剂、氟化物源、增稠剂、缓冲剂、溶剂、保湿剂、载体、膨化剂、抗牙斑剂、防污剂、抗微生物剂、防龋剂、抗炎剂、脱敏剂、甜味剂、调味剂、口气清新剂、凉爽剂、营养物质、和流涎剂。

[0511] 应当理解,选择混合物中的组分使得口腔护理组合物保留酶促制备期望过酸有益剂的能力。本文所公开的口腔护理体系的合适混合物可由本领域的技术人员使用常规实验来测定。相对于口腔护理组合物的总重量,口腔护理制剂具有的口腔护理有益剂的总浓度可为按重量计约0.001%至约90%。

[0512] 口腔护理组合物可包括但不限于牙膏、牙科用乳膏、牙胶或牙粉、漱口水、口气清新剂、和牙线。附加的实施例包括以糊料或凝胶形式施用反应组分,它们经由牙托在口腔环境中施用。一种或多种反应组分也可首先沉积在粘附到釉质的塑料贴上以递送一种或多种反应组分,从而产生过酸有益剂。在将融合过水解酶沉积到递送装置如贴上的情况下,可设计融合过水解酶以包括结合元件,其具有对贴材料的亲和力以帮助过水解酶在使用期间沉积并保持在贴上,以及在使用后移除装置。

[0513] 用于减少与口腔疾病相关联的微生物或除去非期望的生物膜的基于过酸的口腔护理产品。

[0514] 基于过酸的口腔护理产品可用于减少与龋齿、齿龈炎、口腔念珠菌病、或牙周炎相关联的口腔细菌(例如变异链球菌(*Streptococcus mutans*))。基于过酸的口腔护理产品可用于减少或除去口腔生物膜。

[0515] 在一个实施例中,提供了在口腔护理产品中使用具有过水解活性的酶以产生有效浓度的至少一种过酸,用于漂白、美白、消毒、脱色、除臭或从口腔表面上除去生物膜的方法。

[0516] 在一个实施例中,具有过水解活性的酶是靶向过水解酶并且可包括脂肪酶、蛋白酶、酯酶、酰基转移酶、芳基酯酶、糖酯酶、以及它们的组合,只要所述酶对一种或多种本发明底物具有过水解活性即可。例子可包括但不限于过水解蛋白酶(例如枯草杆菌蛋白酶变体;美国专利公开7,510,859)、过水解酯酶(例如荧光假单胞菌;美国专利公开7,384,787; SEQ ID NO:477)、和过水解芳基酯酶(例如耻垢分枝杆菌;美国专利公开7,754,460; WO2005/056782;和EP1689859B1; SEQ ID NO:460[S54V变体]与478[野生型])。

[0517] 在另一个实施例中,提供了在口腔护理产品中使用具有过水解活性的CE-7糖酯酶以产生有效浓度的至少一种过酸,用于漂白、美白、消毒、脱色、除臭或从口腔表面上除去生物膜的方法。

[0518] 在另一个实施例中,也提供了下列过酸制备组合物的用途,其包含:

[0519] a) 具有过氧化水解活性的酶催化剂,其中所述酶催化剂包括酶,所述酶具有使用CLUSTALW与参考序列SEQ ID NO:2比对的CE-7特征基序,所述特征基序包括:

[0520] i) 在对应于SEQ ID NO:2的位置118-120的位置处的RGQ基序;

[0521] ii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置179-183的位置处的GXSQG基序;和

[0522] iii) 在对应于SEQ ID NO:2的位置298-299的位置处的HE基序;

[0523] 和

[0524] b) 至少一种选自下列的底物:

[0525] 1) 具有下列结构的酯:

[0526] $[X]_m R_5$

[0527] 其中X=式R₆C(O)O的酯基;

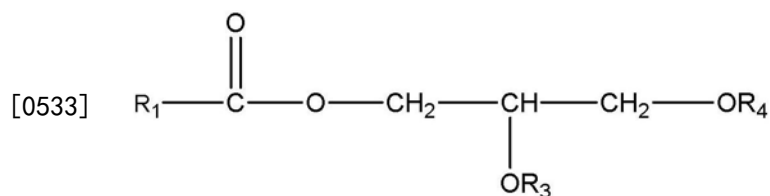
[0528] R₆=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链、支化或环状烃基部分,其中对于R₆=C2-C7,R₆任选地包含一个或多个醚键;

[0529] R₅=任选地被羟基取代的C1-C6直链、支化或环状烃基部分或五元环状杂芳族部分或六元环状芳族或杂芳族部分;其中R₅中的每个碳原子各自包含不超过一个羟基或不超过一个酯基或羧酸基;其中R₅任选地包含一个或多个醚键;

[0530] M为1至R₅中碳原子数量的范围内的整数;并且

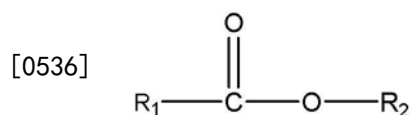
[0531] 其中在25℃下,所述酯具有至少5ppm的水中溶解度;

[0532] 2) 具有下列结构的甘油酯:



[0534] 其中R₁=任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₃和R₄各自为H或R₁C(O);

[0535] 3) 一种或多种下式的酯:



[0537] 其中R₁为任选地被羟基或C1-C4烷氧基取代的C1-C7直链或支链烷基,并且R₂为C1-C10直链或支链烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂芳基、(CH₂CH₂O)_n、或(CH₂CH(CH₃)-O)_nH,并且n为1至10;和

[0538] 4) 选自下列的乙酰化糖:乙酰化单糖、乙酰化二糖和乙酰化多糖;和

[0539] c) 过氧源;

[0540] 从而当混合(a)、(b)、和(c)时形成过酸;其中所述过酸制备制剂用于治疗或预防龋齿、牙龈炎、口腔念珠菌病、或牙周炎。

[0541] 用于测定过氧羧酸和过氧化氢浓度的HPLC测定法。

[0542] 本发明的方法能够使用多种分析方法分析反应物和产物,包括但不限于滴定、高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)、质谱(MS)、毛细管电泳(CE)、由U.Pinkernell等人描述的分析方法(Anal.Chem.,69(17):3623-3627(1997))、以及2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉)-6-磺酸(ABTS)检测分析法(U.Pinkernell等人,Analyst,122:567-571(1997)和Dinu等人,Adv.Funct.Mater.,20:392-398(2010)),如本发明例子所述。

[0543] 确定过氧羧酸的最低生物杀灭浓度

[0544] 某些个人护理应用可与除去非期望的微生物相关联,举例来说,例如与身体状态、真菌感染、和龋齿发展相关联的那些。同样地,人们可能想要测量靶向个人护理应用的最低生物杀灭浓度。如J.Gabrielson等人(J.Microbiol.Methods50:63-73(2002))所述的方法确定过氧羧酸或过氧化氢与酶底物的最低生物杀灭浓度(MBC)。该检测分析法基于XTT还原抑制,其中XTT(2,3-双[2-甲氧基-4-硝基-5-磺苯基]-5-[(苯基氨基)羰基]-2H-四唑翁内盐,单钠盐)是氧还染料,该染料通过在490nm或450nm测量的光密度(OD)变化指示微生物呼吸活性。然而,还有许多种其他方法可用于检测消毒剂和防腐剂的活性,包括但不限于平板活菌计数、直接显微镜计数、干重、浊度测量、吸光度和生物发光(参见,例如Brock、Semour S.,Disinfection, Sterilization, and Preservation,第5版, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA; 2001)。

[0545] 重组微生物的表达

[0546] 本发明序列的基因和基因产物可在异源宿主细胞中产生,尤其是在微生物宿主细胞中产生。用于表达本发明基因和核酸分子的优选异源宿主细胞为微生物宿主,所述微生物宿主可在真菌或细菌家族中找到并且其可在广泛的温度、pH值和溶剂耐受性下生长。例如,预期任何细菌、酵母和丝状真菌可为表达本发明核酸分子的合适宿主。过水解酶可在细胞内、细胞外、或细胞内和细胞外组合表达,其中细胞外表达细胞外表达比细胞内表达能够从发酵产物中更容易地回收期望蛋白。转录、翻译和蛋白质生物合成仪器相对于用来产生细胞生物质的细胞原料而言保持不变;无论如何,功能基因将被表达。宿主菌株的例子包括但不限于细菌、真菌或酵母物种例如曲霉属(*Aspergillus*)、木霉属(*Trichoderma*)、糖酵母属(*Saccharomyces*)、毕赤酵母属(*Pichia*)、红发夫酵母属(*Phaffia*)、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)、假丝酵母属(*Candida*)、汉逊酵母属(*Hansenula*)、耶氏酵母属(*Yarrowia*)、沙门氏菌属(*Salmonella*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、发酵单胞菌属(*Zymomonas*)、农杆菌属(*Agrobacterium*)、赤细菌属(*Erythrobacter*)、绿菌属(*Chlorobium*)、着色菌属(*Chromatium*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、噬纤维菌属(*Cytophaga*)、红细菌属(*Rhodobacter*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、短杆菌属(*Brevibacterium*)、棒状杆菌属(*Corynebacteria*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、异常球菌属(*Deinococcus*)、埃希氏菌属(*Escherichia*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、泛菌属(*Pantoea*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、甲基单胞菌属(*Methylobacter*)、甲基球菌属(*Methylococcus*)、甲基弯菌属(*Methylosinus*)、甲基微菌属(*Methylomicrobium*)、甲基孢囊菌属(*Methylocystis*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)、集胞蓝细菌属(*Synechocystis*)、聚球蓝细菌属(*Synechococcus*)、鱼腥蓝细菌属(*Anabaena*)、硫杆菌

属(Thiobacillus)、甲烷杆菌属(Methanobacterium)、克雷伯氏菌属(Klebsiella)和粘球菌属(Myxococcus)。在一个实施例中,细菌宿主菌株包括埃希氏菌属(Escherichia)、芽孢杆菌属(Bacillus)、克鲁维酵母属(Kluyveromyces)以及假单胞菌属(Pseudomonas)。在一个优选的实施例中,细菌宿主细胞是枯草芽孢杆菌或大肠杆菌(Escherichia coli)。

[0547] 大规模的微生物生长和功能基因表达可使用广范围的简单或络合碳水化合物、有机酸和醇或饱和烃如甲烷或二氧化碳(在光合或化学自养宿主情况下)、不同形式和量的氮、磷、硫、氧、碳或任何痕量营养素包括(小无机离子)。可通过加入或不加入特定调节分子到培养物中调节生长速率,并且通常不认为该调节分子是营养物质或能源。

[0548] 可用于转化合适的宿主细胞的载体或盒是本领域熟知的。通常,载体或盒包含指导相关基因转录和翻译的序列、选择性标记和允许自主复制或染色体整合的序列。合适的载体包含含有转录起始控制的基因5'区域和控制转录终止的DNA片段3'区域。最优选的是当两个控制区都来源于与转化的宿主细胞同源的基因和/或对生产宿主是天然的基因,尽管它们无需来源于此。

[0549] 可用于驱动本发明的先锋霉素C脱乙酰酶编码区在所需宿主细胞中表达的起始控制区或启动子有很多,并且为本领域技术人员所熟悉。事实上,任何能够驱动这些4因的启动子均适用于本发明,包括但不限于:CYC1、HIS3、GAL1、GAL10、ADH1、PGK、PH05、GAPDH、ADC1、TRP1、URA3、LEU2、ENO、TPI(可用于在糖酵母属中表达);AOX1(可用于在毕赤酵母属中表达);和lac、araB、tet、trp、lP_L、lP_R、T7、tac以及trc(用于在大肠杆菌中表达)以及amy、apr、npr启动子和多个噬菌体启动子,用于在芽孢杆菌属中表达。

[0550] 终止控制区也可以源于优选宿主细胞的天然的多种基因。在一个实施例中,可任选包括终止控制区。在另一个实施例中,嵌合基因包括源于优选宿主细胞的终止控制区。

[0551] 工业生产

[0552] 多种培养方法可用来生产过水解酶催化剂。例如,从重组微生物宿主过表达的特定基因产物的大规模生产可通过分批、分批补料和连续培养的方法进行。分批和分批补料培养方法在本领域内是常用的且众所周知,并且例子可见于如下文献:Thomas D.Brock, *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*, 第二版, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (1989) 和 Deshpande、Mukund V., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 36:227-234 (1992)。

[0553] 期望过水解酶催化剂的商业生产也可通过连续培养进行。连续培养是开放式系统,其中将成分确定的培养基连续加入生物反应器中,并同时移出等量条件培养基用于加工。连续培养一般使细胞维持在其中细胞主要处于对数生长期的恒定高液相密度。或,连续培养可以用固定化细胞来进行,其中连续添加碳和营养素,且连续从细胞团块中取出有价值的产物、副产物或废弃物。细胞固定可使用范围广泛的固体支持体进行,所述固体支持体由天然材料和/或合成材料组成。

[0554] 从分批发酵、分批补料发酵、或连续培养中回收期望的过水解酶催化剂可通过本领域技术人员已知的任何方法完成。例如,当在细胞内生产酶催化剂时,通过离心或膜过滤从培养基中分离细胞浆液,任选地用水或期望pH的含水缓冲液洗涤,然后将期望pH的含水缓冲液中的细胞浆液悬浮使其匀化,生产出包含期望酶催化剂的细胞提取物。细胞提取物可任选地滤过合适的助滤剂如硅藻土或二氧化硅以在热处理步骤前除去细胞碎片,所述热

处理步骤用于从酶催化剂溶液中沉淀非期望的蛋白。然后通过膜过滤或离心将包含所需酶催化剂的溶液从沉淀的细胞残片和蛋白质分离,并且所得的部分纯化的酶催化剂溶液通过额外的膜过滤浓缩,然后任选地与合适的载体(例如,麦芽糖糊精、磷酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液或其混合物)混合并喷雾干燥以产生包含所需酶催化剂的固体粉末。

[0555] 当数量、浓度或其他数值或参数以范围、优选范围或优选上限数值和优选下限数值的列表形式给出时,其应理解为具体地公开由任何范围上限或优选数值和任何范围下限或优选数值的任何一对所构成的所有范围,而不管所述范围是否被单独地公开。在本文详述数值范围时,除非另外指明,所述范围旨在包括其端点以及所述范围内的所有整数和分数。当定义一个范围时,不旨在将范围限定于所列举的具体数值。

[0556] 一般方法

[0557] 为演示本发明的优选方面,本文提供了下列例子。本领域的技术人员应理解的是例子中公开的技术遵循能够有效实施本发明的实践的技术,因此可将这些技术视为适合其实践的优选模式。然而,本领域的技术人员应依据本发明理解的是,在不背离本发明所公开的方法和例子的精神和范围的情况下,可对所公开的具体实施例进行许多更改并仍能获得相同或相似的结果。

[0558] 所有试剂和材料获取自DIFCO Laboratories (Detroit,MI)、GIBCO/BRL (Gaithersburg,MD)、TCI America (Portland,OR)、Roche Diagnostics Corporation (Indianapolis,IN)、Thermo Scientific (Pierce Protein Research Products) (Rockford,IL)或Sigma-Aldrich Chemical Company (St.Louis,MO),除非另外指明。

[0559] 本说明书中的下列缩写对应于量度、技术、特性、或化合物的单位如下:“sec”或“s”指秒,“min”指分钟,“h”或“hr”指小时,“μL”指微升,“mL”指毫升,“L”指升,“mM”指毫摩尔,“M”指摩尔,“mmol”指毫摩尔,“ppm”指百万分之一或几,“wt”指重量,“wt%”指重量百分比,“g”指克,“μg”指微克,“mg”指毫克,“ng”指纳克,“g”指重力,“HPLC”指高效液相色谱,“dd H₂O”指蒸馏并去离子水,“dcw”指干细胞重量,“ATCC”或“ATCC[®]”指美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection,Manassas,VA),“U”指过水解酶活性单位,“rpm”指每分钟转数,“T_g”指玻璃化转变温度,并且“EDTA”指乙二胺四乙酸。

[0560] 表达载体pLD001

[0561] 质粒pLD001(SEQ ID NO:397)以前已经报道为大肠杆菌的适宜表达载体(参见授予Wang等人的美国专利公开申请公布2010-0158823A1;以引用方式并入本文)。

[0562] 载体pLD001来源于可商购获得的载体pDEST17(Invitrogen,Carlsbad,CA)。它包括来源于可商购获得的载体pET31b(Novagen,Madison,WI)的序列,该序列编码酮类固醇异构酶的片段(KSI)。以融合伴侣的形式包括KSI片段以促进分开的肽进入大肠杆菌中的不溶解包含体中。使用标准诱变方法修改来自pET31b的编码序列(QuickChange II,Stratagene,La Jolla,CA)以包括除存在于野生型序列中的一个半胱氨酸密码子之外的三个附加的半胱氨酸密码子。此外,编码序列中的所有Asp密码子被Glu密码子取代。质粒pLD001以SEQ ID NO:397提供,它使用本领域的技术人员熟知的标准重组DNA方法构建。

[0563] 实例1

[0564] 过乙酸作为牙齿漂白剂的效果

[0565] 这个实例描述了使用过乙酸以获得对有色斑的模型釉质表面的漂白效应。牛釉质

门牙获取自SE Dental (Baton Rouge, LA)。使用具有金刚石刀片的DREMEL®转锯 (Robert Bosch Power Tool Corporation; Chicago, IL) 将牙齿切开并切成每个面大约7mm的釉质块。清洁釉质块并略微打磨以除去表面碎屑。用咖啡和茶的混合物预处理釉质1-5天以使其颜色类似于人的有色斑的牙齿。

[0566] 在使用前在水中水合每个釉质块至少1小时。在暴露于测试溶液前对基质进行颜色测量。在pH7.2的500mM磷酸钠缓冲液中用32%的原液制备过乙酸溶液。也在相同缓冲液中制备2.5%的H₂O₂溶液。多个釉质块暴露于各个溶液1分钟,随后另外暴露5分钟、10分钟、15分钟和30分钟。对于每次处理,用原液制备过乙酸和过氧化氢的新溶液。在每次处理釉质块后,用水冲洗并用Konica-Minolta2600d分光光度计进行测量。测定每个样品的白度指数,在表1和2中列出。

[0567] 白度指数(WI)由国际照明委员会(International Commission on Illumination, CIE)定义并在ASTM方法E313-05中有所描述,并且对于D65/10入射光进行如下计算:

[0568] $WI = Y + 800 * (0.3138 - x) + 1700 * (0.3310 - y)$

[0569] 其中Y、x、和y是各个釉质基质的亮度因数和色度坐标。

[0570] 表1:过乙酸与过氢化氧对有色斑牛釉质的漂白比较。

[0571]

样品	白度指数						ΔWI
	0 分钟	1 分钟	6 分钟	16 分钟	31 分钟	61 分钟	
缓冲液	-135.1	-136.4	-131.6	-135.7	-129.2	-124.0	11.1
2.5% H ₂ O ₂	-127.5	-127.2	-124.5	-118.4	-103.6	-84.9	42.6
0.5% PAA	-129.1	-111.6	-80.7	-56.5	-44.5	-38.3	90.8

[0572] 表2:不同浓度的过乙酸与过氢化氢对有色斑牛釉质的漂白比较。

[0573]

样品	白度指数						ΔWI
	0 分钟	1 分钟	6 分钟	16 分钟	31 分钟	61 分钟	
缓冲液	-100.8	-98.6	-100.0	-97.1	-89.5	-84.0	16.8
2.5% H ₂ O ₂	-93.8	-92.6	-86.4	-79.5	-68.3	-56.4	37.4
0.05% PAA	-103.4	-97.1	-93.1	-70.1	-59.0	-34.7	68.7
0.2% PAA	-90.6	-85.5	-67.0	-47.5	-31.7	-16.2	74.4
0.5% PAA	-97.5	-86.6	-64.1	-46.4	-32.7	-24.7	72.8
1% PAA	-102.8	-89.3		-36.0	-20.6	-5.1	97.7

[0574] 白度指数变为较大的正值指示美白效应。样品的视觉检查也显示了过乙酸处理样品与缓冲液和过氧化氢对照相比更明显的美白效应。这一数据表明过乙酸是有效的漂白剂并提供了比较低浓度的过氧化氢更优异的性能。

[0575] 实例2

[0576] 使用标准生物淘选选择牙釉和牙膜结合肽

[0577] 该实例的目的是使用标准噬菌体展示生物淘选方法鉴定与牙釉和牙膜结合的噬菌体肽。

[0578] 牛釉质门牙获取自SE Dental (Baton Rouge, LA)。将牙齿切成大约5mm平方大小并进行打磨以除去表面碎屑。釉质块在使用前进行灭菌。将釉质块插入包含模塑材料的具

孔板中以便仅暴露孔中的釉质表面。通过将釉质块安装在蜡底座上用于在口中孵育30分钟以形成包被薄膜的表面,在附加的釉质块上形成薄膜。用COLGATE® MAXFRESH®牙膏(Colgate-Palmolive, New York, NY)的1:2浆液刷洗包被薄膜的釉质基质,并且再孵育附加的30分钟。从蜡中移出一部分釉质块并插入具孔板中,而其他部分在插入具孔板前进行再刷洗。所述插入方法使得溶液仅接触釉质和包被薄膜的釉质表面。

[0579] 然后基质在封闭缓冲液中孵育1小时,孵育温度为室温($\sim 22^{\circ}\text{C}$; 包含1mg/mL牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液, pH7.2 (Pierce BUPH™#28372), 含有0.1% TWEEN®20 (PBST), 随后用PBST洗涤2次。将包含长度为15至20个氨基酸的随机肽插入序列的噬菌体库(10^{11} pfu)加入到每个孔中。最终结合溶液包含 10^{11} pfu噬菌体, 10%UV处理的全唾液和在0.1% TWEEN®20 (PBST) 中的1mg/mL BSA。在 37°C 下以50rpm振荡孵育30分钟后, 将液体抽吸出每个孔除去未结合的噬菌体, 随后用1.0mL PBST洗涤6次。

[0580] 然后将釉质块转移到洁净管中并将在0.2M甘氨酸-HCl中由1mg/mLBSA组成的、pH2.2的1mL洗脱缓冲液加入到每个孔中, 孵育10分钟以洗脱结合的噬菌体。然后将由1M Tris-HCl组成的、pH9.1的167 μL 中和缓冲液加入到每个孔中。在洗脱缓冲液中以及釉质块上的噬菌体微粒通过与20mL稀释的大肠杆菌ER2738细胞一起在 37°C 下孵育4.5小时进行扩增, 所述稀释细胞来自在LB培养基中1:100稀释的过夜培养物。在这段时间后, 将细胞培养物离心2分钟并将上部15mL的上清液转移到新管中, 加入2.5mL PEG/NaCl (20%聚乙二醇-800, 2.5M氯化钠), 使噬菌体在 4°C 下沉淀过夜。通过在 $10,000\times g$ 、 4°C 条件下离心收集沉淀物并将所得沉淀物重悬在1mL PBS中。这是第一轮扩增原液。然后按照标准规程滴定扩增的第一轮噬菌体原液。为了进行随后多轮的生物淘选, 使用来自前一轮的超过 2×10^{11} pfu的噬菌体原液。在第一轮之后附加的每轮也包括用人的全唾液(在室温下UV处理2小时)进行的附加洗涤、用pH9.4的碳酸盐缓冲液(Pierce BUPH™碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液#28382)进行的两次洗涤、用pH2.5的50mM磷酸盐缓冲液进行的2次洗涤、以及随后用标准PBST进行的2次洗涤。

[0581] 在第3轮生物淘选和其后每轮之后, 分离95个随机单噬菌体噬菌斑, 并且使用Illustra Templiphi500扩增试剂盒(GE Healthcare, Piscataway, NJ)制备单链噬菌体基因组DNA并用-96gIII测序引物(5'-CCCTCATAGTTAGCGTAACG-3'; SEQ ID NO:398)在DuPont Sequencing Facility测序。展示肽位置紧随基因III信号肽之后。基于肽序列, 鉴定12个候选噬菌体用于进一步的结合分析, 如表3所示。

[0582] 表3: 牙釉结合和薄膜结合肽序列。

[0583]

序列ID	序列	SEQ ID NO:
P301	SNATMYNIQSHSHHQ	399
P302	QAAQVHMMQHSRPTT	400
P303	HDPYTMKSALRQSTS	401
P304	DLGTFPNRTLKMAAH	402
P305	DTIHPNKMKSPPSPL	403
P306	GSNNHLPSTVPRLTV	404
P307	SNPIPFAHDLRHSKYNS	405

P308	TKPPRTPTANTSRPHHNF	406
P309	ANSGFPIWLQKYPWSEVQQE	407
P310	ATPRLTPEAHHKAGNWyAS	408
P311	ATPSQHRYGLMQNHAPNGIE	409
P312	GMGSEVLSQYPQAPVG	410

[0584] 实例3

[0585] 表征釉质上的牙齿结合候选

[0586] 这个实例的目的是使用合成制备的肽确认釉质表面上的肽组合物的结合。

[0587] 使用从表3中获得的序列制备总计11个合成肽。肽得自SynBioSci Corp. (Livermore, CA), 其C末端具有生物素标记的赖氨酸。

[0588] 如实例2所述来制备釉质基质。将每个基质在室温(~22°C)下与1mL封闭液一起孵育1小时, 所述封闭液由在PBST (Pierce BUPHTM#28372, 含有0.1%的TWEEN®20) 中的1mg/mL BSA组成。通过将液体抽吸出每个孔来移除封闭液。用包含PBST的洗涤缓冲液冲洗管2次。孔中填充有500μL的20μM肽溶液, 其通过在封闭液中稀释来制备。样品在37°C、缓慢振荡条件下孵育30分钟。用PBST洗涤6次以除去未结合肽。然后加入在PBST中以1:1000稀释的500μL辣根过氧化物酶/链霉亲和素缀合物 (Pierce#22127) 并在室温(~22°C) 下孵育1小时。除去缀合物溶液并用TBST洗涤釉质块4次。

[0589] 从孔中移出每个釉质基质并在15-mL测试管中用10mL PBST再次洗涤。然后将每个釉质基质安装在洁净具孔板中, 仅有釉质表面暴露。将200μL QUANTABLU™基质溶液 (Thermo-Fisher, Rockford, IL; #1856187) 直接加入每个釉质块。将该溶液在室温培养20分钟。加入200μL QUANTABLU™终止溶液 (Thermo Fisher)。在混合后, 将200μL溶液转移到清洁的96孔黑色微量离心板中。使用微板分光光度计 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA), 利用325nm的激发和420nm的发射, 在无截止波长的情况下测量所述板的荧光。表4给出了所得的荧光值。11个薄膜/釉质结合候选的分析与已知的结合肽DenP03进行比较。每个序列与三个平行测定的釉质基质一起检测。

[0590] 表4: 获取自生物淘选的结合候选在牛釉质上的合成肽ELISA结果。

[0591]

肽 ID	氨基酸序列	平均荧光 325/420	SEQ ID NO
无肽	---	494.2	---
DenP03	TTYHYKNIYQESYQQRNPAVK (生物素)	3448.3	411
DenP301	SNATMYNIQSHSHHQQ (生物素)	1098.4	412
DenP302	QAAQVHMMQHSRPTTK (生物素)	608.6	413
DenP303	HDPYTMKSALRQSTSK (生物素)	948.6	414
DenP304	DLGTFPNRTLKMAAHK (生物素)	642.8	415
DenP305	DTIHPNKMKSPPSSPLK (生物素)	581.2	416
DenP306	GSNNHLPSTVPRLTVK (生物素)	1300.0	417
DenP307	SNIPNFAHDLRHSKYNSK (生物素)	861.6	418
DenP308	TKPPRTPTANTSRPHHNFK (生物素)	12302.6	419
DenP309	ANSGFPIWLQKYPWSEVQKEK (生物素)	1729.5	420
DenP311	ATPSQHRYGLMQNHAPNGIEK (生物素)	795.3	421
DenP312	GMGSEVLSQYPQAPVGK (生物素)	2301.0	422

[0592] 实例4

[0593] 构建过水解酶和过水解酶融合

[0594] 这个实例描述了用于经由釉质结合序列生产靶向釉质的过水解酶表达系统的设计。

[0595] 设计编码将具有过水解活性的酶(“过水解酶”)融合到釉质结合域上的基因以具有表5列出的多个酶的多核苷酸序列,它们在编码多个氨基酸柔性接头的核苷酸序列3'-末端融合;每个接头还融合到如表6所述的釉质结合域或非结合序列对照上。基因经密码子优化以在大肠杆菌中表达,并且通过DNA2.0(Menlo Park, California)合成。在质粒中克隆编码序列,它在T7启动子(表达载体pLD001(SEQ ID NO:397))或pBAD启动子之后,在NdeI和AscI限制性位点之间产生质粒。为了表达融合蛋白,将质粒转移到适宜的表达宿主中:在T7启动子控制下用于构建体的大肠杆菌菌株BL21AI(Invitrogen, Carlsbad, California),或在pBAD启动子控制下用于构建体的大肠杆菌MG1655AraBAD衍生物。

[0596] 在表5中列出的非靶向过水解酶变体相似地进行克隆。海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)变体的制备和重组表达以前已经由DiCosimo等人在美国专利公开申请公布2010-0087529中报道;其以引用方式并入本文。

[0597] 附加的CE-7过水解酶来自乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)(乙酰木聚糖酯酶;SEQ ID NO:40)、百脉根中慢生根瘤菌(*Mesorhizobium loti*)(乙酰木聚糖酯酶;SEQ ID NO:42)、和短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)(乙酰木聚糖酯酶;SEQ ID NO:10),它们以相似地方式进行克隆。来自乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)、百脉根中慢生根瘤菌(*Mesorhizobium loti*)、和短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)的CE-7过水解酶的克隆和表达以前已经由DiCosimo等人在美国专利公开申请公布2011-0081693和美国专利公开7,951,566中报道;它们每个均以引用方式并入本文。

[0598] 不属于CE-7过水解酶家族的过水解酶也以相似的方式克隆。耻垢分枝杆菌芳基酯酶(“ArE;野生型序列是SEQ ID NO:478;S54V变体以SEQ ID NO:460提供)具有过水解活性,

它在美国专利公开7,754,460中有所描述。荧光假单胞菌酯酶变体L29P (“Pf1;SEQ ID NO: 477) 具有过水解活性,它在美国专利公开7,384,787中有所描述。

表 5: 过水解酶构建体的描述和序列。

酶 ID	缩写描述	序列 (SEQ ID NO:)
野生型	海栖热袍菌 (<i>T. maritima</i>) 野生型	MAFEDLPLEELKKYRPERYEEKDDEFWEETLAESEKFLDPVFERMESHLKTVEAYD VTFSGYRGQRIKGWLLVPKLEEEKLPCVVQYIGYNGGRGFPHDWLFWPSMGYICFV MDTRGQGSGLKGDTPDYPEGPVDQYPGFMTIRGILDPRITYYRRVFTDAVRAVEA AASFQVDQERIVIAAGSGGGIALAVSALSKAKALCDVPFLCHFRRAVQLVDTHP YAEITNFLKTHRDKEIVFRTLSTFDGVNFAARAKIPALFSVGLMDNICPPSTVFAAYN YYAGPKEIRIYPYNNHEGGGSFQAVEQVKFLKLFKEG (SEQ ID NO: 16)
C277S (EZ-1)	海栖热袍菌 (<i>T. maritima</i>) C277S	MAFEDLPLEELKKYRPERYEEKDDEFWEETLAESEKFLDPVFERMESHLKTVEAYD VTFSGYRGQRIKGWLLVPKLEEEKLPCVVQYIGYNGGRGFPHDWLFWPSMGYICFV MDTRGQGSGLKGDTPDYPEGPVDQYPGFMTIRGILDPRITYYRRVFTDAVRAVEA AASFQVDQERIVIAAGSGGGIALAVSALSKAKALCDVPFLCHFRRAVQLVDTHP YAEITNFLKTHRDKEIVFRTLSTFDGVNFAARAKIPALFSVGLMDNISPPSTVFAAYN YYAGPKEIRIYPYNNHEGGGSFQAVEQVKFLKLFKEG (SEQ ID NO: 424)
C277T (EZ-12)	海栖热袍菌 (<i>T. maritima</i>) C277T	MAFEDLPLEELKKYRPERYEEKDDEFWEETLAESEKFLDPVFERMESHLKTVEAYD VTFSGYRGQRIKGWLLVPKLEEEKLPCVVQYIGYNGGRGFPHDWLFWPSMGYICFV MDTRGQGSGLKGDTPDYPEGPVDQYPGFMTIRGILDPRITYYRRVFTDAVRAVEA AASFQVDQERIVIAAGSGGGIALAVSALSKAKALCDVPFLCHFRRAVQLVDTHP YAEITNFLKTHRDKEIVFRTLSTFDGVNFAARAKIPALFSVGLMDNITPPSTVFAAYN YYAGPKEIRIYPYNNHEGGGSFQAVEQVKFLKLFKEG (SEQ ID NO: 437)
HTS-007-D5	海栖热袍菌 (<i>T. maritima</i>) C277T/R296P	MAFEDLPLEELKKYRPERYEEKDDEFWEETLAESEKFLDPVFERMESHLKTVEAYD VTFSGYRGQRIKGWLLVPKLEEEKLPCVVQYIGYNGGRGFPHDWLFWPSMGYICFV MDTRGQGSGLKGDTPDYPEGPVDQYPGFMTIRGILDPRITYYRRVFTDAVRAVEA AASFQVDQERIVIAAGSGGGIALAVSALSKAKALCDVPFLCHFRRAVQLVDTHP YAEITNFLKTHRDKEIVFRTLSTFDGVNFAARAKIPALFSVGLMDNITPPSTVFAAYN YYAGPKEIRIYPYNNHEGGGSFQAVEQVKFLKLFKEG (SEQ ID NO: 476)

[0599]

Bpu	短小芽孢杆菌 (<i>B. pumilus</i>) 野生型	MQLFDLSLEELKKYKPKKTARPDFSDFWKKSLEELRQVEAEPTLESYDYPVKGVKVV RLTYQSGHSGKIEGFYAVPDQTGPHPALVRFHGYNASYDGGIHDIVNWALHGATFG MLVRGQGGSEDTSVTPGGHALGWMTKGILSKDITYYRGVYLDVRALEVIQSFPEV DEHRIGVIGSGGALAIAAAALSDIPKVVVADPYLSNFEERAVDVALEQPYLEINSY FRNSDPKVEEKAFETLSYEDLINLAGWVKQPTLMAIGLIDKITPPSTVFAAYNHLETD KDLKVYRYFGHEFIPAFQTEKLSFLQKHLLST (SEQ ID NO: 10)
Mlo	百脉根中慢生根 瘤菌 (<i>M. loti</i>) 野生型	MPFPDLIQPELGA YVSSVGMPDDFAQFWSTIAEARQAGGEVSIQAQTTLKAVQSF VTEPGYGGHPKGLWLLPTHKGRPLVVQYIGYGGGRLAHEQLHWAASGFAYFR MDTRGQGSWWSVGETADPVGSTSSIPGFMTRGVLDKNDYYRRLFTDAVRAIDALL GLDFVDPERIAVCGDSQGGISLAVGGIDPRKAVMPDVPLCDFPRAVQTAVRDPY LEIVRFLAQHREKKA VFEETLN YFDCVNFARRSKAPALFSVALMDEVCPSTVYGAF NAYAGEKTITEYE FNNHEGGQGYQERQQMTWLSRLFGVG (SEQ ID NO: 42)
Lla	乳酸乳球菌 (<i>L. lactis</i>) 野生型	MTKINN WQDYQGS SLKPEDFDKFWDEKINLVSNHQFEFELIEKNLSKVVNFYHLWF TAIDGAKIHAQLV PKNLKEKYPAILQFHGYHCDSGDWVDKIGIVAEGNVVLALDCR GQGGLSQDNIQTMGMTMKGLIVRGIDEGYENLYYVRQFMDLITATKILSEFDVDET NISAQGASQGGALAVACAA LSP LIKKVTA TYPFLSDYRKA YELGAEE S AFEELPYWFQ FKDPLHLREDWFEFNQLE YIDIQN LAPRIKAEVIWILGKDDTVVPITQMAAYNKIQSKK SLYVLPEY GHEYLPKISDWLRENQ (SEQ ID NO: 40)
ArE	耻垢分枝杆菌 (<i>M. smegmatis</i>) S54V	MAKRILCFGDSL TWGWVPVEDGAPTERFAPDV RWTGVL AQQLGADFEVIEGLVAR TTNIDDP TDPRLNGASYLPSCLA THLPLDLVIIMLG TNDTKAYFRRTPLDIALGMSVLY TQVLTSAGGVG TTPAPKVLVVSPPPLAPMPHPWFQLIEEGGEQKTTELARVYSALAS FMKVPFFDAGSVISTDGV DGIHFTEANNRDLGVALAEQVRSLL (SEQ ID NO: 460)
Phl	荧光假单胞菌 (<i>P. fluorescens</i>) L29P	MSITFAKDDGTQIYFKDWGSGKPVLF SHGWPLDADMW EYQMEYLSRGRYRTIAFDRR GFGRSDDQPW TGNDYD TFADDIAQLIEHLDLKEVTLVGFSMGGDVARYIARHGSARV AGLVLLGAVTPLFGQKPDYPQGVPLDVFAREKTELLKDR AQISDFENAPFYGINKGQV VSQGVQTQTLQIALLASLKATVDCVTAF AETDERPDMAKIDVPTLVIHGDGDQIVPFE TTGKVA AELIKGAELKVYKDAPHGFAVTHAQQLNEDLAF LKR (SEQ ID NO: 477)

[0600]

表 6: 具有产生用于口腔护理的靶向序列的过水解酶构建体。

构建体 ID (SEQ ID NO:)	缩写描述	融合蛋白的靶向序列 ^a (SEQ ID NO:)
EZ-1 (SEQ ID NO: 424)	C277S	N/A
EZ-2 (SEQ ID NO: 425)	C277S-link1-HC263-H6	GPCSGGAGSPGSAGGPPGSPAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPI PEPPKEAPVVIIEKPKPKPKPKPPAHIDHKNQKETHQRHAAGSGGGSPH HHHHH (SEQ ID NO: 431)
EZ-3 (SEQ ID NO: 426)	C277S-link2-H6	GSHHHHHH (SEQ ID NO: 432)
EZ-4 (SEQ ID NO: 427)	C277S-link1-(GK) ₅	GPCSGGAGSPGSAGGPPSGKGKGKGK (SEQ ID NO: 433)
EZ-5 (SEQ ID NO: 428)	C277S-link1-(GK) ₅ -H6	GPCSGGAGSPGSAGGPPSGKGKGKGKHHHHH (SEQ ID NO: 434)
EZ-7 (SEQ ID NO: 429)	C277S-link1-DenP308-H6	GPCSGGAGSPGSAGGPPGSKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHH (SEQ ID NO: 435)
EZ-9 (SEQ ID NO: 430)	C277S-link1-H6	GPCSGGAGSPGSAGGPPGSHHHHH (SEQ ID NO: 436)
EZ-12 (SEQ ID NO: 437)	C277T	N/A
EZ-14 (SEQ ID NO: 438)	C277T-link1-DenP308-H6	GPCSGGAGSPGSAGGPPGSKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHH (SEQ ID NO: 435)
EZ-15 (SEQ ID NO: 439)	C277T-link1-H6	GPCSGGAGSPGSAGGPPGSHHHHH (SEQ ID NO: 436)

[0601]

[0602]

EZ-16 (SEQ ID NO: 440)	C277T-link1- HC263-H6	GPSSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIIEKPKPKPKPKPAHDHKNQKETHQRHAAAGSGGGSPHH HHHH	(SEQ ID NO: 431)
EZ-17 (SEQ ID NO: 441)	C277T-link2-H6	GSHHHHHH	(SEQ ID NO: 432)
EZ-18 (SEQ ID NO: 442)	C277T-link1-(GK) ₅ -H6	GPSSGGAGSPGSAGGPGSGKGKGKGGHHHHH	(SEQ ID NO: 434)
EZ-19 (SEQ ID NO: 443)	C277S-EPEPE-link1- EPEPE-CXH201-H6	EPEPEGPGSGAGSPGSAGGPGSEPEPEWKTKKILLSTRIRMRQVRSVM HKIWHHHHHH	(SEQ ID NO: 468)
EZ-20 (SEQ ID NO: 444)	C277S-EPEPEPEPEPE- link1-CXH201-H6	EPEPEPEPEPEGPGSGAGSPGSAGGPGSWTKKILLSRTRIMRQVRSV MHKIWHHHHHH	(SEQ ID NO: 469)
EZ-21 (SEQ ID NO: 445)	C277S-EPEPE-link1- EPEPE-CXH2-H6	EPEPEGPGSGAGSPGSAGGPGSEPEPELWRITKRKLVRPVATLMWYW FTSKRHHHHH	(SEQ ID NO: 470)
EZ-22 (SEQ ID NO: 446)	C277S-EPEPEPEPEPE- Link1-CXH2-H6	EPEPEPEPEPEGPGSGAGSPGSAGGPGSPLWRRITKRKLVRPVATLMWY WFTSKRHHHHH	(SEQ ID NO: 471)
EZ-23 (SEQ ID NO: 447)	C277S-EPEPE-link1- EPEPE-CXH104-H6	EPEGPSSGGAGSPGSAGGPGSEPERMLSRLRMFVRLKRERLSQVRGLFV HHHHHH	(SEQ ID NO: 472)
EZ-24 (SEQ ID NO: 448)	C277S-EPEPEPEPEPE- Link1-CXH104-H6	EPEPEPEGPGSGAGSPGSAGGPGSRMLSRLRMFVRLKRERLSQVRGLFV HHHHHH	(SEQ ID NO: 473)
EZ-25 (SEQ ID NO: 449)	C277S-EPEPE-link1- EPEPE-CXH2-H6	EPEPEPEGPGSGAGSPGSAGGPGSEPEPELRLARRFLKLRRARKWWN AWKVVVTRHHHHH	(SEQ ID NO: 474)

