



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202233834 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：110140404

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 10 月 29 日

(51)Int. Cl.：

*C12N9/50 (2006.01)**C12N9/52 (2006.01)**A61K38/16 (2006.01)**A61K38/48 (2006.01)**A61P1/14 (2006.01)*

(30)優先權：2020/10/30 美國

63/108,163

(71)申請人：華盛頓大學(美國) UNIVERSITY OF WASHINGTON (US)

美國

加利福尼亞大學董事會(美國) THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (US)

美國

(72)發明人：普爾茲 英格麗德 史旺森 PULTZ, INGRID SWANSON (US)；沃爾芙 克蘭西 WOLF, CLANCEY (US)；西格爾 賈斯汀 布魯姆菲爾德 SIEGEL, JUSTIN BLOOMFIELD (US)；汀伯格 克里斯汀 伊萊恩 TINBERG, CHRISTINE ELAINE (US)；斯圖爾特 蘭斯 STEWART, LANCE (US)；貝克 大衛