说明书

EZ-26 (SEQ ID NO: 450)	C277S-EPEPEPEPE- Link1-CXHG102-H6	EPEPEPEPEPEPEPGSGAGSPGSAGGPGSLRFLARFLKLRRARKWW NAWKVWVTRHHHHH (SEQ ID NO: 475)
EZ-27 (SEQ ID NO: 451)	Bpu-link1-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSHHHHH (SEQ ID NO: 436)
EZ-28 (SEQ ID NO: 452)	Bpu-link1-HC263-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIKPKPKPKPKPAHDHKNQKETHQRHAAGSGGGSPHH HHHH (SEQ ID NO: 431)
EZ-29 (SEQ ID NO: 453)	Bpu-link1-DenP308-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSTKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHH (SEQ ID NO: 435)
EZ-30 (SEQ ID NO: 454)	Mlo-link1-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSHHHHH (SEQ ID NO: 436)
EZ-31 (SEQ ID NO: 455)	Mlo-link1-HC263-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIKPKPKPKPKPAHDHKNQKETHQRHAAGSGGGSPHH HHHH (SEQ ID NO: 431)
EZ-32 (SEQ ID NO: 456)	Mlo-link1-DenP308-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSTKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHH (SEQ ID NO: 435)
EZ-33 (SEQ ID NO: 457)	Lla-link1-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSHHHHH (SEQ ID NO: 436)
EZ-34 (SEQ ID NO: 458)	Lla-link1-HC263-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIKPKPKPKPKPAHDHKNQKETHQRHAAGSGGGSPHH HHHH (SEQ ID NO: 431)
EZ-35 (SEQ ID NO: 459)	Lla-link1-DenP308-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSTKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHH (SEQ ID NO: 435)

[0603]

EZ-36 (SEQ ID NO: 460)	耻垢分枝杆菌 (<i>M. smegmatis</i>) ArE S54V	N/A
EZ-37 (SEQ ID NO: 461)	ArE-link1-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSHHHHH (SEQ ID NO: 436)
EZ-38 (SEQ ID NO: 462)	ArE-link1-HC263-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIIEKPKPKPKPKPPAHDHKNQKETHQ RHAAGSGGGSPHH HHHH (SEQ ID NO: 431)
EZ-39 (SEQ ID NO: 463)	ArE-link1-(GK) ₅ -H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSGKGKGKGKHHHHHH (SEQ ID NO: 434)
EZ-40 (SEQ ID NO: 464)	ArE-link1-DenP308-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSTKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHHH (SEQ ID NO: 435)
EZ-41 (SEQ ID NO: 465)	Pfl-link1-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIIEKPKPKPKPKPPAHDHKNQKETHQ RHAAGSGGGSPHH HHHH (SEQ ID NO: 431)
EZ-42 (SEQ ID NO: 466)	Pfl-link1-(GK) ₅ -H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSGKGKGKGKHHHHHH (SEQ ID NO: 434)
EZ-43 (SEQ ID NO: 467)	Pfl-link1-DenP308-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSTKPPRTPTANTSRPHHNFSGGGGSPHHHHHH (SEQ ID NO: 435)
EZ-44 (SEQ ID NO: 479)	Pfl-link1-HC263-H6	GP GSGGAGSPGSAGGPGSPSAQSQLPDKHSGLHERAPQRYGPEPEPEPIP EPPKEAPVVIIEKPKPKPKPKPPAHDHKNQKETHQ RHAAGSGGGSPHH HHHH (SEQ ID NO: 431)

a=柔性接头，用斜体字表示。

[0604]

[0605] 实例5
[0606] 制备融合蛋白

[0607] 这个实例描述了在具有和不具有用于结合到口腔表面上的靶向序列的情况下过水解酶的表达和纯化。

[0608] 菌株在包含50mg/L奇放线菌素的1L自动诱导培养基(10g/L胰蛋白胨,5g/L酵母提取物,5g/L氯化钠,50mM Na_2HPO_4 ,50mM KH_2PO_4 ,25mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,3mM MgSO_4 ,0.75%甘油,0.075%葡萄糖和0.05%阿拉伯糖)中,在200rpm搅拌、37℃条件下生长20小时。未靶向的过水解酶的生产以前已经在授予DiCosimo等人的美国专利公开申请公布2010-0087529中进行了描述。靶向过水解酶的生产按照相似的方案进行。通过在8000rpm下离心来收获细胞,并且通过将细胞沉淀物重悬在20mL的50mM磷酸钾缓冲液(pH7.1,包含1mM DTT)中进行洗涤。在8000rpm下再次离心所述溶液,除去上清液并在包含DTT的磷酸盐缓冲液中再次分散所述沉淀物。然后匀化所述溶液30秒以分散所述沉淀物(Brinkman匀化器,PCU11型)。然后通过French Press (SLM Instruments)在13,000psi (~89.6MPa)下加工所述溶液以裂解细胞。再通过压机两次以加工溶液,达到完全裂解效果。然后将细胞溶液转移到锥形管中,并在8500rpm下离心5分钟。对于海栖热袍菌(*T.maritima*)构建体,除去上清液并在80℃下加热30分钟。再次离心溶液并将上清液转移到清洁小瓶中。

[0609] 对于嗜热酶,不利用热处理来纯化所述酶,使其与污染的细胞组分分离。相反地,使用利用Co-NTA琼脂糖的金属螯合色谱融合到酶C末端的His6标签(HisPur Cobalt Resin,Thermo Scientific,产品编号:89965)来纯化样品。通常将细胞提取物加载到5至10mL的Co-NTA琼脂糖柱上,该柱子用4倍体积的平衡缓冲液(10mM Tris HCl pH7.5,10%甘油,1mM咪唑和150mM氯化钠)平衡。调节加载到所述柱上的每种提取物的量以含有5至10mg的融合过水解酶/mL Co-NTA琼脂糖小珠。用两倍床体积的平衡缓冲液洗涤树脂并用两倍体积的洗脱缓冲液(10mM Tris HCl pH7.5,10%甘油,150mM咪唑,500mM氯化钠)洗脱。收集片段并通过PAGE确认全长纯化蛋白的存在。

[0610] 为了制备构建体EZ-19至EZ-26,在细胞生产后,通过以8000rpm离心收获细胞并通过在pH7.2的20mL50mM磷酸钾缓冲液中重悬细胞沉淀物进行洗涤。在8000rpm下再次离心所述溶液,除去上清液并在磷酸盐缓冲液中再次分散所述沉淀物。然后匀化所述溶液30秒以分散所述沉淀物(Brinkman匀化器,PCU11型)。然后通过French Press (SLM Instruments)在13,000psi (~89.6MPa)下加工所述溶液以裂解细胞。再通过压机两次以加工溶液,达到完全裂解效果。然后将细胞溶液转移到锥形管中,并在8500rpm下离心5分钟。以3mL缓冲液/50mL细胞裂解液沉淀物将不溶解的裂解沉淀物溶解在十二烷基肌氨酸钠缓冲液(50mM磷酸盐缓冲液,pH7.2,2% TRITON[®]-X100和1.5%十二烷基肌氨酸钠)中。离心所述溶液并将上清液转移到新管中。使用得自Thermo Scientific (Rockford,IL)的HisPur[™] Cobalt Resin试剂盒纯化融合蛋白。

[0611] 这些生产和纯化方案的输出通常产生2-10mg蛋白/mL,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分析估计融合过水解酶的纯度介于90%和75%蛋白之间。通过二喹啉甲酸(BCA)测定法(Thermo Scientific),使用牛血清白蛋白溶液作为标准品定量总蛋白。

[0612] 实例6

[0613] 将脂质靶向融合过水解酶结合到羟基磷灰石上

[0614] 这个实例描述了将过水解酶结合到羟基磷灰石颗粒上。羟基磷灰石有效地模拟釉质。

[0615] 评估表6中列出的过水解酶结合到羟基磷灰石上的情况。将0.5%固体分散在pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液中制备分散的羟基磷灰石纳米颗粒(Aldrich677418)。将酶原液加到羟基磷灰石分散体中,最终浓度为10 μ M,并且在微量离心管中,在缓慢搅拌条件下孵育30分钟。每个样品以10000rpm离心5分钟。移除上清液并加入附加缓冲液。重悬所述颗粒并将其转移到新管中。再重复该方法两次。制备初始输入的酶样品、用每个洗涤步骤从颗粒中移除的上清液和最终颗粒进行SDS-PAGE分析,该分析通过混合60 μ L样品,20 μ L LDS缓冲液和8 μ L还原剂(Nu-PAGE)进行。样品在85 $^{\circ}$ C下加热10分钟。将25 μ L每个样品加载到4-12% BisTris凝胶(Invitrogen)上并在115伏下运行1.5小时。除去凝胶并用1:1稀释的Simply Blue stain(Invitrogen)染色过夜,并在去离子水中脱色4小时。分析凝胶并基于存在的条带预测每个片段中检测到的酶。分析结果在表7中提供,指示凝胶中每个条带与酶输入(输入=1)相比较的相对强度,用于确定羟基磷灰石表面和每个酶之间的结合强度。

[0616] 表7:保持在羟基磷灰石上的过水解酶。

[0617]

酶	输入	未结合的	洗涤1	洗涤2	HAP颗粒
EZ-1	1	0.98	0.01	0.0	0.01
EZ-2	1	0.5	0.0	0.0	0.5
EZ-3	1	0.8	0.05	0.05	0.1
EZ-4	1	0.5	0.05	0.05	0.4
EZ-5	1	0.2	0.05	0.05	0.7
EZ-7	1	0.5	0.01	0.0	0.5
EZ-9	1	0.9	0.01	0.00	0.05

[0618] 表7中的数据表明融合靶向序列的过水解酶在洗涤后保持在羟基磷灰石上,而非靶向的过水解酶则相反。

[0619] 实例7

[0620] 定量在溶液中的过水解酶活性和与羟基磷灰石的结合

[0621] 这个实例描述了经由其过水解酶活性检测并定量过水解酶的方法,该方法使用甘油三乙酸酯和过氧化氢以产生过乙酸。

[0622] 过乙酸的检测按照Pinkernell等人(Analyst,1997,122,567)所述的方法,使用通过过乙酸的2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉)-6-磺酸(ABTS)氧化进行比色检测。在加入甘油三乙酸酯和过氧化氢形成过乙酸后,将90 μ L溶液加到在具孔板中的10 μ L0.1M H₃PO₄中。加入50 μ L1M乙酸,50 μ L0.5g/L ABTS和50 μ L0.002g/L KI。孵育溶液5分钟。使用微板读数器测量405nm的溶液吸光度。基于使用过乙酸试剂溶液同时得到的标准曲线计算过乙酸浓度。

[0623] 通过制备0.625 μ g/mL各种酶在pH7.2的50mM磷酸盐缓冲液中的溶液来测量溶液中的酶活性。10 μ L酶溶液与90 μ L缓冲液,30 μ L3%甘油三乙酸酯水溶液,30 μ L30mM H₂O₂混合。孵育所述溶液5分钟。移出90 μ L等分试样以经由如上所述的ABTS氧化进行检测。结果列于表8中。

[0624] 表8:用ABTS氧化酶与溶液中的甘油三乙酸酯和过氧化氢检测过乙酸

[0625]

酶ID	减去背景的平均吸光度405nm
-----	-----------------

无酶	0.000
EZ-1	1.830
EZ-2	1.577
EZ-3	1.751
EZ-5	1.658
EZ-7	1.619

[0626] 使用相同的ABTS方法测定曾经结合到HAP盘表面上的融合蛋白的过水解酶活性。羟基磷灰石盘 (HiMed Inc, Old Bethpage, NY; 5mm直径×1.8mm厚度) 在20μM酶溶液 (50mM磷酸钾缓冲液, pH7.2) 中孵育60分钟, 随后洗涤6次 (50mM磷酸钾缓冲液, pH7.2)。将具有酶吸收的盘转移到新孔中, 并且加入200μL磷酸盐缓冲液 (10mM, pH7.2), 30μL3%甘油三乙酸酯 (最终浓度为0.346%) 和30μL30mM H₂O₂ (最终浓度为3.46mM)。使溶液在室温下孵育5分钟。将90μL溶液用移液管吸移到包含10μL100mM H₃PO₄的新孔中。如上所述加入50μL乙酸, 50μLKI, 50μLABTS。在室温下孵育溶液5分钟, 并且在A405nm下读数。结果列于表9中。

[0627] 表9: 利用结合到羟基磷灰石的酶, 用ABTS检测过乙酸

[0628]

酶	5分钟时的平均吸光度	减去背景的平均吸光度	PAA浓度μM/盘
无酶, 无HAP	0.775	0	0
无酶对照	0.840	0.065	1.2
EZ-1	0.901	0.126	3.5
EZ-5	2.154	1.379	49.7
EZ-7	1.45	1.450	23.5

[0629] 当结合到羟基磷灰石上并加入甘油三乙酸酯和过氧化氢以产生过乙酸时, 这个实验表明EZ-5和EZ-7是活性酶。EZ-1检测到的低值过乙酸与EZ-1不结合羟基磷灰石 (实例6) 并且不存在于表面上以产生过乙酸的其他观察结果一致。

[0630] 实例8

[0631] 定量在溶液中的过水解酶活性和附加的CE-7过水解酶构建体与羟基磷灰石的结合

[0632] 这个实例描述了CE-7过水解酶和溶液中的相应融合蛋白的过水解活性, 以及当它们结合到羟基磷灰石上时的过水解活性, 所述羟基磷灰石来自海栖热袍菌、短小芽孢杆菌 (Bpu)、百脉根中慢生根瘤菌 (Mlo) 和乳酸乳杆菌 (Lla), 使用甘油三乙酸酯和过氧化氢以生成过乙酸。

[0633] 评估表6列出的过水解酶的溶液活性。用于测量溶液中的过水解酶活性的方法在实例7中有所描述, 该方法通过制备500μL溶液进行, 所述溶液在pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液中包含0.5μM酶, 100mM甘油三乙酸酯, 100mM H₂O₂。混合所述溶液并在37℃下孵育10分钟。移出10μL等分试样并稀释以供检测, 如实例7所述。使用用过乙酸 (Aldrich) 原液生成的标准曲线测定过乙酸浓度。所述实验也在无酶的情况下进行, 用作对照。

[0634] 表10: 不同的融合CE-7过水解酶反应10分钟时在溶液中产生的过乙酸。

[0635]

酶ID	描述	PAA (ppm)
-----	----	-----------

无酶	---	378.9
EZ-7	C277S-DenP308	4877.2
EZ-27	Bpu-H6	2332.9
EZ-28	Bpu-HC263	2512.7
EZ-29	Bpu-DenP308	2273.5
EZ-30	Mlo-H6	468.8
EZ-31	Mlo-HC263	434.9
EZ-32	Mlo-DenP308	497.7
EZ-33	Lla-H6	1062.5
EZ-34	Lla-HC263	786
EZ-35	Lla-DenP308	998

[0636] 为了评估这些构建体与羟基磷灰石的结合,用pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液洗涤33mg羟基磷灰石颗粒(Macro-prep Ceramic Hydroxyapatite TYPE I,80 μ m粒径,BioRad,Hercules,CA)。在除去上清液后,将酶原液加到羟基磷灰石分散体中,最终浓度为10 μ M,并且在微量离心管中,在缓慢搅拌条件下孵育30分钟。每个样品以10000rpm离心1分钟。移除上清液并加入附加缓冲液。重悬所述颗粒并将其转移到新管中。再重复该方法两次。通过加入500 μ l溶液测量结合到羟基磷灰石上的酶活性,所述溶液包含在pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液中的100mM甘油三乙酸酯,100mMH₂O₂。溶液在37℃孵育30分钟。移出等分试样并与H₃PO₄混合,并且适度稀释以经由ABTS氧化进行检测,如实例7所述。以不同方法进行实验,不加入酶作为每个实验的对照。结果列于表11中。

[0637] 表11:从结合羟基磷灰石的融合CE-7过水解酶产生过乙酸

[0638]

酶ID	描述	过乙酸 (ppm)
无酶		118.8
EZ-9	C277S-H6	1885.1
EZ-27	Bpu-H6	634.9
EZ-30	Mlo-H6	658.5
EZ-33	Lla-H6	359.1
无酶		30
EZ-2	C277S-HC263	3666.4
EZ-28	Bpu-HC263	534.2
EZ-31	Mlo-HC263	241.4
EZ-34	Lla-HC263	242.2
无酶		113.9
EZ7	C277S-DenP308	4453.7
EZ-29	Bpu-DenP308	1299.8
EZ-32	Mlo-DenP308	419.3
EZ-35	Lla-DenP308	260

[0639] 实验表明来自Bpu、Mlo和Llo酶的所有融合CE-7过水解酶显示与无酶的对照相比,

在溶液中以及在结合羟基磷灰石表面后的显著过水解酶活性。来自短小芽孢杆菌的所有三种融合CE-7过水解酶与来自百脉根中慢生根瘤菌或乳酸乳球菌的融合酶相比具有更高的酶活性。来自短小芽孢杆菌的靶向EZ-29显示出比非靶向EZ-27更高的结合活性。

[0640] 实例9

[0641] 定量在溶液中的过水解酶活性和具有CXH肽的靶向C277S融合过水解酶与羟基磷灰石的结合

[0642] 这个实例描述了CE-7C277S和具有CXH肽的融合以及它们的过水解酶活性,使用甘油三乙酸酯和过氧化氢并且当结合羟基磷灰石时在溶液中产生过乙酸。羟基磷灰石有效地模拟釉质。

[0643] 评估表6中列出的过水解酶EZ-19至EZ-26在溶液中的酶活性。测量溶液中过水解酶活性的方法在实例7中有所描述。通过制备500 μ l十二烷基肌氨酸钠缓冲液测量溶液中的酶活性,所述缓冲液在100mM甘油三乙酸酯,100mM H₂O₂和pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液中包含0.5 μ M各种酶。溶液在37 $^{\circ}$ C孵育10分钟。在通过混合H₃PO₄终止反应后,移出10 μ L等分试样进行适度稀释,然后经由ABTS氧化进行检测,如实例7所述。结果列于表12中。

[0644] 也评估相同的融合过水解酶与羟基磷灰石的结合。使用水合羟基磷灰石盘(5mm直径 \times 1.8mm厚度,得自HiMed Inc)。在pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液中平衡所述盘10分钟。将200 μ L酶溶液加到羟基磷灰石盘中,最终浓度在10mM磷酸盐缓冲液中为10 μ M,并且在微量离心管中,在缓慢搅拌条件下孵育30分钟。移除上清液并用于未结合的酶活性测定。将所述盘转移到新管中并用磷酸盐缓冲液冲洗。再重复该方法两次。通过加入500 μ l溶液到盘中并在37 $^{\circ}$ C孵育30分钟测量具有结合酶的羟基磷灰石盘的酶活性,所述溶液包含100mM甘油三乙酸酯,100mM H₂O₂和pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液。在通过混合H₃PO₄终止反应后,移出10 μ L等分试样进行适度稀释,然后经由ABTS氧化进行检测,如实例7所述。经多天进行实验,使用无酶的溶液作为每天的对照。在减去无酶对照后的结果在表12中列出。

[0645] 表12:C277s和CXH过水解酶融合蛋白在溶液中以及当结合羟基磷灰石时产生的过乙酸。

酶 ID	过乙酸 (ppm)		
	在溶液中	暴露于羟基磷灰石	
		上清液	盘
EZ-7	5471	4864	2017
EZ-19	4088	1665	3136
EZ-20	2265	1229	2795
EZ-21	2764	1581	3109
EZ-22	2305	477	2495
EZ-23	2212	1712	4463
EZ-24	2951	719	3453
EZ-25	1703	1029	1791
EZ-26	2273	1636	1849

[0647] 所述实验表明所有具有CXH靶向序列的C277S变体是活性的并在溶液中和当结合羟基磷灰石时产生足量的过乙酸。

[0648] 实例10

[0649] 定量在溶液中的过水解酶活性和非CE-7过水解酶构建体与羟基磷灰石的结合

[0650] 这个实例的目的上展示表6列出的来自耻垢分枝杆菌的靶向或非靶向芳基酯酶变体和来自荧光假单胞菌的过水解酶变体用于在溶液中以及当结合羟基磷灰石时产生过乙酸的用途。

[0651] 对于芳基酯酶构建体,通过制备1mL溶液测量溶液中的酶活性,所述溶液在pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液中包含0.5μM各种酶,100mM甘油三乙酸酯,和100mM H₂O₂。混合所述溶液并在37℃下孵育30分钟。如实例7所述,通过移除一部分H₃PO₄终止反应,并且移出10μL等分试样并稀释以经由ABTS氧化进行检测。

[0652] 对于在羟基磷灰石上的结合和活性的评估,如实例8所述将芳基酯酶暴露于羟基磷灰石颗粒,使用33mg用缓冲液洗涤的HAP颗粒(Macro-prep Ceramic Hydroxyapatite TYPE I, 80μm粒径, BioRad, Hercules, CA),使用在10mM磷酸盐缓冲液中的10μM溶液。在离心并除去酶溶液后,通过离心和移除上清液用磷酸盐缓冲液冲洗颗粒。将包含100mM甘油三乙酸酯, 100mM H₂O₂和pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液的200μL溶液加到颗粒中并在37℃下孵育30分钟。如实例7所述,通过移除一部分H₃PO₄终止反应,并且移出10μL等分试样进行稀释以经由ABTS氧化进行检测。溶液和表面结合测定的结果在表13中列出。

[0653] 表13:耻垢分枝杆菌芳基酯酶样品的溶液和表面结合生成的过乙酸

酶 ID	描述 (SEQ ID NO.)	过乙酸 (ppm)	
		在溶液中	在羟基磷灰石上
无酶		158	323
EZ-36	ArE (SEQ ID NO: 460)	2697	452
EZ-37	ArE-H6 (SEQ ID NO: 461)	未测	927
EZ-39	ArE-(GK) ₅ H6 (SEQ ID NO: 463)	1366	3553
EZ-40	ArE-DenP308-H6 (SEQ ID NO: 464)	3605	2476

[0655] 对于荧光假单胞菌构建体,通过混合1mL溶液来测量溶液活性,所述溶液在pH5.5的1M乙酸钠缓冲液中包含2μM酶,100mM H₂O₂。溶液在37℃孵育30分钟。如实例7所述,通过移除一部分H₃PO₄终止反应,并且移出10μL等分试样并稀释以经由ABTS氧化进行检测。对于在羟基磷灰石上的结合和活性的评估,如实例8所述将荧光假单胞菌酶暴露于在10mM磷酸盐缓冲液中的20μM羟基磷灰石颗粒,使用100mg用缓冲液洗涤的HAP颗粒(Macro-prep Ceramic Hydroxyapatite TYPE I, 80μm粒径, BioRad, Hercules, CA)。在离心并除去酶溶液后,通过离心和移除上清液用磷酸盐缓冲液冲洗颗粒。将包含溶解在pH5.5的1M乙酸钠缓冲液中的300mMH₂O₂的200μL溶液加到颗粒中并在37℃下孵育10分钟。如实例7所述,通过移除一部分H₃PO₄终止反应,并且移出10μL等分试样并稀释以经由ABTS氧化进行检测。溶液和表面结合测定的结果在表14中列出。

[0656] 表14:荧光假单胞菌过水解酶样品的溶液和表面结合生成的过乙酸

	酶 ID	描述 (SEQ ID NO.)	过乙酸 (ppm)	
			在溶液中	在羟基磷灰石上
[0657]	无酶		9	17
	EZ-41	Pfl-link1-H6 (SEQ ID NO: 465)	未测	18
	EZ-42	Pfl-link1-(GK) ₅ -H6 (SEQ ID NO: 466)	64	63
	EZ-43	Pfl- link1-DenP308-H6 (SEQ ID NO: 467)	79	68
	EZ-44	Pfl-link1-HC263-H6 (SEQ ID NO: 479)	58	97

[0658] 这些实验表明对于包括靶向序列的构建体,来自除CE-7家族之外的家族的过水解酶在溶液中以及当结合羟基磷灰石时是活性的。

[0659] 实例11

[0660] 定量在溶液中的和结合到牛釉质上的釉质靶向C277S和C277T融合过水解酶变体

[0661] 这个实例描述了过水解酶融合蛋白与牛釉质的结合以及在溶液中和当结合到牛釉质上时的酶活性测量。

[0662] 如实例7所述评估表5列出的过水解酶在溶液中的酶活性。通过制备500μl溶液测量溶液中的酶活性,所述溶液在100mM甘油三乙酸酯,100mM H₂O₂和pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液中包含0.5μM各种酶。将该溶液在37℃下孵育10分钟。在通过混合等分试样与H₃PO₄终止反应后,移出10μL等分试样进行适度稀释,然后经由ABTS氧化进行检测,如实例7所述。结果列于表15中。

[0663] 也评估过水解酶与牛釉质基质的结合。如实例2和3所述来制备釉质基质。在室温(~22℃)下将每个釉质块在水中水合过夜。然后釉质块用pH7.2的10mM磷酸钾缓冲液平衡10分钟。釉质基质用缓冲液冲洗3次。釉质孔填充有500μL10μM酶溶液,其通过在10mM磷酸盐缓冲液中稀释进行制备。样品在37℃、缓慢振荡条件下孵育30分钟。通过用磷酸盐缓冲液洗涤4次除去未结合的酶。然后将每个釉质块插入填充有橡皮泥的24孔板中,仅暴露釉质顶部表面。釉质结合酶的过水解酶活性如实例8所述进行测量。将100μL反应混合物(pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液和100mM H₂O₂以及100mM甘油三乙酸酯)加到釉质顶部并在37℃孵育30分钟。移出90μL等分试样用于经由ABTS氧化进行检测,如实例8所述。结果列于表15中。每个样品数据点代表3个独立釉质块的平均值。

[0664] 表15:海栖热袍菌构建体在溶液中以及当结合牛釉质表面时产生的过乙酸。

[0665]

酶 ID	描述 (SEQ ID NO:)	过乙酸 (ppm)	
		在溶液中	在釉质上
无酶		114	570
EZ-1	C277S (SEQ ID NO: 424)	4270	628
EZ-2	C277S-HC263-H6 (SEQ ID NO: 425)	4761	2549
EZ-3	C277S-link2-H6 (SEQ ID NO: 426)	5187	733
EZ-5	C277S-(GK) ₅ H6 (SED ID NO: 428)	3956	1344
EZ-7	C277S-DenP308-H6 (SEQ ID NO: 429)	5519	1040
EZ-9	C277S-H6 (SEQ ID NO: 430)	5499	612
EZ-12	C277T (SEQ ID NO: 437)	4918	612
EZ-16	C277T-HC263-H6 (SEQ ID NO: 440)	6496	1832
EZ-17	C277T-link2-H6 (SEQ ID NO: 441)	5360	616
EZ-14	C277T-(GK) ₅ H6 (SEQ ID NO: 438)	4689	1418
EZ-18	C277T-DenP308-H6 (SEQ ID NO: 442)	5537	1158
EZ-15	C277T-H6 (SEQ ID NO: 439)	5921	631

[0666] 这个实验表明使用来自海栖热袍菌序列变体的C227S和C277T的融合在溶液中以及当结合牛釉质时对于包括靶向序列的构建体是活性的,并且产生足够水平的过乙酸以美白牙齿。

[0667] 实例12

[0668] 以一步施用方法使用过水解酶的牙齿美白功效

[0669] 这个实例的目的是示出一步施用方法酶促产生的过乙酸的牙齿美白功效,并且与化学来源的过乙酸达到的功效进行比较。开发两种方法以使用过水解酶(CE-7过水解酶)体系获得目标牙齿美白水平。第一种方法(本文称为“一步方法”)包括使用有色斑的模型釉质基质,混合不同量的至少一种CE-7过水解酶与甘油三乙酸酯(适宜酯底物的一个实例)和过氧化氢以产生过乙酸。

[0670] 牛釉质门牙如实例1所述进行制备。有色斑的牛釉质块s在使用前在水中水合至少1小时以稳定基质颜色。在开始实验前,在水合后测量每个釉质块的颜色。用每种溶液类型处理三个釉质样品。使用的溶液是仅用作对照的缓冲液,2.5% H₂O₂,1%过乙酸,包括10μM EZ-1 (C277S; SEQ ID NO: 424) 的过水解酶组合物,100mM甘油三乙酸酯和250mM H₂O₂,以及100mM甘油三乙酸酯和250mM H₂O₂的无酶对照。在pH7.2的500mM磷酸钠缓冲液中制备所有溶液。需要高缓冲液强度以将1%过乙酸溶液保持在中性pH。所有溶液在每个处理点新鲜制

备。酶-甘油三乙酸酯-H₂O₂组合和甘油三乙酸酯-H₂O₂组合在釉质暴露前即时混合。在每个处理步骤后,用水冲洗每个釉质块并测量颜色。总处理时间为61分钟,暴露时间为1分钟、5分钟、10分钟、15分钟和30分钟。通过ABTS氧化的比色检测评估在处理1分钟、10分钟和30分钟后溶液中的过乙酸浓度。结果在表16和17中提供。

[0671] 表16:以1-步施用方法使用的过水解酶体系对有色斑的牛釉质的漂白功效

样品	白度指数						ΔWI
	0 分钟	1 分钟	6 分钟	16 分钟	31 分钟	61 分钟	
缓冲液	-136.9	-134.9	-130.9	-130.4	-125.5	-121.2	15.6
H ₂ O ₂	-149.3	-146.3	-142.5	-134.7	-125.2	-103.1	46.2
甘油三乙酸酯/ H ₂ O ₂	-144.1	-137.4	-138.2	-125.3	-111.0	-80.9	63.2
1% PAA	-145.7	-119.6	-73.4	-62.9	-59.0	-59.4	86.3
EZ-1/甘油三乙酸 酯/H ₂ O ₂	-141.2	-115.6	-54.0	-37.3	-32.4	-27.9	113.3

[0673] 通过比色方法测定反应混合物中的过乙酸 (PAA) 浓度,所述测定根据Dinu等人(同上)描述的方法进行。制备在pH5.0的125mM柠檬酸钾缓冲液中的1mM2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉)-6-磺酸 (ABTS), 50μM碘化钾的试剂溶液。25μL样品与975μL这种检测试剂混合并孵育5分钟。使用微板读数器分析该溶液在405nm的吸光度。通过直接比较吸光度值测定溶液中过乙酸的相对量比较值。

[0674] 表17:在指示的处理时间末期评估溶液中的过乙酸浓度。每个样品以1:100稀释到ABTS检测试剂中,在405nm下测量。

样品	在 405nm 的吸光度		
	1 分钟	10 分钟	30 分钟
缓冲液	0.055	0.059	0.055
H ₂ O ₂	0.056	0.060	0.054
甘油三乙酸酯/H ₂ O ₂	0.061	0.069	0.052
1% PAA	2.579	1.863	2.874
EZ-1/甘油三乙酸酯/H ₂ O ₂	1.245	1.330	0.735

[0676] 表16中的数据证实酶-酯-过氧化物组合物在美白牙齿方面是有效的。表17中的数据表明过乙酸由EZ-1 (C277S; SEQ ID NO:424) 酶、甘油三乙酸酯和H₂O₂的组合产生。与化学过乙酸的吸光度数据比较也令人惊讶地表明酶促漂白体系示出更好的美白性能,以及更低的可检出过乙酸。对于包含甘油三乙酸酯和H₂O₂ (它们经检测以1:10稀释到ABTS试剂中)、无酶的情况,经过一段时间也产生低水平的过乙酸 (不包括在表中)。这产生可检出的漂白性能,但是与酶催化产生的高水平过乙酸相比,产率要低得多。

[0677] 实例13

[0678] 以一步施用方法使用釉质靶向的过水解酶的牙齿漂白功效

[0679] 这个实例的目的是示出以一步施用方法使用靶向CE-7过水解酶酶促产生的过乙酸的牙齿美白功效,并且与化学来源的过乙酸达到的功效进行比较。

[0680] 牛釉质门牙如实例1所述进行制备。有色斑的牛釉质块在使用前在水中水合至少1小时以稳定基质颜色。在开始实验前,在水合后测量每个釉质块的颜色。用每种溶液类型处理两个釉质样品。使用的溶液是仅用作对照的缓冲液,0.1%过乙酸,包括0.52μM EZ-7 (具

有釉质结合域的C277S;SEQ ID NO:429)的过水解酶组合物,100mM甘油三乙酸酯和32.6mM H₂O₂。在pH7.2的100mM磷酸钠缓冲液中制备所有溶液。所有溶液在每个处理点新鲜制备。酶-甘油三乙酸酯-H₂O₂组合在釉质暴露前即时混合。在每个处理步骤后,用水冲洗每个釉质块并测量颜色。每组釉质基质的处理时间为30分钟,重复4次。通过ABTS氧化的比色检测评估在处理30分钟后溶液中的过乙酸浓度。结果在表18和19中提供。

[0681] 表18:以1-步施用方法使用的靶向过水解酶对有色斑的牛釉质的漂白功效。平均来自两种基质的数据。

[0682]	样品	白度指数					Δ WI
		0 分钟	30 分钟	60 分钟	90 分钟	120 分钟	
	缓冲液	-133.5	-128.7	-123.4	-123.0	-127.8	5.8
	0.1% PAA	-125.8	-101.9	-91.9	-80.2	-70.8	55.0

[0683] 表19:在指示的处理时间末期评估溶液中的过乙酸浓度。每个样品以1:10稀释到ABTS检测试剂中,在405nm下测量。

[0684]	样品	在 405nm 的吸光度		[PAA] (ppm)
		牙齿 1	牙齿 2	
	缓冲液	0.073	0.070	0
	0.1% PAA	1.103	1.043	920
	EZ-7/甘油三乙酸酯/H ₂ O ₂	1.575	1.533	1350

[0685] 表18中的数据证实酶-酯-过氧化物组合物在以1-步方法美白牙齿方面是有效的。表19中的数据表明过乙酸由EZ-7酶、甘油三乙酸酯和H₂O₂的组合产生。

[0686] 实例14

[0687] 使用CE-7过水解酶对多种酯底物产生过乙酸

[0688] 这个实例的目的是展示广泛多种CE-7过水解酶-包括釉质靶向过水解酶-在口腔护理特定条件下催化从广泛多种酯中形成过乙酸。

[0689] 海栖热袍菌过水解酶变体被克隆、通过重组表达并以与实例4所述方式相似的方式纯化。表5列出了在这些过水解酶变体中的序列变化。

[0690] 对表5列出的至少两种或更多种过水解酶变体测试多种酯底物。除了三种酯通过常规合成,所有其他酯得自Sigma-Aldrich(St.Louis,MO)、TCI America (Portland,OR)、Alpha Aesar(Ward Hill,MA)或Tessendlo Company(Phoenix,AZ)。

[0691] 为了对一种酯底物测试多种酶,通过交错每个反应的开始时间0.5-1分钟方便地同时进行至多4个反应。每个反应在玻璃容器(高度:76mm;外径:33mm;内径:24mm)中进行,所述玻璃容器配有磁性搅棒。将四个反应容器捆扎在一起并在带夹套的一升不锈钢回火烧杯(KGW IsoTherm,#TSS-G1000W)中,利用由Thermo NesLab循环浴(Model#RTE-7Digital One)控制的循环水保持恒温。将缓冲液(6mL,100mM磷酸钠缓冲液,pH7.2)加到每个反应容器中并平衡至37℃。加入所关注的酯底物至浓度为100mM。通过同时加入40ppm酶和60mM H₂O₂(37μL,30%过氧化氢溶液)开始反应。在产生过乙酸之后,在1至15分钟的特定时间间隔从每个反应中移出80μL样品。样品在包含一定体积和浓度磷酸溶液的微量离心过滤管(NanoSep30K VWR cat#82031-354)中立即淬灭,所述磷酸溶液足以终止酶反应(通过将pH降低至介于2和3之间)并足以稀释样品以方便地进行HPLC分析。将酸淬灭的样品离心5分钟

以除去任何颗粒。一旦进行了过滤,立即使用如以前授予DiCosimo等人的美国专利公开7,829,315所述的方法对每组样品进行Karst反应和过乙酸的HPLC分析。表20列出了由每个酯底物产生的最大量过乙酸。

表 20: 由中性条件产生的最大量过乙酸。¹

酯底物 (CAS)	无酶	过乙酸 (PAA) (ppm)			
		C277S (SEQ ID NO: 424)	C277T (SEQ ID NO: 437)	C277T/R296P (SEQ ID NO: 476)	野生型 (SEQ ID NO: 16)
1-硫代-β-D-葡萄糖-2,3,4,6-四乙酸酯 (19879-84-6)	10	0	171	147	156
1,5-戊二醇二乙酸酯 (542-59-6)	11	335	484	364	435
二乙二醇二乙酸酯 (628-68-2)	17	469	653	530	424
山梨醇六乙酸酯 (7208-47-1)	11	712	705	616	381
蔗糖辛乙酸酯 (126-14-7)	20	215	493	501	304
4-乙酰氧基苯甲酸 (2345-34-8)	299	604	426	485	398
乙酰香草醛 (881-68-5)	251	660	500	405	564
丙二醇甲醚乙酸酯 (108-65-5)	22	173	197	181	177
2-乙酰氧基-2-脱氧-3,4,6-三乙酰-1-氯化 物-α-D-吡喃葡萄糖 (3068-34-6)	78	863	899	876	548

[0692]

5-乙酰氧甲基-2-呋喃甲醛 (10551-58-3)	67	1185	1125	1136	778
乙二醇二乙酸酯 (111-55-7)	51	1007	1059	1020	794
丙二醇二乙酸酯 (623-84-7)	17	1128	1245	1202	780
甘油二乙酸酯 (25395-31-7)	20	1013	1132	1087	1160
α -D-葡萄糖五乙酸酯 (604-68-2)	406	2091	2542	1678	1188
β -D-葡萄糖五乙酸酯 (604-69-3)	1124	2178	2531	1716	1158
1,2,3,5-四-O-乙酰基-呋喃核糖 (13035-61-5)	2246	3397	3472	3270	2828
1,2,3,4-四-O-乙酰基-吡喃核糖 (4049-34-7)	2264	3525	3361	3503	2278
三-O-乙酰基葡萄糖 (2873-29-2)	62	1047	1319	1034	729
甘油三乙酸酯 (102-76-1)	51	1977	2311	2291	937
β -D-半乳糖五乙酸酯 (4163-60-4)	176	2539	2546	1947	764
2-乙酰氧基-2-脱氧-1,3,4,6-四乙酰- β -D-吡喃葡萄糖 (7772-79-4)	2574	3374	3808	3790	2687
β -D-呋喃木糖四乙酸酯 (CV Chem) ^a	1373	3354	3481	3158	2384

[0693]

3,4-二乙酰氧基-1-丁烯 (18085-02-4)	53	2281	2285	2478	1692
β -D-吡喃葡萄糖,1,2,3,4-四乙酸酯 (13100-46-4)	2102	2309	2225	2235	2129
2,3,4,6-四乙酰- β -D-吡喃葡萄糖 (10343-06-3) ^b	1500	2820	3072	N/A	N/A
β -甲基糖苷甘油三乙酸酯 (18531-01-6) ^b	412	3856	3635	N/A	N/A
1,3,4,6-四-O-乙酰基-吡喃甘露糖 (18968-05-3)	1803	3593	3436	N/A	2361
α -D-五乙酸甘露糖酯 (4163-65-9)	3659	4017	4212	3752	4023

附表说明: [酯], 100mM; [H₂O₂], 60mM; [过水解酶], 40ppm, 95mM 磷酸盐, pH (7.2) ; ^aCV-Chem 常规分析 (CiVenti Chem, Product CV-3146; 附图标号 I21-RM-134) ; ^b根据 Robertson 等人, (1934) *J. Chem. Soc.*, 824-9 的合成文献制备。N/A=未测试。

[0694]

[0695] 在与用于产生表20数据的条件相同的反应条件下,使用靶向C277S过水解酶变体 EZ-7测试这些酯底物的过乙酸生产。在表21中示出了使用丙二醇二乙酸酯或蔗糖辛乙酸

酯,利用EZ-7过水解酶体系生产过乙酸。显示的数据表明可供选择的酯是如实例5所述的靶向过水解酶变体的有效底物。

[0696] 表21:使用靶向和非靶向CE-7过水解酶,由可供选择的底物产生的最大量过乙酸。

[0697]

酶 ID	过乙酸 (ppm)	
	丙二醇二乙酸酯	蔗糖辛乙酸酯
EZ-1	2165	2768
EZ-7	2109	2070

[0698] 实例15

[0699] 使用作用于多种酯底物的CE-7过水解酶进行牙齿漂白

[0700] 这个实例的目的是为了展示使用CE-7过水解酶的牙齿漂白功效,所述过水解酶在口腔护理相关条件下从四种酯中催化并形成过乙酸。

[0701] 对于这个实例,海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) 过水解酶的C277S (EZ-1) 变体被克隆、通过重组表达并如实例4所述纯化。所有底物购自Sigma-Aldrich (St.Louis,MO),例外的是甘油三乙酸酯 (TessendloCompany (Phoenix,AZ))。

[0702] 使用底物甘油三乙酸酯 (TA)、 α -D-葡萄糖五乙酸酯 (GPA)、蔗糖辛乙酸酯 (SOC) 和丙二醇二乙酸酯 (PGDA) 展示酶介导的牙齿增白,所述酶为EZ-1 (C277S;SEQ ID NO:424)。用于利用每种底物产生过乙酸的最佳条件来源于实例14的研究并如下列出:

[0703] 40ppm EZ-1,100mM底物,XmM H_2O_2 ,95mM磷酸盐,pH7.2,其中X取决于底物特性而不同;100mM H_2O_2 (TA),360mM H_2O_2 (PGDA和SOC),60mM H_2O_2 (GPA)。

[0704] 牛釉质门牙如实例1所述进行制备。将有色斑的釉质块置于24孔板中,其牙质面向下,并且在pH7.2的磷酸盐缓冲液中水合过夜。在处理前,使用Konica-Minolta2600d分光光度计测量每个牙齿的颜色并如实例1所述计算白度指数。

[0705] 在1.5-mL微量离心管 (Eppendorf,#2243102-1) 中制备每种酶溶液并将1mL所述溶液立即转移到包含预水合牙齿的24孔板中。对照样品包含pH7.2的100mM磷酸盐缓冲液和在pH5.3的100mM柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液中的9% H_2O_2 。牙齿在室温下孵育30分钟,将其移出、用pH7.2的100mM磷酸盐冲洗并测量颜色。将牙齿放回24孔板中,在这时制备新酶溶液并加到每个孔中。这一方法重复进行总计3次美白处理;每次处理30分钟(表22)。

[0706] 表22:暴露于40ppm E7-1,100mM底物,不同 H_2O_2 ¹,95mM磷酸盐,pH7.2的咖啡-茶染色的牛釉质的颜色测量

[0707]

样品	白度指数				Δ WI
	处理 0	处理 1	处理 2	处理 3	
缓冲液 ^a	-190.4	-183.3	-181.1	-179.0	11.4
9% H_2O_2 ^a	-167.6	-129.6	-117.6	-115.2	52.4
TA	-189.9	-108.7	-86.7	-86.1	103.8
PGDA	-181.4	-108.0	-80.9	-80.1	101.3
SOC	-172.8	-135.2	-135.9	-128.8	44.0
GPa	-225.2	-128.7	-105.3	-95.9	129.3

[0708] 附表说明:¹ H_2O_2 浓度取决于底物而不同,并且如下所示:100mM H_2O_2 (TA),360mM

H₂O₂ (PGDA和SOC), 60mM H₂O₂ (GPA)。^a对照样品不含酶。

[0709] 如表22所示,使用TA、PGDA、SOC和GPA酶促产生的所有过乙酸样品显示白度指数的显著改变,其经每次连续处理后变为较大的正值。缓冲液对照的白度指数改变是微小的,ΔWI为11.4。这些测量也与牙齿在每次30分钟处理后的视觉检查一致。这一数据表明使用多种不同底物,利用EZ-1酶促产生的过乙酸在美白咖啡-茶染色的牛牙齿方面是有效的。

[0710] 实例16

[0711] 以两步施用方法使用过水解酶的牙齿美白功效

[0712] 这个实例的目的是为了展示以两步施用方法使用的过水解酶体系的牙齿美白功效。

[0713] 牛釉质门牙如实例1所述进行制备。将有色斑的釉质块插入48孔板以保护牙质背面,使其不暴露于溶液。制备每种酶在pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液中的10μM溶液并将每个釉质基质在500μL溶液中孵育60分钟。除去酶溶液并用附加的500μL缓冲液冲洗每个孔三次。将釉质块置于新孔中进行美白处理。新制最终浓度为在pH7.2的50mM磷酸盐缓冲液中的40mM甘油三乙酸酯,100mM H₂O₂溶液,并将500μL溶液加到每个釉质块中。经过1小时时间,移出釉质块并测量颜色,然后将每个釉质块放回到具孔板的溶液中。监测每个样品的白度指数。结果列于表23中。

[0714] 表23:在2步中暴露于多种过水解酶和甘油三乙酸酯/H₂O₂的咖啡-茶染色的牛釉质的颜色测量。

[0715]

酶	白度指数						ΔWI
	0 分钟	5 分钟	15 分钟	30 分钟	45 分钟	60 分钟	
无酶	-108.2	-102.7	-104.0	-107.3	-98.3	-96.7	11.4
EZ-1	-152.7	-126.2	-138.9	-144.8	-107.3	-96.1	56.6
EZ-2	-154.5	-134.6	-97.3	-57.2	-35.8	-25.3	129.1
EZ-3	-159.0	-147.4	-161.5	-117.3	-104.7	-83.8	75.2
EZ-4	-158.9	-143.6	-149.5	-129.4	-106.5	-89.5	69.4
EZ-5	-135.8	-129.8	-97.4	-65.1	-49.9	-42.7	93.2

[0716] 这个实例表明表面结合的过水解酶可通过催化过乙酸在釉质表面形成来美白牙齿。在这个实例中的漂白性能与观察到的每种酶在羟基磷灰石上的保持相关联。非靶向的EZ-1 (C277S;SEQ ID NO:424)表现出在羟基磷灰石和釉质上的保持不良,因此其在2-步方法中达到合适的美白效果的潜力不高。加入有效的靶向序列以将酶保持在釉质上能够以2-步施用方法产生过乙酸。

[0717] 实例17

[0718] 以两步施用方法使用过水解酶的牙齿美白功效

[0719] 这个实例的目的是为了展示以两步施用方法使用的靶向和非靶向的过水解酶体系的牙齿美白功效。

[0720] 牛釉质门牙如实例1所述进行制备。将有色斑的釉质块插入橡皮泥[®] (Crayola LLC, Easton, PA) 填充的孔中,使用24-孔板以保护牙质背面,使其不暴露于溶液。制备在pH7.2的10mM磷酸盐缓冲液中的20μM每种酶的溶液,并将500μL酶溶液加到每个釉质块上,并在37℃孵育10分钟。釉质块然后每次用附加的500μL缓冲液冲洗三次。将釉质块转移并插

入新的橡皮泥孔,用于美白处理。将包含100mM磷酸盐缓冲液,100mM甘油三乙酸酯,100mM H_2O_2 , pH7.2的溶液(200 μ L)加到釉质上,并且在37℃孵育10分钟。使用镊子从孔中移出釉质块,然后冲洗并贮存在填充有1.5mL水的孔中进行颜色测量。重复该2-步方法5次(总计50分钟)。在2-步方法后咖啡-茶染色的牛釉质的颜色测量结果在表24中示出。每个样品数据点代表独立釉质块的2个重复。

[0721] 为了测量体系中产生的过乙酸的水平,使用ABTS方法,将90 μ L反应混合物移到新孔中,所述新孔包含10 μ L终止缓冲液(1.33M H_3PO_4)。用100mM磷酸盐缓冲液进行样品的1:100稀释,并且将其加到ABTS检测试剂中,如实例8所述。结果列于表25中。每个样品数据点代表独立釉质块的2个重复。

[0722] 表24:在2步中暴露于多种过水解酶和甘油三乙酸酯/ H_2O_2 的咖啡-茶染色的牛釉质的颜色测量。

[0723]

步骤 1	步骤 2	白度指数						Δ WI
		之前	Rd1	Rd2	Rd3	Rd4	Rd5	
缓冲液	缓冲液	- 122.9	- 117.9	- 116.3	- 126.7	- 118.4	- 128.6	-5.7
缓冲液	甘油三乙酸酯 H_2O_2	- 130.9	- 150.4	- 136.9	- 134.4	- 145.4	- 141.9	-11.1
EZ1	甘油三乙酸酯 H_2O_2	- 140.0	- 129.5	- 129.5	- 129.2	- 125.1	- 122.1	17.9
EZ7	甘油三乙酸酯 H_2O_2	- 120.8	- 106.7	- -96.0	- -88.7	- -85.7	- -76.6	44.2

[0724] 表25:在每轮美白处理后产生的过乙酸的水平。

[0725]

步骤 1	步骤 2	在每轮美白后产生的 PAA (ppm)				
		Rd1	Rd2	Rd3	Rd4	Rd5
缓冲液	缓冲液	1.2	0.5	8.7	1.3	2.0
缓冲液	甘油三乙酸酯/ H_2O_2	31.0	25.8	16.0	45.5	35.9
EZ1	甘油三乙酸酯/ H_2O_2	33.2	41.0	30.2	39.3	47.1
EZ7	甘油三乙酸酯/ H_2O_2	383.5	496.7	716.5	998.5	1224.5

[0726] 这个实例表明表面结合的过水解酶可通过催化过乙酸在釉质表面形成来美白牙齿。在这个使用牛釉质的实例中的漂白性能与观察到的每种酶在羟基磷灰石上的保持相关联。非靶向的EZ-1 (C277S) 表现出在羟基磷灰石和釉质上的保持不良,因此其在2-步方法中达到合适的美白效果的潜力不高。加入有效的靶向序列以将酶保持在釉质上能够以2-步施用方法产生过乙酸。

[0001]

序列表

<110> E. I. duPont de Nemours and Company Inc.
 Di Cosimo, Robert
 Cunningham, Scott
 Butterick, Lisa
 Fosser, Kari
 Gruber, Tanja
 Wang, Hong
 Rouviere, Pierre
 Payne, Mark

<120> 用于口腔护理产品的酶促过酸生产

<130> CL5256 PCT

<150> US 61/424,903

<151> 2010-12-20

<160> 479

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 960

<212> DNA

<213> 枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (960)

<400> 1

atg	caa	cta	ttc	gat	ctg	ccg	ctc	gac	caa	ttg	caa	aca	tat	aag	cct	48
Met	Gln	Leu	Phe	Asp	Leu	Pro	Leu	Asp	Gln	Leu	Gln	Thr	Tyr	Lys	Pro	
1				5				10						15		

gaa	aaa	aca	gca	ccg	aaa	gat	ttt	tct	gag	ttt	tgg	aaa	ttg	tct	ttg	96
Glu	Lys	Thr	Ala	Pro	Lys	Asp	Phe	Ser	Glu	Phe	Trp	Lys	Leu	Ser	Leu	
		20					25					30				

gag	gaa	ctt	gca	aaa	gtc	caa	gca	gaa	cct	gat	tta	cag	ccg	gtt	gac	144
Glu	Glu	Leu	Ala	Lys	Val	Gln	Ala	Glu	Pro	Asp	Leu	Gln	Pro	Val	Asp	
		35				40					45					

tat	cct	gct	gac	gga	gta	aaa	gtg	tac	cgt	ctc	aca	tat	aaa	agc	ttc	192
Tyr	Pro	Ala	Asp	Gly	Val	Lys	Val	Tyr	Arg	Leu	Thr	Tyr	Lys	Ser	Phe	
	50				55				60							

gga	aac	gcc	cgc	att	acc	gga	tgg	tac	gcg	gtg	cct	gac	aag	caa	ggc	240
Gly	Asn	Ala	Arg	Ile	Thr	Gly	Trp	Tyr	Ala	Val	Pro	Asp	Lys	Gln	Gly	
65				70				75						80		

ccg	cat	ccg	gcg	atc	gtg	aaa	tat	cat	ggc	tac	aat	gca	agc	tat	gat	288
Pro	His	Pro	Ala	Ile	Val	Lys	Tyr	His	Gly	Tyr	Asn	Ala	Ser	Tyr	Asp	
			85					90						95		

[0002]

ggt gag att cat gaa atg gta aac tgg gca ctc cat ggc tac gcc gca Gly Glu Ile His Glu Met Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Ala	336
100 105 110	
ttc ggc atg ctt gtc cgc ggc cag cag agc agc gag gat acg agt att Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gln Ser Ser Glu Asp Thr Ser Ile	384
115 120 125	
tca ctg cac ggt cac gct ttg ggc tgg atg acg aaa gga att ctt gat Ser Leu His Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Asp	432
130 135 140	
aaa gat aca tac tat tac cgc ggt gtt tat ttg gac gcc gtc cgc gcg Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala	480
145 150 155 160	
ctt gag gtc atc agc agc ttc gac gag gtt gac gaa aca agg atc ggt Leu Glu Val Ile Ser Ser Phe Asp Glu Val Asp Glu Thr Arg Ile Gly	528
165 170 175	
gtg aca gga gga agc caa ggc gga ggt tta acc att gcc gca gca gcg Val Thr Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly Leu Thr Ile Ala Ala Ala Ala	576
180 185 190	
ctg tca gac att cca aaa gcc gcg gtt gcc gat tat cct tat tta agc Leu Ser Asp Ile Pro Lys Ala Ala Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser	624
195 200 205	
aac ttc gaa cgg gcc att gat gtg gcg ctt gaa cag ccg tac ctt gaa Asn Phe Glu Arg Ala Ile Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu	672
210 215 220	
atc aat tcc ttc ttc aga aga aat ggc agc ccg gaa aca gaa gtg cag Ile Asn Ser Phe Phe Arg Arg Asn Gly Ser Pro Glu Thr Glu Val Gln	720
225 230 235 240	
gcg atg aag aca ctt tca tat ttc gat att atg aat ctc gct gac cga Ala Met Lys Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Met Asn Leu Ala Asp Arg	768
245 250 255	
gtg aag gtg cct gtc ctg atg tca atc ggc ctg att gac aag gtc acg Val Lys Val Pro Val Leu Met Ser Ile Gly Leu Ile Asp Lys Val Thr	816
260 265 270	
ccg ccg tcc acc gtg ttt gcc gcc tac aat cat ttg gaa aca gag aaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Glu Lys	864
275 280 285	
gag ctg aag gtg tac cgc tac ttc gga cat gag tat atc cct gct ttt Glu Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Tyr Ile Pro Ala Phe	912
290 295 300	
caa acg gaa aaa ctt gct ttc ttt aag cag cat ctt aaa ggc tga taa Gln Thr Glu Lys Leu Ala Phe Phe Lys Gln His Leu Lys Gly	960
305 310 315	

Leu Ser Asp Ile Pro Lys Ala Ala Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser

[0004]

195	200	205
Asn Phe Glu Arg Ala Ile Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu		
210	215	220
Ile Asn Ser Phe Phe Arg Arg Asn Gly Ser Pro Glu Thr Glu Val Gln		
225	230	235
Ala Met Lys Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Met Asn Leu Ala Asp Arg		
245	250	255
Val Lys Val Pro Val Leu Met Ser Ile Gly Leu Ile Asp Lys Val Thr		
260	265	270
Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Glu Lys		
275	280	285
Glu Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Tyr Ile Pro Ala Phe		
290	295	300
Gln Thr Glu Lys Leu Ala Phe Phe Lys Gln His Leu Lys Gly		
305	310	315

<210> 3
 <211> 957
 <212> DNA
 <213> 枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)

<400> 3
 atgcaactat tcgatctgcc gctcgaccaa ttgcaaacat ataagcctga aaaaacagca 60
 ccgaaagatt tttctgagtt ttggaaattg tctttggagg aacttgcaaa agtccaagca 120
 gaacctgatt tacagccggt tgactatcct gctgacggag taaaagtgtta ccgtctcaca 180
 tataaaagct tcggaaacgc ccgcattacc ggatggtacg cggtgcctga caaggaaggc 240
 ccgcatccgg cgatectgaa atatcatggc tacaatgcaa gctatgatgg tgagattcat 300
 gaaatggtaa actgggcact ccatggctac gccacattcg gcatgcttgt ccgcggccag 360
 cagagcagcg aggatacagag tatttcaccg cacggtcacg ctttgggctg gatgacgaaa 420
 ggaattcttg ataaagatac atactattac cgcggtgttt atttggacgc cgtccgcgcg 480
 cttgaggtca tcagcagctt cgacgaggtt gacgaaacaa ggatcggtgt gacaggagga 540
 agccaaggcg gaggtttaac cattgccgca gcagcgtgt cagacattcc aaaagccgcg 600

[0005]

```

gttgccgatt atccttattt aagcaacttc gaacgggcca ttgatgtggc gcttgaacag      660
ccgtaccttg aatcaattc cttcttcaga agaaatggca gcccggaaac agaagtgcag      720
gcgatgaaga cactttcata ttctgatatt atgaatctcg ctgaccgagt gaaggtgcct      780
gtcctgatgt caatcggcct gattgacaag gtcacgcegc cgtccaccgt gtttgccgcc      840
tacaatcatt tggaacaaa gaaagagctg aaggtgtacc gctacttcgg acatgagtat      900
atccctgctt ttcaaactga aaaacttgct ttctttaagc agcatcttaa aggctga      957

```

<210> 4

<211> 318

<212> PRT

<213> 枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis) s

<400> 4

```

Met Gln Leu Phe Asp Leu Pro Leu Asp Gln Leu Gln Thr Tyr Lys Pro
1              5              10              15

```

```

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

```

```

Glu Glu Leu Ala Lys Val Gln Ala Glu Pro Asp Leu Gln Pro Val Asp
35              40              45

```

```

Tyr Pro Ala Asp Gly Val Lys Val Tyr Arg Leu Thr Tyr Lys Ser Phe
50              55              60

```

```

Gly Asn Ala Arg Ile Thr Gly Trp Tyr Ala Val Pro Asp Lys Glu Gly
65              70              75              80

```

```

Pro His Pro Ala Ile Val Lys Tyr His Gly Tyr Asn Ala Ser Tyr Asp
                85              90              95

```

```

Gly Glu Ile His Glu Met Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Thr
100              105              110

```

```

Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gln Ser Ser Glu Asp Thr Ser Ile
115              120              125

```

```

Ser Pro His Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Asp
130              135              140

```

```

Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala

```

145					150					155					160		
Leu	Glu	Val	Ile	Ser	Ser	Phe	Asp	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Arg	Ile	Gly		
				165					170					175			
Val	Thr	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	Leu	Thr	Ile	Ala	Ala	Ala	Ala		
				180					185					190			
Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Lys	Ala	Ala	Val	Ala	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Leu	Ser		
				195					200					205			
Asn	Phe	Glu	Arg	Ala	Ile	Asp	Val	Ala	Leu	Glu	Gln	Pro	Tyr	Leu	Glu		
				210					215					220			
Ile	Asn	Ser	Phe	Phe	Arg	Arg	Asn	Gly	Ser	Pro	Glu	Thr	Glu	Val	Gln		
225					230					235					240		
Ala	Met	Lys	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Ile	Met	Asn	Leu	Ala	Asp	Arg		
				245					250					255			
Val	Lys	Val	Pro	Val	Leu	Met	Ser	Ile	Gly	Leu	Ile	Asp	Lys	Val	Thr		
				260					265					270			
Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	His	Leu	Glu	Thr	Lys	Lys		
				275					280					285			
Glu	Leu	Lys	Val	Tyr	Arg	Tyr	Phe	Gly	His	Glu	Tyr	Ile	Pro	Ala	Phe		
				290					295					300			
Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Ala	Phe	Phe	Lys	Gln	His	Leu	Lys	Gly				
305					310					315							

$\langle 210 \rangle$	5
$\langle 211 \rangle$	957
$\langle 212 \rangle$	DNA
$\langle 213 \rangle$	枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)

<400>	5									
atgcaactat	tcgatctgcc	gctcgaccaa	ttgcaaacgt	ataagcctga	aaaaacaaca					60
ccgaacgatt	tttctgagtt	ttggaaatcg	tctttggacg	aacttgcgaa	agtcaaagca					120
gcacctgatt	tacagctggg	tgattatcct	gctgatggag	tcaaggtgta	ccgcctcaca					180
tataaaagct	tcggaacgc	ccgcattacc	ggatgggtacg	cagtgcctga	caaggaagga					240

[0007]

```

ccgcatccgg cgatcgtaa atatcatggc tacaacgcta gctatgacgg tgagattcat      300
gaaatggtaa actgggcgct ccacggttac gccgcattcg gcatgctagt ccgcggccag      360
cagagcagcg aggatacgag tattttctcca catggccatg ctttgggctg gatgacgaaa      420
ggaatccttg ataaagatac atactattac cggggcgttt atttgacgc tgtccgcgcg      480
cttgaggtea tcagcagctt tgacgaagtt gacgaaacaa gaatcgggtg gacaggcgga      540
agccaaggag gcggcttaac cattgccgca gccgctctgt cagacattcc aaaagccgcg      600
gttgccgatt atccttattt aagcaacttt gaacggggcca ttgatgtggc gcttgaacag      660
ccgtaccttg aatcaattc cttctttaga agaaatggaa gcccggaac ggaagagaag      720
gcgatgaaga cactttcata ttctgatatt atgaatctcg ctgaccgagt gaaggtcct      780
gtcctgatgt cgatcggctt gattgacaag gtcacgccgc cgtccaccgt gtttgccgca      840
tacaaccact tggagacaga gaaagagctc aaagtgtacc gctacttcgg gcatgagtat      900
atccctgcct ttcaaacaga aaaacttget ttctttaagc agcatcttaa aggctga      957

```

<210> 6

<211> 318

<212> PRT

<213> 枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)

<400> 6

```

Met Gln Leu Phe Asp Leu Pro Leu Asp Gln Leu Gln Thr Tyr Lys Pro
1           5           10           15

```

```

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

```

```

Asp Glu Leu Ala Lys Val Lys Ala Ala Pro Asp Leu Gln Leu Val Asp
          35           40           45

```

```

Tyr Pro Ala Asp Gly Val Lys Val Tyr Arg Leu Thr Tyr Lys Ser Phe
          50           55           60

```

```

Gly Asn Ala Arg Ile Thr Gly Trp Tyr Ala Val Pro Asp Lys Glu Gly
65           70           75           80

```

```

Pro His Pro Ala Ile Val Lys Tyr His Gly Tyr Asn Ala Ser Tyr Asp
          85           90           95

```

```

Gly Glu Ile His Glu Met Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Ala

```


	100	105	110
	Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gln Ser Ser Glu Asp Thr Ser Ile 115 120 125		
	Ser Pro His Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Asp 130 135 140		
	Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala 145 150 155 160		
	Leu Glu Val Ile Ser Ser Phe Asp Glu Val Asp Glu Thr Arg Ile Gly 165 170 175		
	Val Thr Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly Leu Thr Ile Ala Ala Ala Ala 180 185 190		
	Leu Ser Asp Ile Pro Lys Ala Ala Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser 195 200 205		
[0008]	Asn Phe Glu Arg Ala Ile Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu 210 215 220		
	Ile Asn Ser Phe Phe Arg Arg Asn Gly Ser Pro Glu Thr Glu Glu Lys 225 230 235 240		
	Ala Met Lys Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Met Asn Leu Ala Asp Arg 245 250 255		
	Val Lys Val Pro Val Leu Met Ser Ile Gly Leu Ile Asp Lys Val Thr 260 265 270		
	Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Glu Lys 275 280 285		
	Glu Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Tyr Ile Pro Ala Phe 290 295 300		
	Gln Thr Glu Lys Leu Ala Phe Phe Lys Gln His Leu Lys Gly 305 310 315		
	<210> 7		
	<211> 957		

<212> DNA
<213> 地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)

atgcagcagc	cttatgatat	gccgcttgaa	cagctttatc	agtataaacc	tgaacggacg	60
gcaccggccg	attttaaaga	gttctggaag	ggttcattgg	aggaattggc	aaatgaaaaa	120
gcgggaccgc	agcttgaacc	gcatgaatat	ccggctgacg	gggtaaaagt	ctactggcct	180
acatacagaa	gcatcggggg	agcgcgaatt	aaaggttggt	acgcagtacc	cgaccgcaa	240
gggcctcatc	ctgcgatcgt	caaataccac	ggctataacg	caagctatga	cggagacatt	300
cacgatattg	tcaattgggc	tcttcacggc	tatgcggcat	tcggtatgct	ggtcgcgga	360
cagaacagca	gtgaagatac	agagatctct	catcacggac	atgtaccggg	ctggatgaca	420
aaaggaatcc	tcgatccgaa	aacatattac	tacagagggg	tctatttaga	tgccgtacga	480
gcagtcgaag	tggtcagcgg	ttttgctgaa	gtcgatgaaa	agcggatcgg	ggtgatcggg	540
gcaagccaag	gaggcgggct	ggccgtcgcg	gtttcggcgc	tgtccgatat	tccaaaagca	600
gccgtgtcag	aataaccctta	tttaagcaat	tttcaacgag	cgatcgatac	agcgatcgac	660
cagccatata	tcgaaatcaa	ctcctttttc	agaagaaaca	ccagtccgga	tattgagcag	720
gcggccatgc	ataccctgtc	ttatttcgat	gtcatgaacc	ttgcccaatt	ggtcaaagcg	780
accgtactca	tgtegatcgg	actggttgac	accatcactc	cgccatccac	cgtctttgcg	840
gcttacaatc	acttggaaac	ggataaagaa	ataaaagtgt	accgttattt	tggacacgaa	900
tacatcccgc	cgttccaaac	cgaaaagctg	gcgtttctga	gaaagcatct	gaaataa	957

<210>	8
<211>	318
<212>	PRT
<213>	地衣芽孢杆菌 (Bacillus licheniformis)

Met Gln Gln Pro Tyr Asp Met Pro Leu Glu Gln Leu Tyr Gln Tyr Lys
1 5 10 15Pro Glu Arg Thr Ala Pro Ala Asp Phe Lys Glu Phe Trp Lys Gly Ser
20 25 30Leu Glu Glu Leu Ala Asn Glu Lys Ala Gly Pro Gln Leu Glu Pro His
35 40 45

Glu Tyr Pro Ala Asp Gly Val Lys Val Tyr Trp Leu Thr Tyr Arg Ser

	50		55		60														
	Ile	Gly	Gly	Ala	Arg	Ile	Lys	Gly	Trp	Tyr	Ala	Val	Pro	Asp	Arg	Gln			
	65					70					75					80			
	Gly	Pro	His	Pro	Ala	Ile	Val	Lys	Tyr	His	Gly	Tyr	Asn	Ala	Ser	Tyr			
					85					90					95				
	Asp	Gly	Asp	Ile	His	Asp	Ile	Val	Asn	Trp	Ala	Leu	His	Gly	Tyr	Ala			
				100					105					110					
	Ala	Phe	Gly	Met	Leu	Val	Arg	Gly	Gln	Asn	Ser	Ser	Glu	Asp	Thr	Glu			
			115					120					125						
	Ile	Ser	His	His	Gly	His	Val	Pro	Gly	Trp	Met	Thr	Lys	Gly	Ile	Leu			
	130						135					140							
	Asp	Pro	Lys	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Val	Tyr	Leu	Asp	Ala	Val	Arg			
	145					150					155					160			
[0010]	Ala	Val	Glu	Val	Val	Ser	Gly	Phe	Ala	Glu	Val	Asp	Glu	Lys	Arg	Ile			
					165					170					175				
	Gly	Val	Ile	Gly	Ala	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	Leu	Ala	Val	Ala	Val	Ser			
				180					185					190					
	Ala	Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Lys	Ala	Ala	Val	Ser	Glu	Tyr	Pro	Tyr	Leu			
			195					200					205						
	Ser	Asn	Phe	Gln	Arg	Ala	Ile	Asp	Thr	Ala	Ile	Asp	Gln	Pro	Tyr	Leu			
		210					215					220							
	Glu	Ile	Asn	Ser	Phe	Phe	Arg	Arg	Asn	Thr	Ser	Pro	Asp	Ile	Glu	Gln			
	225					230					235				240				
	Ala	Ala	Met	His	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Val	Met	Asn	Leu	Ala	Gln			
					245					250				255					
	Leu	Val	Lys	Ala	Thr	Val	Leu	Met	Ser	Ile	Gly	Leu	Val	Asp	Thr	Ile			
				260				265						270					
	Thr	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	His	Leu	Glu	Thr	Asp			
			275					280					285						

[0011]

Lys Glu Ile Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Tyr Ile Pro Pro
 290 295 300

Phe Gln Thr Glu Lys Leu Ala Phe Leu Arg Lys His Leu Lys
 305 310 315

<210> 9

<211> 963

<212> DNA

<213> 短小芽孢杆菌 (Bacillus pumilus)

<400> 9

```

atgcaattgt tcgatttata actagaagag ctaaaaaaat ataaaccaa gaaaacagca      60
cgtcctgatt tctcagactt ttggaagaaa tcgctcgaag aactgcgcca agtggaggca      120
gagccaacac ttgaatctta tgactatcca gtgaaaggcg tcaagggtga ccgcctgacg      180
tatcaaagct ttggacattc taaaattgaa ggcttttatg ctgtgcctga tcaaactggt      240
ccgcatccag cgctcgttcg ttttcattggc tataatgcca gctatgacgg cggcattcac      300
gacatcgtea actgggcgct gcacggctat gcaacatttg gtatgctcgt ccgcggtcaa      360
ggtggcagtg aagacacatc agtgacacca ggcgggcatg cattagggtg gatgacaaaa      420
ggcattttat cgaaagatac gtactattat cgaggcgttt atctagatgc tgttcgtgca      480
cttgaagtca ttcagtcctt ccccgaaagta gatgaacacc gtatcggcgt gatcgggtgga      540
agtcaggggg gtgcgttagc gattgcggcc gcagcccttt cagacattcc aaaagtcggt      600
gtggcagact atccttactt atcaaatttt gagcgtgcag ttgatgttgc cttggagcag      660
ccttatttag aaatcaattc atactttcgc agaaacagtg atccgaaagt ggaggaaaag      720
gcatttgaga cattaagcta ttttgattta atcaatttag ctggatgggt gaaacagcca      780
acattgatgg cgatcgggtc gattgacaaa ataaccacac catctactgt gtttgcggca      840
tacaaccatt tagaaacaga taaagacctg aaagtatatc gctattttgg acacgagttt      900
atccctgctt ttcaaacaga gaagctgtcc tttttacaaa agcatttgct tctatcaaca      960
taa                                                                963

```

<210> 10

<211> 320

<212> PRT

<213> 短小芽孢杆菌 (Bacillus pumilus)

<400> 10

Met Gln Leu Phe Asp Leu Ser Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Lys Pro
1 5 10 15

Lys Lys Thr Ala Arg Pro Asp Phe Ser Asp Phe Trp Lys Lys Ser Leu
20 25 30

Glu Glu Leu Arg Gln Val Glu Ala Glu Pro Thr Leu Glu Ser Tyr Asp
35 40 45

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

Gly His Ser Lys Ile Glu Gly Phe Tyr Ala Val Pro Asp Gln Thr Gly
65 70 75 80

Pro His Pro Ala Leu Val Arg Phe His Gly Tyr Asn Ala Ser Tyr Asp
85 90 95

Gly Gly Ile His Asp Ile Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Thr
100 105 110

[0012]

Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gly Gly Ser Glu Asp Thr Ser Val
115 120 125

Thr Pro Gly Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Ser
130 135 140

Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala
145 150 155 160

Leu Glu Val Ile Gln Ser Phe Pro Glu Val Asp Glu His Arg Ile Gly
165 170 175

Val Ile Gly Gly Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Ile Ala Ala Ala Ala
180 185 190

Leu Ser Asp Ile Pro Lys Val Val Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser
195 200 205

Asn Phe Glu Arg Ala Val Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu
210 215 220

[0013]

Ile Asn Ser Tyr Phe Arg Arg Asn Ser Asp Pro Lys Val Glu Glu Lys
225 230 235 240

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

Val Lys Gln Pro Thr Leu Met Ala Ile Gly Leu Ile Asp Lys Ile Thr
260 265 270

Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Asp Lys
275 280 285

Asp Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Phe Ile Pro Ala Phe
290 295 300

Gln Thr Glu Lys Leu Ser Phe Leu Gln Lys His Leu Leu Leu Ser Thr
305 310 315 320

<210> 11

<211> 963

<212> DNA

<213> 热纤梭菌 (Clostridium thermocellum)

<400> 11

```

atggcacaat tatatgatat gcctttggag gaattaaaaa aatataagcc tgcgcttaca      60
aaacagaaag attttgatga gttttgggaa aaaagcctta aagagctggc tgaaattcct      120
ttaaataatc aacttatacc ttatgatttt ccggcccgga gggtaaaagt tttcagagtt      180
gaatatcttg gttttaaagg tgcaaatatt gaagggtggc ttgccgttcc cgaggagaa      240
gggttgatc cccggccttg acagtttcac ggatacaact gggcgatgga tggatgtgtt      300
cccgatgtgg taaattgggc tttgaatgga tatgccgcac ttcttatgct tgttcgggga      360
cagcagggaa gaagcgtgga caatattgtg cccggcagcg gtcacgtttt gggatggatg      420
tcgaaaggta ttttgcacc ggaggaatat tattatagag gaggatatat ggatgcggtt      480
cgtgctgttg aaattttggc ttcgcttcct tgtgtggatg aatcgagaat aggagtgaca      540
gggggcagcc aggggtggagg acttgcaactg gcggtggctg ctctgtccgg cataccgaaa      600
gttgacagcg tgcattatcc gtttctggca cattttgagc gtgccattga cgttgcgccg      660
gacggccctt atcttgaaat taacgaatat ttaagaagaa acagcggatg agaaatagaa      720
agacaggtaa agaaaaccct ttctatattt gatatcatga atcttgctcc ccgtataaaa      780
tgccgtactt ggatttgcac tggctctgtg gatgagatta ctccctccgtc aacgggtttt      840

```

[0014]

gcagtgtaca atcacctcaa atgccc aaag gaaatttcgg tattcagata ttttgggcat 900
 gaacatatgc caggaagcgt tgaaatcaag ctgaggatac ttatggatga gctgaatccg 960
 taa 963

<210> 12

<211> 320

<212> PRT

<213> 热纤梭菌 (Clostridium thermocellum)

<400> 12

Met Ala Gln Leu Tyr Asp Met Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Lys
 1 5 10 15

Pro Ala Leu Thr Lys Gln Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Lys Ser
 20 25 30

Leu Lys Glu Leu Ala Glu Ile Pro Leu Lys Tyr Gln Leu Ile Pro Tyr
 35 40 45

Asp Phe Pro Ala Arg Arg Val Lys Val Phe Arg Val Glu Tyr Leu Gly
 50 55 60

Phe Lys Gly Ala Asn Ile Glu Gly Trp Leu Ala Val Pro Glu Gly Glu
 65 70 75 80

Gly Leu Tyr Pro Gly Leu Val Gln Phe His Gly Tyr Asn Trp Ala Met
 85 90 95

Asp Gly Cys Val Pro Asp Val Val Asn Trp Ala Leu Asn Gly Tyr Ala
 100 105 110

Ala Phe Leu Met Leu Val Arg Gly Gln Gln Gly Arg Ser Val Asp Asn
 115 120 125

Ile Val Pro Gly Ser Gly His Ala Leu Gly Trp Met Ser Lys Gly Ile
 130 135 140

Leu Ser Pro Glu Glu Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Met Asp Ala Val
 145 150 155 160

Arg Ala Val Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Cys Val Asp Glu Ser Arg
 165 170 175

[0015]

Ile Gly Val Thr Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ala Leu Ala Val
 180 185 190

Ala Ala Leu Ser Gly Ile Pro Lys Val Ala Ala Val His Tyr Pro Phe
 195 200 205

Leu Ala His Phe Glu Arg Ala Ile Asp Val Ala Pro Asp Gly Pro Tyr
 210 215 220

Leu Glu Ile Asn Glu Tyr Leu Arg Arg Asn Ser Gly Glu Glu Ile Glu
 225 230 235 240

Arg Gln Val Lys Lys Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Met Asn Leu Ala
 245 250 255

Pro Arg Ile Lys Cys Arg Thr Trp Ile Cys Thr Gly Leu Val Asp Glu
 260 265 270

Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Val Tyr Asn His Leu Lys Cys
 275 280 285

Pro Lys Glu Ile Ser Val Phe Arg Tyr Phe Gly His Glu His Met Pro
 290 295 300

Gly Ser Val Glu Ile Lys Leu Arg Ile Leu Met Asp Glu Leu Asn Pro
 305 310 315 320

<210> 13

<211> 978

<212> DNA

<213> 那不勒斯栖热袍菌 (Thermotoga neapolitana)

<400> 13

atggccttct tcatatgcc ccttgaggaa ctgaaaaagt accggcctga aaggtacgag	60
gagaaagatt tcatgaggtt ctggagggaa acacttaaag aaagcgaagg attcctctg	120
gateccgtct ttgaaaaggt ggactttcat ctcaaaacgg ttgaaacgta cgatgttact	180
ttctctggat acagggggca gagaataaag ggctggcttc ttgttccgaa gttggcggaa	240
gaaaagcttc catgcgtcgt gcagtacata ggttacaatg gtggaagggg ttttccacac	300
gactggctgt tctggccgtc aatgggttac atctgttttg tcatggacac cagggggcag	360
ggaagcggct ggatgaaggg agacacaccg gattaccctg aggggtccagt cgatccacag	420

[0016]

taccccgat tcatgacgag gggcattctg gatccgggaa cctattacta caggcgagtc	480
ttcgtggatg cggtcagggc ggtggaagca gccatttcct tcccagagat ggattccagg	540
aaggtggtgg tggccggagg cagtcagggt gggggaatcg cccttgcggt gagtgcctg	600
tcgaacaggg tgaaggctct gctctcgat gtgccgtttc tgtgccactt cagaagggcc	660
gtgcaacttg tcgacacaca ccatacgtg gagatcacca acttctcaa aaccacagg	720
gacaaagagg agattgtttt cagaacactt tcctacttcg atggtgtgaa ctttgcagca	780
agggcaaagg tgcccgccct gttttccgtt gggtcatgg acaccatctg tctcctcgc	840
acggtcttcg ccgcttaca ccaactacgcc ggtccaaagg agatcagaat ctatccgtac	900
aacaaccacg aaggtggagg ttctttccag gcaattgagc aggtgaaatt cttgaagaga	960
ctatttgagg aaggctag	978

<210> 14

<211> 325

<212> PRT

<213> 那不勒斯栖热袍菌 (Thermotoga neapolitana)

<400> 14

Met	Ala	Phe	Phe	Asp	Met	Pro	Leu	Glu	Glu	Leu	Lys	Lys	Tyr	Arg	Pro
1				5					10					15	

Glu	Arg	Tyr	Glu	Glu	Lys	Asp	Phe	Asp	Glu	Phe	Trp	Arg	Glu	Thr	Leu
			20					25					30		

Lys	Glu	Ser	Glu	Gly	Phe	Pro	Leu	Asp	Pro	Val	Phe	Glu	Lys	Val	Asp
		35					40					45			

Phe	His	Leu	Lys	Thr	Val	Glu	Thr	Tyr	Asp	Val	Thr	Phe	Ser	Gly	Tyr
	50					55					60				

Arg	Gly	Gln	Arg	Ile	Lys	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Pro	Lys	Leu	Ala	Glu
65					70					75					80

Glu	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Gln	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Asn	Gly	Gly	Arg
				85					90					95	

Gly	Phe	Pro	His	Asp	Trp	Leu	Phe	Trp	Pro	Ser	Met	Gly	Tyr	Ile	Cys
			100					105					110		

	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Gly	Trp	Met	Lys	Gly	Asp	
			115					120					125				
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Pro	Glu	Gly	Pro	Val	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe	
		130					135					140					
	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val	
	145					150					155					160	
	Phe	Val	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Ala	Ala	Ile	Ser	Phe	Pro	Arg	
				165						170						175	
	Val	Asp	Ser	Arg	Lys	Val	Val	Val	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	
				180					185					190			
	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Asn	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Leu	
		195						200					205				
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Leu	Val	
		210					215					220					
[0017]	Asp	Thr	His	Pro	Tyr	Val	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	His	Arg	
	225					230					235					240	
	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	Val	
					245					250					255		
	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Val	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly	Leu	
				260					265						270		
	Met	Asp	Thr	Ile	Cys	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	His	
			275					280					285				
	Tyr	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr	Asn	Asn	His	Glu	
		290					295					300					
	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Gln	Ala	Ile	Glu	Gln	Val	Lys	Phe	Leu	Lys	Arg	
	305					310					315					320	
	Leu	Phe	Glu	Glu	Gly												
					325												
<210>	15																

<211>	978
<212>	DNA
<213>	海栖热袍菌 (Thermotoga maritima)

<210>	16
<211>	325
<212>	PRT
<213>	海栖热袍菌 (Thermotoga maritima)

<400> 16

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

[0019]

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

[0020]

Met Asp Asn Ile Cys Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
 275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
 290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
 305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
 325

<210> 17

<211> 963

<212> DNA

<213> 热厌氧杆菌属 (Thermoanaerobacterium sp.)

<400> 17

atgggacttt tcgacatgcc attacaaaaa cttagagaat acactggtac aaatccatgc	60
cctgaagatt tcgatgagta ttggaatagg gctttagatg agatgaggtc agttgatcct	120
aaaattgaat tgaaagaaag tagctttcaa gtatcctttg cagaatgcta tgacttgtac	180
tttacaggtg ttcgtggtgc cagaattcat gcaaagtata taaaacctaa gacagaaggg	240
aaacatccag cgttgataag atttcatgga tttcgtcaa attcaggcga ctggaacgac	300
aaattaaatt acgtggcggc aggcttcacc gttgtggcta tggatgtaag aggtcaagga	360
gggcagtcctc aagatgttgg cggtgtaact gggaatactt taaatgggca tattataaga	420
gggctagacg atgatgctga taatatgctt ttcaggcata ttttcttaga cactgcccac	480
ttggctggaa tagttatgaa catgccagaa gttgatgaag atagagtggg agtcatggga	540
ccttctcaag gcggagggct gtcgttggcg tgtgctgcat tggagccaag ggtacgcaaa	600
gtagtatctg aatatacctt tttatctgac tacaagagag tttgggactt agaccttgca	660
aaaaacgcct atcaagagat tacggactat ttcaggcttt ttgacccaag gcatgaaagg	720
gagaatgagg tatttacaaa gcttggatat atagacgtta aaaaccttgc gaaaaggata	780
aaaggcgatg tcttaatgtg cgttgggctt atggaccaag tatgtccgcc atcaactgtt	840
tttgcagcct acaacaacat acagtcaaaa aaagatatata aagtgtatcc tgattatgga	900
catgaacctt tgagaggatt tggagattta gcgatgcagt ttatgttggga actatattca	960
taa	963

[0021]

[0022]

	195		200		205	
Ser	Asp	Tyr	Lys	Arg	Val	Trp
210						215
						Asp
						Leu
						Ala
						Lys
						Asn
						Ala
						Tyr
Gln	Glu	Ile	Thr	Asp	Tyr	Phe
225					230	
						Arg
						Leu
						Phe
						Asp
						Pro
						Arg
						His
						Glu
						Arg
Glu	Asn	Glu	Val	Phe	Thr	Lys
				245		
						Leu
						Gly
						Tyr
						Ile
						Asp
						Val
						Lys
						Asn
						Leu
Ala	Lys	Arg	Ile	Lys	Gly	Asp
			260			
						Val
						Leu
						Met
						Cys
						Val
						Gly
						Leu
						Met
						Asp
Gln	Val	Cys	Pro	Pro	Ser	Thr
		275				
						Val
						Phe
						Ala
						Ala
						Tyr
						Asn
						Asn
						Ile
						Gln
Ser	Lys	Lys	Asp	Ile	Lys	Val
						295
						Tyr
						Pro
						Asp
						Tyr
						Gly
						His
						Glu
						Pro
						Met
Arg	Gly	Phe	Gly	Asp	Leu	Ala
305					310	
						Met
						Gln
						Phe
						Met
						Leu
						Glu
						Leu
						Tyr
						Ser
						320

<210> 19
 <211> 978
 <212> DNA
 <213> 芽孢杆菌属 (Bacillus sp.)

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (978)

<400> 19	
atg aac ctt ttt gat atg ccc ctt gag gag ctg cag cat tac aag cct	48
Met Asn Leu Phe Asp Met Pro Leu Glu Glu Leu Gln His Tyr Lys Pro	
1 5 10 15	
gcc cag acc agg cag gat gat ttt gag tca ttc tgg aaa aag cgg att	96
Ala Gln Thr Arg Gln Asp Asp Phe Glu Ser Phe Trp Lys Lys Arg Ile	
20 25 30	
gag gag aac agt caa tat ccg ctg aat ata gaa gta atg gag cgg gtt	144
Glu Glu Asn Ser Gln Tyr Pro Leu Asn Ile Glu Val Met Glu Arg Val	
35 40 45	
tat ccg gtt ccg gga gtg aga gta tat gat att tat ttt gac ggg ttc	192
Tyr Pro Val Pro Gly Val Arg Val Tyr Asp Ile Tyr Phe Asp Gly Phe	
50 55 60	

[0023]

cgg aat tcc cgc atc cat ggg gtg tat gtt act cca gaa act ccg gga Arg Asn Ser Arg Ile His Gly Val Tyr Val Thr Pro Glu Thr Pro Gly 65 70 75 80	240
gcg gac act cct gcg gca gtg att ttt cac ggc tat aac tgg aac acg Ala Asp Thr Pro Ala Ala Val Ile Phe His Gly Tyr Asn Trp Asn Thr 85 90 95	288
ctg cag ccg cat tac agc ttc aag cac gtg att cag ggg att cct gta Leu Gln Pro His Tyr Ser Phe Lys His Val Ile Gln Gly Ile Pro Val 100 105 110	336
ctg atg gtg gag gtg cgg gga caa aat ctc ttg tct cca gat aga aat Leu Met Val Glu Val Arg Gly Gln Asn Leu Leu Ser Pro Asp Arg Asn 115 120 125	384
cat tat ggg aat gga ggt ccg gga ggc tgg atg aca ctc ggc gtg atg His Tyr Gly Asn Gly Gly Pro Gly Gly Trp Met Thr Leu Gly Val Met 130 135 140	432
gat ccc gat caa tat tat tac agc ctg gta tat atg gac tgc ttc cgc Asp Pro Asp Gln Tyr Tyr Ser Leu Val Tyr Met Asp Cys Phe Arg 145 150 155 160	480
agc att gat gct gtc agg gaa ctg tcg agg aag aga agt gtg ttt gtg Ser Ile Asp Ala Val Arg Glu Leu Ser Arg Lys Arg Ser Val Phe Val 165 170 175	528
gaa ggc gga agc cag gga ggt gca ctg gcg att gcc gca gcc gcc ctg Glu Gly Gly Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Ile Ala Ala Ala Ala Leu 180 185 190	576
cag gat gac atc ctg ctt gca ctc gcc gac atc cct ttt ctc acc cat Gln Asp Asp Ile Leu Leu Ala Leu Ala Asp Ile Pro Phe Leu Thr His 195 200 205	624
ttc aag cgt tcc gtg gag ctt tcc tcg gat gga ccg tat cag gag att Phe Lys Arg Ser Val Glu Leu Ser Ser Asp Gly Pro Tyr Gln Glu Ile 210 215 220	672
tcc cac tac ttc aaa gtt cat gat cct ctt cat caa acg gaa gag cag Ser His Tyr Phe Lys Val His Asp Pro Leu His Gln Thr Glu Glu Gln 225 230 235 240	720
gta tat cag acg ctc agc tat gtg gac tgc atg aac atg gcc agc atg Val Tyr Gln Thr Leu Ser Tyr Val Asp Cys Met Asn Met Ala Ser Met 245 250 255	768
gtt gaa tgt cca gtc ctt ctt tca gcc ggt ctg gaa gac atc gtt tgt Val Glu Cys Pro Val Leu Leu Ser Ala Gly Leu Glu Asp Ile Val Cys 260 265 270	816
ccc ccg tcc agt gca ttt gca ctg ttc aac cat ctc ggc ggg cca aaa Pro Pro Ser Ser Ala Phe Ala Leu Phe Asn His Leu Gly Gly Pro Lys 275 280 285	864

[0024]

gaa	ata	cgg	gcc	tat	cgg	gaa	tac	gcc	cat	gaa	gta	cgg	gct	gtc	cat	912
Glu	Ile	Arg	Ala	Tyr	Pro	Glu	Tyr	Ala	His	Glu	Val	Pro	Ala	Val	His	
290						295				300						

gaa	gag	gaa	aag	ctg	aag	ttt	ata	tct	tca	agg	cta	aaa	aat	aga	gaa	960
Glu	Glu	Glu	Lys	Leu	Lys	Phe	Ile	Ser	Ser	Arg	Leu	Lys	Asn	Arg	Glu	
305					310					315					320	

aag	agg	tgc	cgg	cca	tga											978
Lys	Arg	Cys	Arg	Pro												
				325												

<210> 20

<211> 325

<212> PRT

<213> 芽孢杆菌属 (Bacillus sp.)

<400> 20

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

Ala	Gln	Thr	Arg	Gln	Asp	Asp	Phe	Glu	Ser	Phe	Trp	Lys	Lys	Arg	Ile
			20					25					30		

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

Tyr	Pro	Val	Pro	Gly	Val	Arg	Val	Tyr	Asp	Ile	Tyr	Phe	Asp	Gly	Phe
	50					55					60				

Arg	Asn	Ser	Arg	Ile	His	Gly	Val	Tyr	Val	Thr	Pro	Glu	Thr	Pro	Gly
65					70					75					80

Ala	Asp	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Ile	Phe	His	Gly	Tyr	Asn	Trp	Asn	Thr
				85					90					95	

Leu	Gln	Pro	His	Tyr	Ser	Phe	Lys	His	Val	Ile	Gln	Gly	Ile	Pro	Val
			100					105					110		

Leu	Met	Val	Glu	Val	Arg	Gly	Gln	Asn	Leu	Leu	Ser	Pro	Asp	Arg	Asn
		115					120					125			

His	Tyr	Gly	Asn	Gly	Gly	Pro	Gly	Gly	Trp	Met	Thr	Leu	Gly	Val	Met
	130					135					140				

Asp	Pro	Asp	Gln	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Leu	Val	Tyr	Met	Asp	Cys	Phe	Arg
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

[0026]

tgtagacggc gggcaaaccg tatccattaa cccaacagca agtaagactt ctccttttac	180
gagtggagca agatgctgaa tatcaatata gcctagcttc gtaaagattt cagcctcacg	240
tcggtgctgt ggatcaaagc gacgaaaata cgtttgcaat tcgtcataag ctttctcggc	300
taaatccatc tcccatacgc gttggtaatc gctaaggaaa ggataaacag gagctacctt	360
tttaattttc ggttccaaag ccgcacaagc aatcgctaag gcccctcctt gtgaccaacc	420
tgctactgcc acgcgtctt catcgacttc aggaaggttc atcacaatgt tggcaagctg	480
agccgtatca agaaacacat gacggaacaa taattgatca gcattatcat cgagtccgcg	540
tattatatga ccggaatgag tattccccctt cagcctcctt gtgtcttcag acaagcctcc	600
ttgcccgcga acgtccattg caagaacaga atatccgagg gctgcgtaat gaagtaaacc	660
cgtccattcc cccgcattca tcgtatatcc gtgaaaatga ataaccgccg ggtgtgtccc	720
gctcgtgtgt cttgggcgca cgtattttgc gtgaattcta gcaccctaa cccctgtaaa	780
atataggtgg aagcattctg catacgtggt ttgaaaatca ctcggtatga gctctacgtt	840
tggatttacc tttctcatct cttgtaaagc acgatcccaa tactcagtaa agtcacttgg	900
ctttggatta cgtcccatgt actcttttaa ttcggttaac ggcatgtcta ttagtggcat	960

<210> 22

<211> 319

<212> PRT

<213> 耐盐芽孢杆菌 (Bacillus halodurans)

<400> 22

Met	Pro	Leu	Ile	Asp	Met	Pro	Leu	Thr	Glu	Leu	Lys	Glu	Tyr	Met	Gly
1				5					10					15	

Arg	Asn	Pro	Lys	Pro	Asp	Asp	Phe	Thr	Glu	Tyr	Trp	Asp	Arg	Ala	Leu
			20					25					30		

Gln	Glu	Met	Arg	Lys	Val	Asn	Pro	Asn	Val	Glu	Leu	Ile	Pro	Ser	Asp
		35					40					45			

Phe	Gln	Thr	Thr	Tyr	Ala	Glu	Cys	Phe	His	Leu	Tyr	Phe	Thr	Gly	Val
	50					55					60				

Arg	Gly	Ala	Arg	Ile	His	Ala	Lys	Tyr	Val	Arg	Pro	Arg	His	Thr	Ser
65					70					75					80

Gly	Thr	His	Pro	Ala	Val	Ile	His	Phe	His	Gly	Tyr	Thr	Met	Asn	Ala
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

	85	90	95
	Gly Glu Trp Thr Gly Leu Leu His Tyr Ala Ala Leu Gly Tyr Ser Val 100 105 110		
	Leu Ala Met Asp Val Arg Gly Gln Gly Gly Leu Ser Glu Asp Thr Gly 115 120 125		
	Gly Val Lys Gly Asn Thr His Ser Gly His Ile Ile Arg Gly Leu Asp 130 135 140		
	Asp Asn Ala Asp Gln Leu Leu Phe Arg His Val Phe Leu Asp Thr Ala 145 150 155 160		
	Gln Leu Ala Asn Ile Val Met Asn Leu Pro Glu Val Asp Glu Glu Arg 165 170 175		
	Val Ala Val Thr Gly Trp Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Ile Ala Cys 180 185 190		
[0027]	Ala Ala Leu Glu Pro Lys Ile Lys Lys Val Ala Pro Val Tyr Pro Phe 195 200 205		
	Leu Ser Asp Tyr Gln Arg Val Trp Glu Met Asp Leu Ala Glu Lys Ala 210 215 220		
	Tyr Asp Glu Leu Gln Thr Tyr Phe Arg Arg Phe Asp Pro Gln His Arg 225 230 235 240		
	Arg Glu Ala Glu Ile Phe Thr Lys Leu Gly Tyr Ile Asp Ile Gln His 245 250 255		
	Leu Ala Pro Leu Val Lys Gly Glu Val Leu Leu Ala Val Gly Leu Met 260 265 270		
	Asp Thr Val Cys Pro Pro Ser Thr Gln Phe Ala Met Tyr Asn Lys Leu 275 280 285		
	Thr Thr Thr Lys Ser Ile Glu Leu Tyr Pro Asp Phe Ala His Glu Asp 290 295 300		
	Leu Pro Gly His Arg Asp Arg Ile Phe Gln Phe Leu Ser Asp Leu 305 310 315		

[0028]

<210> 23

<211> 954

<212> DNA

<213> 克劳氏芽孢杆菌 (*Bacillus clausii*)

<400> 23

atgccattag tcgatatgcc gttgcgcgag ttgttagctt atgaaggaat aaaccctaaa	60
ccagcagatt ttgaccaata ctggaaccgg gccaaaacgg aaattgaagc gattgatccc	120
gaagtcactc tagtgaatc ttctttccag tgttcgtttg caaactgtta ccatttctat	180
tatcgaagcg ctggaaatgc aaaaatccat gcgaaatacg tacagccaaa agcagggggag	240
aagacgccag cagtttttat gttccatggg tatggggggc gttcagccga atggagcagc	300
ttgttaaatt atgtagcggc gggtttttct gttttctata tggacgtgcg tggacaaggt	360
ggaacttcag aggatcctgg gggcgtaagg gggaatacat ataggggcca cattattcgc	420
ggcctcgatg cggggccaga cgcacttttt taccgcagcg ttttcttgga caccgtccaa	480
ttggttcgtg ctgctaaaac attgcctcac atcgataaaa cacggcttat ggccacaggg	540
tggtcgcaag ggggcgcctt aacgcttgcc tgtgctgccc ttgttcctga aatcaagcgt	600
cttgctccag tatacccggt ttttaagcgt tacaagcgag tgtggcaaat ggatttagcg	660
gttcgttcgt ataaagaatt ggctgattat ttccgttcat acgatccgca acataaacgc	720
catggcgaaa tttttgaacg ccttggctac atcgatgtcc agcatcttgc tgaccggatt	780
caaggagatg tcctaattggg agtttggttta atggatacag aatgcccgcc gtctacccaa	840
tttgcgtgctt ataataaaat aaaggctaaa aaatcgatat agctctatcc tgattttggc	900
catgagcacc ttccaggaat gaacgatcat atttttcgct ttttactag ttga	954

<210> 24

<211> 317

<212> PRT

<213> 克劳氏芽孢杆菌 (*Bacillus clausii*)

<400> 24

Met	Pro	Leu	Val	Asp	Met	Pro	Leu	Arg	Glu	Leu	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gly
1				5					10					15	

Ile	Asn	Pro	Lys	Pro	Ala	Asp	Phe	Asp	Gln	Tyr	Trp	Asn	Arg	Ala	Lys
			20						25				30		

Thr	Glu	Ile	Glu	Ala	Ile	Asp	Pro	Glu	Val	Thr	Leu	Val	Glu	Ser	Ser
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

	35						40								45					
	Phe	Gln	Cys	Ser	Phe	Ala	Asn	Cys	Tyr	His	Phe	Tyr	Tyr	Arg	Ser	Ala				
	50						55					60								
	Gly	Asn	Ala	Lys	Ile	His	Ala	Lys	Tyr	Val	Gln	Pro	Lys	Ala	Gly	Glu				
	65					70					75					80				
	Lys	Thr	Pro	Ala	Val	Phe	Met	Phe	His	Gly	Tyr	Gly	Gly	Arg	Ser	Ala				
					85					90					95					
	Glu	Trp	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Tyr	Val	Ala	Ala	Gly	Phe	Ser	Val	Phe				
				100					105					110						
	Tyr	Met	Asp	Val	Arg	Gly	Gln	Gly	Gly	Thr	Ser	Glu	Asp	Pro	Gly	Gly				
			115					120					125							
	Val	Arg	Gly	Asn	Thr	Tyr	Arg	Gly	His	Ile	Ile	Arg	Gly	Leu	Asp	Ala				
		130					135					140								
[0029]	Gly	Pro	Asp	Ala	Leu	Phe	Tyr	Arg	Ser	Val	Phe	Leu	Asp	Thr	Val	Gln				
	145					150					155					160				
	Leu	Val	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Leu	Pro	His	Ile	Asp	Lys	Thr	Arg	Leu				
					165					170					175					
	Met	Ala	Thr	Gly	Trp	Ser	Gln	Gly	Gly	Ala	Leu	Thr	Leu	Ala	Cys	Ala				
				180					185					190						
	Ala	Leu	Val	Pro	Glu	Ile	Lys	Arg	Leu	Ala	Pro	Val	Tyr	Pro	Phe	Leu				
			195					200					205							
	Ser	Asp	Tyr	Lys	Arg	Val	Trp	Gln	Met	Asp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Tyr				
		210					215					220								
	Lys	Glu	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Arg	Ser	Tyr	Asp	Pro	Gln	His	Lys	Arg				
	225					230					235				240					
	His	Gly	Glu	Ile	Phe	Glu	Arg	Leu	Gly	Tyr	Ile	Asp	Val	Gln	His	Leu				
				245						250					255					
	Ala	Asp	Arg	Ile	Gln	Gly	Asp	Val	Leu	Met	Gly	Val	Gly	Leu	Met	Asp				
				260					265					270						

[0030]

Thr Glu Cys Pro Pro Ser Thr Gln Phe Ala Ala Tyr Asn Lys Ile Lys
 275 280 285

Ala Lys Lys Ser Tyr Glu Leu Tyr Pro Asp Phe Gly His Glu His Leu
 290 295 300

Pro Gly Met Asn Asp His Ile Phe Arg Phe Phe Thr Ser
 305 310 315

<210> 25

<211> 960

<212> DNA

<213> 枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (960)

<400> 25

atg caa cta ttc gat ctg ccg ctc gac caa ttg caa aca tat aag cct 48
 Met Gln Leu Phe Asp Leu Pro Leu Asp Gln Leu Gln Thr Tyr Lys Pro
 1 5 10 15

gaa aaa aca gca ccg aaa gat ttt tct gag ttt tgg aaa ttg tct ttg 96
 Glu Lys Thr Ala Pro Lys Asp Phe Ser Glu Phe Trp Lys Leu Ser Leu
 20 25 30

gag gaa ctt gca aaa gtc caa gca gaa cct gat cta cag ccg gtt gac 144
 Glu Glu Leu Ala Lys Val Gln Ala Glu Pro Asp Leu Gln Pro Val Asp
 35 40 45

tat cct gct gac gga gta aaa gtg tac cgt ctc aca tat aaa agc ttc 192
 Tyr Pro Ala Asp Gly Val Lys Val Tyr Arg Leu Thr Tyr Lys Ser Phe
 50 55 60

gga aac gcc cgc att acc gga tgg tac gcg gtg cct gac aag caa ggc 240
 Gly Asn Ala Arg Ile Thr Gly Trp Tyr Ala Val Pro Asp Lys Gln Gly
 65 70 75 80

ccg cat ccg gcg atc gtg aaa tat cat ggc tac aat gca agc tat gat 288
 Pro His Pro Ala Ile Val Lys Tyr His Gly Tyr Asn Ala Ser Tyr Asp
 85 90 95

ggt gag att cat gaa atg gta aac tgg gca ctc cat ggc tac gcc gca 336
 Gly Glu Ile His Glu Met Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Ala
 100 105 110

ttc ggc atg ctt gtc cgc ggc cag cag agc agc gag gat acg agt att 384
 Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gln Ser Ser Glu Asp Thr Ser Ile
 115 120 125

[0031]

tca ccg cac ggt cac gct ttg ggc tgg atg acg aaa gga att ctt gat Ser Pro His Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Asp 130 135 140	432
aaa gat aca tac tat tac cgc ggt gtt tat ttg gac gcc gtc cgc gcg Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala 145 150 155 160	480
ctt gag gtc atc agc agc ttc gac gag gtt gac gaa aca agg atc ggt Leu Glu Val Ile Ser Ser Phe Asp Glu Val Asp Glu Thr Arg Ile Gly 165 170 175	528
gtg aca gga gga agc caa ggc gga ggt tta acc att gcc gca gca gcg Val Thr Gly Gly Ser Gln Gly Gly Leu Thr Ile Ala Ala Ala Ala 180 185 190	576
ctg tca gac att cca aaa gcc gcg gtt gcc gat tat cct tat tta agc Leu Ser Asp Ile Pro Lys Ala Ala Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser 195 200 205	624
aac ttc gaa cgg gcc att gat gtg gcg ctt gaa cag ccg tac ctt gaa Asn Phe Glu Arg Ala Ile Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu 210 215 220	672
atc aat tcc ttc ttc aga aga aat ggc agc ccg gaa aca gaa gtg cag Ile Asn Ser Phe Phe Arg Arg Asn Gly Ser Pro Glu Thr Glu Val Gln 225 230 235 240	720
gcg atg aag aca ctt tca tat ttc gat att atg aat ctc gct gac cga Ala Met Lys Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Met Asn Leu Ala Asp Arg 245 250 255	768
gtg aag gtg cct gtc ctg atg tca atc ggc ctg att gac aag gtc acg Val Lys Val Pro Val Leu Met Ser Ile Gly Leu Ile Asp Lys Val Thr 260 265 270	816
ccg cca tcc acc gtg ttt gcc gcc tac aat cat ttg gaa aca gag aaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Glu Lys 275 280 285	864
gag ctg aag gtg tac cgc tac ttc gga cat gag tat atc cct gct ttt Glu Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Tyr Ile Pro Ala Phe 290 295 300	912
caa acg gaa aaa ctt gct ttc ttt aag cag cat ctt aaa ggc tga taa Gln Thr Glu Lys Leu Ala Phe Phe Lys Gln His Leu Lys Gly 305 310 315	960

<210> 26

<211> 318

<212> PRT

<213> 枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)

<400> 26

Met Gln Leu Phe Asp Leu Pro Leu Asp Gln Leu Gln Thr Tyr Lys Pro

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

Ala Met Lys Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Met Asn Leu Ala Asp Arg
245 250 255

Val Lys Val Pro Val Leu Met Ser Ile Gly Leu Ile Asp Lys Val Thr
260 265 270

Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Glu Lys
275 280 285

Glu Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Tyr Ile Pro Ala Phe
290 295 300

Gln Thr Glu Lys Leu Ala Phe Phe Lys Gln His Leu Lys Gly
305 310 315

<210> 27

<211> 325

<212> PRT

<213> 那不勒斯栖热袍菌 (Thermotoga neapolitana)

[0033]

<220>

<221> 尚未归类的特性

<222> (277).. (277)

<223> Xaa是Ala、Val、Ser、或Thr。

<400> 27

Met Ala Phe Phe Asp Met Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Arg Glu Thr Leu
20 25 30

Lys Glu Ser Glu Gly Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Lys Val Asp
35 40 45

Phe His Leu Lys Thr Val Glu Thr Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Ala Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Met Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Gly Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Val Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ile Ser Phe Pro Arg
165 170 175

Val Asp Ser Arg Lys Val Val Val Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Asn Arg Val Lys Ala Leu Leu
195 200 205

[0034]

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Val Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Val Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Thr Ile Xaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Ile Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Arg
305 310 315 320

Leu Phe Glu Glu Gly
325

<210> 28
<211> 325
<212> PRT
<213> 海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*)

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (277).. (277)
<223> Xaa是Ala、Val、Ser、或Thr。

<400> 28

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

[0035]

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

[0036] Met Asp Asn Ile Xaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 29
<211> 326
<212> PRT
<213> 莱廷格热袍菌 (Thermotoga lettingae)

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (277).. (277)
<223> Xaa是Ala、Val、Ser、或Thr。

<400> 29

Met	Val	Tyr	Phe	Asp	Met	Pro	Leu	Glu	Asp	Leu	Arg	Lys	Tyr	Leu	Pro	1	5	10	15
Gln	Arg	Tyr	Glu	Glu	Lys	Asp	Phe	Asp	Asp	Phe	Trp	Lys	Gln	Thr	Ile	20	25	30	
His	Glu	Thr	Arg	Gly	Tyr	Phe	Gln	Glu	Pro	Ile	Leu	Lys	Lys	Val	Asp	35	40	45	
Phe	Tyr	Leu	Gln	Asn	Val	Glu	Thr	Phe	Asp	Val	Thr	Phe	Ser	Gly	Tyr	50	55	60	
Arg	Gly	Gln	Lys	Ile	Lys	Gly	Trp	Leu	Ile	Leu	Pro	Lys	Phe	Arg	Asn	65	70	75	80
Gly	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Glu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Gly	Gly	Arg	85	90	95	
Gly	Phe	Pro	Tyr	Asp	Trp	Leu	Leu	Trp	Ser	Ala	Ala	Gly	Tyr	Ala	His	100	105	110	
[0037]																			
Phe	Ile	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Asn	Trp	Met	Lys	Gly	Asp	115	120	125	
Thr	Pro	Asp	Tyr	Glu	Asp	Asn	Pro	Ser	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe	130	135	140	
Leu	Thr	Lys	Gly	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val	145	150	155	160
Phe	Met	Asp	Ala	Phe	Met	Ala	Val	Glu	Thr	Ile	Ser	Gln	Leu	Glu	Gln	165	170	175	
Ile	Asp	Ser	Gln	Thr	Ile	Ile	Leu	Ser	Gly	Ala	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	180	185	190	
Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Ser	Lys	Val	Met	Ala	Leu	Leu	195	200	205	
Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Tyr	Lys	Arg	Ala	Val	Gln	Ile	Thr	210	215	220	

Asp Ser Met Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Arg Tyr Cys Lys Thr His Ile
225 230 235 240

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

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Cys Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asp Ile Xaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Glu Lys Asp Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe His Thr Leu Glu Lys Leu Lys Phe Val Lys Lys
305 310 315 320

Thr Ile Ser Met Arg Glu
325

[0038]

<210> 30
<211> 325
<212> PRT
<213> Thermotoga petrophilia

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (277)..(277)
<223> Xaa是Ala、Val、Ser、或Thr。

<400> 30

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Gly Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Asn Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

	Met	Gly	Gln	Arg	Ile	Lys	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Pro	Lys	Leu	Glu	Glu	
	65					70					75					80	
	Glu	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Gln	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Asn	Gly	Gly	Arg	
					85					90					95		
	Gly	Phe	Pro	His	Asp	Trp	Leu	Phe	Trp	Pro	Ser	Met	Gly	Tyr	Ile	Cys	
				100					105					110			
	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Gly	Trp	Met	Lys	Gly	Asp	
			115					120					125				
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Pro	Glu	Asp	Pro	Val	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe	
		130					135					140					
	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val	
	145					150					155					160	
	Phe	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro	Arg	
				165						170					175		
[0039]	Val	Asp	His	Glu	Arg	Ile	Val	Ile	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	
				180					185					190			
	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys	Ala	Leu	Leu	
			195					200					205				
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Leu	Val	
		210					215					220					
	Asp	Thr	His	Pro	Tyr	Ala	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	His	Arg	
	225					230					235					240	
	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	Val	
					245					250					255		
	Asn	Phe	Ala	Val	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly	Leu	
				260					265					270			
	Met	Asp	Asn	Ile	Xaa	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	His	
			275					280					285				
	Tyr	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr	Asn	Asn	His	Glu	

	290	295	300
	Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Ile Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Arg 305 310 315 320		
	Leu Phe Glu Lys Gly 325		
	<210> 31 <211> 325 <212> PRT <213> 栖热袍菌属 (Thermotoga sp.) RQ2a		
	<220> <221> 尚未归类的特性 <222> (277).. (277) <223> Xaa是Ala、Val、Ser、或Thr。		
	<400> 31		
	Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro 1 5 10 15		
[0040]	Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Lys Glu Thr Leu 20 25 30		
	Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu 35 40 45		
	Ser His Leu Lys Thr Val Glu Val Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr 50 55 60		
	Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu 65 70 75 80		
	Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg 85 90 95		
	Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys 100 105 110		
	Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp 115 120 125		
	Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Asp Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe		

	130	135	140	
	Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val 145	150	155	160
	Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Arg 165	170	175	
	Val Asp His Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180	185	190	
	Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195	200	205	
	Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210	215	220	
	Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225	230	235	240
[0041]	Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245	250	255	
	Asn Phe Ala Val Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu 260	265	270	
	Met Asp Asn Ile Xaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His 275	280	285	
	Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu 290	295	300	
	Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Ile Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Arg 305	310	315	320
	Leu Phe Glu Lys Gly 325			
	<210> 32			
	<211> 329			
	<212> PRT			
	<213> 栖热袍菌属 (Thermotoga sp.) RQ2b			

<220>
 <221> 尚未归类的特性
 <222> (278)..(278)
 <223> Xaa是Ala、Val、Ser、或Thr。

<400> 32

Met Ala Leu Phe Asp Met Pro Leu Glu Lys Leu Arg Ser Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Asp Arg Tyr Glu Glu Glu Asp Phe Asp Leu Phe Trp Lys Glu Thr Leu
20 25 30

Glu Glu Ser Arg Lys Phe Pro Leu Asp Pro Ile Phe Glu Arg Val Asp
35 40 45

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

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Ala Trp Leu Ile Leu Pro Val Val Lys Lys
65 70 75 80

[0042] Glu Glu Arg Leu Pro Cys Ile Val Glu Phe Ile Gly Tyr Arg Gly Gly
85 90 95

Arg Gly Phe Pro Phe Asp Trp Leu Phe Trp Ser Ser Ala Gly Tyr Ala
100 105 110

His Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Thr Ser Arg Val Lys Gly
115 120 125

Asp Thr Pro Asp Tyr Cys Asp Glu Pro Ile Asn Pro Gln Phe Pro Gly
130 135 140

Phe Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg
145 150 155 160

Val Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Thr Ala Ser Ser Phe Pro
165 170 175

Gly Ile Asp Pro Glu Arg Ile Ala Val Val Gly Thr Ser Gln Gly Gly
180 185 190

Gly Ile Ala Leu Ala Val Ala Ala Leu Ser Glu Ile Pro Lys Ala Leu
195 200 205

Val Ser Asn Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Ile
210 215 220

Thr Asp Asn Ala Pro Tyr Ser Glu Ile Val Asn Tyr Leu Lys Val His
225 230 235 240

Arg Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly
245 250 255

Val Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Ala
260 265 270

Leu Met Asp Lys Thr Xaa Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn
275 280 285

His Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Lys Val Tyr Pro Phe Asn Glu His
290 295 300

Glu Gly Gly Glu Ser Phe Gln Arg Met Glu Glu Leu Arg Phe Met Lys
305 310 315 320

[0043]

Arg Ile Leu Lys Gly Glu Phe Lys Ala
325

<210> 33

<211> 326

<212> PRT

<213> 莱廷格热袍菌 (Thermotoga lettingae)

<400> 33

Met Val Tyr Phe Asp Met Pro Leu Glu Asp Leu Arg Lys Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Gln Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Asp Phe Trp Lys Gln Thr Ile
20 25 30

His Glu Thr Arg Gly Tyr Phe Gln Glu Pro Ile Leu Lys Lys Val Asp
35 40 45

Phe Tyr Leu Gln Asn Val Glu Thr Phe Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

	Arg	Gly	Gln	Lys	Ile	Lys	Gly	Trp	Leu	Ile	Leu	Pro	Lys	Phe	Arg	Asn
	65					70					75					80
	Gly	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Glu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Gly	Gly	Arg
					85					90					95	
	Gly	Phe	Pro	Tyr	Asp	Trp	Leu	Leu	Trp	Ser	Ala	Ala	Gly	Tyr	Ala	His
				100					105					110		
	Phe	Ile	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Asn	Trp	Met	Lys	Gly	Asp
			115					120					125			
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Glu	Asp	Asn	Pro	Ser	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe
		130					135					140				
	Leu	Thr	Lys	Gly	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val
	145					150					155					160
	Phe	Met	Asp	Ala	Phe	Met	Ala	Val	Glu	Thr	Ile	Ser	Gln	Leu	Glu	Gln
					165					170					175	
[0044]	Ile	Asp	Ser	Gln	Thr	Ile	Ile	Leu	Ser	Gly	Ala	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly
				180					185					190		
	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Ser	Lys	Val	Met	Ala	Leu	Leu
			195					200					205			
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Tyr	Lys	Arg	Ala	Val	Gln	Ile	Thr
		210					215					220				
	Asp	Ser	Met	Pro	Tyr	Ala	Glu	Ile	Thr	Arg	Tyr	Cys	Lys	Thr	His	Ile
	225					230					235					240
	Asp	Lys	Ile	Gln	Thr	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	Val
					245					250					255	
	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Cys	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly	Leu
				260					265					270		
	Met	Asp	Asp	Ile	Cys	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	Tyr
			275					280					285			
	Tyr	Ala	Gly	Glu	Lys	Asp	Ile	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr	Asn	Asn	His	Glu

	290	295	300	
	Gly Gly Gly Ser Phe His Thr Leu Glu Lys Leu Lys Phe Val Lys Lys			
	305	310	315	320
	Thr Ile Ser Met Arg Glu			
		325		
	<210> 34			
	<211> 325			
	<212> PRT			
	<213> Thermotoga petrophilia			
	<400> 34			
	Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro			
	1	5	10	15
	Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Gly Thr Leu			
		20	25	30
	Ala Glu Asn Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu			
[0045]		35	40	45
	Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr			
	50	55	60	
	Met Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu			
	65	70	75	80
	Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg			
		85	90	95
	Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys			
		100	105	110
	Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Met Lys Gly Asp			
		115	120	125
	Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Asp Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe			
	130	135	140	
	Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val			
	145	150	155	160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Arg
165 170 175

Val Asp His Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Val Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

[0046]

Met Asp Asn Ile Cys Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Ile Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Arg
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 35

<211> 325

<212> PRT

<213> 栖热袍菌属 (Thermotoga sp.) RQ2

<400> 35

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Lys Glu Thr Leu

	20	25	30
	Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu 35 40 45		
	Ser His Leu Lys Thr Val Glu Val Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr 50 55 60		
	Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu 65 70 75 80		
	Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg 85 90 95		
	Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys 100 105 110		
	Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp 115 120 125		
[0047]	Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Asp Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe 130 135 140		
	Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val 145 150 155 160		
	Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Arg 165 170 175		
	Val Asp His Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180 185 190		
	Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195 200 205		
	Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210 215 220		
	Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225 230 235 240		
	Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245 250 255		

Asn Phe Ala Val Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Cys Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Ile Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Arg
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 36

<211> 329

<212> PRT

<213> 栖热袍菌属 (Thermotoga sp.) RQ2

<400> 36

[0048]

Met Ala Leu Phe Asp Met Pro Leu Glu Lys Leu Arg Ser Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Asp Arg Tyr Glu Glu Glu Asp Phe Asp Leu Phe Trp Lys Glu Thr Leu
20 25 30

Glu Glu Ser Arg Lys Phe Pro Leu Asp Pro Ile Phe Glu Arg Val Asp
35 40 45

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

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Ala Trp Leu Ile Leu Pro Val Val Lys Lys
65 70 75 80

Glu Glu Arg Leu Pro Cys Ile Val Glu Phe Ile Gly Tyr Arg Gly Gly
85 90 95

Arg Gly Phe Pro Phe Asp Trp Leu Phe Trp Ser Ser Ala Gly Tyr Ala
100 105 110

	His	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Gly	
			115					120					125				
	Asp	Thr	Pro	Asp	Tyr	Cys	Asp	Glu	Pro	Ile	Asn	Pro	Gln	Phe	Pro	Gly	
		130					135					140					
	Phe	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	
	145					150					155					160	
	Val	Phe	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Thr	Ala	Ser	Ser	Phe	Pro	
					165					170					175		
	Gly	Ile	Asp	Pro	Glu	Arg	Ile	Ala	Val	Val	Gly	Thr	Ser	Gln	Gly	Gly	
				180					185					190			
	Gly	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Ile	Pro	Lys	Ala	Leu	
			195					200					205				
	Val	Ser	Asn	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Ile	
		210					215					220					
[0049]	Thr	Asp	Asn	Ala	Pro	Tyr	Ser	Glu	Ile	Val	Asn	Tyr	Leu	Lys	Val	His	
	225					230					235					240	
	Arg	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	
					245					250					255		
	Val	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Ala	
				260					265					270			
	Leu	Met	Asp	Lys	Thr	Cys	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	
			275					280					285				
	His	Tyr	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile	Lys	Val	Tyr	Pro	Phe	Asn	Glu	His	
		290					295					300					
	Glu	Gly	Gly	Glu	Ser	Phe	Gln	Arg	Met	Glu	Glu	Leu	Arg	Phe	Met	Lys	
	305					310					315					320	
	Arg	Ile	Leu	Lys	Gly	Glu	Phe	Lys	Ala								
					325												
<210>	37																

[0050]

<211> 960

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成基因-经密码子优化的

<400> 37

```

atgggtctgt tcgatatgcc actgcaaaaa ctgcgtgaat ataccggtac caacccatgt      60
cctgaggatt tcgatgaata ctgggatgcg gcaactggacg aaatgcgtag cgttgatcct      120
aaaatcaaga tgaagaagag ctccctttcaa gttccgttcg cggaatgtta cgatctgtat      180
tttaccggcg ttcgtgggtc ccgcattcac gcgaaatata ttcgtccgaa aaccgaaggc      240
aaacacccgg cgctgattcg cttccatggt tactccagca actctgggtga ttggaacgac      300
aagctgaact acgttgcggc tgggtttacc gtagtagcga tggacgctcg tggccagggt      360
ggccaatctc aggacgtcgg cgggtgttaat ggcaacaccc tgaacggtca catcatccgt      420
ggcctggacg atgatgcaga taacatgctg ttccgtcata ttttcctgga caccgcgcag      480
ctggctggta tcgttatgaa catgccggaa atcgatgagg accgcgtagc tgttatgggt      540
ccgtcccagg gcggcggctc gtccctggcg tgtgcggctc tggaacctaa aatccgtaaa      600
gtagtgtccg aatatccgtt cctgagcgac tacaagcgtg tgtgggatct ggatctggcc      660
aaaaatgcgt accaagaaat cactgactat ttccgtctgt tcgaccacacg ccacgaacgt      720
gagaacgagg tttttactaa actgggttac attgacgtaa agaacctggc gaaacgtatc      780
aaaggtgatg ttcctgatgtg cgtgggcctg atggatcagg tctgcccgcc gagcaccgta      840
tttgcagcat acaacaacat ccagtccaag aaggacatca aagtctaccc ggactatggt      900
cacgaaccga tgcgtggctt cggtgacctg gctatgcagt tcatgctgga actgtattct      960

```

<210> 38

<211> 320

<212> PRT

<213> 解糖热厌氧杆菌 (Thermoanaerobacterium saccharolyticum)

<400> 38

```

Met Gly Leu Phe Asp Met Pro Leu Gln Lys Leu Arg Glu Tyr Thr Gly
1           5           10           15

```

```

Thr Asn Pro Cys Pro Glu Asp Phe Asp Glu Tyr Trp Asp Arg Ala Leu
20           25           30

```

```

Asp Glu Met Arg Ser Val Asp Pro Lys Ile Lys Met Lys Lys Ser Ser

```

	35	40	45	
	Phe Gln Val Pro Phe Ala Glu Cys Tyr Asp Leu Tyr Phe Thr Gly Val			
	50	55	60	
	Arg Gly Ala Arg Ile His Ala Lys Tyr Ile Arg Pro Lys Thr Glu Gly			
	65	70	75	80
	Lys His Pro Ala Leu Ile Arg Phe His Gly Tyr Ser Ser Asn Ser Gly			
	85	90		95
	Asp Trp Asn Asp Lys Leu Asn Tyr Val Ala Ala Gly Phe Thr Val Val			
	100	105		110
	Ala Met Asp Ala Arg Gly Gln Gly Gly Gln Ser Gln Asp Val Gly Gly			
	115	120		125
	Val Asn Gly Asn Thr Leu Asn Gly His Ile Ile Arg Gly Leu Asp Asp			
	130	135		140
[0051]	Asp Ala Asp Asn Met Leu Phe Arg His Ile Phe Leu Asp Thr Ala Gln			
	145	150	155	160
	Leu Ala Gly Ile Val Met Asn Met Pro Glu Ile Asp Glu Asp Arg Val			
	165	170		175
	Ala Val Met Gly Pro Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Leu Ala Cys Ala			
	180	185		190
	Ala Leu Glu Pro Lys Ile Arg Lys Val Val Ser Glu Tyr Pro Phe Leu			
	195	200		205
	Ser Asp Tyr Lys Arg Val Trp Asp Leu Asp Leu Ala Lys Asn Ala Tyr			
	210	215		220
	Gln Glu Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Leu Phe Asp Pro Arg His Glu Arg			
	225	230	235	240
	Glu Asn Glu Val Phe Thr Lys Leu Gly Tyr Ile Asp Val Lys Asn Leu			
	245	250		255
	Ala Lys Arg Ile Lys Gly Asp Val Leu Met Cys Val Gly Leu Met Asp			
	260	265		270

[0052]

Gln Val Cys Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Asn Ile Gln
 275 280 285

Ser Lys Lys Asp Ile Lys Val Tyr Pro Asp Tyr Gly His Glu Pro Met
 290 295 300

Arg Gly Phe Gly Asp Leu Ala Met Gln Phe Met Leu Glu Leu Tyr Ser
 305 310 315 320

<210> 39

<211> 939

<212> DNA

<213> 乳酸乳球菌 (Lactococcus lactis)

<400> 39

```

atgacaaaaa taaacaattg gcaagattat caaggaagtt cacttaaacc agaggatttt      60
gataaatttt gggatgaaaa aattaatttg gtttcaaadc atcaatttga atttgaatta      120
atagaaaaaa atctttcctc taaggtagtt aacttttadc atttgtggtt tacagctatt      180
gatggagcta aaattcatgc tcagttaatt gttcccaaga atttgaaaga gaaataccca      240
gccatcttac aatttcatgg ttatcattgc gatagtgggg attgggtcga taaaataggg      300
atagttgccg aagggaatgt agttcttgcg cttgattgtc gaggacaagg tggtttaagt      360
caagataata ttcaaactat ggggatgaca atgaagggac tcattgttcg aggaattgat      420
gaagggtatg aaaatctcta ttacgttcgc caatttatgg acttaataac tgcaacaaaa      480
attttatccg agtttgattt tgttgatgaa acaaataata gtgcacaagg tgcttctcaa      540
ggtaggagcgc ttgccgttgc ttgcgccgca ctttctcctc ttataaaaaa ggtgactgcc      600
acttaccctt ttctttcaga ttatcgcaaa gcttatgagc ttgggtgccg ggaatctgct      660
ttcgaagaac ttccatattg gtttcagttt aaagatccac ttcatctaag agaagactgg      720
ttttttaatc agtttgaata cattgatatt caaaatttag caccaagaat taaggctgag      780
gtcatttggg tcctaggcgg caaagatact gttgttcctc cgattacgca aatggcggct      840
tacaataaaa tacaagtaa aaaatctctc tatgtcttac ctgaatacgg ccatgaatat      900
cttctaaaaa ttagecactg gttaagagag aatcaataa      939

```

<210> 40

<211> 312

<212> PRT

<213> 乳酸乳球菌 (Lactococcus lactis)

<400> 40

Met Thr Lys Ile Asn Asn Trp Gln Asp Tyr Gln Gly Ser Ser Leu Lys
1 5 10 15

Pro Glu Asp Phe Asp Lys Phe Trp Asp Glu Lys Ile Asn Leu Val Ser
20 25 30

Asn His Gln Phe Glu Phe Glu Leu Ile Glu Lys Asn Leu Ser Ser Lys
35 40 45

Val Val Asn Phe Tyr His Leu Trp Phe Thr Ala Ile Asp Gly Ala Lys
50 55 60

Ile His Ala Gln Leu Ile Val Pro Lys Asn Leu Lys Glu Lys Tyr Pro
65 70 75 80

Ala Ile Leu Gln Phe His Gly Tyr His Cys Asp Ser Gly Asp Trp Val
85 90 95

[0053]

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

Cys Arg Gly Gln Gly Gly Leu Ser Gln Asp Asn Ile Gln Thr Met Gly
115 120 125

Met Thr Met Lys Gly Leu Ile Val Arg Gly Ile Asp Glu Gly Tyr Glu
130 135 140

Asn Leu Tyr Tyr Val Arg Gln Phe Met Asp Leu Ile Thr Ala Thr Lys
145 150 155 160

Ile Leu Ser Glu Phe Asp Phe Val Asp Glu Thr Asn Ile Ser Ala Gln
165 170 175

Gly Ala Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Val Ala Cys Ala Ala Leu Ser
180 185 190

Pro Leu Ile Lys Lys Val Thr Ala Thr Tyr Pro Phe Leu Ser Asp Tyr
195 200 205

Arg Lys Ala Tyr Glu Leu Gly Ala Glu Glu Ser Ala Phe Glu Glu Leu
210 215 220

[0054]

Pro Tyr Trp Phe Gln Phe Lys Asp Pro Leu His Leu Arg Glu Asp Trp
 225 230 235 240

Phe Phe Asn Gln Leu Glu Tyr Ile Asp Ile Gln Asn Leu Ala Pro Arg
 245 250 255

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

Pro Pro Ile Thr Gln Met Ala Ala Tyr Asn Lys Ile Gln Ser Lys Lys
 275 280 285

Ser Leu Tyr Val Leu Pro Glu Tyr Gly His Glu Tyr Leu Pro Lys Ile
 290 295 300

Ser Asp Trp Leu Arg Glu Asn Gln
 305 310

<210> 41

<211> 972

<212> DNA

<213> 百脉根中慢生根瘤菌 (*Mesorhizobium loti*)

<400> 41

```

atgccgttcc cggatctgat ccagcccgaa ctgggcgctt atgtcagcag tgtcggcatg      60
ccggacgact ttgcccaatt ctggacgtcg accatcgccg aggctcgcca ggccggcggt      120
gaggtcagta tcgtgcaggc gcagacgaca ctgaaggcgg tccagtcctt cgatgtcacg      180
tttccaggat acggcggtca tccaatcaaa ggatggctga tcttgccgac gcaccacaag      240
gggcggcttc ccctcgtcgt gcagtataac ggctatggcg gcggccgcgg cttggcgcat      300
gagcaactgc attgggcggc gtcaggcttt gcctatttcc gaatggatac acgcgggcag      360
ggaagcgact ggagcgtcgg tgagaccgcc gatcccgctg gctcgacctc gtccattccc      420
ggctttatga cgcgtggcgt gctggacaag aatgactact attaccggcg cctgttcacc      480
gatgccgtga gggcgataga tgctctgctc ggactggact tcgtcgatcc cgaacgcata      540
gcggttttgc gtgacagtca gggaggcggt atttcgctcg ccgttggcgg catcgaccgc      600
cgcgtaagg cegtaatgcc cgacgttcca tttctgtgcg actttccgcg cgtgtgtcag      660
actgccgtgc gcgataccta tttggaaatc gttegttttc tggcccagca tcgcgaaaag      720
aaggcggcag tctttgaaac gctcaactat ttcgactgcg tcaacttcgc ccggcggtcc      780

```

[0055]

aaggcgccgg cgctgttttc ggtggccctg atggacgaag tctgcccgcc ctctaccgtg 840
 tatggcgcat tcaatgccta tgcaggcgaa aagaccatca cagagtacga attcaacaat 900
 catgaaggcg ggcaaggcta tcaagagcgc caacagatga cgtggctcag caggctgttc 960
 ggtgtcggct ga 972

<210> 42

<211> 323

<212> PRT

<213> 百脉根中慢生根瘤菌 (Mesorhizobium loti)

<400> 42

Met Pro Phe Pro Asp Leu Ile Gln Pro Glu Leu Gly Ala Tyr Val Ser
 1 5 10 15

Ser Val Gly Met Pro Asp Asp Phe Ala Gln Phe Trp Thr Ser Thr Ile
 20 25 30

Ala Glu Ala Arg Gln Ala Gly Gly Glu Val Ser Ile Val Gln Ala Gln
 35 40 45

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

Gly Gly His Pro Ile Lys Gly Trp Leu Ile Leu Pro Thr His His Lys
 65 70 75 80

Gly Arg Leu Pro Leu Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Gly Gly Gly Arg
 85 90 95

Gly Leu Ala His Glu Gln Leu His Trp Ala Ala Ser Gly Phe Ala Tyr
 100 105 110

Phe Arg Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Asp Trp Ser Val Gly Glu
 115 120 125

Thr Ala Asp Pro Val Gly Ser Thr Ser Ser Ile Pro Gly Phe Met Thr
 130 135 140

Arg Gly Val Leu Asp Lys Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Arg Leu Phe Thr
 145 150 155 160

[0056]

Asp Ala Val Arg Ala Ile Asp Ala Leu Leu Gly Leu Asp Phe Val Asp
 165 170 175

Pro Glu Arg Ile Ala Val Cys Gly Asp Ser Gln Gly Gly Gly Ile Ser
 180 185 190

Leu Ala Val Gly Gly Ile Asp Pro Arg Val Lys Ala Val Met Pro Asp
 195 200 205

Val Pro Phe Leu Cys Asp Phe Pro Arg Ala Val Gln Thr Ala Val Arg
 210 215 220

Asp Pro Tyr Leu Glu Ile Val Arg Phe Leu Ala Gln His Arg Glu Lys
 225 230 235 240

Lys Ala Ala Val Phe Glu Thr Leu Asn Tyr Phe Asp Cys Val Asn Phe
 245 250 255

Ala Arg Arg Ser Lys Ala Pro Ala Leu Phe Ser Val Ala Leu Met Asp
 260 265 270

Glu Val Cys Pro Pro Ser Thr Val Tyr Gly Ala Phe Asn Ala Tyr Ala
 275 280 285

Gly Glu Lys Thr Ile Thr Glu Tyr Glu Phe Asn Asn His Glu Gly Gly
 290 295 300

Gln Gly Tyr Gln Glu Arg Gln Gln Met Thr Trp Leu Ser Arg Leu Phe
 305 310 315 320

Gly Val Gly

<210> 43

<211> 990

<212> DNA

<213> 嗜热脂肪芽孢杆菌 (Geobacillus stearothermophilus)

<400> 43

atgttcgata tgccgttagc acaattacag aaatacatgg ggacaaatcc gaagccggct 60

gattttgctg acttttggag tcgagcggtt gaggaattat ctgcccaatc gttgcattat 120

gagctgattc cggcaacatt tcaaacgaca gtggcgagtt gctaccattt gtatttcacg 180

ggagtcggcg gggctagagt ccattgtcag ttagtaaaac cgagagagca gaagcagaaa 240

[0057]

```

ggccccgggt  tggatatggt  tcatggctac  catacgaata  gcggcgattg  ggtcgataaa  300
ctggcataatg  ctgcggcagg  ttttactgta  ttggcgatgg  attgccgcgg  ccaaggagga  360
aatcagagg  ataatttgca  agtgaaaggc  ccaacattga  agggccatat  tattcgcgga  420
attgaggatc  caaatcctca  tcatttttat  tatcgaaatg  tttttttaga  tacagttcag  480
gcggtaagaa  ttttatgctc  tatggatcat  attgatcgtg  aacgaattgg  tgtatatggc  540
gcttcccaag  gaggagcggt  ggcattagcg  tgtgctgctc  tggaaccatc  ggtggtgaaa  600
aaagcggttg  tgctctatcc  atttttatcg  gattataagc  gggcgcaaga  gttggatatg  660
aaaaataccg  cgtatgagga  aattcattat  tattttcgat  ttttagatcc  cacacatgag  720
cggaagaag  aagtatttta  caaactagcg  tatattgata  ttcaactctt  agccgatcgg  780
atttgtccg  atgttttatg  ggctgttgcg  ctagaagacc  atatttgtcc  cccgtccaca  840
caatttgctg  ttataataa  aattaagtca  aaaaaagaca  tggttttgtt  ttacgagtat  900
ggtcatgagt  atttaccgac  tatgggagac  cgtgcttata  tgtttttttg  cccgatcttc  960
tttccaatcc  aaaagagaaa  cgtaagtaa  990

```

<210> 44

<211> 329

<212> PRT

<213> 嗜热脂肪芽孢杆菌 (Geobacillus stearothermophilus)

<400> 44

```

Met Phe Asp Met Pro Leu Ala Gln Leu Gln Lys Tyr Met Gly Thr Asn
1           5           10          15

```

```

Pro Lys Pro Ala Asp Phe Ala Asp Phe Trp Ser Arg Ala Leu Glu Glu
          20          25          30

```

```

Leu Ser Ala Gln Ser Leu His Tyr Glu Leu Ile Pro Ala Thr Phe Gln
          35          40          45

```

```

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

```

```

Ala Arg Val His Cys Gln Leu Val Lys Pro Arg Glu Gln Lys Gln Lys
65          70          75          80

```

```

Gly Pro Gly Leu Val Trp Phe His Gly Tyr His Thr Asn Ser Gly Asp
          85          90          95

```

Trp Val Asp Lys Leu Ala Tyr Ala Ala Ala Gly Phe Thr Val Leu Ala
100 105 110

Met Asp Cys Arg Gly Gln Gly Gly Lys Ser Glu Asp Asn Leu Gln Val
115 120 125

Lys Gly Pro Thr Leu Lys Gly His Ile Ile Arg Gly Ile Glu Asp Pro
130 135 140

Asn Pro His His Leu Tyr Tyr Arg Asn Val Phe Leu Asp Thr Val Gln
145 150 155 160

Ala Val Arg Ile Leu Cys Ser Met Asp His Ile Asp Arg Glu Arg Ile
165 170 175

Gly Val Tyr Gly Ala Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Leu Ala Cys Ala
180 185 190

Ala Leu Glu Pro Ser Val Val Lys Lys Ala Val Val Leu Tyr Pro Phe
195 200 205

[0058]

Leu Ser Asp Tyr Lys Arg Ala Gln Glu Leu Asp Met Lys Asn Thr Ala
210 215 220

Tyr Glu Glu Ile His Tyr Tyr Phe Arg Phe Leu Asp Pro Thr His Glu
225 230 235 240

Arg Glu Glu Glu Val Phe Tyr Lys Leu Gly Tyr Ile Asp Ile Gln Leu
245 250 255

Leu Ala Asp Arg Ile Cys Ala Asp Val Leu Trp Ala Val Ala Leu Glu
260 265 270

Asp His Ile Cys Pro Pro Ser Thr Gln Phe Ala Val Tyr Asn Lys Ile
275 280 285

Lys Ser Lys Lys Asp Met Val Leu Phe Tyr Glu Tyr Gly His Glu Tyr
290 295 300

Leu Pro Thr Met Gly Asp Arg Ala Tyr Leu Phe Phe Cys Pro Ile Phe
305 310 315 320

[0059]

Phe Pro Ile Gln Lys Arg Asn Val Lys
325

<210> 45
<211> 978
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 45
atggcgttct tgcacctgcc tctggaagaa ctgaagaaat accgtccaga gcgttacgaa 60
gagaaggaca tgcacgagtt ctgggaggaa actctggcgg agaccgaaaa gtttccgctg 120
gaccagtgt tgcagcgtat ggaatctcac ctgaaaaccg tggaggcata tgacgttact 180
ttttctggtt accgtggcca gcgtatcaaa ggctggctgc tggttccgaa actggaggaa 240
gaaaaactgc cgtgcgtagt tcagtacatc ggttacaacg gtggccgtgg ctttccgcac 300
gattggctgt tctggccgtc tatgggctac atttgcttcg tcatggatac tcgtggtcag 360
ggttccggct ggctgaaagg cgatactccg gattatccgg agggcccggg agaccgcag 420
taccctggct tcatgacgcg tggatctctg gatccgcgta cctattacta tcgccgcgtt 480
tttaccgatg cagttcgtgc cgtagaggcc gcggcttctt tccctcaggt tgacctggag 540
cgtattgtta tcgctgggtg ctcccagggt ggccgcatcg ccctggcggg atctgcgctg 600
agcaagaaag ctaaggcact gctgtgtgac gtcccgttcc tgtgtcactt ccgtcgcgct 660
gttcagctgg tagataccca tccgtacgcg gagattacta acttcctgaa aactcaccgc 720
gacaaagaag aaatcgtttt ccgcaccctg tcctatttcg acggcggtta cttcgcggct 780
cgtgcaaaaa ttccggcact gttctctgtt ggtctgatgg acgacatcag ccctccttct 840
accgttttcg cggcatataa ctattatgcg ggtccgaaag aaatccgtat ctatccgtac 900
aacaaccacg aaggcgggtg tggctttcag gctgttgaac aagtgaatac cctgaagaaa 960
ctgtttgaga agggctaa 978

<210> 46
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 46

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Ile Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Thr Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

[0060]

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Leu Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

[0061]

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asp Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Gly Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Ser Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 47

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 47

atggcggttct tgcacctgcc tctggaagaa ctgaagaaat accgtccaga gcgttacgaa	60
gagaaggact tgcacgagtt ctgggaggaa actctggcgg agagcgaaaa gtttccgctg	120
gacccagtgt tgcagcgtat ggaatctcac ctgaaaaccg tggaggcata tgacgttact	180
ttttctgggt accgtggcca gcgtatcaaa ggctggctgc tggttccgaa actggaggaa	240
gaaaaactgc cgtgcgtagt tcagtacatc ggttacaacg gtggccgtgg ctttccgcac	300
gattggctgt tctggccgtc tatgggctac atttgcttcg tcatggatac tcgtggctcag	360
ggttccggct ggctgaaagg cgatactccg gattatccgg agggcccggg agaccgcag	420
tacctggct tcatgacgcg tggattctg gatccgcgta cctattacta tcgccgcgtt	480
tttaccgatg cagttcgtgc cgtagaggcc gcggcttctt tccctcaggt tgaccaggag	540
cgtattgtta tcgtgggtgg ctcccagggt ggcggcatcg ccctggcggt atctgcgctg	600

agcaagaaag ctaaggcact gctgtgtgac gtcccgttcc tgtgtcactt ccgtcgcgct	660
gttcagctgg tagataccca tccgtacgcg gagattacta acttcctgaa aactcacgcg	720
gacaaagaag aaatcgtttt ccgcaccctg tcctatttcg acggcggttaa cttcgcggct	780
cgtgcaaaaa ttccggcact gttctctgtt ggtctgatgg acgacatcag ccttccttct	840
accgttttcg cggcatataa ctattatgcg ggtccgaaag aaatccgtat ctatccgtac	900
aacaaccacg aaggcgggtg tagctttcag gctgttgaac aagtgaatt cctgaagaaa	960
ctgtttgaga agggctaa	978

$\langle 210 \rangle$	48
$\langle 211 \rangle$	325
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 48

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

[0063] Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asp Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 49

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

[0065]

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

[0066]

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Ser Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 51

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 51

atggcgcttct tcgacctgcc tctggaagaa ctgaagaaat accgtccaga gcgttacgaa	60
gagaaggact tcgacgagtt ctgggaggaa actctggcgg agaccgaaaa gtttccgctg	120
gacctcagtg tcgagcgtat ggaatctcac ctgaaaaccg tggaggcata tgacgttact	180
ttttctggtt accgtggcca gcgtatcaaa ggctggctgc tggttccgaa actggaggaa	240
gaaaaactgc cgtgcgtagt tcagtacatc ggttacaacg gtggccgtgg ctttccgcac	300
gattggctgt tctggccgtc tatgggctac atttgcttcg tcatggatac tcgtggctcag	360
ggttccggct ggctgaaagg cgatactccg gattatccgg agggcccggg agaccgcag	420
tacctggct tcatgacgcg tggattctg gatccgcgta cctattacta tcgccgcgtt	480
tttaccgatg cagttcgtgc cgtagaggcc gcggttctt tccctcaggt tgaccaggag	540
cgtattgtta tcgctgggtg ctcccagggt ggcggcatcg ccctggcggg atctgcgctg	600
agcaagaaag ctaaggcact gctgtgtgac gtcccgttcc tgtgtcactt ccgtcgcgct	660
gttcagctgg tagataccca tccgtacgcg gagattacta acttctgaa aactcaccgc	720
gacaaagaag aaatcgtttt ccgcacctg tcctatttcg acggcggttaa cttecgcgct	780
cgtgcaaaaa ttccggcact gttctctgtt ggtctgatgg acaacatcag cctctcttct	840

[0067]

accgttttcg cggcatataa ctattatgcg ggtccgaaag aaatccgtat ctatccgtac 900

aacaaccacg aaggcgggtgg tagctttcag gctgttgaac aagtgaatt cctgaagaaa 960

ctgtttgaga agggctaa 978

<210> 52

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 52

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30Ala Glu Thr Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

[0068]

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
 165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
 180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
 195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
 210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
 225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
 245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
 260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
 275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
 290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
 305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
 325

<210> 53

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 53

atggcggttct tgcacctgcc tctggaagaa ctgaagaaat accgtccaga gcgttacgaa 60

gagaaggact tgcacgagtt ctgggaggaa actctggcgg agagcgaaaa gtttccgctg 120

[0069]

gaccagctgt tcgagcgtat ggaatctcac ctgaaaaccg tggaggcata tgacgttact	180
ttttctgggt accgtggcca gcgtatcaaa ggctggctgc tggttccgaa actggaggaa	240
gaaaaactgc cgtgcgtagt tcagtacatc ggttacaacg gtggccgtgg ctttccgcac	300
gattggctgt tctggccgtc tatgggctac atttgccttc tcatggatac tcgtggtcag	360
ggttccggct ggctgaaagg cgatactccg gattatccgg agggcccggg agaccgcag	420
taccctggct tcatgacgcg tggattcttg gatccgcgta cctattacta tcgccgcgtt	480
tttaccgatg cagttcgtgc cgtagaggcc gcggcttctt tccctcaggt tgacctggag	540
cgtattgtta tcgctgggtg ctcccagggt ggccgcatcg ccctggcggg atctgcgctg	600
agcaagaaag ctaaggcact gctgtgtgac gtcccgttcc tgtgtcactt ccgtcgcgt	660
gttcagctgg tagataccca tccgtacgcg gagattacta acttctgaa aactcaccgc	720
gacaaagaag aaatcgtttt ccgcaccctg tcctatttcg acggcggtta cttcgcggct	780
cgtgcaaaaa ttccggcact gttctctgtt ggtctgatgg acaacatcag cctccttct	840
accgttttcg cgcatataa ctattatgcg ggtccgaaag aaatccgtat ctatccgtac	900
aacaaccacg aaggcgggtg tagctttcag gctgttgaac aagtgaatt cctgaagaaa	960
ctgtttgaga agggctaa	978

<210> 54
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 54

Met	Ala	Phe	Phe	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu	Glu	Leu	Lys	Lys	Tyr	Arg	Pro
1				5						10				15	
Glu	Arg	Tyr	Glu	Glu	Lys	Asp	Phe	Asp	Glu	Phe	Trp	Glu	Glu	Thr	Leu
			20					25					30		
Ala	Glu	Ser	Glu	Lys	Phe	Pro	Leu	Asp	Pro	Val	Phe	Glu	Arg	Met	Glu
		35					40					45			
Ser	His	Leu	Lys	Thr	Val	Glu	Ala	Tyr	Asp	Val	Thr	Phe	Ser	Gly	Tyr
	50					55					60				

	Arg	Gly	Gln	Arg	Ile	Lys	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Pro	Lys	Leu	Glu	Glu	
	65					70					75					80	
	Glu	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Gln	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Asn	Gly	Gly	Arg	
					85					90					95		
	Gly	Phe	Pro	His	Asp	Trp	Leu	Phe	Trp	Pro	Ser	Met	Gly	Tyr	Ile	Cys	
				100					105					110			
	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Gly	Trp	Leu	Lys	Gly	Asp	
			115					120					125				
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Pro	Glu	Gly	Pro	Val	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe	
		130					135					140					
	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val	
	145					150					155					160	
	Phe	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro	Gln	
				165						170					175		
[0070]	Val	Asp	Leu	Glu	Arg	Ile	Val	Ile	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	
				180					185					190			
	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys	Ala	Leu	Leu	
			195					200					205				
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Leu	Val	
		210					215					220					
	Asp	Thr	His	Pro	Tyr	Ala	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	His	Arg	
	225					230					235					240	
	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	Val	
					245					250					255		
	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly	Leu	
				260					265					270			
	Met	Asp	Asn	Ile	Ser	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	Tyr	
			275					280					285				
	Tyr	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr	Asn	Asn	His	Glu	

[0071]

290

295

300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
 305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
 325

<210> 55

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (978)

<400> 55

atg gcg ttc ttc gac ctg cct cgg gaa gaa ctg aag aaa tac cgt cca 48
 Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Arg Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

gag cgt tac gaa gag aag gac ttc gac gag ttc tgg gag gaa act ctg 96
 Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

gcg gag agc gaa aag ttt ccg ctg gac cca gtg ttc gag cgt atg gaa 144
 Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45

tct cac ctg aaa acc gtg gag gca tat gac gtt act ttt tct ggt tac 192
 Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
 50 55 60

cgt ggc cag cgt atc aaa ggc tgg ctg ctg gtt ccg aaa ctg gag gaa 240
 Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
 65 70 75 80

gaa aaa ctg ccg tgc gta gtt cag tac atc ggt tac aac ggt ggc cgt 288
 Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
 85 90 95

ggc ttt ccg cac gat tgg ctg ttc tgg ccg tct atg ggc tac att tgc 336
 Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
 100 105 110

ttc gtc atg gat act cgt ggt cag ggt tcc ggc tgg cag aaa ggc gat 384
 Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Gln Lys Gly Asp
 115 120 125

[0072]

act ccg gat tat ccg gag ggc ccg gta gac ccg cag tac cct ggc ttc Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe 130 135 140	432
atg acg cgt ggt att ctg gat ccg cgt acc tat tac tat cgc cgc gtt Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val 145 150 155 160	480
ttt acc gat gca gtt cgt gcc gta gag gcc gcg gct tct ttc cct ctg Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Leu 165 170 175	528
gtt gac cag gag cgt att gat atc gct ggt ggc tcc cag ggt ggc ggc Val Asp Gln Glu Arg Ile Asp Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180 185 190	576
atc gcc ctg gcg gta tct gcg ctg agc aag aaa gct aag gca ctg ctg Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195 200 205	624
tgt gac gtc ccg ttc ctg tgt cac ttc cgt cgc gct gtt cag ctg gta Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210 215 220	672
gat acc cat ccg tac gcg gag att act aac ttc ctg aaa act cac cgc Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225 230 235 240	720
gac aaa gaa gaa atc gtt atc cgc acc ctg tcc tat ttc gac ggc gtt Asp Lys Glu Glu Ile Val Ile Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245 250 255	768
aac ttc gcg gct cgt gca aaa att ccg gca ctg ttc tct gtt ggt ctg Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu 260 265 270	816
atg gac aac atc agc cct cct tct acc gtt ttc gcg gca tat aac tat Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr 275 280 285	864
tat gcg ggt ctg aaa gaa atc cgt atc tat ccg tac aac aac cac gaa Tyr Ala Gly Leu Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu 290 295 300	912
ggc ggt ggt agc ttt cag gct gtt gaa caa gtg aaa ttc ctg aag aaa Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys 305 310 315 320	960
ctg ttt gag aag ggc taa Leu Phe Glu Lys Gly 325	978

<210> 56
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 56

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Arg Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

[0073]

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Gln Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Leu
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Asp Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

[0074]

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
 210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
 225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Ile Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
 245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
 260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
 275 280 285

Tyr Ala Gly Leu Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
 290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
 305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
 325

<210> 57

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (978)

<400> 57

atg gcg ttc ttc gac ctg cct ctg gaa gaa ctg aag aaa tac cgt cca 48
 Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

gag cgt tac gaa gag aag gac ttc gac gag ttc tgg gag gaa act ctg 96
 Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

gcg gag agc gaa aag ttt ccg ctg gac cca gtg ttc gag cgt atg gaa 144
 Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu

[0075]

35	40	45	
tct cac ctg aaa acc gtg gag gca tat gac gtt act ttt tct ggt tac Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr 50 55 60			192
cgt ggc cag cgt atc aaa ggc tgg ctg ctg gtt ccg gaa ctg gag gaa Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Glu Leu Glu Glu 65 70 75 80			240
gaa aaa ctg ccg tgc gta gtt cag tac atc ggt tac aac ggt ggc cgt Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg 85 90 95			288
ggc ttt ccg cac gat tgg ctg ttc tgg ccg tct atg ggc tac att tgc Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys 100 105 110			336
ttc gtc atg gat act cgt ggt cag ggt tcc ggc tgg ctg aaa ggc gat Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp 115 120 125			384
act ccg gat tat ccg gag ggc ccg gta gac ccg cag tac cct ggc ttc Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe 130 135 140			432
atg acg cgt ggt att ctg gat ccg cgt acc tat tac tat cgc cgc gtt Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Arg Arg Val 145 150 155 160			480
ttt acc gat gca gtt cgt gcc gta gag gcc gcg gct tct ttc cct cag Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln 165 170 175			528
gtt gac cag gag cgt att gtt atc gct ggt ggc tcc cag ggt ggc ggc Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180 185 190			576
atc gcc ctg gcg gta tct gcg ctg agc aag aaa gct aag gca ctg ctg Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195 200 205			624
tgt gac gtc ccg ttc ctg tgt cac ttc cgt cgc gct gtt cag ctg gta Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210 215 220			672
gat acc cat ccg tac gcg gag att act aac ttc ctg aaa act cac cgc Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225 230 235 240			720
gac aaa gaa gaa atc gtt ttc cgc acc ctg tcc tat ttc gac ggc gtt Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245 250 255			768
aac ttc gcg gct cgt gca aaa att ccg gaa ctg ttc tct gtt ggt ctg Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Glu Leu Phe Ser Val Gly Leu 260 265 270			816

[0076]

atg gac aac atc agc cct cct tct acc gtt ttc gcg gca tat aac tat	864
Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr	
275 280 285	

tat gcg ggt ccg aaa gaa atc cgt atc tat ccg tac aac aac cac gaa	912
Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu	
290 295 300	

ggc ggt ggt agc ttt cag gct gtt gaa caa gtg aaa ttc ctg aag aaa	960
Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys	
305 310 315 320	

ctg ttt gag aag ggc taa	978
Leu Phe Glu Lys Gly	
325	

<210> 58

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 58

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Glu Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp

	115	120	125	
	Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe 130 135 140			
	Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val 145 150 155 160			
	Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln 165 170 175			
	Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180 185 190			
	Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195 200 205			
	Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210 215 220			
[0077]	Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225 230 235 240			
	Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245 250 255			
	Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Glu Leu Phe Ser Val Gly Leu 260 265 270			
	Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr 275 280 285			
	Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu 290 295 300			
	Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys 305 310 315 320			
	Leu Phe Glu Lys Gly 325			
	<210> 59			
	<211> 978			

[0078]

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (978)

<400> 59

atg gcg ttc ttc gac ctg cct ctg gaa gaa ctg aag aaa tac cgt cca	48
Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro	
1 5 10 15	

gag cgt tac gaa gag aag gac ttc gac gag tac tgg gag gaa act ctg	96
Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Tyr Trp Glu Glu Thr Leu	
20 25 30	

gcg gag agc gaa aag ttt ccg ctg gac cca gtg ttc gag cgt atg gaa	144
Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu	
35 40 45	

tct cac ctg aaa acc gtg gag gca tat gac gtt act ttt tct ggt tac	192
Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr	
50 55 60	

cgt ggc cag cgt atc aaa ggc tgg ctg ctg gtt ccg aaa ctg gag gaa	240
Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu	
65 70 75 80	

gaa aaa ctg ccg tgc gta gtt cag tac atc ggt tac aac ggt ggc cgt	288
Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg	
85 90 95	

ggc ttt ccg cac gat tgg ctg ttc tgg ccg tct atg ggc tac att tgc	336
Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys	
100 105 110	

ttc gtc atg gat act cgt ggt cag ggt tcc ggc tgg ctg aaa ggc gat	384
Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp	
115 120 125	

act ccg gat tat ccg gag ggc ccg gta gac ccg cag tac cct ggc ttc	432
Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe	
130 135 140	

atg acg cgt ggt gtt ctg gat ccg cgt acc tat tac tat cgc cgc gtt	480
Met Thr Arg Gly Val Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Arg Arg Val	
145 150 155 160	

ttt acc gat gca gtt cgt gcc gta gag gcc gcg gct tct ttc cct cag	528
Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln	
165 170 175	

gtt gac cag gag cgt att gtt atc gct ggt ggc tcc cag ggt ggc ggc	576
---	-----

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

[0080]

Met Thr Arg Gly Val Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

[0081]

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Val Leu Phe Ser Val Gly Leu
 260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
 275 280 285

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

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
 305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
 325

<210> 61
 <211> 978
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (978)

<400> 61
 atg gcg ttc ttc gac ctg cct ctg gaa gaa ctg aag aaa tac cgt cca 48
 Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15
 gag cgt tac gaa gag aag gac ttc gac gag ttc tgg gag gaa act ctg 96
 Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30
 gcg gag agc gaa aag ttt ccg ctg gac cca gtg ttc gag cgt atg gaa 144
 Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45
 tct cac ctg aaa acc gtg gag gca tat gac gtt act ttt tct ggt tac 192
 Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
 50 55 60
 cgt ggc cag cgt atc aaa ggc tgg ctg ctg gtt ccg aaa ctg gag gaa 240
 Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
 65 70 75 80
 gaa aaa ctg ccg tgc gta gtt cag tac atc ggt tac aac ggt ggc cgt 288
 Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
 85 90 95

[0082]

ggc ttt ccg cac gat tgg ctg ttc tgg ccg tct atg ggc tac att tgc	336
Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys	
100 105 110	
ttc gtc atg gat act cgt ggt cag ggt tcc ggc tgg ctg aaa ggc gat	384
Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp	
115 120 125	
act ccg gat tat ccg gag ggc ccg gta gac ccg cag tac cct ggc ttc	432
Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe	
130 135 140	
atg acg cgt ggt att ctg gat ccg cgt acc tat tac tat cgc cgc gtt	480
Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val	
145 150 155 160	
ttt acc gat gca gtt cgt gcc gta gag gcc gcg gct tct ttc cct cag	528
Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln	
165 170 175	
gtt gac cag gag cgt att gtt atc gct ggt ggc tcc cag ggt ggc ggc	576
Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly	
180 185 190	
atc gcc cag gcg gta tct gcg ctg agc aag aaa gct aag gca ctg ctg	624
Ile Ala Gln Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu	
195 200 205	
tgt gac gtc ccg ttc ctg tgt cac ttc cgt cgc gct gtt cag ctg gta	672
Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val	
210 215 220	
gat acc cat ccg tac gcg gag att act aac ttc ctg aaa act cac cgc	720
Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg	
225 230 235 240	
gac aaa gaa gaa atc gtt ttc cgc acc ctg tcc tat ttc gac ggc gtt	768
Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val	
245 250 255	
aac ttc gcg gct cgt gca aaa att ccg gca ctg ttc tct gtt ggt ctg	816
Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu	
260 265 270	
atg gac aac atc agc cct cct tct acc gtt ttc gcg gca tat aac tat	864
Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr	
275 280 285	
tat gcg ggt ccg aaa gaa atc cgt atc tat ccg tac aac aac cac gaa	912
Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu	
290 295 300	
ggc ggt ggt agc ttt cag gct gtt gaa caa gtg aaa ttc ctg aag aaa	960
Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys	
305 310 315 320	

[0083]

ctg ttt gag aag ggc taa
 Leu Phe Glu Lys Gly
 325

978

<210> 62
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 62

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
 50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
 65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
 85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
 100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
 115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
 130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
 145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
 165 170 175

[0084]

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
 180 185 190

Ile Ala Gln Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
 195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
 210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
 225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
 245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
 260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
 275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
 290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
 305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
 325

<210> 63

<211> 978

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (978)

<400> 63

atg gcg ttc ttc gac ctg cct ctg gaa gaa ctg aag aaa tac cgt cca

48

[0085]

Met 1	Ala	Phe	Phe	Asp 5	Leu	Pro	Leu	Glu	Glu 10	Leu	Lys	Lys	Tyr	Arg 15	Pro		
gag Glu	cgt Arg	tac Tyr	gaa Glu	gag Glu	aag Lys	gac Asp	ttc Phe	gac Asp	gag Glu	ttc Phe	tgg Trp	gag Glu	gaa Glu	act Thr	ctg Leu		96
gcg Ala	gag Glu	agc Ser	gaa Glu	aag Lys	ttt Phe	ccg Pro	ctg Leu	gac Asp	cca Pro	gtg Val	ttc Phe	gag Glu	cgt Arg	atg Met	gaa Glu		144
tct Ser	cac His	ctg Leu	aaa Lys	acc Thr	gtg Val	gag Glu	gca Ala	tat Tyr	gac Asp	gtt Val	act Thr	ttt Phe	tct Ser	ggt Gly	tac Tyr		192
cgt Arg	ggc Gly	cag Gln	cgt Arg	atc Ile	aaa Lys	ggc Gly	tgg Trp	ctg Leu	ctg Leu	gtt Val	ccg Pro	aaa Lys	ctg Leu	gag Glu	gaa Glu		240
gaa Glu	aaa Lys	ctg Leu	ccg Pro	tgc Cys	gta Val	gtt Val	cag Gln	tac Tyr	atc Ile	ggt Gly	tac Tyr	aac Asn	ggt Gly	ggc Gly	cgt Arg		288
ggc Gly	ttt Phe	ccg Pro	cac His	gat Asp	tgg Trp	ctg Leu	ttc Phe	tgg Trp	ccg Pro	tct Ser	atg Met	ggc Gly	ttc Phe	att Ile	tgc Cys		336
ttc Phe	gtc Val	atg Met	gat Asp	act Thr	cgt Arg	ggc Gly	cag Gln	ggc Gly	tcc Ser	ggc Gly	tgg Trp	ctg Leu	aaa Lys	ggc Gly	gat Asp		384
act Thr	ccg Pro	gat Asp	tat Tyr	ccg Pro	gag Glu	ggc Gly	ccg Pro	gta Val	gac Asp	ccg Pro	cag Gln	tac Tyr	cct Pro	ggc Gly	ttc Phe		432
atg Met	acg Thr	cgt Arg	ggc Gly	att Ile	ctg Leu	gat Asp	ccg Pro	cgt Arg	acc Thr	tat Tyr	tac Tyr	tat Tyr	cgc Arg	cgc Arg	gtt Val		480
ttt Phe	acc Thr	gat Asp	gca Ala	gtt Val	cgt Arg	gcc Ala	gta Val	gag Glu	gcc Ala	gcg Ala	gct Ala	tct Ser	ttc Phe	cct Pro	cag Gln		528
gtt Val	gac Asp	cag Gln	gag Glu	cgt Arg	att Ile	gtt Val	atc Ile	gct Ala	ggc Gly	ggc Gly	tcc Ser	cag Gln	ggc Gly	ggc Gly	ggc Gly		576
atc Ile	gcc Ala	ctg Leu	gcg Ala	gta Val	tct Ser	gcg Ala	ctg Leu	agc Ser	aag Lys	aaa Lys	gct Ala	aag Lys	gca Ala	ctg Leu	ctg Leu		624
tgt Cys	gac Asp	gtc Val	ccg Pro	ttc Phe	ctg Leu	tgt Cys	cac His	ttc Phe	cgt Arg	cgc Arg	gct Ala	gtt Val	cag Gln	ctg Leu	gta Val		672
gat Asp	acc Thr	cat His	ccg Pro	tac Tyr	gcg Ala	gag Glu	att Ile	act Thr	aac Asn	ttc Phe	ctg Leu	aaa Lys	act Thr	cac His	cgc Arg		720

[0086]

225	230	235	240	
gac aaa gaa gaa atc gtt ttc cgc acc ctg tcc tat ttc gac ggc gtt				768
Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val				
	245	250	255	
aac ttc gcg gct cgt gca aaa att ccg gca ctg ttc tct gtt ggt ctg				816
Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu				
	260	265	270	
atg gac aac atc agc cct cct tct acc gtt ttc gcg gca tat aac tat				864
Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr				
	275	280	285	
tat gcg ggt ccg aaa gaa atc cgt atc tat ccg tac aac aac cac gaa				912
Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu				
	290	295	300	
ggc ggt ggt agc ttt cag gct gtt gaa caa gtg aaa ttc ctg aag aaa				960
Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys				
	305	310	315	320
ctg ttt gag aag ggc taa				978
Leu Phe Glu Lys Gly				
	325			

<210> 64
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 64

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro	
1 5 10 15	
Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu	
20 25 30	
Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu	
35 40 45	
Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr	
50 55 60	
Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu	
65 70 75 80	

	Glu	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Gln	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Asn	Gly	Gly	Arg
					85					90					95	
	Gly	Phe	Pro	His	Asp	Trp	Leu	Phe	Trp	Pro	Ser	Met	Gly	Phe	Ile	Cys
				100					105					110		
	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Gly	Trp	Leu	Lys	Gly	Asp
			115					120					125			
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Pro	Glu	Gly	Pro	Val	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe
		130					135					140				
	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val
	145					150					155					160
	Phe	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro	Gln
					165					170					175	
	Val	Asp	Gln	Glu	Arg	Ile	Val	Ile	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly
				180					185					190		
[0087]	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys	Ala	Leu	Leu
			195					200					205			
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Leu	Val
		210					215					220				
	Asp	Thr	His	Pro	Tyr	Ala	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	His	Arg
	225					230					235					240
	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	Val
					245					250					255	
	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly	Leu
				260					265					270		
	Met	Asp	Asn	Ile	Ser	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	Tyr
			275					280					285			
	Tyr	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr	Asn	Asn	His	Glu
		290					295					300				
	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Gln	Ala	Val	Glu	Gln	Val	Lys	Phe	Leu	Lys	Lys

	305	310	315	320
	Leu Phe Glu Lys Gly 325			
	<210> 65 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列			
	<220> <223> 合成构建体			
	<400> 65			
	Arg Val Pro Asn Lys Thr Val Thr Val Asp Gly Ala 1 5 10			
	<210> 66 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列			
[0088]	<220> <223> 合成构建体			
	<400> 66			
	Asp Arg His Lys Ser Lys Tyr Ser Ser Thr Lys Ser 1 5 10			
	<210> 67 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列			
	<220> <223> 合成构建体			
	<400> 67			
	Lys Asn Phe Pro Gln Gln Lys Glu Phe Pro Leu Ser 1 5 10			
	<210> 68 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列			
	<220> <223> 合成构建体			

<400> 68

Gln Arg Asn Ser Pro Pro Ala Met Ser Arg Arg Asp
1 5 10

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 69

Thr Arg Lys Pro Asn Met Pro His Gly Gln Tyr Leu
1 5 10

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0089] <400> 70

Lys Pro Pro His Leu Ala Lys Leu Pro Phe Thr Thr
1 5 10

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 71

Asn Lys Arg Pro Pro Thr Ser His Arg Ile His Ala
1 5 10

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 72

Asn Leu Pro Arg Tyr Gln Pro Pro Cys Lys Pro Leu
1 5 10

<210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 73

Arg Pro Pro Trp Lys Lys Pro Ile Pro Pro Ser Glu
1 5 10

<210> 74
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 74

[0090]

Arg Gln Arg Pro Lys Asp His Phe Phe Ser Arg Pro
1 5 10

<210> 75
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (6).. (6)
<223> Xaa = Thr或Pro

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (12).. (12)
<223> Xaa = Thr或Pro

<400> 75

Ser Val Pro Asn Lys Xaa Val Thr Val Asp Gly Xaa
1 5 10

<210> 76
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 76

Thr	Thr	Lys	Trp	Arg	His	Arg	Ala	Pro	Val	Ser	Pro
1				5					10		

<210> 77
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 77

Trp	Leu	Gly	Lys	Asn	Arg	Ile	Lys	Pro	Arg	Ala	Ser
1				5					10		

[0091]

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 78

Ser	Asn	Phe	Lys	Thr	Pro	Leu	Pro	Leu	Thr	Gln	Ser
1				5					10		

<210> 79
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 79

Ser	Val	Ser	Val	Gly	Met	Lys	Pro	Ser	Pro	Arg	Pro
1				5					10		

<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 80

Asp Leu His Thr Val Tyr His
1 5

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 81

His Ile Lys Pro Pro Thr Arg
1 5

[0092] <210> 82
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 82

His Pro Val Trp Pro Ala Ile
1 5

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 83

Met Pro Leu Tyr Tyr Leu Gln
1 5

<210> 84

<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 84

His Leu Thr Val Pro Trp Arg Gly Gly Gly Ser Ala Val Pro Phe Tyr
1 5 10 15

Ser His Ser Gln Ile Thr Leu Pro Asn His
20 25

<210> 85
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 85

[0093] Gly Pro His Asp Thr Ser Ser Gly Gly Val Arg Pro Asn Leu His His
1 5 10 15

Thr Ser Lys Lys Glu Lys Arg Glu Asn Arg Lys Val Pro Phe Tyr Ser
20 25 30

His Ser Val Thr Ser Arg Gly Asn Val
35 40

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 86

Lys His Pro Thr Tyr Arg Gln
1 5

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 87

His Pro Met Ser Ala Pro Arg
1 5

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 88

Met Pro Lys Tyr Tyr Leu Gln
1 5

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0094]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 89

Met His Ala His Ser Ile Ala
1 5

<210> 90

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 90

Ala Lys Pro Ile Ser Gln His Leu Gln Arg Gly Ser
1 5 10

<210> 91

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 91

Ala Pro Pro Thr Pro Ala Ala Ala Ser Ala Thr Thr
1 5 10

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 92

Asp Pro Thr Glu Gly Ala Arg Arg Thr Ile Met Thr
1 5 10

<210> 93

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

[0095]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 93

Leu Asp Thr Ser Phe Pro Pro Val Pro Phe His Ala
1 5 10

<210> 94

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 94

Leu Asp Thr Ser Phe His Gln Val Pro Phe His Gln
1 5 10

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

	<223>	合成构建体
	<400>	95
	Leu Pro Arg Ile Ala Asn Thr Trp Ser Pro Ser	
	1 5 10	
	<210>	96
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	96
	Arg Thr Asn Ala Ala Asp His Pro Ala Ala Val Thr	
	1 5 10	
	<210>	97
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
[0096]	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	97
	Ser Leu Asn Trp Val Thr Ile Pro Gly Pro Lys Ile	
	1 5 10	
	<210>	98
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	98
	Thr Asp Met Gln Ala Pro Thr Lys Ser Tyr Ser Asn	
	1 5 10	
	<210>	99
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体

<400> 99

Thr Ile Met Thr Lys Ser Pro Ser Leu Ser Cys Gly
1 5 10

<210> 100

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 100

Thr Pro Ala Leu Asp Gly Leu Arg Gln Pro Leu Arg
1 5 10

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0097]

<400> 101

Thr Tyr Pro Ala Ser Arg Leu Pro Leu Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 102

Ala Lys Thr His Lys His Pro Ala Pro Ser Tyr Ser
1 5 10

<210> 103

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 103

Thr Asp Pro Thr Pro Phe Ser Ile Ser Pro Glu Arg
1 5 10

<210> 104

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 104

Ser Gln Asn Trp Gln Asp Ser Thr Ser Tyr Ser Asn
1 5 10

<210> 105

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0098] <400> 105

Trp His Asp Lys Pro Gln Asn Ser Ser Lys Ser Thr
1 5 10

<210> 106

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 106

Leu Asp Val Glu Ser Tyr Lys Gly Thr Ser Met Pro
1 5 10

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 107

Asn Thr Pro Lys Glu Asn Trp
1 5

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 108

Asn Thr Pro Ala Ser Asn Arg
1 5

<210> 109
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 109

[0099]

Pro Arg Gly Met Leu Ser Thr
1 5

<210> 110
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 110

Pro Pro Thr Tyr Leu Ser Thr
1 5

<210> 111
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 111

Thr Ile Pro Thr His Arg Gln His Asp Tyr Arg Ser
1 5 10

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 112

Thr Pro Pro Thr His Arg Leu
1 5

<210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 113

[0100] Leu Pro Thr Met Ser Thr Pro
1 5

<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 114

Leu Gly Thr Asn Ser Thr Pro
1 5

<210> 115
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 115

Thr Pro Leu Thr Gly Ser Thr Asn Leu Leu Ser Ser

	1	5	10
	<p><210> 116 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 116</p> <p>Thr Pro Leu Thr Lys Glu Thr 1 5</p>		
	<p><210> 117 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 117</p> <p>Lys Gln Ser His Asn Pro Pro 1 5</p>		
[0101]	<p><210> 118 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 118</p> <p>Gln Gln Ser His Asn Pro Pro 1 5</p>		
	<p><210> 119 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 119</p> <p>Thr Gln Pro His Asn Pro Pro 1 5</p>		

<210> 120
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 120

Ser Thr Asn Leu Leu Arg Thr Ser Thr Val His Pro
1 5 10

<210> 121
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 121

His Thr Gln Pro Ser Tyr Ser Ser Thr Asn Leu Phe
1 5 10

[0102]

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 122

Ser Leu Leu Ser Ser His Ala
1 5

<210> 123
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 123

Gln Gln Ser Ser Ile Ser Leu Ser Ser His Ala Val
1 5 10

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 124

Asn Ala Ser Pro Ser Ser Leu
1 5

<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 125

His Ser Pro Ser Ser Leu Arg
1 5

[0103]

<210> 126
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (2)..(2)
<223> X = H、R或N

<220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (2)..(2)
<223> X = His、Arg或Asn

<400> 126

Lys Xaa Ser His His Thr His
1 5

<210> 127
<211> 7
<212> PRT

- <213> 人工序列
- <220>
<223> 合成构建体
- <220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (2).. (2)
<223> X = H、R或N
- <220>
<221> 尚未归类的特性
<222> (2).. (2)
<223> X = His、Arg或Asn
- <400> 127
- Glu Xaa Ser His His Thr His
1 5
- <210> 128
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
- [0104] <220>
<223> 合成构建体
- <400> 128
- Ser His His Thr His Tyr Gly Gln Pro Gly Pro Val
1 5 10
- <210> 129
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 合成构建体
- <400> 129
- Leu Glu Ser Thr Ser Leu Leu
1 5
- <210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 合成构建体

<400> 130

Asp Leu Thr Leu Pro Phe His
1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 131

Arg Thr Asn Ala Ala Asp His Pro
1 5

<210> 132

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0105]

<400> 132

Ile Pro Trp Trp Asn Ile Arg Ala Pro Leu Asn Ala
1 5 10

<210> 133

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 133

Glu Gln Ile Ser Gly Ser Leu Val Ala Ala Pro Trp Glu Gly Glu Gly
1 5 10 15

Glu Arg

<210> 134

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成毛发结合肽

<400> 134

Thr Pro Pro Glu Leu Leu His Gly Ala Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 135

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 135

Leu Asp Thr Ser Phe His Gln Val Pro Phe His Gln Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Lys Asp

[0106]

<210> 136

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 136

Glu Gln Ile Ser Gly Ser Leu Val Ala Ala Pro Trp Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Lys Asp

<210> 137

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 137

Thr Pro Pro Glu Leu Leu His Gly Asp Pro Arg Ser Lys Arg Lys Arg

1 5 10 15

Lys Asp

<210> 138
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 138

Asn Thr Ser Gln Leu Ser Thr Glu Gly Glu Gly Glu Asp
1 5 10

<210> 139
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0107]

<400> 139

Thr Pro Pro Glu Leu Leu His Gly Asp Pro Arg Ser Cys
1 5 10

<210> 140
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成毛发结合肽

<400> 140

His Ile Asn Lys Thr Asn Pro His Gln Gly Asn His His Ser Glu Lys
1 5 10 15

Thr Gln Arg Gln
20

<210> 141
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 141

His	Ala	His	Lys	Asn	Gln	Lys	Glu	Thr	His	Gln	Arg	His	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 142

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 142

His	Glu	His	Lys	Asn	Gln	Lys	Glu	Thr	His	Gln	Arg	His	Ala	Ala
1				5					10					15

<210> 143

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

[0108]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 143

His	Asn	His	Met	Gln	Glu	Arg	Tyr	Thr	Glu	Pro	Gln	His	Ser	Pro	Ser
1				5					10					15	

Val	Asn	Gly	Leu
			20

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 144

Thr	His	Ser	Thr	His	Asn	His	Gly	Ser	Pro	Arg	His	Thr	Asn	Ala	Asp
1				5					10					15	

Ala

<210> 145
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成毛发结合肽

<400> 145

Gly Ser Cys Val Asp Thr His Lys Ala Asp Ser Cys Val Ala Asn Asn
1 5 10 15

Gly Pro Ala Thr
20

<210> 146
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成毛发结合肽

[0109]

<400> 146

Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala
1 5 10 15

Pro Gln Arg Tyr
20

<210> 147
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 147

Ala Gln Ser Gln Leu Pro Ala Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala
1 5 10 15

Pro Gln Arg Tyr
20

<210> 148
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 148

Ala Gln Ser Gln Leu Pro Glu Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala
1 5 10 15

Pro Gln Arg Tyr
20

<210> 149
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成毛发结合肽

<400> 149

[0110] Thr Asp Met Met His Asn His Ser Asp Asn Ser Pro Pro His Arg Arg
1 5 10 15

Ser Pro Arg Asn
20

<210> 150
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成毛发结合肽

<400> 150

Thr Pro Pro Glu Leu Ala His Thr Pro His His Leu Ala Gln Thr Arg
1 5 10 15

Leu Thr Asp Arg
20

<210> 151
<211> 12
<212> PRT

	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	151
	Arg Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Leu	
	1 5 10	
	<210>	152
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	152
	Thr Pro Pro Glu Leu Leu His Gly Glu Pro Arg Ser	
	1 5 10	
	<210>	153
	<211>	12
	<212>	PRT
[0111]	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	153
	Thr Pro Pro Glu Leu Leu His Gly Ala Pro Arg Ser	
	1 5 10	
	<210>	154
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	154
	Glu Gln Ile Ser Gly Ser Leu Val Ala Ala Pro Trp	
	1 5 10	
	<210>	155
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 155

Asn Glu Val Pro Ala Arg Asn Ala Pro Trp Leu Val
1 5 10

<210> 156

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 156

Asn Ser Pro Gly Tyr Gln Ala Asp Ser Val Ala Ile Gly
1 5 10

<210> 157

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

[0112]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 157

Ala Lys Pro Ile Ser Gln His Leu Gln Arg Gly Ser
1 5 10

<210> 158

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 158

Leu Asp Thr Ser Phe Pro Pro Val Pro Phe His Ala
1 5 10

<210> 159

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 159

Ser	Leu	Asn	Trp	Val	Thr	Ile	Pro	Gly	Pro	Lys	Ile
1				5					10		

<210> 160

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 160

Thr	Gln	Asp	Ser	Ala	Gln	Lys	Ser	Pro	Ser	Pro	Leu
1				5					10		

<210> 161

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

[0113]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 161

Lys	Glu	Leu	Gln	Thr	Arg	Asn	Val	Val	Gln	Arg	Glu
1				5					10		

<210> 162

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 162

Gln	Arg	Asn	Ser	Pro	Pro	Ala	Met	Ser	Arg	Arg	Asp
1				5					10		

<210> 163

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 163

Thr Pro Thr Ala Asn Gln Phe Thr Gln Ser Val Pro
1 5 10

<210> 164

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 164

Ala Ala Gly Leu Ser Gln Lys His Glu Arg Asn Arg
1 5 10

<210> 165

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0114] <223> 合成构建体

<400> 165

Glu Thr Val His Gln Thr Pro Leu Ser Asp Arg Pro
1 5 10

<210> 166

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 166

Lys Asn Phe Pro Gln Gln Lys Glu Phe Pro Leu Ser
1 5 10

<210> 167

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 167

Leu Pro Ala Leu His Ile Gln Arg His Pro Arg Met
1 5 10

<210> 168

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 168

Gln Pro Ser His Ser Gln Ser His Asn Leu Arg Ser
1 5 10

<210> 169

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0115]

<400> 169

Arg Gly Ser Gln Lys Ser Lys Pro Pro Arg Pro Pro
1 5 10

<210> 170

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 170

Thr His Thr Gln Lys Thr Pro Leu Leu Tyr Tyr His
1 5 10

<210> 171

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 171

Thr Lys Gly Ser Ser Gln Ala Ile Leu Lys Ser Thr
1 5 10

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 172

Thr Ala Ala Thr Thr Ser Pro
1 5

<210> 173

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0116]

<400> 173

Leu Gly Ile Pro Gln Asn Leu
1 5

<210> 174

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 174

Thr His Ser Thr His Asn His Gly Ser Pro Arg His Thr Asn Ala Asp
1 5 10 15

Ala Gly Asn Pro
20

<210> 175

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 175

Gln	Gln	His	Lys	Val	His	His	Gln	Asn	Pro	Asp	Arg	Ser	Thr	Gln	Asp
1				5					10					15	

Ala	His	His	Ser
			20

<210> 176

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 176

His	His	Gly	Thr	His	His	Asn	Ala	Thr	Lys	Gln	Lys	Asn	His	Val
1				5					10					15

[0117]

<210> 177

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 177

Ser	Thr	Leu	His	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gln	Asp	Pro	Thr	Pro	His	His
1				5					10					15

<210> 178

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 178

Ser	Val	Ser	Val	Gly	Met	Lys	Pro	Ser	Pro	Arg	Pro
1				5					10		

<210> 179

<211> 12

	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成毛发结合肽
	<400>	179
	Thr Pro Pro Thr Asn Val Leu Met Leu Ala Thr Lys	
	1 5 10	
	<210>	180
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	180
	Thr Pro Pro Glu Leu Leu His Gly Asp Pro Arg Ser	
	1 5 10	
[0118]	<210>	181
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成毛发结合肽
	<400>	181
	Asn Thr Ser Gln Leu Ser Thr	
	1 5	
	<210>	182
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	182
	Ser Thr Leu His Lys Tyr Lys Ser Gln Asp Pro Thr Pro His His	
	1 5 10 15	
	<210>	183
	<211>	12
	<212>	PRT

	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成毛发结合肽
	<400>	183
	Gly Met Pro Ala Met His Trp Ile His Pro Phe Ala	
	1 5 10	
	<210>	184
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成毛发结合肽
	<400>	184
	His Asp His Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala Ala	
	1 5 10 15	
[0119]	<210>	185
	<211>	20
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	185
	His Asn His Met Gln Glu Arg Tyr Thr Asp Pro Gln His Ser Pro Ser	
	1 5 10 15	
	Val Asn Gly Leu	
		20
	<210>	186
	<211>	20
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成毛发结合肽
	<400>	186
	Thr Ala Glu Ile Gln Ser Ser Lys Asn Pro Asn Pro His Pro Gln Arg	
	1 5 10 15	

Ser Trp Thr Asn
20

<210> 187
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 187

Ser Ser Ala Asp Phe Ala Ser Phe Gly Phe Phe Gly Phe Ser Ala Ala
1 5 10 15

Ser Ala Asp Ser Arg
20

<210> 188
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

[0120] <220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 188

Ser Ser Phe Ala Glu Ala Trp Ser Arg Ala Trp Pro Arg Ala Glu Val
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ser Arg Gly Tyr
20

<210> 189
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 189

Ser Ser Phe Ser Val Asn Glu Pro His Ala Trp Met Ala Pro Leu Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 190

Ser Ser Phe Ser Trp Val Tyr Gly His Gly Gly Leu Gly Phe Ala Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 191

[0121] Ser Ser Phe Val Ser Trp Ser Pro Tyr Lys Ser Pro Pro Glu Leu Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 192
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 192

Ser Ser Phe Tyr Gly Ser Ser Ala Phe Val Ser Ser Gly Val Ser Val
1 5 10 15

Ala Tyr Gly Ser Arg
20

<210> 193
<211> 21

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 193

Ser Ser Gly Ser Val Ala Val Ser Ala Glu Ala Ser Trp Phe Ser Gly
1 5 10 15

Val Ala Ala Ser Arg
20

<210> 194
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 194

[0122] Ser Ser His Asp Glu His Tyr Gln Tyr His Tyr Tyr Ser Ser Arg
1 5 10 15

<210> 195
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 195

Ser Ser His Tyr Tyr Tyr Asn Asp Tyr Asp His Gln Ser Ser Arg
1 5 10 15

<210> 196
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 196

Ser Ser Leu Phe Asn Met Tyr Gly His Gln Ser Val Leu Gly Pro Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 197
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 197

Ser Ser Leu Phe Ser Asp Val His Tyr Gly Ser Asn Lys Ala Leu Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 198
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0123] <220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 198

Ser Ser Leu Leu Ser Asp Phe His Tyr Gly Asp Met Trp Asp Ala Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 199
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 199

Ser Ser Asn Tyr Asn Tyr Asn Tyr Asn Tyr Gln Tyr Ser Ser Arg
1 5 10 15

<210> 200
<211> 21

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 200

Ser Ser Asn Tyr Asn Tyr Asn Tyr Asn Tyr Gln Tyr Ser Ser Arg Glu
1 5 10 15

Gly Glu Gly Glu Arg
20

<210> 201
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 201

Ser Ser Asn Tyr Asn Tyr Asn Tyr Asn Tyr Gln Tyr Ser Ser Arg Lys
1 5 10 15

[0124]

Arg Lys Arg Lys Asp
20

<210> 202
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 202

Ser Ser Gln Tyr Tyr Gln Asp Tyr Gln Tyr Tyr His Ser Ser Arg
1 5 10 15

<210> 203
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 203

Ser Ser Ser Cys Met Gly Ser His Asn Pro Arg Met Ser Val Glu Glu
1 5 10 15

Ser Thr Arg Asn Cys Ser Arg
20

<210> 204
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 204

Ser Ser Ser Cys Asn Asn Asn Trp Phe Tyr Ser Ser Thr Leu Pro Gly
1 5 10 15

Gly Asp His Ala Cys Ser Arg
20

[0125] <210> 205
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 205

Ser Ser Ser Cys Tyr Asp Val Glu Cys Ser Ser Phe Val Ala Trp Met
1 5 10 15

Arg Gly Pro Ser Ser Ser Arg
20

<210> 206
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 206

Ser Ser Ser Phe Ala Ala Ser Ser Ala Phe Ser Phe Leu Val Asp Ala
1 5 10 15

Val Ala Trp Ser Arg
20

<210> 207
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 207

Ser Ser Ser Phe Ala Tyr Leu Val Pro Asp Asp Gly Trp Leu Ser Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 208
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

[0126] <220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 208

Ser Ser Ser Gly Ala Val Phe Ser Ser Gly Gly Ala Asp Ala Gly Trp
1 5 10 15

Gly Val Trp Ser Arg
20

<210> 209
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 209

Ser Ser Ser Ser Ala Asp Ala Ala Tyr Gly His Cys Cys Gly Ala Gly
1 5 10 15

Phe Ser Thr Phe Ser Ser Arg

20

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

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 210

Ser Ser Ser Ser Asp Val His Asn Ser Ile Ile Gly Trp Asp Phe Tyr
1 5 10 15

His Ser Arg Gly Ser Ser Arg
20

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

[0127] <220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 211

Ser Ser Ser Ser Leu Asp Phe Phe Ser Tyr Ser Ala Phe Ser Gly Gly
1 5 10 15

Val Ala Glu Ser Arg
20

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

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 212

Ser Ser Ser Ser Asn Asp Ser Asn Val Ser Trp Phe His Tyr Tyr Ala
1 5 10 15

Ser Gly Leu Thr Ser Ser Arg
20

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

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 213

Ser Ser Val Asp Tyr Glu Val Pro Leu Ala Val Ala Ala Glu Trp Gly
1 5 10 15

Phe Ser Val Ser Arg
20

<210> 214
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 214

[0128] Ser Ser Tyr His Tyr Asp Tyr Asp His Tyr Tyr Glu Ser Ser Arg
1 5 10 15

<210> 215
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 215

Ser Ser Tyr Tyr Asn Tyr His Tyr Gln Tyr Gln Asp Ser Ser Arg
1 5 10 15

<210> 216
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 染色毛发结合肽

<400> 216

Ser Ser Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Arg

	1	5	10	15
	<210>	217		
	<211>	12		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	合成构建体		
	<400>	217		
	Lys Arg Gly Arg His Lys Arg Pro Lys Arg His Lys			
	1	5	10	
	<210>	218		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	合成构建体		
	<400>	218		
[0129]	Arg Leu Leu Arg Leu Leu Arg			
	1	5		
	<210>	219		
	<211>	12		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	合成构建体		
	<400>	219		
	His Lys Pro Arg Gly Gly Arg Lys Lys Ala Leu His			
	1	5	10	
	<210>	220		
	<211>	18		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	合成构建体		
	<400>	220		
	Lys Pro Arg Pro Pro His Gly Lys Lys His Arg Pro Lys His Arg Pro			
	1	5	10	15

Lys Lys

<210> 221
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 221

Arg Gly Arg Pro Lys Lys Gly His Gly Lys Arg Pro Gly His Arg Ala
1 5 10 15

Arg Lys

<210> 222
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

[0130]

<220>
<223> 合成构建体

<400> 222

Thr Pro Phe His Ser Pro Glu Asn Ala Pro Gly Ser
1 5 10

<210> 223
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 223

Thr Pro Phe His Ser Pro Glu Asn Ala Pro Gly Ser Lys
1 5 10

<210> 224
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 224

Thr	Pro	Phe	His	Ser	Pro	Glu	Asn	Ala	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser
1				5					10					15	

<210> 225

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 225

Thr	Pro	Phe	His	Ser	Pro	Glu	Asn	Ala	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser
1				5					10					15	

Ser

[0131]

<210> 226

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 226

Thr	Pro	Phe	His	Ser	Pro	Glu	Asn	Ala	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
1				5					10					15

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 227

Phe	Thr	Gln	Ser	Leu	Pro	Arg
1				5		

<210> 228

<211> 12

	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	228
	Lys Gln Ala Thr Phe Pro Pro Asn Pro Thr Ala Tyr	
	1 5 10	
	<210>	229
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	229
	His Gly His Met Val Ser Thr Ser Gln Leu Ser Ile	
	1 5 10	
[0132]	<210>	230
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	230
	Leu Ser Pro Ser Arg Met Lys	
	1 5	
	<210>	231
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	231
	Leu Pro Ile Pro Arg Met Lys	
	1 5	
	<210>	232
	<211>	7
	<212>	PRT

	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	232
	His Gln Arg Pro Tyr Leu Thr	
	1	5
	<210>	233
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	233
	Phe Pro Pro Leu Leu Arg Leu	
	1	5
	<210>	234
	<211>	7
	<212>	PRT
[0133]	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	234
	Gln Ala Thr Phe Met Tyr Asn	
	1	5
	<210>	235
	<211>	11
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	235
	Val Leu Thr Ser Gln Leu Pro Asn His Ser Met	
	1	5 10
	<210>	236
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 236

His Ser Thr Ala Tyr Leu Thr
1 5

<210> 237

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 237

Ala Pro Gln Gln Arg Pro Met Lys Thr Phe Asn Thr
1 5 10

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

[0134]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 238

Ala Pro Gln Gln Arg Pro Met Lys Thr Val Gln Tyr
1 5 10

<210> 239

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 239

Pro Pro Trp Leu Asp Leu Leu
1 5

<210> 240

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 240

Pro Pro Trp Thr Phe Pro Leu
1 5

<210> 241

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 241

Ser Val Thr His Leu Thr Ser
1 5

<210> 242

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0135]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 242

Val Ile Thr Arg Leu Thr Ser
1 5

<210> 243

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 243

Asp Leu Lys Pro Pro Leu Leu Ala Leu Ser Lys Val
1 5 10

<210> 244

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

	<223>	合成构建体
	<400>	244
	Ser His Pro Ser Gly Ala Leu Gln Glu Gly Thr Phe	
	1	5 10
	<210>	245
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	245
	Phe Pro Leu Thr Ser Lys Pro Ser Gly Ala Cys Thr	
	1	5 10
	<210>	246
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
[0136]	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	246
	Asp Leu Lys Pro Pro Leu Leu Ala Leu Ser Lys Val	
	1	5 10
	<210>	247
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	247
	Pro Leu Leu Ala Leu His Ser	
	1	5
	<210>	248
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体

<400> 248

Val Pro Ile Ser Thr Gln Ile
1 5

<210> 249

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 249

Tyr Ala Lys Gln His Tyr Pro Ile Ser Thr Phe Lys
1 5 10

<210> 250

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0137]

<400> 250

His Ser Thr Ala Tyr Leu Thr
1 5

<210> 251

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 251

Ser Thr Ala Tyr Leu Val Ala Met Ser Ala Ala Pro
1 5 10

<210> 252

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 252

Ser Val Ser Val Gly Met Lys Pro Ser Pro Arg Pro
1 5 10

<210> 253

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 253

Thr Met Gly Phe Thr Ala Pro Arg Phe Pro His Tyr
1 5 10

<210> 254

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0138] <400> 254

Asn Leu Gln His Ser Val Gly Thr Ser Pro Val Trp
1 5 10

<210> 255

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 255

Gln Leu Ser Tyr His Ala Tyr Pro Gln Ala Asn His His Ala Pro
1 5 10 15

<210> 256

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 256

Asn Gln Ala Ala Ser Ile Thr Lys Arg Val Pro Tyr
1 5 10

<210> 257
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 257

Ser Gly Cys His Leu Val Tyr Asp Asn Gly Phe Cys Asp His
1 5 10

<210> 258
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 258

[0139]

Ala Ser Cys Pro Ser Ala Ser His Ala Asp Pro Cys Ala His
1 5 10

<210> 259
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 259

Asn Leu Cys Asp Ser Ala Arg Asp Ser Pro Arg Cys Lys Val
1 5 10

<210> 260
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 260

Asn His Ser Asn Trp Lys Thr Ala Ala Asp Phe Leu
1 5 10

<210> 261
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 261

Gly Ser Ser Thr Val Gly Arg Pro Leu Ser Tyr Glu
1 5 10

<210> 262
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 262

[0140] Ser Asp Thr Ile Ser Arg Leu His Val Ser Met Thr
1 5 10

<210> 263
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 263

Ser Pro Leu Thr Val Pro Tyr Glu Arg Lys Leu Leu
1 5 10

<210> 264
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 264

Ser Pro Tyr Pro Ser Trp Ser Thr Pro Ala Gly Arg

	1	5	10
	<p><210> 265 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 265</p> <p>Val Gln Pro Ile Thr Asn Thr Arg Tyr Glu Gly Gly 1 5 10</p>		
	<p><210> 266 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 266</p>		
[0141]	<p>Trp Pro Met His Pro Glu Lys Gly Ser Arg Trp Ser 1 5 10</p>		
	<p><210> 267 <211> 14 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 267</p> <p>Asp Ala Cys Ser Gly Asn Gly His Pro Asn Asn Cys Asp Arg 1 5 10</p>		
	<p><210> 268 <211> 14 <212> PRT <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 合成构建体</p> <p><400> 268</p> <p>Asp His Cys Leu Gly Arg Gln Leu Gln Pro Val Cys Tyr Pro 1 5 10</p>		

<210> 269
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 269

Asp Trp Cys Asp Thr Ile Ile Pro Gly Arg Thr Cys His Gly
1 5 10

<210> 270
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 270

Ala Leu Pro Arg Ile Ala Asn Thr Trp Ser Pro Ser
1 5 10

[0142]

<210> 271
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 271

Tyr Pro Ser Phe Ser Pro Thr Tyr Arg Pro Ala Phe
1 5 10

<210> 272
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 272

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

Asp Pro His Ala
20

<210> 273
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 273

Ala Ser Val Ser Asn Tyr Pro Pro Ile His His Leu Ala Thr Ser Asn
1 5 10 15

Thr Thr Val Asn
20

<210> 274
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

[0143] <220>
<223> 合成构建体

<400> 274

Asp Glu Cys Met Glu Pro Leu Asn Ala Ala His Cys Trp Arg
1 5 10

<210> 275
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 275

Asp Glu Cys Met His Gly Ser Asp Val Glu Phe Cys Thr Ser
1 5 10

<210> 276
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 276

Asp Leu Cys Ser Met Gln Met Met Asn Thr Gly Cys His Tyr
1 5 10

<210> 277

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 277

Asp Leu Cys Ser Ser Pro Ser Thr Trp Gly Ser Cys Ile Arg
1 5 10

<210> 278

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

[0144]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 278

Asp Pro Asn Glu Ser Asn Tyr Glu Asn Ala Thr Thr Val Ser Gln Pro
1 5 10 15

Thr Arg His Leu
20

<210> 279

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 279

Glu Pro Thr His Pro Thr Met Arg Ala Gln Met His Gln Ser Leu Arg
1 5 10 15

Ser Ser Ser Pro
20

<210> 280
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 280

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

Gln His Lys Trp
20

<210> 281
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 281

[0145]

Asn Gly Pro Asp Met Val Gln Ser Val Gly Lys His Lys Asn Ser
1 5 10 15

<210> 282
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 282

Asn Gly Pro Glu Val Arg Gln Ile Pro Ala Asn Phe Glu Lys Leu
1 5 10 15

<210> 283
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 283

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

Leu Ser Met Ser
20

<210> 284
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 284

Asn Asn Thr Trp Pro Glu Gly Ala Gly His Thr Met Pro Ser Thr Asn
1 5 10 15

Ile Arg Gln Ala
20

[0146] <210> 285
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 285

Asn Pro Thr Ala Thr Pro His Met Lys Asp Pro Met His Ser Asn Ala
1 5 10 15

His Ser Ser Ala
20

<210> 286
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 286

Asn Pro Thr Asp His Ile Pro Ala Asn Ser Thr Asn Ser Arg Val Ser
1 5 10 15

Lys Gly Asn Thr
20

<210> 287
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 287

Asn Pro Thr Asp Ser Thr His Met Met His Ala Arg Asn His Glu
1 5 10 15

<210> 288
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 288

[0147]

Gln His Cys Ile Thr Glu Arg Leu His Pro Pro Cys Thr Lys
1 5 10

<210> 289
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 289

Thr Pro Cys Ala Pro Ala Ser Phe Asn Pro His Cys Ser Arg
1 5 10

<210> 290
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 290

Thr Pro Cys Ala Thr Tyr Pro His Phe Ser Gly Cys Arg Ala
1 5 10

<210> 291
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 291

Trp Cys Thr Asp Phe Cys Thr Arg Ser Thr Pro Thr Ser Thr Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Thr Ser
20

<210> 292
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

[0148] <220>
<223> 合成构建体

<400> 292

Ala Pro Pro Leu Lys Thr Tyr Met Gln Glu Arg Glu Leu Thr Met Ser
1 5 10 15

Gln Asn Lys Asp
20

<210> 293
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 293

Glu Pro Pro Thr Arg Thr Arg Val Asn Asn His Thr Val Thr Val Gln
1 5 10 15

Ala Gln Gln His
20

<210> 294
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 294

Gly Tyr Cys Leu Arg Gly Asp Glu Pro Ala Val Cys Ser Gly
1 5 10

<210> 295
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 295

Leu Ser Ser Lys Asp Phe Gly Val Thr Asn Thr Asp Gln Arg Thr Tyr
1 5 10 15

[0149]

Asp Tyr Thr Thr
20

<210> 296
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 296

Asn Phe Cys Glu Thr Gln Leu Asp Leu Ser Val Cys Thr Val
1 5 10

<210> 297
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 297

Asn Thr Cys Gln Pro Thr Lys Asn Ala Thr Pro Cys Ser Ala
1 5 10

<210> 298
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 298

Pro Ser Glu Pro Glu Arg Arg Asp Arg Asn Ile Ala Ala Asn Ala Gly
1 5 10 15

Arg Phe Asn Thr
20

<210> 299
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

[0150] <220>
<223> 合成构建体

<400> 299

Thr His Asn Met Ser His Phe Pro Pro Ser Gly His Pro Lys Arg Thr
1 5 10 15

Ala Thr

<210> 300
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 300

Thr Thr Cys Pro Thr Met Gly Thr Tyr His Val Cys Trp Leu
1 5 10

<210> 301
<211> 20
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 301

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

Gly	Tyr	Ser	His
			20

<210> 302

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 302

Ala	Ala	Asn	Pro	His	Thr	Glu	Trp	Asp	Arg	Asp	Ala	Phe	Gln	Leu	Ala
1				5					10					15	

[0151]

Met	Pro	Pro	Lys
			20

<210> 303

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 303

Asp	Leu	His	Pro	Met	Asp	Pro	Ser	Asn	Lys	Arg	Pro	Asp	Asn	Pro	Ser
1				5					10					15	

Asp	Leu	His	Thr
			20

<210> 304

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 304

Glu Ser Cys Val Ser Asn Ala Leu Met Asn Gln Cys Ile Tyr
1 5 10

<210> 305

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 305

His Asn Lys Ala Asp Ser Trp Asp Pro Asp Leu Pro Pro His Ala Gly
1 5 10 15

Met Ser Leu Gly
20

[0152]

<210> 306

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 306

Leu Asn Asp Gln Arg Lys Pro Gly Pro Pro Thr Met Pro Thr His Ser
1 5 10 15

Pro Ala Val Gly
20

<210> 307

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 307

Asn Thr Cys Ala Thr Ser Pro Asn Ser Tyr Thr Cys Ser Asn
1 5 10

<210> 308
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 308

Ser Asp Cys Thr Ala Gly Leu Val Pro Pro Leu Cys Ala Thr
1 5 10

<210> 309
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 309

Thr Ile Glu Ser Ser Gln His Ser Arg Thr His Gln Gln Asn Tyr Gly
1 5 10 15

[0153]

Ser Thr Lys Thr
20

<210> 310
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 310

Val Gly Thr Met Lys Gln His Pro Thr Thr Thr Gln Pro Pro Arg Val
1 5 10 15

Ser Ala Thr Asn
20

<210> 311
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 311

Tyr Ser Glu Thr Pro Asn Asp Gln Lys Pro Asn Pro His Tyr Lys Val
1 5 10 15

Ser Gly Thr Lys
20

<210> 312

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 312

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

Gly Ser Phe Ala
20

[0154]

<210> 313

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 313

Thr Met Thr Asn His Val Tyr Asn Ser Tyr Thr Glu Lys His Ser Ser
1 5 10 15

Thr His Arg Ser
20

<210> 314

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 314

Thr Thr Tyr His Tyr Lys Asn Ile Tyr Gln Glu Ser Tyr Gln Gln Arg
1 5 10 15

Asn Pro Ala Val
20

<210> 315
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 315

Val Glu Pro Ala Thr Lys Asn Met Arg Glu Ala Arg Ser Ser Thr Gln
1 5 10 15

Met Arg Arg Ile
20

[0155] <210> 316
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 316

Tyr Leu Leu Pro Lys Asp Gln Thr Thr Ala Pro Gln Val Thr Pro Ile
1 5 10 15

Val Gln His Lys
20

<210> 317
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 317

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

Cys Thr

<210> 318
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 318

Glu	Phe	Pro	Tyr	Tyr	Asn	Asp	Asn	Pro	Pro	Asn	Pro	Glu	Arg	His	Thr
1				5					10					15	

Leu Arg

<210> 319
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

[0156] <220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 319

Gly	Met	Pro	Thr	Arg	Tyr	Tyr	His	Asn	Thr	Pro	Pro	His	Leu	Thr	Pro
1				5					10					15	

Lys Phe

<210> 320
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 320

His	Lys	Asn	Ala	Ile	Gln	Pro	Val	Asn	Asp	Ala	Thr	Thr	Leu	Asp	Thr
1				5					10					15	

Thr Met

<210> 321
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 321

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

<210> 322
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 322

Asp	Leu	Gly	Thr	Phe	Pro	Asn	Arg	Thr	Leu	Lys	Met	Ala	Ala	His
1				5					10					15

[0157]

<210> 323
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 323

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

<210> 324
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 324

Gln	Ala	Ala	Gln	Val	His	Met	Met	Gln	His	Ser	Arg	Pro	Thr	Thr
1				5					10					15

<210> 325
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 325

Ser Glu Ala Arg Ala Arg Thr Phe Asn Asp His Thr Thr Pro Met Pro
1 5 10 15

Ile Ile

<210> 326
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 326

[0158]

Glu Leu Asp His Asp Ser Arg His Tyr Met Asn Gly Leu Gln Arg Lys
1 5 10 15

Val Thr

<210> 327
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 327

Gly Pro Gln His Val Leu Met Gln Asp Thr His Gln Gly Tyr Ala Phe
1 5 10 15

Asp Asn

<210> 328

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 328

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

Val Pro Ala His
20

<210> 329
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 329

[0159] Lys Ala Pro Ile Ala Asn Met Leu Gln Pro His Ser Tyr Gln Tyr Ser
1 5 10 15

Val Ala

<210> 330
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 330

Thr Tyr Gln Gly Val Pro Ser Trp Pro Ala Val Ile Asp Asp Ala Ile
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 331
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 331

Val	Asn	Pro	Asn	Trp	Val	Glu	Thr	Gln	Ala	Leu	His	Gln	Pro	Pro	Gly
1				5					10					15	

Asn Thr

<210> 332

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 332

Asp	His	Asn	Asn	Arg	Gln	His	Ala	Val	Glu	Val	Arg	Glu	Asn	Lys	Thr
1				5					10					15	

[0160]

His Thr Ala Arg
20

<210> 333

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 333

Ile	Tyr	Pro	Asn	Glu	Ser	Met	Ser	Thr	Ser	Asn	Val	Arg	Gly	Pro	Tyr
1				5					10					15	

His Pro

<210> 334

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 334

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

Ala Asn His Thr
20

<210> 335

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 335

Ser Asn Ala Thr Met Tyr Asn Ile Gln Ser His Ser His His Gln
1 5 10 15

<210> 336

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 336

Ala Asn Glu Leu Ser Thr Tyr Ala Gln Thr Asn Pro Gly Ser Gly
1 5 10 15

<210> 337

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 337

Asp Thr Ile His Pro Asn Lys Met Lys Ser Pro Ser Ser Pro Leu
1 5 10 15

<210> 338

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

[0161]

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 338

Ala Pro Pro Thr Tyr Gln Thr Ala Ser Tyr Pro His Asn Leu Pro Ser
1 5 10 15

Lys Arg Lys Met
20

<210> 339

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 339

Gln Val Pro Asp Tyr Leu Ser Pro Thr His Gln Lys Lys Ala Phe Leu
1 5 10 15

[0162]

Glu Ile Pro Thr
20

<210> 340

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 340

Thr Asn Asp Leu His Ala Asn Pro Phe Thr Gly Thr Tyr Ile Ala Pro
1 5 10 15

Asp Pro Thr Ser
20

<210> 341

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 341

His Lys Asn Glu Asn Ile Met Gln Tyr Asn Val Asn Asp Arg Trp His
1 5 10 15

Ile Thr Pro Ala
20

<210> 342

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 342

Ile Asp Gly Pro His His Ser Pro Val His Arg Tyr His Thr Pro Ser
1 5 10 15

Ile Thr

[0163]

<210> 343

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 343

Ala Ile Glu Tyr Gln His Ser Ala Thr Thr Pro Trp Thr Met Arg Thr
1 5 10 15

Arg Leu Pro Pro
20

<210> 344

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 344

Glu Phe Tyr Pro Phe Ala Glu Val Pro Pro Glu Lys Ser Gly Ile Gly
1 5 10 15

Arg Gln Val Phe
20

<210> 345
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 345

Gly Val His Gln Tyr Ser Arg Pro Thr Val Pro Ser Tyr Leu Trp Thr
1 5 10 15

Ser Gly Gln His
20

[0164] <210> 346
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 346

Gly Tyr Gln Pro His Tyr Val Asp His Thr Ile Gly Trp Gln Pro Met
1 5 10 15

Ile Arg Pro Asn
20

<210> 347
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 347

Gln Phe Asn Gln Thr Ser His Ser Phe Met His Gly Thr Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Val Pro Gly Lys
20

<210> 348
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 348

Ser Phe Ser Trp His Arg Gly Asp Trp Glu Leu Gly His Gln Ser Lys
1 5 10 15

Thr Met Gly Met
20

<210> 349
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

[0165] <220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 349

Ser Met Trp His Asp Ile Thr Lys Arg Tyr Arg Asn Pro Ser Glu Met
1 5 10 15

Val Ser Ala Tyr
20

<210> 350
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 350

Thr His Gly Asn Lys His Gln Ser Trp Thr Tyr Pro Ser Glu Ile Asn
1 5 10 15

His Lys Asn Tyr
20

<210> 351
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 351

Trp His Glu Pro His Gln Phe Ser Gly Glu Asn Thr Asp Tyr Ser Ser
1 5 10 15

Ser Met Gly Thr
20

<210> 352
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

[0166] <400> 352

Thr His Gly Asn Lys His Gln Ser Trp Thr Tyr Pro Ser Glu Ile Asn
1 5 10 15

His Lys Asn Tyr
20

<210> 353
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 353

Asp Gly Tyr Lys Leu Gln Thr Ser Leu Asp Trp Gln Met Trp Asn Pro
1 5 10 15

<210> 354
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 354

Phe	Pro	Ser	Lys	Trp	Tyr	Asn	His	His	Arg	His	Ile	Thr	Gly	His	Val
1				5					10					15	

<210> 355

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 355

Gly	Gly	Met	Gly	Ala	Leu	Glu	Ser	Tyr	Arg	Gln	Trp	Asn	His	Leu	Ala
1				5					10					15	

<210> 356

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

[0167]

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 356

Gly	Ile	Asn	Lys	Gly	Gln	Arg	Pro	Pro	Trp	Glu	Ser	Trp	His	Glu	Asn
1				5					10					15	

<210> 357

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 357

Gly	Tyr	Gly	Gln	Tyr	Val	Ser	Gln	Gln	Thr	Trp	Ala	His	Ser	Asn	Lys
1				5					10					15	

<210> 358

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 358

His	Asp	His	Leu	Ser	Trp	Trp	Gly	Gln	Phe	Asp	Arg	Gln	Asn	Leu	Leu
1				5					10					15	

<210> 359

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 359

Met	Pro	Gly	His	Gln	Glu	Ser	Ile	Lys	Val	Gln	Asn	Trp	Asn	Arg	Val
1				5					10					15	

<210> 360

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0168] <223> 合成口腔表面结合肽

<400> 360

Asn	Leu	His	Ser	Pro	Trp	Pro	Ser	His	Ala	Ala	His	His	Trp	Ser	Thr
1				5					10					15	

<210> 361

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 361

Asn	Gln	Gln	Met	Lys	Leu	Val	Pro	Gln	His	Trp	His	Arg	Ala	Gln	Pro
1				5					10					15	

<210> 362

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成口腔表面结合肽

<400> 362

Ser Glu Lys Trp Phe Asn Pro Gly Pro Trp Pro Lys Leu Ala Thr Gln
1 5 10 15

<210> 363

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 363

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

Ser Tyr Thr Gly Gly Ser Phe Ala Lys
20 25

<210> 364

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 364

Ser Ser Arg Pro Thr Met Thr Asn His Val Tyr Asn Ser Tyr Thr Glu
1 5 10 15

Lys His Ser Ser Thr His Arg Ser Lys
20 25

<210> 365

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 365

Ser Ser Arg Pro Thr Thr Tyr His Tyr Lys Asn Ile Tyr Gln Glu Ser
1 5 10 15

[0169]

Tyr Gln Gln Arg Asn Pro Ala Val Lys
20 25

<210> 366
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 366

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

Ser Ser Thr Gln Met Arg Arg Ile Lys
20 25

<210> 367
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

[0170] <220>
<223> 合成构建体

<400> 367

Ser Ser Arg Pro Tyr Leu Leu Pro Lys Asp Gln Thr Thr Ala Pro Gln
1 5 10 15

Val Thr Pro Ile Val Gln His Lys Lys
20 25

<210> 368
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 368

Ser Ser Arg Pro Glu Phe Pro Tyr Tyr Asn Asp Asn Pro Pro Asn Pro
1 5 10 15

Glu Arg His Thr Leu Arg Lys
20

<210> 369
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 369

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

Ala Ala His Lys
 20

<210> 370
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 370

[0171]

Ser Ser Arg Pro Phe Asp Gly Ile Gly Leu Gly Thr Ala Thr Arg His
 1 5 10 15

Gln Asn Arg Lys
 20

<210> 371
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 371

Ser Ser Arg Pro Gln Ala Ala Gln Val His Met Met Gln His Ser Arg
 1 5 10 15

Pro Thr Thr Lys
 20

<210> 372
 <211> 23

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 372

Ser Ser Arg Pro Ser Glu Ala Arg Ala Arg Thr Phe Asn Asp His Thr
1 5 10 15

Thr Pro Met Pro Ile Ile Lys
20

<210> 373
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 373

[0172] Ser Ser Arg Pro Glu Leu Asp His Asp Ser Arg His Tyr Met Asn Gly
1 5 10 15

Leu Gln Arg Lys Val Thr Lys
20

<210> 374
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 374

Ser Ser Arg Pro Gly Pro Gln His Val Leu Met Gln Asp Thr His Gln
1 5 10 15

Gly Tyr Ala Phe Asp Asn Lys
20

<210> 375
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 375

Ser Ser Arg Pro Thr Thr Gly Ser Ser Ser Gln Ala Asp Thr Ser Ala
1 5 10 15

Ser Met Ser Ile Val Pro Ala His Lys
20 25

<210> 376

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 376

Ser Ser Arg Pro Thr Tyr Gln Gly Val Pro Ser Trp Pro Ala Val Ile
1 5 10 15

[0173]

Asp Asp Ala Ile Arg Arg Lys
20

<210> 377

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 377

Ser Ser Arg Pro Val Asn Pro Asn Trp Val Glu Thr Gln Ala Leu His
1 5 10 15

Gln Pro Pro Gly Asn Thr Lys
20

<210> 378

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 378

Ser Ser Arg Pro Ile Tyr Pro Asn Glu Ser Met Ser Thr Ser Asn Val
1 5 10 15

Arg Gly Pro Tyr His Pro Lys
20

<210> 379

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 379

Ser Ser Arg Pro His Asp Pro Asn His Leu Thr His Gln Ala Arg Thr
1 5 10 15

Ile Tyr Arg Asn Ala Asn His Thr Lys
20 25

[0174]

<210> 380

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 380

Ser Ser Arg Pro Ala Pro Pro Thr Tyr Gln Thr Ala Ser Tyr Pro His
1 5 10 15

Asn Leu Pro Ser Lys Arg Lys Met Lys
20 25

<210> 381

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 381

Ser Ser Arg Pro Gln Val Pro Asp Tyr Leu Ser Pro Thr His Gln Lys

1 5 10 15

Lys Ala Phe Leu Glu Ile Pro Thr Lys
20 25

<210> 382
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 382

Ser Ser Arg Pro His Lys Asn Glu Asn Ile Met Gln Tyr Asn Val Asn
1 5 10 15

Asp Arg Trp His Ile Thr Pro Ala Lys
20 25

[0175] <210> 383
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体 - caspace 3可裂解的接头

<400> 383

Leu Glu Ser Gly Asp Glu Val Asp
1 5

<210> 384
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 384

Thr Ser Thr Ser Lys Ala Ser Thr Thr Thr Thr Ser Ser Lys Thr Thr
1 5 10 15

Thr Thr Ser Ser Lys Thr Thr Thr Thr Thr Ser Lys Thr Ser Thr Thr
20 25 30

Ser Ser Ser Ser Thr
35

<210> 385
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 385

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
1 5 10 15

Gly Leu Gly Gly Gln Gly
20

<210> 386
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0176] <220>
<223> 合成构建体

<400> 386

Gly Pro Gly Gly Tyr Gly Pro Gly Gln Gln
1 5 10

<210> 387
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 387

Gly Gly Ser Gly Pro Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 388
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 388

Gly Gly Pro Lys Lys
1 5

<210> 389

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 389

Gly Pro Gly Val Gly
1 5

<210> 390

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0177]

<400> 390

Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 391

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 391

Gly Gly Gly Cys
1

<210> 392

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 392

Pro His Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Ser
1 5 10

<210> 393

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 393

Gly Pro Glu Glu Ala Ala Lys Lys Glu Glu Ala Ala Lys Lys Pro Ala
1 5 10 15

<210> 394

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0178] <400> 394

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 395

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 395

Gly Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys
1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ile Glu Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Pro Lys Pro Pro Ala
35

<210> 396

[0179]

<211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 396

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
 1 5 10 15

Gly Ser

<210> 397
 <211> 6368
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 397

```

agatctcgat cccgcgaaat taatacgact cactataggg agaccacaac ggtttccctc      60
tagaaataat tttgtttaac ttttaagaagg agatatacat atgcacactc cagaacatat      120
caccgcagta gtacagcggt ttgtggcagc tctgaacgcg ggcgagctgg aaggtattgt      180
ggcgctgttc gcggaagaag ccaccgtgga agaaccggtg ggttctgaac cgcgttccgg      240
caccgcagcc tgccgtgaat tttaacgaaa cagcctgaag ctgccgctgg cggttgaact      300
gacccaagaa tgtcgtgcgg ttgctaacga agccgcttcc gcgttcaccg tgccttcga      360
ataccagggt cgtaagaccg ttgtggcgcc atgcgaacac tttcgtttca acggcgccagg      420
caaagtgggt tccatccgcg cactgttcgg tgaaaagaac atccatgctt gtcagggatc      480
cgatccgact ccgccgacga atgtactgat gctggcaacc aaaggcgggtg gtacgcattc      540
cacgcacaac catggcagcc cgcgccacac gaatgctgac gcaggcaatc cgggcggcgg      600
caccacacca accaatgtcc tgatgctggc tactaaaggc ggcggcacgc attctacca      660
caaccatggt agcccgcgcc atactaatgc agatgccggc aaccggggcg gtggtacccc      720
gccaaccaac gttctgatgc tggcgacgaa aggtggcggt acccattcca cgcataatca      780
tggcagccct cgccacacca acgctgatgc tggtaatcct ggtggcggtg agaagaaata      840
ataaggcgcg ccgaccagc tttcttgtac aaagtgggtg attcgaggt gctaacaaag      900
cccgaagga agctgagttg gctgctgcca ccgctgagca ataactagca taacccttg      960

```

[0180]

gggcctctaa acgggtcttg aggggttttt tgctgaaagg aggaactata tccggatata	1020
cacaggacgg gtgtggtegc catgatcgcg tagtcgatag tggtccaag tagcgaagcg	1080
agcaggactg ggcgggcgcc aaagcggteg gacagtgttc cgagaacggg tgcgcataga	1140
aattgcatca acgcatatag cgctagcagc acgccatagt gactggcgat gctgtcggaa	1200
tggacgatat cccgcaagag gcccggcagt accggcataa ccaagcctat gcctacagca	1260
tccagggtga cgggtccgag gatgacgatg agcgcattgt tagatttcat acacggtgcc	1320
tgactgcgtt agcaatttaa ctgtgataaa ctaccgcatt aaagcttgca gtggcggttt	1380
tcatggcttg ttatgactgt ttttttgggg tacagtctat gcctcgggca tccaagcagc	1440
aagcgcgtta cgccgtgggt cgatgtttga tgttatggag cagcaacgat gttacgcagc	1500
agggcagtcg ccctaaaaca aagttaaaca tcatgaggga agcggtgatc gccgaagtat	1560
cgactcaact atcagaggta gttggcgta tcgagcgcca tctgaaccg acgttgctgg	1620
ccgtacattt gtacggctcc gcagtggatg gcggcctgaa gccacacagt gatattgatt	1680
tgctggttac ggtgaccgta aggcttgatg aaacaacgcg gcgagctttg atcaacgacc	1740
ttttggaac ttcggcttcc cctggagaga gcgagattct ccgcgctgta gaagtcacca	1800
ttgttgtgca cgacgacatc attccgtggc gttatccagc taagcgcgaa ctgcaatttg	1860
gagaatggca gcgcaatgac attcttgcag gtatcttcga gccagccacg atcgacattg	1920
atctggctat cttgctgaca aaagcaagag aacatagcgt tgccttggtg ggtccagcgg	1980
cggaggaact ctttgatccg gttcctgaac aggatctatt tgaggcgcta aatgaaacct	2040
taacgctatg gaactcgccg cccgactggg ctggcgatga gcgaaatgta gtgcttacgt	2100
tgtcccgcat ttggtacagc gcagtaaccg gcaaaatcgc gccgaaggat gtcgctgccg	2160
actgggcaat ggagcgcctg ccggcccagt atcagcccgt catacttgaa gctagacagg	2220
cttatcttgg acaagaagaa gatcgcttgg cctcgcgcgc agatcagttg gaagaatttg	2280
tccactacgt gaaaggcgag atcaccaagg tagtcggcaa ataatgtcta acaattcggt	2340
caagcttata gatgataagc tgtcaaacat gagaattctt gaagacgaaa gggcctcgtg	2400
atacgccat ttttataggt taatgtcatg ataataatgg tttcttagac gtcaggtggc	2460
acttttcggg gaaatgtgcg cggaacccct atttgtttat tttctaaat acattcaa	2520
atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga taaatgttcc aataatattg aaaaaggaag	2580
agtatgagta ttcaacattt ccgtgtcgcc cttattccct tttttcggcg attttgcctt	2640

[0181]

cctgtttttg	ctcaccacaga	aacgctggtg	aaagtaaaag	atgctgaaga	tcagttgggt	2700
gcacgagtgg	gttacatcga	actggatctc	aacagcggta	agatccttga	gagttttcgc	2760
cccgaagaac	gttttccaat	gatgagcact	tttaaagtgc	tgctatgtgg	cgcggtatta	2820
tcccgtgttg	acgccgggca	agagcaactc	ggtcgccgca	tacactattc	tcagaatgac	2880
ttggttgagt	actcaccagt	cacagaaaag	catcttacgg	atggcatgac	agtaagagaa	2940
ttatgcagtg	ctgccataac	catgagtgat	aacactgcgg	ccaacttact	tctgacaacg	3000
atcggaggac	cgaaggagct	aaccgctttt	ttgcacaaca	tgggggatca	tgtaactcgc	3060
cttgatcggt	gggaaccgga	gctgaatgaa	gccataccaa	acgacgagcg	tgacaccacg	3120
atgcctgcag	caatggcaac	aacgttgccg	aaactattaa	ctggcgaact	acttactcta	3180
gcttcccggc	aacaattaat	agactggatg	gaggcggata	aagttgcagg	accacttctg	3240
cgctcggccc	ttccggctgg	ctggttttat	gctgataaat	ctggagccgg	tgagcgtggg	3300
tctcgcggta	tcattgcagc	actggggcca	gatggtaagc	cctcccgtat	cgtagttatc	3360
tacacgacgg	ggagtcaggc	aactatggat	gaacgaaata	gacagatcgc	tgagataggt	3420
gcctcactga	ttaagcattg	gtaactgtca	gaccaagttt	actcatatat	acttttagatt	3480
gatttaaaac	ttcatTTTTA	atttaaaagg	atctaggtga	agatcctttt	tgataatctc	3540
atgaccaaaa	tcccttaacg	tgagttttcg	ttccactgag	cgtcagaccc	cgtagaaaag	3600
atcaaaggat	cttcttgaga	tcctTTTTTT	ctgcgcgtaa	tctgctgctt	gcaaacaaaa	3660
aaaccaccgc	taccagcggg	ggtttgggtg	ccgatcaag	agctaccaac	tctttttccg	3720
aaggttaactg	gcttcagcag	agcgcagata	caaataactg	tccttctagt	gtagccgtag	3780
ttaggccacc	acttcaagaa	ctctgtagca	ccgcctacat	acctcgctct	gctaactctg	3840
ttaccagtgg	ctgctgccag	tggcgataag	tcgtgtctta	ccgggttgga	ctcaagacga	3900
tagttaccgg	ataaggcgca	gcggtcgggc	tgaacggggg	gttcgtgcac	acagcccagc	3960
ttggagcgaa	cgacctacac	cgaactgaga	tacctacagc	gtgagctatg	agaaagcgcc	4020
acgtttcccg	aaggagagaa	ggcggacagg	tatccggtaa	gcggcagggt	cggaacagga	4080
gagcgcacga	gggagcttcc	aggggggaaac	gcctgggtatc	tttatagtcc	tgtcgggttt	4140
cgccacctct	gacttgagcg	tcgatttttg	tgatgctcgt	cagggggggcg	gagcctatgg	4200
aaaaacgcca	gcaacgcggc	cttttttacgg	ttcctggcct	tttgctggcc	ttttgctcac	4260
atgttctttc	ctgcgttatc	ccctgattct	gtggataacc	gtattaccgc	ctttgagtga	4320
gctgataccg	ctcgcgcgag	ccgaacgacc	gagcgcagcg	agtcagttag	cgaggaagcg	4380

[0182]

gaagagcgcc	tgatgcggta	ttttctcctt	acgcatctgt	gcggtatttc	acaccgcata	4440
tatggtgcac	tctcagtaca	atctgctctg	atgccgcata	gttaagccag	tatacactcc	4500
gctatcgcta	cgtgactggg	tcatggctgc	gccccgacac	ccgccaacac	ccgctgacgc	4560
gccctgacgg	gcttgtctgc	tcccggcacc	cgtttacaga	caagctgtga	ccgtctccgg	4620
gagctgcatg	tgtcagaggt	tttcaccgtc	atcaccgaaa	cgcgcgaggc	agctgcggta	4680
aagctcatca	gcgtggctgt	gaagcgattc	acagatgtct	gcctgttcat	ccgcgtccag	4740
ctcgttgagt	ttctccagaa	gcgttaatgt	ctggcttctg	ataaagcggg	ccatgttaag	4800
ggcgggtttt	tcctgtttgg	tactgatgc	ctccgtgtaa	gggggatttc	tgttcatggg	4860
ggtaatgata	ccgatgaaac	gagagaggat	gctcacgata	cgggttactg	atgatgaaca	4920
tgccccgtta	ctggaacgtt	gtgagggtaa	acaactggcg	gtatggatgc	ggcgggacca	4980
gagaaaaatc	actcagggtc	aatgccagcg	cttcgttaat	acagatgtag	gtgttccaca	5040
gggtagccag	cagcatcctg	cgatgcagat	ccggaacata	atggtgcagg	gcgctgactt	5100
ccgcgtttcc	agactttacg	aaacacggaa	accgaagacc	attcatgttg	ttgctcaggt	5160
cgcagacgtt	ttgcagcagc	agtcgcttca	cgttcgctcg	cgtatcggtg	attcattctg	5220
ctaaccagta	aggcaacccc	gccagcctag	ccgggtcctc	aacgacagga	gcacgatcat	5280
gcgcacccgt	ggccaggacc	caacgctgcc	cgagatgcgc	cgcgtgcggc	tgctggagat	5340
ggcggacgcg	atggatatgt	tctgccaaagg	gttggtttgc	gcattcacag	ttctccgcaa	5400
gaattgattg	gctccaattc	ttggagtggg	gaatccgtta	gcgaggtgcc	gccggcttcc	5460
attcaggtcg	aggtggcccc	gctccatgca	ccgcgacgca	acgcggggag	gcagacaagg	5520
tatagggcgg	cgcctacaat	ccatgccaac	ccgttccatg	tgctcgccga	ggcggcataa	5580
atcgccgtga	cgatcagcgg	tccagtgate	gaagttaggc	tggttaagagc	cgcgagcgat	5640
ccttgaagct	gtccctgatg	gtcgtcatct	acctgcctgg	acagcatggc	ctgcaacgcg	5700
ggcatcccca	tgccgcggga	agcgagaaga	atcataatgg	ggaaggccat	ccagcctcgc	5760
gtcgcgaacg	ccagcaagac	gtagcccage	gcgtcgcccg	ccatgccggc	gataatggcc	5820
tgcttctcgc	cgaacggtt	ggtggcgggga	ccagtgaaga	aggtttgagc	gagggcgtgc	5880
aagattccga	ataccgcaag	cgacaggccg	atcctcgctg	cgtccagcgc	aaagcggtcc	5940
tcgccgaaaa	tgaccagag	cgtgcgcggc	acctgtccta	cgagttgcat	gataaagaag	6000
acagtcataa	gtgcggcgac	gatagtcatg	ccccgcgccc	accggaagga	gctgactggg	6060

[0183]

ttgaaggctc tcaagggcat cggtegateg acgtctctcc ttatgcgact cctgcattag	6120
gaagcagccc agtagtaggt tgaggccgtt gagcaccgcc gccgcaagga atggtgcatg	6180
caaggagatg gcgccaaca gtccccggc caccgggctt gccaccatac ccacgccgaa	6240
acaagcgctc atgagcccga agtggcgagc ccgatcttcc ccatcggtga tgtcggcgat	6300
ataggcgcca gcaaccgcac ctgtggcgcc ggtgatgccg gccacgatgc gtccggcgta	6360
gaggatcg	6368

<210> 398
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 398
 ccctcatagt tagcgtaacg 20

<210> 399
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 399

Ser	Asn	Ala	Thr	Met	Tyr	Asn	Ile	Gln	Ser	His	Ser	His	His	Gln
1				5				10						15

<210> 400
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 400

Gln	Ala	Ala	Gln	Val	His	Met	Met	Gln	His	Ser	Arg	Pro	Thr	Thr
1				5				10						15

<210> 401
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 401

His	Asp	Pro	Tyr	Thr	Met	Lys	Ser	Ala	Leu	Arg	Gln	Ser	Thr	Ser
1				5					10					15

<210> 402

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 402

Asp	Leu	Gly	Thr	Phe	Pro	Asn	Arg	Thr	Leu	Lys	Met	Ala	Ala	His
1				5					10					15

<210> 403

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

[0184]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 403

Asp	Thr	Ile	His	Pro	Asn	Lys	Met	Lys	Ser	Pro	Ser	Ser	Pro	Leu
1				5					10					15

<210> 404

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 404

Gly	Ser	Asn	Asn	His	Leu	Pro	Ser	Thr	Val	Pro	Arg	Leu	Thr	Val
1				5					10					15

<210> 405

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 405

Ser	Asn	Pro	Ile	Pro	Asn	Phe	Ala	His	Asp	Leu	Arg	His	Ser	Lys	Tyr
1				5					10					15	

Asn Ser

<210> 406

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 406

Thr	Lys	Pro	Pro	Arg	Thr	Pro	Thr	Ala	Asn	Thr	Ser	Arg	Pro	His	His
1				5					10					15	

[0185] Asn Phe

<210> 407

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 407

Ala	Asn	Ser	Gly	Phe	Pro	Ile	Trp	Leu	Gln	Lys	Tyr	Pro	Trp	Ser	Glu
1				5					10					15	

Val	Gln	Gln	Glu
			20

<210> 408

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 408

Ala Thr Pro Arg Leu Thr Pro Glu Ala His His Lys Ala Gly Asn Trp
1 5 10 15

Tyr Ala Ser

<210> 409

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 409

Ala Thr Pro Ser Gln His Arg Tyr Gly Leu Met Gln Asn His Ala Pro
1 5 10 15

Asn Gly Ile Glu
20

[0186]

<210> 410

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 410

Gly Met Gly Ser Glu Val Leu Ser Gln Tyr Pro Gln Ala Pro Val Gly
1 5 10 15

<210> 411

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 411

Thr Thr Tyr His Tyr Lys Asn Ile Tyr Gln Glu Ser Tyr Gln Gln Arg
1 5 10 15

Asn Pro Ala Val Lys

20

<210> 412
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 412

Ser	Asn	Ala	Thr	Met	Tyr	Asn	Ile	Gln	Ser	His	Ser	His	His	Gln	Lys
1				5					10					15	

<210> 413
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 413

[0187]

Gln	Ala	Ala	Gln	Val	His	Met	Met	Gln	His	Ser	Arg	Pro	Thr	Thr	Lys
1				5					10					15	

<210> 414
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 414

His	Asp	Pro	Tyr	Thr	Met	Lys	Ser	Ala	Leu	Arg	Gln	Ser	Thr	Ser	Lys
1				5					10					15	

<210> 415
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 415

Asp	Leu	Gly	Thr	Phe	Pro	Asn	Arg	Thr	Leu	Lys	Met	Ala	Ala	His	Lys
1				5					10					15	

<210> 416
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 416

Asp	Thr	Ile	His	Pro	Asn	Lys	Met	Lys	Ser	Pro	Ser	Ser	Pro	Leu	Lys
1				5					10					15	

<210> 417
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 417

Gly	Ser	Asn	Asn	His	Leu	Pro	Ser	Thr	Val	Pro	Arg	Leu	Thr	Val	Lys
1				5					10					15	

[0188]

<210> 418
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 418

Ser	Asn	Pro	Ile	Pro	Asn	Phe	Ala	His	Asp	Leu	Arg	His	Ser	Lys	Tyr
1				5					10					15	

Asn Ser Lys

<210> 419
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 419

Thr Lys Pro Pro Arg Thr Pro Thr Ala Asn Thr Ser Arg Pro His His
1 5 10 15

Asn Phe Lys

<210> 420
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 420

Ala Asn Ser Gly Phe Pro Ile Trp Leu Gln Lys Tyr Pro Trp Ser Glu
1 5 10 15

Val Gln Gln Glu Lys
20

[0189] <210> 421
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 421

Ala Thr Pro Ser Gln His Arg Tyr Gly Leu Met Gln Asn His Ala Pro
1 5 10 15

Asn Gly Ile Glu Lys
20

<210> 422
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 422

Gly Met Gly Ser Glu Val Leu Ser Gln Tyr Pro Gln Ala Pro Val Gly
1 5 10 15

Lys

<210> 423
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 423

Pro Ser Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp Lys His Ser Gly Leu His Glu
 1 5 10 15

Arg Ala Pro Gln Arg Tyr Gly Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
 20 25 30

Ile Pro Glu Pro Pro Lys Glu Ala Pro Val Val Ile Glu Lys Pro Lys
 35 40 45

[0190] Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Pro Ala His Asp His Lys Asn
 50 55 60

Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala Ala Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Ser Pro His His His His His His
 85

<210> 424
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> 海栖热袍菌 (Thermotoga maritima)

<400> 424

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

[0191]

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 425

<211> 431

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 425

[0192] Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

[0193]

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp
340 345 350

Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr Gly Pro Glu
355 360 365

Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys Glu Ala Pro
370 375 380

Val Val Ile Glu Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro
385 390 395 400

Pro Ala His Asp His Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala
405 410 415

Ala Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His His His His His
420 425 430

<210> 426

<211> 333

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0194]

<400> 426

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

[0195]

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Ser His His His His His His
325 330

<210> 427
 <211> 353
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 427

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
 50 55 60

[0196] Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
 65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
 85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
 100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
 115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
 130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
 145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
 165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
 180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

[0197]

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly
340 345 350

Lys

<210> 428

<211> 359

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 428

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro

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

[0198]

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly
340 345 350

[0199]

Lys His His His His His His
355

<210> 429

<211> 375

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 429

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr

	50		55		60														
	Arg	Gly	Gln	Arg	Ile	Lys	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Pro	Lys	Leu	Glu	Glu			
	65					70					75				80				
	Glu	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Val	Gln	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Asn	Gly	Gly	Arg			
					85					90					95				
	Gly	Phe	Pro	His	Asp	Trp	Leu	Phe	Trp	Pro	Ser	Met	Gly	Tyr	Ile	Cys			
				100					105					110					
	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Gly	Trp	Leu	Lys	Gly	Asp			
			115					120					125						
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Pro	Glu	Gly	Pro	Val	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Phe			
		130					135					140							
	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val			
	145					150					155					160			
[0200]	Phe	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro	Gln			
					165					170					175				
	Val	Asp	Gln	Glu	Arg	Ile	Val	Ile	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly			
				180					185					190					
	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys	Ala	Leu	Leu			
			195					200					205						
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Leu	Val			
		210					215					220							
	Asp	Thr	His	Pro	Tyr	Ala	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	His	Arg			
	225					230					235					240			
	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly	Val			
				245						250					255				
	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly	Leu			
				260					265					270					
	Met	Asp	Asn	Ile	Ser	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	Tyr			
			275					280					285						

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Thr Lys Pro Pro Arg Thr Pro Thr Ala
340 345 350

Asn Thr Ser Arg Pro His His Asn Phe Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Pro His His His His His His
370 375

<210> 430

<211> 349

<212> PRT

[0201] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 430

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg

	85					90					95				
	Gly	Phe	Pro	His	Asp	Trp	Leu	Phe	Trp	Pro	Ser	Met	Gly	Tyr	Ile Cys
				100					105					110	
	Phe	Val	Met	Asp	Thr	Arg	Gly	Gln	Gly	Ser	Gly	Trp	Leu	Lys	Gly Asp
			115					120					125		
	Thr	Pro	Asp	Tyr	Pro	Glu	Gly	Pro	Val	Asp	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly Phe
		130					135					140			
	Met	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Arg Val
	145					150					155				160
	Phe	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro Gln
				165						170					175
	Val	Asp	Gln	Glu	Arg	Ile	Val	Ile	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly Gly
				180					185					190	
[0202]	Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys	Ala	Leu Leu
			195					200					205		
	Cys	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys	His	Phe	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Leu Val
		210					215					220			
	Asp	Thr	His	Pro	Tyr	Ala	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe	Leu	Lys	Thr	His Arg
		225				230					235				240
	Asp	Lys	Glu	Glu	Ile	Val	Phe	Arg	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly Val
				245						250				255	
	Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Gly Leu
			260						265					270	
	Met	Asp	Asn	Ile	Ser	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn Tyr
			275					280					285		
	Tyr	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr	Asn	Asn	His Glu
		290					295					300			
	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Gln	Ala	Val	Glu	Gln	Val	Lys	Phe	Leu	Lys Lys
	305					310					315				320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser His His His His His His
340 345

<210> 431
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 431

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
1 5 10 15

Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp Lys His Ser Gly Leu
20 25 30

[0203] His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr Gly Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
35 40 45

Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys Glu Ala Pro Val Val Ile Glu Lys
50 55 60

Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Pro Ala His Asp His
65 70 75 80

Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala Ala Gly Ser Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Pro His His His His His His
100 105

<210> 432
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 432

Gly Ser His His His His His His
1 5

<210> 433
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 433

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
1 5 10 15

Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys
20 25

<210> 434
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

[0204] <220>
<223> 合成构建体

<400> 434

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
1 5 10 15

Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys His His His His
20 25 30

His His

<210> 435
<211> 50
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 435

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Lys Pro Pro Arg Thr Pro Thr Ala Asn Thr Ser Arg Pro
20 25 30

His His Asn Phe Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His His His
35 40 45

His His
50

<210> 436
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 436

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
1 5 10 15

[0205] Gly Ser His His His His His His
20

<210> 437
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 437

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

[0206]

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 438

<211> 375

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 438

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

[0207] Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met 145	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu 150	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr 155	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val 160
Phe	Thr	Asp	Ala	Val 165	Arg	Ala	Val	Glu	Ala 170	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro	Gln 175
Val	Asp	Gln	Glu 180	Arg	Ile	Val	Ile	Ala 185	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly 190	Gly	Gly
Ile	Ala	Leu 195	Ala	Val	Ser	Ala	Leu 200	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys 205	Ala	Leu	Leu
Cys 210	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys 215	His	Phe	Arg	Arg	Ala 220	Val	Gln	Leu	Val
Asp 225	Thr	His	Pro	Tyr	Ala 230	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe 235	Leu	Lys	Thr	His	Arg 240
Asp	Lys	Glu	Glu	Ile 245	Val	Phe	Arg	Thr	Leu 250	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly 255	Val
[0208]															
Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro 265	Ala	Leu	Phe	Ser	Val 270	Gly	Leu
Met	Asp	Asn 275	Ile	Thr	Pro	Pro	Ser 280	Thr	Val	Phe	Ala	Ala 285	Tyr	Asn	Tyr
Tyr 290	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile 295	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr 300	Asn	Asn	His	Glu
Gly 305	Gly	Gly	Ser	Phe	Gln 310	Ala	Val	Glu	Gln	Val 315	Lys	Phe	Leu	Lys	Lys 320
Leu	Phe	Glu	Lys	Gly 325	Gly	Pro	Gly	Ser	Gly 330	Gly	Ala	Gly	Ser	Pro	Gly 335
Ser	Ala	Gly	Gly	Pro	Gly	Ser	Thr	Lys 345	Pro	Pro	Arg	Thr	Pro 350	Thr	Ala
Asn	Thr	Ser 355	Arg	Pro	His	His	Asn 360	Phe	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser

Pro His His His His His His
370 375

<210> 439
<211> 349
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 439

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

[0209] Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

[0210]

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser His His His His His His
340 345

<210> 440

<211> 431

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 440

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

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

[0211]

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp
340 345 350

[0212]

Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr Gly Pro Glu
355 360 365

Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys Glu Ala Pro
370 375 380

Val Val Ile Glu Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro
385 390 395 400

Pro Ala His Asp His Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala
405 410 415

Ala Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His His His His His
420 425 430

<210> 441

<211> 333

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 441

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

[0213]

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Ser His His His His His His
325 330

[0214]

<210> 442

<211> 359

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 442

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

[0215]

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
325 330 335

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly
340 345 350

Lys His His His His His His
355

<210> 443

<211> 386

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 443

[0216]

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

[0217]

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly
325 330 335

Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Pro
340 345 350

Glu Trp Lys Thr Lys Lys Ile Leu Leu Ser Arg Thr Arg Arg Ile Met
355 360 365

Arg Gln Val Val Arg Ser Val Met His Lys Ile Trp His His His His
370 375 380

His His
385

<210> 444
<211> 387
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 444

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

[0218] Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met 145	Thr	Arg	Gly	Ile	Leu 150	Asp	Pro	Arg	Thr	Tyr 155	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Val 160
Phe	Thr	Asp	Ala	Val 165	Arg	Ala	Val	Glu	Ala 170	Ala	Ala	Ser	Phe	Pro	Gln 175
Val	Asp	Gln	Glu	Arg	Ile	Val	Ile	Ala 185	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly 190	Gly	Gly
Ile	Ala	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Leu 200	Ser	Lys	Lys	Ala	Lys 205	Ala	Leu	Leu
Cys 210	Asp	Val	Pro	Phe	Leu	Cys 215	His	Phe	Arg	Arg	Ala 220	Val	Gln	Leu	Val
Asp 225	Thr	His	Pro	Tyr	Ala 230	Glu	Ile	Thr	Asn	Phe 235	Leu	Lys	Thr	His	Arg 240
Asp	Lys	Glu	Glu	Ile 245	Val	Phe	Arg	Thr	Leu 250	Ser	Tyr	Phe	Asp	Gly 255	Val
[0219]															
Asn	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro 265	Ala	Leu	Phe	Ser	Val 270	Gly	Leu
Met	Asp	Asn 275	Ile	Ser	Pro	Pro	Ser 280	Thr	Val	Phe	Ala	Ala 285	Tyr	Asn	Tyr
Tyr 290	Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ile 295	Arg	Ile	Tyr	Pro	Tyr 300	Asn	Asn	His	Glu
Gly 305	Gly	Gly	Ser	Phe	Gln 310	Ala	Val	Glu	Gln	Val 315	Lys	Phe	Leu	Lys	Lys 320
Leu	Phe	Glu	Lys	Gly 325	Glu	Pro	Glu	Pro	Glu 330	Pro	Glu	Pro	Glu	Pro	Glu 335
Gly	Pro	Gly	Ser	Gly 340	Gly	Ala	Gly	Ser 345	Pro	Gly	Ser	Ala	Gly 350	Gly	Pro
Gly	Ser	Trp 355	Lys	Thr	Lys	Lys	Ile 360	Leu	Leu	Ser	Arg	Thr 365	Arg	Arg	Ile

Met Arg Gln Val Val Arg Ser Val Met His Lys Ile Trp His His His
370 375 380

His His His
385

<210> 445
<211> 386
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 445

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

[0220] Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

[0221]

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly
325 330 335

Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Pro
340 345 350

Glu Pro Leu Trp Arg Arg Ile Thr Lys Arg Lys Leu Val Arg Pro Val
355 360 365

Ala Thr Leu Met Trp Tyr Trp Phe Thr Ser Lys Arg His His His His
370 375 380

His His
385

<210> 446
<211> 387
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 446

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

[0222] Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

[0223]

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu
325 330 335

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
340 345 350

Gly Ser Pro Leu Trp Arg Arg Ile Thr Lys Arg Lys Leu Val Arg Pro
355 360 365

Val Ala Thr Leu Met Trp Tyr Trp Phe Thr Ser Lys Arg His His His
370 375 380

His His His
385

<210> 447
 <211> 382
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 447

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
 50 55 60

[0224] Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
 65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
 85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
 100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
 115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
 130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
 145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
 165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
 180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

[0225]

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly
325 330 335

Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Arg Met Leu
340 345 350

Ser Arg Ile Leu Arg Met Phe Val Arg Ile Leu Lys Arg Glu Arg Leu
355 360 365

Ser Gln Val Arg Gly Leu Phe Val His His His His His His
370 375 380

<210> 448

<211> 383

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 448

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

[0226]

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser
325 330 335

[0227]

Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Arg Met
340 345 350

Leu Ser Arg Ile Leu Arg Met Phe Val Arg Ile Leu Lys Arg Glu Arg
355 360 365

Leu Ser Gln Val Arg Gly Leu Phe Val His His His His His His
370 375 380

<210> 449

<211> 390

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 449

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu

	20	25	30
	Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu 35 40 45		
	Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr 50 55 60		
	Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu 65 70 75 80		
	Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg 85 90 95		
	Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys 100 105 110		
	Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp 115 120 125		
[0228]	Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe 130 135 140		
	Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val 145 150 155 160		
	Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln 165 170 175		
	Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180 185 190		
	Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195 200 205		
	Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210 215 220		
	Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225 230 235 240		
	Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245 250 255		

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser
325 330 335

Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro
340 345 350

Glu Pro Glu Pro Glu Leu Arg Phe Leu Ala Arg Arg Phe Leu Lys Leu
355 360 365

[0229]

Arg Arg Ala Arg Lys Trp Trp Asn Ala Trp Lys Val Trp Val Thr Arg
370 375 380

His His His His His His
385 390

<210> 450
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 450

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu

	35	40	45	
	Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr 50 55 60			
	Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu 65 70 75 80			
	Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg 85 90 95			
	Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys 100 105 110			
	Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp 115 120 125			
	Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe 130 135 140			
[0230]	Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val 145 150 155 160			
	Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln 165 170 175			
	Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly 180 185 190			
	Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu 195 200 205			
	Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val 210 215 220			
	Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg 225 230 235 240			
	Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val 245 250 255			
	Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu 260 265 270			

Met Asp Asn Ile Ser Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu
325 330 335

Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser
340 345 350

Ala Gly Gly Pro Gly Ser Leu Arg Phe Leu Ala Arg Arg Phe Leu Lys
355 360 365

Leu Arg Arg Ala Arg Lys Trp Trp Asn Ala Trp Lys Val Trp Val Thr
370 375 380

[0231]

Arg His His His His His His
385 390

<210> 451
<211> 344
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 451

Met Gln Leu Phe Asp Leu Ser Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Lys Pro
1 5 10 15

Lys Lys Thr Ala Arg Pro Asp Phe Ser Asp Phe Trp Lys Lys Ser Leu
20 25 30

Glu Glu Leu Arg Gln Val Glu Ala Glu Pro Thr Leu Glu Ser Tyr Asp
35 40 45

Tyr Pro Val Lys Gly Val Lys Val Tyr Arg Leu Thr Tyr Gln Ser Phe

	50		55		60														
	Gly	His	Ser	Lys	Ile	Glu	Gly	Phe	Tyr	Ala	Val	Pro	Asp	Gln	Thr	Gly			
	65					70					75					80			
	Pro	His	Pro	Ala	Leu	Val	Arg	Phe	His	Gly	Tyr	Asn	Ala	Ser	Tyr	Asp			
					85					90					95				
	Gly	Gly	Ile	His	Asp	Ile	Val	Asn	Trp	Ala	Leu	His	Gly	Tyr	Ala	Thr			
				100					105					110					
	Phe	Gly	Met	Leu	Val	Arg	Gly	Gln	Gly	Gly	Ser	Glu	Asp	Thr	Ser	Val			
			115					120					125						
	Thr	Pro	Gly	Gly	His	Ala	Leu	Gly	Trp	Met	Thr	Lys	Gly	Ile	Leu	Ser			
		130					135					140							
	Lys	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Val	Tyr	Leu	Asp	Ala	Val	Arg	Ala			
	145					150					155					160			
[0232]	Leu	Glu	Val	Ile	Gln	Ser	Phe	Pro	Glu	Val	Asp	Glu	His	Arg	Ile	Gly			
					165					170					175				
	Val	Ile	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Ile	Ala	Ala	Ala	Ala			
				180					185					190					
	Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Lys	Val	Val	Val	Ala	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Leu	Ser			
			195					200					205						
	Asn	Phe	Glu	Arg	Ala	Val	Asp	Val	Ala	Leu	Glu	Gln	Pro	Tyr	Leu	Glu			
		210					215					220							
	Ile	Asn	Ser	Tyr	Phe	Arg	Arg	Asn	Ser	Asp	Pro	Lys	Val	Glu	Glu	Lys			
	225					230					235					240			
	Ala	Phe	Glu	Thr	Leu	Ser	Tyr	Phe	Asp	Leu	Ile	Asn	Leu	Ala	Gly	Trp			
					245					250					255				
	Val	Lys	Gln	Pro	Thr	Leu	Met	Ala	Ile	Gly	Leu	Ile	Asp	Lys	Ile	Thr			
				260					265					270					
	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	His	Leu	Glu	Thr	Asp	Lys			
			275					280					285						

Asp Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Phe Ile Pro Ala Phe
290 295 300

Gln Thr Glu Lys Leu Ser Phe Leu Gln Lys His Leu Leu Leu Ser Thr
305 310 315 320

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
325 330 335

Gly Ser His His His His His His
340

<210> 452
<211> 426
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 452

[0233] Met Gln Leu Phe Asp Leu Ser Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Lys Pro
1 5 10 15

Lys Lys Thr Ala Arg Pro Asp Phe Ser Asp Phe Trp Lys Lys Ser Leu
20 25 30

Glu Glu Leu Arg Gln Val Glu Ala Glu Pro Thr Leu Glu Ser Tyr Asp
35 40 45

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

Gly His Ser Lys Ile Glu Gly Phe Tyr Ala Val Pro Asp Gln Thr Gly
65 70 75 80

Pro His Pro Ala Leu Val Arg Phe His Gly Tyr Asn Ala Ser Tyr Asp
85 90 95

Gly Gly Ile His Asp Ile Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Thr
100 105 110

Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gly Gly Ser Glu Asp Thr Ser Val

	115	120	125	
	Thr Pro Gly Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Ser 130 135 140			
	Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala 145 150 155 160			
	Leu Glu Val Ile Gln Ser Phe Pro Glu Val Asp Glu His Arg Ile Gly 165 170 175			
	Val Ile Gly Gly Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Ile Ala Ala Ala Ala 180 185 190			
	Leu Ser Asp Ile Pro Lys Val Val Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser 195 200 205			
	Asn Phe Glu Arg Ala Val Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu 210 215 220			
[0234]	Ile Asn Ser Tyr Phe Arg Arg Asn Ser Asp Pro Lys Val Glu Glu Lys 225 230 235 240			
	Ala Phe Glu Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Leu Ile Asn Leu Ala Gly Trp 245 250 255			
	Val Lys Gln Pro Thr Leu Met Ala Ile Gly Leu Ile Asp Lys Ile Thr 260 265 270			
	Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Asp Lys 275 280 285			
	Asp Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Phe Ile Pro Ala Phe 290 295 300			
	Gln Thr Glu Lys Leu Ser Phe Leu Gln Lys His Leu Leu Leu Ser Thr 305 310 315 320			
	Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro 325 330 335			
	Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp Lys His Ser Gly Leu 340 345 350			

His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr Gly Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
355 360 365

Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys Glu Ala Pro Val Val Ile Glu Lys
370 375 380

Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Pro Ala His Asp His
385 390 395 400

Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala Ala Gly Ser Gly Gly
405 410 415

Gly Gly Ser Pro His His His His His His
420 425

<210> 453
<211> 372
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0235]

<400> 453

Met Gln Leu Phe Asp Leu Ser Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Lys Pro
1 5 10 15

Lys Lys Thr Ala Arg Pro Asp Phe Ser Asp Phe Trp Lys Lys Ser Leu
20 25 30

Glu Glu Leu Arg Gln Val Glu Ala Glu Pro Thr Leu Glu Ser Tyr Asp
35 40 45

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

Gly His Ser Lys Ile Glu Gly Phe Tyr Ala Val Pro Asp Gln Thr Gly
65 70 75 80

Pro His Pro Ala Leu Val Arg Phe His Gly Tyr Asn Ala Ser Tyr Asp
85 90 95

Gly Gly Ile His Asp Ile Val Asn Trp Ala Leu His Gly Tyr Ala Thr

	100	105	110	
	Phe Gly Met Leu Val Arg Gly Gln Gly Gly Ser Glu Asp Thr Ser Val			
	115	120	125	
	Thr Pro Gly Gly His Ala Leu Gly Trp Met Thr Lys Gly Ile Leu Ser			
	130	135	140	
	Lys Asp Thr Tyr Tyr Tyr Arg Gly Val Tyr Leu Asp Ala Val Arg Ala			
	145	150	155	160
	Leu Glu Val Ile Gln Ser Phe Pro Glu Val Asp Glu His Arg Ile Gly			
		165	170	175
	Val Ile Gly Gly Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Ile Ala Ala Ala Ala			
		180	185	190
	Leu Ser Asp Ile Pro Lys Val Val Val Ala Asp Tyr Pro Tyr Leu Ser			
	195	200	205	
[0236]	Asn Phe Glu Arg Ala Val Asp Val Ala Leu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu			
	210	215	220	
	Ile Asn Ser Tyr Phe Arg Arg Asn Ser Asp Pro Lys Val Glu Glu Lys			
	225	230	235	240
	Ala Phe Glu Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Leu Ile Asn Leu Ala Gly Trp			
		245	250	255
	Val Lys Gln Pro Thr Leu Met Ala Ile Gly Leu Ile Asp Lys Ile Thr			
		260	265	270
	Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn His Leu Glu Thr Asp Lys			
		275	280	285
	Asp Leu Lys Val Tyr Arg Tyr Phe Gly His Glu Phe Ile Pro Ala Phe			
	290	295	300	
	Gln Thr Glu Lys Leu Ser Phe Leu Gln Lys His Leu Leu Leu Ser Thr			
	305	310	315	320
	Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro			
		325	330	335

Gly Ser Asp Pro Thr Lys Pro Pro Arg Thr Pro Thr Ala Asn Thr Ser
340 345 350

Arg Pro His His Asn Phe Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His
355 360 365

His His His His
370

<210> 454
<211> 347
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 454

Met Pro Phe Pro Asp Leu Ile Gln Pro Glu Leu Gly Ala Tyr Val Ser
1 5 10 15

[0237] Ser Val Gly Met Pro Asp Asp Phe Ala Gln Phe Trp Thr Ser Thr Ile
20 25 30

Ala Glu Ala Arg Gln Ala Gly Gly Glu Val Ser Ile Val Gln Ala Gln
35 40 45

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

Gly Gly His Pro Ile Lys Gly Trp Leu Ile Leu Pro Thr His His Lys
65 70 75 80

Gly Arg Leu Pro Leu Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Gly Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Leu Ala His Glu Gln Leu His Trp Ala Ala Ser Gly Phe Ala Tyr
100 105 110

Phe Arg Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Asp Trp Ser Val Gly Glu
115 120 125

Thr Ala Asp Pro Val Gly Ser Thr Ser Ser Ile Pro Gly Phe Met Thr

	130	135	140	
	Arg Gly Val Leu Asp Lys Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Arg Leu Phe Thr 145 150 155 160			
	Asp Ala Val Arg Ala Ile Asp Ala Leu Leu Gly Leu Asp Phe Val Asp 165 170 175			
	Pro Glu Arg Ile Ala Val Cys Gly Asp Ser Gln Gly Gly Gly Ile Ser 180 185 190			
	Leu Ala Val Gly Gly Ile Asp Pro Arg Val Lys Ala Val Met Pro Asp 195 200 205			
	Val Pro Phe Leu Cys Asp Phe Pro Arg Ala Val Gln Thr Ala Val Arg 210 215 220			
	Asp Pro Tyr Leu Glu Ile Val Arg Phe Leu Ala Gln His Arg Glu Lys 225 230 235 240			
[0238]	Lys Ala Ala Val Phe Glu Thr Leu Asn Tyr Phe Asp Cys Val Asn Phe 245 250 255			
	Ala Arg Arg Ser Lys Ala Pro Ala Leu Phe Ser Val Ala Leu Met Asp 260 265 270			
	Glu Val Cys Pro Pro Ser Thr Val Tyr Gly Ala Phe Asn Ala Tyr Ala 275 280 285			
	Gly Glu Lys Thr Ile Thr Glu Tyr Glu Phe Asn Asn His Glu Gly Gly 290 295 300			
	Gln Gly Tyr Gln Glu Arg Gln Gln Met Thr Trp Leu Ser Arg Leu Phe 305 310 315 320			
	Gly Val Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala 325 330 335			
	Gly Gly Pro Gly Ser His His His His His His 340 345			
	<210> 455			
	<211> 429			

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 455

Met Pro Phe Pro Asp Leu Ile Gln Pro Glu Leu Gly Ala Tyr Val Ser
 1 5 10 15

Ser Val Gly Met Pro Asp Asp Phe Ala Gln Phe Trp Thr Ser Thr Ile
 20 25 30

Ala Glu Ala Arg Gln Ala Gly Gly Glu Val Ser Ile Val Gln Ala Gln
 35 40 45

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

Gly Gly His Pro Ile Lys Gly Trp Leu Ile Leu Pro Thr His His Lys
 65 70 75 80

[0239] Gly Arg Leu Pro Leu Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Gly Gly Gly Arg
 85 90 95

Gly Leu Ala His Glu Gln Leu His Trp Ala Ala Ser Gly Phe Ala Tyr
 100 105 110

Phe Arg Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Asp Trp Ser Val Gly Glu
 115 120 125

Thr Ala Asp Pro Val Gly Ser Thr Ser Ser Ile Pro Gly Phe Met Thr
 130 135 140

Arg Gly Val Leu Asp Lys Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Arg Leu Phe Thr
 145 150 155 160

Asp Ala Val Arg Ala Ile Asp Ala Leu Leu Gly Leu Asp Phe Val Asp
 165 170 175

Pro Glu Arg Ile Ala Val Cys Gly Asp Ser Gln Gly Gly Gly Ile Ser
 180 185 190

Leu Ala Val Gly Gly Ile Asp Pro Arg Val Lys Ala Val Met Pro Asp

	195	200	205	
	Val Pro Phe Leu Cys Asp	Phe Pro Arg Ala Val	Gln Thr Ala Val Arg	
	210	215	220	
	Asp Pro Tyr Leu Glu Ile Val Arg Phe Leu	Ala Gln His Arg Glu Lys		
	225	230	235	240
	Lys Ala Ala Val Phe Glu Thr Leu Asn Tyr Phe Asp Cys Val Asn Phe			
	245	250	255	
	Ala Arg Arg Ser Lys Ala Pro Ala Leu Phe Ser Val Ala Leu Met Asp			
	260	265	270	
	Glu Val Cys Pro Pro Ser Thr Val Tyr Gly Ala Phe Asn Ala Tyr Ala			
	275	280	285	
	Gly Glu Lys Thr Ile Thr Glu Tyr Glu Phe Asn Asn His Glu Gly Gly			
	290	295	300	
[0240]	Gln Gly Tyr Gln Glu Arg Gln Gln Met Thr Trp Leu Ser Arg Leu Phe			
	305	310	315	320
	Gly Val Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala			
	325	330	335	
	Gly Gly Pro Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln Leu Pro Asp Lys His			
	340	345	350	
	Ser Gly Leu His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr Gly Pro Glu Pro Glu			
	355	360	365	
	Pro Glu Pro Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys Glu Ala Pro Val Val			
	370	375	380	
	Ile Glu Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Pro Ala			
	385	390	395	400
	His Asp His Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln Arg His Ala Ala Gly			
	405	410	415	
	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His His His His His			
	420	425		

<210> 456
 <211> 375
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 456

Met Pro Phe Pro Asp Leu Ile Gln Pro Glu Leu Gly Ala Tyr Val Ser
 1 5 10 15

Ser Val Gly Met Pro Asp Asp Phe Ala Gln Phe Trp Thr Ser Thr Ile
 20 25 30

Ala Glu Ala Arg Gln Ala Gly Gly Glu Val Ser Ile Val Gln Ala Gln
 35 40 45

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

[0241] Gly Gly His Pro Ile Lys Gly Trp Leu Ile Leu Pro Thr His His Lys
 65 70 75 80

Gly Arg Leu Pro Leu Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Gly Gly Gly Arg
 85 90 95

Gly Leu Ala His Glu Gln Leu His Trp Ala Ala Ser Gly Phe Ala Tyr
 100 105 110

Phe Arg Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Asp Trp Ser Val Gly Glu
 115 120 125

Thr Ala Asp Pro Val Gly Ser Thr Ser Ser Ile Pro Gly Phe Met Thr
 130 135 140

Arg Gly Val Leu Asp Lys Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Arg Leu Phe Thr
 145 150 155 160

Asp Ala Val Arg Ala Ile Asp Ala Leu Leu Gly Leu Asp Phe Val Asp
 165 170 175

Pro Glu Arg Ile Ala Val Cys Gly Asp Ser Gln Gly Gly Gly Ile Ser

	180	185	190
	Leu Ala Val Gly Gly Ile Asp Pro Arg Val Lys Ala Val Met Pro Asp 195 200 205		
	Val Pro Phe Leu Cys Asp Phe Pro Arg Ala Val Gln Thr Ala Val Arg 210 215 220		
	Asp Pro Tyr Leu Glu Ile Val Arg Phe Leu Ala Gln His Arg Glu Lys 225 230 235 240		
	Lys Ala Ala Val Phe Glu Thr Leu Asn Tyr Phe Asp Cys Val Asn Phe 245 250 255		
	Ala Arg Arg Ser Lys Ala Pro Ala Leu Phe Ser Val Ala Leu Met Asp 260 265 270		
	Glu Val Cys Pro Pro Ser Thr Val Tyr Gly Ala Phe Asn Ala Tyr Ala 275 280 285		
[0242]	Gly Glu Lys Thr Ile Thr Glu Tyr Glu Phe Asn Asn His Glu Gly Gly 290 295 300		
	Gln Gly Tyr Gln Glu Arg Gln Gln Met Thr Trp Leu Ser Arg Leu Phe 305 310 315 320		
	Gly Val Gly Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala 325 330 335		
	Gly Gly Pro Gly Ser Asp Pro Thr Lys Pro Pro Arg Thr Pro Thr Ala 340 345 350		
	Asn Thr Ser Arg Pro His His Asn Phe Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 355 360 365		
	Pro His His His His His His 370 375		
	<210> 457		
	<211> 336		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		

<223> 合成构建体

<400> 457

Met Thr Lys Ile Asn Asn Trp Gln Asp Tyr Gln Gly Ser Ser Leu Lys
1 5 10 15

Pro Glu Asp Phe Asp Lys Phe Trp Asp Glu Lys Ile Asn Leu Val Ser
20 25 30

Asn His Gln Phe Glu Phe Glu Leu Ile Glu Lys Asn Leu Ser Ser Lys
35 40 45

Val Val Asn Phe Tyr His Leu Trp Phe Thr Ala Ile Asp Gly Ala Lys
50 55 60

Ile His Ala Gln Leu Ile Val Pro Lys Asn Leu Lys Glu Lys Tyr Pro
65 70 75 80

Ala Ile Leu Gln Phe His Gly Tyr His Cys Asp Ser Gly Asp Trp Val
85 90 95

[0243] Asp Lys Ile Gly Ile Val Ala Glu Gly Asn Val Val Leu Ala Leu Asp
100 105 110

Cys Arg Gly Gln Gly Gly Leu Ser Gln Asp Asn Ile Gln Thr Met Gly
115 120 125

Met Thr Met Lys Gly Leu Ile Val Arg Gly Ile Asp Glu Gly Tyr Glu
130 135 140

Asn Leu Tyr Tyr Val Arg Gln Phe Met Asp Leu Ile Thr Ala Thr Lys
145 150 155 160

Ile Leu Ser Glu Phe Asp Phe Val Asp Glu Thr Asn Ile Ser Ala Gln
165 170 175

Gly Ala Ser Gln Gly Gly Ala Leu Ala Val Ala Cys Ala Ala Leu Ser
180 185 190

Pro Leu Ile Lys Lys Val Thr Ala Thr Tyr Pro Phe Leu Ser Asp Tyr
195 200 205

Arg Lys Ala Tyr Glu Leu Gly Ala Glu Glu Ser Ala Phe Glu Glu Leu

	210	215	220
	Pro Tyr Trp Phe Gln Phe Lys Asp Pro Leu His Leu Arg Glu Asp Trp 225 230 235 240		
	Phe Phe Asn Gln Leu Glu Tyr Ile Asp Ile Gln Asn Leu Ala Pro Arg 245 250 255		
	Ile Lys Ala Glu Val Ile Trp Ile Leu Gly Gly Lys Asp Thr Val Val 260 265 270		
	Pro Pro Ile Thr Gln Met Ala Ala Tyr Asn Lys Ile Gln Ser Lys Lys 275 280 285		
	Ser Leu Tyr Val Leu Pro Glu Tyr Gly His Glu Tyr Leu Pro Lys Ile 290 295 300		
	Ser Asp Trp Leu Arg Glu Asn Gln Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly 305 310 315 320		
[0244]	Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser His His His His His His 325 330 335		
	<210> 458		
	<211> 418		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成构建体		
	<400> 458		
	Met Thr Lys Ile Asn Asn Trp Gln Asp Tyr Gln Gly Ser Ser Leu Lys 1 5 10 15		
	Pro Glu Asp Phe Asp Lys Phe Trp Asp Glu Lys Ile Asn Leu Val Ser 20 25 30		
	Asn His Gln Phe Glu Phe Glu Leu Ile Glu Lys Asn Leu Ser Ser Lys 35 40 45		
	Val Val Asn Phe Tyr His Leu Trp Phe Thr Ala Ile Asp Gly Ala Lys 50 55 60		

	Ile	His	Ala	Gln	Leu	Ile	Val	Pro	Lys	Asn	Leu	Lys	Glu	Lys	Tyr	Pro
	65					70					75					80
	Ala	Ile	Leu	Gln	Phe	His	Gly	Tyr	His	Cys	Asp	Ser	Gly	Asp	Trp	Val
				85						90					95	
	Asp	Lys	Ile	Gly	Ile	Val	Ala	Glu	Gly	Asn	Val	Val	Leu	Ala	Leu	Asp
				100					105					110		
	Cys	Arg	Gly	Gln	Gly	Gly	Leu	Ser	Gln	Asp	Asn	Ile	Gln	Thr	Met	Gly
			115					120					125			
	Met	Thr	Met	Lys	Gly	Leu	Ile	Val	Arg	Gly	Ile	Asp	Glu	Gly	Tyr	Glu
		130					135					140				
	Asn	Leu	Tyr	Tyr	Val	Arg	Gln	Phe	Met	Asp	Leu	Ile	Thr	Ala	Thr	Lys
	145					150					155					160
	Ile	Leu	Ser	Glu	Phe	Asp	Phe	Val	Asp	Glu	Thr	Asn	Ile	Ser	Ala	Gln
				165						170					175	
[0245]	Gly	Ala	Ser	Gln	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	Ala	Cys	Ala	Ala	Leu	Ser
				180					185					190		
	Pro	Leu	Ile	Lys	Lys	Val	Thr	Ala	Thr	Tyr	Pro	Phe	Leu	Ser	Asp	Tyr
		195						200					205			
	Arg	Lys	Ala	Tyr	Glu	Leu	Gly	Ala	Glu	Glu	Ser	Ala	Phe	Glu	Glu	Leu
		210					215					220				
	Pro	Tyr	Trp	Phe	Gln	Phe	Lys	Asp	Pro	Leu	His	Leu	Arg	Glu	Asp	Trp
	225					230					235				240	
	Phe	Phe	Asn	Gln	Leu	Glu	Tyr	Ile	Asp	Ile	Gln	Asn	Leu	Ala	Pro	Arg
				245						250					255	
	Ile	Lys	Ala	Glu	Val	Ile	Trp	Ile	Leu	Gly	Gly	Lys	Asp	Thr	Val	Val
			260						265					270		
	Pro	Pro	Ile	Thr	Gln	Met	Ala	Ala	Tyr	Asn	Lys	Ile	Gln	Ser	Lys	Lys
		275						280					285			
	Ser	Leu	Tyr	Val	Leu	Pro	Glu	Tyr	Gly	His	Glu	Tyr	Leu	Pro	Lys	Ile

	290	295	300	
	Ser Asp Trp Leu Arg Glu Asn Gln Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly			
	305	310	315	320
	Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln			
		325	330	335
	Leu Pro Asp Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr			
		340	345	350
	Gly Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys			
		355	360	365
	Glu Ala Pro Val Val Ile Glu Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys			
		370	375	380
	Pro Lys Pro Pro Ala His Asp His Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln			
	385	390	395	400
[0246]	Arg His Ala Ala Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His His His			
		405	410	415
	His His			
	<210> 459			
	<211> 363			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成构建体			
	<400> 459			
	Met Thr Lys Ile Asn Asn Trp Gln Asp Tyr Gln Gly Ser Ser Leu Lys			
	1	5	10	15
	Pro Glu Asp Phe Asp Lys Phe Trp Asp Glu Lys Ile Asn Leu Val Ser			
		20	25	30
	Asn His Gln Phe Glu Phe Glu Leu Ile Glu Lys Asn Leu Ser Ser Lys			
		35	40	45

	Val	Val	Asn	Phe	Tyr	His	Leu	Trp	Phe	Thr	Ala	Ile	Asp	Gly	Ala	Lys
	50						55					60				
	Ile	His	Ala	Gln	Leu	Ile	Val	Pro	Lys	Asn	Leu	Lys	Glu	Lys	Tyr	Pro
	65					70				75					80	
	Ala	Ile	Leu	Gln	Phe	His	Gly	Tyr	His	Cys	Asp	Ser	Gly	Asp	Trp	Val
					85					90					95	
	Asp	Lys	Ile	Gly	Ile	Val	Ala	Glu	Gly	Asn	Val	Val	Leu	Ala	Leu	Asp
				100					105					110		
	Cys	Arg	Gly	Gln	Gly	Gly	Leu	Ser	Gln	Asp	Asn	Ile	Gln	Thr	Met	Gly
			115					120					125			
	Met	Thr	Met	Lys	Gly	Leu	Ile	Val	Arg	Gly	Ile	Asp	Glu	Gly	Tyr	Glu
	130						135					140				
	Asn	Leu	Tyr	Tyr	Val	Arg	Gln	Phe	Met	Asp	Leu	Ile	Thr	Ala	Thr	Lys
	145					150					155					160
[0247]	Ile	Leu	Ser	Glu	Phe	Asp	Phe	Val	Asp	Glu	Thr	Asn	Ile	Ser	Ala	Gln
					165					170					175	
	Gly	Ala	Ser	Gln	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	Ala	Cys	Ala	Ala	Leu	Ser
				180					185					190		
	Pro	Leu	Ile	Lys	Lys	Val	Thr	Ala	Thr	Tyr	Pro	Phe	Leu	Ser	Asp	Tyr
			195					200					205			
	Arg	Lys	Ala	Tyr	Glu	Leu	Gly	Ala	Glu	Glu	Ser	Ala	Phe	Glu	Glu	Leu
	210						215					220				
	Pro	Tyr	Trp	Phe	Gln	Phe	Lys	Asp	Pro	Leu	His	Leu	Arg	Glu	Asp	Trp
	225					230					235				240	
	Phe	Phe	Asn	Gln	Leu	Glu	Tyr	Ile	Asp	Ile	Gln	Asn	Leu	Ala	Pro	Arg
				245						250				255		
	Ile	Lys	Ala	Glu	Val	Ile	Trp	Ile	Leu	Gly	Gly	Lys	Asp	Thr	Val	Val
				260					265					270		
	Pro	Pro	Ile	Thr	Gln	Met	Ala	Ala	Tyr	Asn	Lys	Ile	Gln	Ser	Lys	Lys

	275						280						285					
Ser	Leu	Tyr	Val	Leu	Pro	Glu	Tyr	Gly	His	Glu	Tyr	Leu	Pro	Lys	Ile			
	290					295					300							
Ser	Asp	Trp	Leu	Arg	Glu	Asn	Gln	Gly	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly			
305					310					315					320			
Ser	Pro	Gly	Ser	Ala	Gly	Gly	Pro	Gly	Ser	Asp	Pro	Thr	Lys	Pro	Pro			
				325					330					335				
Arg	Thr	Pro	Thr	Ala	Asn	Thr	Ser	Arg	Pro	His	His	Asn	Phe	Gly	Ser			
			340					345					350					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Pro	His	His	His	His	His								
		355					360											

$\langle 210 \rangle$	460
$\langle 211 \rangle$	216
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	耻垢分枝杆菌 (<i>Mycobacterium smegmatis</i>)

[0248]

<400> 460

Met Ala Lys Arg Ile Leu Cys Phe Gly Asp Ser Leu Thr Trp Gly Trp
1 5 10 15

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

Arg Trp Thr Gly Val Leu Ala Gln Gln Leu Gly Ala Asp Phe Glu Val
35 40 45

Ile Glu Glu Gly Leu Val Ala Arg Thr Thr Asn Ile Asp Asp Pro Thr
50 55 60

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

His Leu Pro Leu Asp Leu Val Ile Ile Met Leu Gly Thr Asn Asp Thr
85 90 95

Lys Ala Tyr Phe Arg Arg Thr Pro Leu Asp Ile Ala Leu Gly Met Ser
100 105 110

Val Leu Val Thr Gln Val Leu Thr Ser Ala Gly Gly Val Gly Thr Thr
115 120 125

Tyr Pro Ala Pro Lys Val Leu Val Val Ser Pro Pro Pro Leu Ala Pro
130 135 140

Met Pro His Pro Trp Phe Gln Leu Ile Phe Glu Gly Gly Glu Gln Lys
145 150 155 160

Thr Thr Glu Leu Ala Arg Val Tyr Ser Ala Leu Ala Ser Phe Met Lys
165 170 175

Val Pro Phe Phe Asp Ala Gly Ser Val Ile Ser Thr Asp Gly Val Asp
180 185 190

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

Ala Glu Gln Val Arg Ser Leu Leu
210 215

[0249]

<210> 461

<211> 240

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 461

Met Ala Lys Arg Ile Leu Cys Phe Gly Asp Ser Leu Thr Trp Gly Trp
1 5 10 15

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

Arg Trp Thr Gly Val Leu Ala Gln Gln Leu Gly Ala Asp Phe Glu Val
35 40 45

Ile Glu Glu Gly Leu Val Ala Arg Thr Thr Asn Ile Asp Asp Pro Thr
50 55 60

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

His Leu Pro Leu Asp Leu Val Ile Ile Met Leu Gly Thr Asn Asp Thr
85 90 95

Lys Ala Tyr Phe Arg Arg Thr Pro Leu Asp Ile Ala Leu Gly Met Ser
100 105 110

Val Leu Val Thr Gln Val Leu Thr Ser Ala Gly Gly Val Gly Thr Thr
115 120 125

Tyr Pro Ala Pro Lys Val Leu Val Val Ser Pro Pro Pro Leu Ala Pro
130 135 140

Met Pro His Pro Trp Phe Gln Leu Ile Phe Glu Gly Gly Glu Gln Lys
145 150 155 160

Thr Thr Glu Leu Ala Arg Val Tyr Ser Ala Leu Ala Ser Phe Met Lys
165 170 175

Val Pro Phe Phe Asp Ala Gly Ser Val Ile Ser Thr Asp Gly Val Asp
180 185 190

[0250]

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

Ala Glu Gln Val Arg Ser Leu Leu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly
210 215 220

Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser His His His His His His
225 230 235 240

<210> 462

<211> 322

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 462

Met Ala Lys Arg Ile Leu Cys Phe Gly Asp Ser Leu Thr Trp Gly Trp
1 5 10 15

Val Pro Val Glu Asp Gly Ala Pro Thr Glu Arg Phe Ala Pro Asp Val

	20	25	30
	Arg Trp Thr Gly Val Leu Ala Gln Gln Leu Gly Ala Asp Phe Glu Val 35 40 45		
	Ile Glu Glu Gly Leu Val Ala Arg Thr Thr Asn Ile Asp Asp Pro Thr 50 55 60		
	Asp Pro Arg Leu Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Pro Ser Cys Leu Ala Thr 65 70 75 80		
	His Leu Pro Leu Asp Leu Val Ile Ile Met Leu Gly Thr Asn Asp Thr 85 90 95		
	Lys Ala Tyr Phe Arg Arg Thr Pro Leu Asp Ile Ala Leu Gly Met Ser 100 105 110		
	Val Leu Val Thr Gln Val Leu Thr Ser Ala Gly Gly Val Gly Thr Thr 115 120 125		
[0251]	Tyr Pro Ala Pro Lys Val Leu Val Val Ser Pro Pro Pro Leu Ala Pro 130 135 140		
	Met Pro His Pro Trp Phe Gln Leu Ile Phe Glu Gly Gly Glu Gln Lys 145 150 155 160		
	Thr Thr Glu Leu Ala Arg Val Tyr Ser Ala Leu Ala Ser Phe Met Lys 165 170 175		
	Val Pro Phe Phe Asp Ala Gly Ser Val Ile Ser Thr Asp Gly Val Asp 180 185 190		
	Gly Ile His Phe Thr Glu Ala Asn Asn Arg Asp Leu Gly Val Ala Leu 195 200 205		
	Ala Glu Gln Val Arg Ser Leu Leu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly 210 215 220		
	Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Pro Ser Ala Gln Ser Gln 225 230 235 240		
	Leu Pro Asp Lys His Ser Gly Leu His Glu Arg Ala Pro Gln Arg Tyr 245 250 255		

Gly Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Ile Pro Glu Pro Pro Lys
260 265 270

Glu Ala Pro Val Val Ile Glu Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro Lys
275 280 285

Pro Lys Pro Pro Ala His Asp His Lys Asn Gln Lys Glu Thr His Gln
290 295 300

Arg His Ala Ala Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His His His
305 310 315 320

His His

<210> 463
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0252]

<400> 463

Met Ala Lys Arg Ile Leu Cys Phe Gly Asp Ser Leu Thr Trp Gly Trp
1 5 10 15

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

Arg Trp Thr Gly Val Leu Ala Gln Gln Leu Gly Ala Asp Phe Glu Val
35 40 45

Ile Glu Glu Gly Leu Val Ala Arg Thr Thr Asn Ile Asp Asp Pro Thr
50 55 60

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

His Leu Pro Leu Asp Leu Val Ile Ile Met Leu Gly Thr Asn Asp Thr
85 90 95

Lys Ala Tyr Phe Arg Arg Thr Pro Leu Asp Ile Ala Leu Gly Met Ser

	100	105	110
	Val Leu Val Thr Gln Val Leu Thr Ser Ala Gly Gly Val Gly Thr Thr 115 120 125		
	Tyr Pro Ala Pro Lys Val Leu Val Val Ser Pro Pro Pro Leu Ala Pro 130 135 140		
	Met Pro His Pro Trp Phe Gln Leu Ile Phe Glu Gly Gly Glu Gln Lys 145 150 155 160		
	Thr Thr Glu Leu Ala Arg Val Tyr Ser Ala Leu Ala Ser Phe Met Lys 165 170 175		
	Val Pro Phe Phe Asp Ala Gly Ser Val Ile Ser Thr Asp Gly Val Asp 180 185 190		
	Gly Ile His Phe Thr Glu Ala Asn Asn Arg Asp Leu Gly Val Ala Leu 195 200 205		
[0253]	Ala Glu Gln Val Arg Ser Leu Leu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly 210 215 220		
	Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys 225 230 235 240		
	Gly Lys Gly Lys His His His His His His 245 250		
	<210> 464 <211> 268 <212> PRT <213> 人工序列		
	<220> <223> 合成构建体		
	<400> 464		
	Met Ala Lys Arg Ile Leu Cys Phe Gly Asp Ser Leu Thr Trp Gly Trp 1 5 10 15		
	Val Pro Val Glu Asp Gly Ala Pro Thr Glu Arg Phe Ala Pro Asp Val 20 25 30		

	Arg	Trp	Thr	Gly	Val	Leu	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Ala	Asp	Phe	Glu	Val	
			35					40					45				
	Ile	Glu	Glu	Gly	Leu	Val	Ala	Arg	Thr	Thr	Asn	Ile	Asp	Asp	Pro	Thr	
		50					55					60					
	Asp	Pro	Arg	Leu	Asn	Gly	Ala	Ser	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu	Ala	Thr	
	65					70					75					80	
	His	Leu	Pro	Leu	Asp	Leu	Val	Ile	Ile	Met	Leu	Gly	Thr	Asn	Asp	Thr	
					85					90					95		
	Lys	Ala	Tyr	Phe	Arg	Arg	Thr	Pro	Leu	Asp	Ile	Ala	Leu	Gly	Met	Ser	
				100					105					110			
	Val	Leu	Val	Thr	Gln	Val	Leu	Thr	Ser	Ala	Gly	Gly	Val	Gly	Thr	Thr	
			115					120						125			
	Tyr	Pro	Ala	Pro	Lys	Val	Leu	Val	Val	Ser	Pro	Pro	Pro	Leu	Ala	Pro	
		130					135					140					
[0254]	Met	Pro	His	Pro	Trp	Phe	Gln	Leu	Ile	Phe	Glu	Gly	Gly	Glu	Gln	Lys	
	145					150					155					160	
	Thr	Thr	Glu	Leu	Ala	Arg	Val	Tyr	Ser	Ala	Leu	Ala	Ser	Phe	Met	Lys	
					165					170					175		
	Val	Pro	Phe	Phe	Asp	Ala	Gly	Ser	Val	Ile	Ser	Thr	Asp	Gly	Val	Asp	
				180					185					190			
	Gly	Ile	His	Phe	Thr	Glu	Ala	Asn	Asn	Arg	Asp	Leu	Gly	Val	Ala	Leu	
			195					200					205				
	Ala	Glu	Gln	Val	Arg	Ser	Leu	Leu	Gly	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly	
		210					215					220					
	Ser	Pro	Gly	Ser	Ala	Gly	Gly	Pro	Gly	Ser	Asp	Pro	Thr	Lys	Pro	Pro	
	225					230					235					240	
	Arg	Thr	Pro	Thr	Ala	Asn	Thr	Ser	Arg	Pro	His	His	Asn	Phe	Gly	Ser	
					245					250					255		
	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Pro	His	His	His	His	His	His					

260

265

<210> 465
 <211> 296
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 465

Met Ser Thr Phe Val Ala Lys Asp Gly Thr Gln Ile Tyr Phe Lys Asp
 1 5 10 15

Trp Gly Ser Gly Lys Pro Val Leu Phe Ser His Gly Trp Pro Leu Asp
 20 25 30

Ala Asp Met Trp Glu Tyr Gln Met Glu Tyr Leu Ser Ser Arg Gly Tyr
 35 40 45

Arg Thr Ile Ala Phe Asp Arg Arg Gly Phe Gly Arg Ser Asp Gln Pro
 50 55 60

[0255]

Trp Thr Gly Asn Asp Tyr Asp Thr Phe Ala Asp Asp Ile Ala Gln Leu
 65 70 75 80

Ile Glu His Leu Asp Leu Lys Glu Val Thr Leu Val Gly Phe Ser Met
 85 90 95

Gly Gly Gly Asp Val Ala Arg Tyr Ile Ala Arg His Gly Ser Ala Arg
 100 105 110

Val Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala Val Thr Pro Leu Phe Gly Gln
 115 120 125

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

Lys Thr Glu Leu Leu Lys Asp Arg Ala Gln Phe Ile Ser Asp Phe Asn
 145 150 155 160

Ala Pro Phe Tyr Gly Ile Asn Lys Gly Gln Val Val Ser Gln Gly Val
 165 170 175

Gln Thr Gln Thr Leu Gln Ile Ala Leu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Thr
180 185 190

Val Asp Cys Val Thr Ala Phe Ala Glu Thr Asp Phe Arg Pro Asp Met
195 200 205

Ala Lys Ile Asp Val Pro Thr Leu Val Ile His Gly Asp Gly Asp Gln
210 215 220

Ile Val Pro Phe Glu Thr Thr Gly Lys Val Ala Ala Glu Leu Ile Lys
225 230 235 240

Gly Ala Glu Leu Lys Val Tyr Lys Asp Ala Pro His Gly Phe Ala Val
245 250 255

Thr His Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Leu Ala Phe Leu Lys Arg
260 265 270

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
275 280 285

[0256]

Gly Ser His His His His His His
290 295

<210> 466

<211> 306

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 466

Met Ser Thr Phe Val Ala Lys Asp Gly Thr Gln Ile Tyr Phe Lys Asp
1 5 10 15

Trp Gly Ser Gly Lys Pro Val Leu Phe Ser His Gly Trp Pro Leu Asp
20 25 30

Ala Asp Met Trp Glu Tyr Gln Met Glu Tyr Leu Ser Ser Arg Gly Tyr
35 40 45

Arg Thr Ile Ala Phe Asp Arg Arg Gly Phe Gly Arg Ser Asp Gln Pro
50 55 60

Trp Thr Gly Asn Asp Tyr Asp Thr Phe Ala Asp Asp Ile Ala Gln Leu
65 70 75 80

Ile Glu His Leu Asp Leu Lys Glu Val Thr Leu Val Gly Phe Ser Met
85 90 95

Gly Gly Gly Asp Val Ala Arg Tyr Ile Ala Arg His Gly Ser Ala Arg
100 105 110

Val Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala Val Thr Pro Leu Phe Gly Gln
115 120 125

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

Lys Thr Glu Leu Leu Lys Asp Arg Ala Gln Phe Ile Ser Asp Phe Asn
145 150 155 160

Ala Pro Phe Tyr Gly Ile Asn Lys Gly Gln Val Val Ser Gln Gly Val
165 170 175

[0257]

Gln Thr Gln Thr Leu Gln Ile Ala Leu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Thr
180 185 190

Val Asp Cys Val Thr Ala Phe Ala Glu Thr Asp Phe Arg Pro Asp Met
195 200 205

Ala Lys Ile Asp Val Pro Thr Leu Val Ile His Gly Asp Gly Asp Gln
210 215 220

Ile Val Pro Phe Glu Thr Thr Gly Lys Val Ala Ala Glu Leu Ile Lys
225 230 235 240

Gly Ala Glu Leu Lys Val Tyr Lys Asp Ala Pro His Gly Phe Ala Val
245 250 255

Thr His Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Leu Ala Phe Leu Lys Arg
260 265 270

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
275 280 285

Gly Ser Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Lys His His His His
290 295 300

His His
305

<210> 467
<211> 324
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 467

Met Ser Thr Phe Val Ala Lys Asp Gly Thr Gln Ile Tyr Phe Lys Asp
1 5 10 15

Trp Gly Ser Gly Lys Pro Val Leu Phe Ser His Gly Trp Pro Leu Asp
20 25 30

[0258] Ala Asp Met Trp Glu Tyr Gln Met Glu Tyr Leu Ser Ser Arg Gly Tyr
35 40 45

Arg Thr Ile Ala Phe Asp Arg Arg Gly Phe Gly Arg Ser Asp Gln Pro
50 55 60

Trp Thr Gly Asn Asp Tyr Asp Thr Phe Ala Asp Asp Ile Ala Gln Leu
65 70 75 80

Ile Glu His Leu Asp Leu Lys Glu Val Thr Leu Val Gly Phe Ser Met
85 90 95

Gly Gly Gly Asp Val Ala Arg Tyr Ile Ala Arg His Gly Ser Ala Arg
100 105 110

Val Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala Val Thr Pro Leu Phe Gly Gln
115 120 125

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

Lys Thr Glu Leu Leu Lys Asp Arg Ala Gln Phe Ile Ser Asp Phe Asn
145 150 155 160

Ala Pro Phe Tyr Gly Ile Asn Lys Gly Gln Val Val Ser Gln Gly Val
165 170 175

Gln Thr Gln Thr Leu Gln Ile Ala Leu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Thr
180 185 190

Val Asp Cys Val Thr Ala Phe Ala Glu Thr Asp Phe Arg Pro Asp Met
195 200 205

Ala Lys Ile Asp Val Pro Thr Leu Val Ile His Gly Asp Gly Asp Gln
210 215 220

Ile Val Pro Phe Glu Thr Thr Gly Lys Val Ala Ala Glu Leu Ile Lys
225 230 235 240

Gly Ala Glu Leu Lys Val Tyr Lys Asp Ala Pro His Gly Phe Ala Val
245 250 255

Thr His Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Leu Ala Phe Leu Lys Arg
260 265 270

[0259]

Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro
275 280 285

Gly Ser Asp Pro Thr Lys Pro Pro Arg Thr Pro Thr Ala Asn Thr Ser
290 295 300

Arg Pro His His Asn Phe Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro His His
305 310 315 320

His His His His

<210> 468

<211> 61

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 468

Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
1 5 10 15

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Pro Glu Trp Lys Thr Lys
20 25 30

Lys Ile Leu Leu Ser Arg Thr Arg Arg Ile Met Arg Gln Val Val Arg
35 40 45

Ser Val Met His Lys Ile Trp His His His His His His
50 55 60

<210> 469
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 469

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly
1 5 10 15

[0260] Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Trp Lys Thr
20 25 30

Lys Lys Ile Leu Leu Ser Arg Thr Arg Arg Ile Met Arg Gln Val Val
35 40 45

Arg Ser Val Met His Lys Ile Trp His His His His His His
50 55 60

<210> 470
<211> 61
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 470

Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly
1 5 10 15

Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Pro Glu Pro Leu Trp Arg
20 25 30

Arg Ile Thr Lys Arg Lys Leu Val Arg Pro Val Ala Thr Leu Met Trp
35 40 45

Tyr Trp Phe Thr Ser Lys Arg His His His His His His
50 55 60

<210> 471
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 471

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Pro Leu Trp
20 25 30

[0261] Arg Arg Ile Thr Lys Arg Lys Leu Val Arg Pro Val Ala Thr Leu Met
35 40 45

Trp Tyr Trp Phe Thr Ser Lys Arg His His His His His His
50 55 60

<210> 472
<211> 57
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 472

Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala
1 5 10 15

Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Arg Met Leu Ser Arg Ile Leu Arg
20 25 30

Met Phe Val Arg Ile Leu Lys Arg Glu Arg Leu Ser Gln Val Arg Gly
35 40 45

Leu Phe Val His His His His His His
50 55

<210> 473
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 473

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser
1 5 10 15

Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Arg Met Leu Ser Arg Ile Leu
20 25 30

Arg Met Phe Val Arg Ile Leu Lys Arg Glu Arg Leu Ser Gln Val Arg
35 40 45

Gly Leu Phe Val His His His His His His
50 55

[0262]

<210> 474
<211> 65
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 474

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser
1 5 10 15

Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly Ser Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu
20 25 30

Leu Arg Phe Leu Ala Arg Arg Phe Leu Lys Leu Arg Arg Ala Arg Lys
35 40 45

Trp Trp Asn Ala Trp Lys Val Trp Val Thr Arg His His His His His
50 55 60

His

65

<210> 475
 <211> 66
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 475

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gly
 1 5 10 15

Pro Gly Ser Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly Ser Ala Gly Gly Pro Gly
 20 25 30

Ser Leu Arg Phe Leu Ala Arg Arg Phe Leu Lys Leu Arg Arg Ala Arg
 35 40 45

Lys Trp Trp Asn Ala Trp Lys Val Trp Val Thr Arg His His His His
 50 55 60

[0263]

His His
 65

<210> 476
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 476

Met Ala Phe Phe Asp Leu Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Arg Pro
 1 5 10 15

Glu Arg Tyr Glu Glu Lys Asp Phe Asp Glu Phe Trp Glu Glu Thr Leu
 20 25 30

Ala Glu Ser Glu Lys Phe Pro Leu Asp Pro Val Phe Glu Arg Met Glu
 35 40 45

Ser His Leu Lys Thr Val Glu Ala Tyr Asp Val Thr Phe Ser Gly Tyr
 50 55 60

Arg Gly Gln Arg Ile Lys Gly Trp Leu Leu Val Pro Lys Leu Glu Glu
65 70 75 80

Glu Lys Leu Pro Cys Val Val Gln Tyr Ile Gly Tyr Asn Gly Gly Arg
85 90 95

Gly Phe Pro His Asp Trp Leu Phe Trp Pro Ser Met Gly Tyr Ile Cys
100 105 110

Phe Val Met Asp Thr Arg Gly Gln Gly Ser Gly Trp Leu Lys Gly Asp
115 120 125

Thr Pro Asp Tyr Pro Glu Gly Pro Val Asp Pro Gln Tyr Pro Gly Phe
130 135 140

Met Thr Arg Gly Ile Leu Asp Pro Arg Thr Tyr Tyr Tyr Arg Arg Val
145 150 155 160

Phe Thr Asp Ala Val Arg Ala Val Glu Ala Ala Ala Ser Phe Pro Gln
165 170 175

[0264]

Val Asp Gln Glu Arg Ile Val Ile Ala Gly Gly Ser Gln Gly Gly Gly
180 185 190

Ile Ala Leu Ala Val Ser Ala Leu Ser Lys Lys Ala Lys Ala Leu Leu
195 200 205

Cys Asp Val Pro Phe Leu Cys His Phe Arg Arg Ala Val Gln Leu Val
210 215 220

Asp Thr His Pro Tyr Ala Glu Ile Thr Asn Phe Leu Lys Thr His Arg
225 230 235 240

Asp Lys Glu Glu Ile Val Phe Arg Thr Leu Ser Tyr Phe Asp Gly Val
245 250 255

Asn Phe Ala Ala Arg Ala Lys Ile Pro Ala Leu Phe Ser Val Gly Leu
260 265 270

Met Asp Asn Ile Thr Pro Pro Ser Thr Val Phe Ala Ala Tyr Asn Tyr
275 280 285

Tyr Ala Gly Pro Lys Glu Ile Pro Ile Tyr Pro Tyr Asn Asn His Glu
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Phe Gln Ala Val Glu Gln Val Lys Phe Leu Lys Lys
305 310 315 320

Leu Phe Glu Lys Gly
325

<210> 477

<211> 272

<212> PRT

<213> 荧光假单胞菌 (Pseudomonas fluorescens)

<400> 477

Met Ser Thr Phe Val Ala Lys Asp Gly Thr Gln Ile Tyr Phe Lys Asp
1 5 10 15

Trp Gly Ser Gly Lys Pro Val Leu Phe Ser His Gly Trp Pro Leu Asp
20 25 30

[0265] Ala Asp Met Trp Glu Tyr Gln Met Glu Tyr Leu Ser Ser Arg Gly Tyr
35 40 45

Arg Thr Ile Ala Phe Asp Arg Arg Gly Phe Gly Arg Ser Asp Gln Pro
50 55 60

Trp Thr Gly Asn Asp Tyr Asp Thr Phe Ala Asp Asp Ile Ala Gln Leu
65 70 75 80

Ile Glu His Leu Asp Leu Lys Glu Val Thr Leu Val Gly Phe Ser Met
85 90 95

Gly Gly Gly Asp Val Ala Arg Tyr Ile Ala Arg His Gly Ser Ala Arg
100 105 110

Val Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala Val Thr Pro Leu Phe Gly Gln
115 120 125

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

Lys Thr Glu Leu Leu Lys Asp Arg Ala Gln Phe Ile Ser Asp Phe Asn

145	150	155	160
Ala Pro Phe Tyr	Gly Ile Asn Lys Gly	Gln Val Val Ser Gln Gly Val	
	165	170	175
Gln Thr Gln Thr	Leu Gln Ile Ala Leu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Thr		
	180	185	190
Val Asp Cys Val Thr	Ala Phe Ala Glu Thr Asp Phe Arg Pro Asp Met		
	195	200	205
Ala Lys Ile Asp Val Pro	Thr Leu Val Ile His Gly Asp Gly Asp Gln		
	210	215	220
Ile Val Pro Phe Glu Thr	Thr Gly Lys Val Ala Ala Glu Leu Ile Lys		
	225	230	235
Gly Ala Glu Leu Lys Val Tyr Lys Asp	Ala Pro His Gly Phe Ala Val		
	245	250	255
[0266] Thr His Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp	Leu Leu Ala Phe Leu Lys Arg		
	260	265	270
<210>	478		
<211>	216		
<212>	PRT		
<213>	耻垢分枝杆菌 (Mycobacterium smegmatis)		
<400>	478		
Met Ala Lys Arg Ile Leu Cys Phe Gly Asp Ser Leu Thr Trp Gly Trp			
1	5	10	15
Val Pro Val Glu Asp Gly Ala Pro Thr Glu Arg Phe Ala Pro Asp Val			
	20	25	30
Arg Trp Thr Gly Val Leu Ala Gln Gln Leu Gly Ala Asp Phe Glu Val			
	35	40	45
Ile Glu Glu Gly Leu Ser Ala Arg Thr Thr Asn Ile Asp Asp Pro Thr			
	50	55	60
Asp Pro Arg Leu Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Pro Ser Cys Leu Ala Thr			
	65	70	75
			80

His Leu Pro Leu Asp Leu Val Ile Ile Met Leu Gly Thr Asn Asp Thr
85 90 95

Lys Ala Tyr Phe Arg Arg Thr Pro Leu Asp Ile Ala Leu Gly Met Ser
100 105 110

Val Leu Val Thr Gln Val Leu Thr Ser Ala Gly Gly Val Gly Thr Thr
115 120 125

Tyr Pro Ala Pro Lys Val Leu Val Val Ser Pro Pro Pro Leu Ala Pro
130 135 140

Met Pro His Pro Trp Phe Gln Leu Ile Phe Glu Gly Gly Glu Gln Lys
145 150 155 160

Thr Thr Glu Leu Ala Arg Val Tyr Ser Ala Leu Ala Ser Phe Met Lys
165 170 175

Val Pro Phe Phe Asp Ala Gly Ser Val Ile Ser Thr Asp Gly Val Asp
180 185 190

[0267]

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

Ala Glu Gln Val Arg Ser Leu Leu
210 215

<210> 479

<211> 376

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 479

Met Ser Thr Phe Val Ala Lys Asp Gly Thr Gln Ile Tyr Phe Lys Asp
1 5 10 15

Trp Gly Ser Gly Lys Pro Val Leu Phe Ser His Gly Trp Pro Leu Asp
20 25 30

Ala Asp Met Trp Glu Tyr Gln Met Glu Tyr Leu Ser Ser Arg Gly Tyr
35 40 45

Arg Thr Ile Ala Phe Asp Arg Arg Gly Phe Gly Arg Ser Asp Gln Pro
50 55 60

Trp Thr Gly Asn Asp Tyr Asp Thr Phe Ala Asp Asp Ile Ala Gln Leu
65 70 75 80

Ile Glu His Leu Asp Leu Lys Glu Val Thr Leu Val Gly Phe Ser Met
85 90 95

Gly Gly Gly Asp Val Ala Arg Tyr Ile Ala Arg His Gly Ser Ala Arg
100 105 110

Val Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala Val Thr Pro Leu Phe Gly Gln
115 120 125

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

Lys Thr Glu Leu Leu Lys Asp Arg Ala Gln Phe Ile Ser Asp Phe Asn
145 150 155 160

[0268]

Ala Pro Phe Tyr Gly Ile Asn Lys Gly Gln Val Val Ser Gln Gly Val
165 170 175

Gln Thr Gln Thr Leu Gln Ile Ala Leu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Thr
180 185 190

Val Asp Cys Val Thr Ala Phe Ala Glu Thr Asp Phe Arg Pro Asp Met
195 200 205

Ala Lys Ile Asp Val Pro Thr Leu Val Ile His Gly Asp Gly Asp Gln
210 215 220

Ile Val Pro Phe Glu Thr Thr Gly Lys Val Ala Ala Glu Leu Ile Lys
225 230 235 240

Gly Ala Glu Leu Lys Val Tyr Lys Asp Ala Pro His Gly Phe Ala Val
245 250 255

Thr His Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Leu Ala Phe Leu Lys Arg
260 265 270

	Gly	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Ala	Gly	Gly	Pro	
			275					280					285				
	Gly	Ser	Pro	Ser	Ala	Gln	Ser	Gln	Leu	Pro	Asp	Lys	His	Ser	Gly	Leu	
		290					295					300					
	His	Glu	Arg	Ala	Pro	Gln	Arg	Tyr	Gly	Pro	Glu	Pro	Glu	Pro	Glu	Pro	
	305					310					315					320	
[0269]	Glu	Pro	Ile	Pro	Glu	Pro	Pro	Lys	Glu	Ala	Pro	Val	Val	Ile	Glu	Lys	
					325					330					335		
	Pro	Lys	Pro	Lys	Pro	Lys	Pro	Lys	Pro	Lys	Pro	Pro	Ala	His	Asp	His	
				340					345					350			
	Lys	Asn	Gln	Lys	Glu	Thr	His	Gln	Arg	His	Ala	Ala	Gly	Ser	Gly	Gly	
		355						360					365				
	Gly	Gly	Ser	Pro	His	His	His	His									
		370					375										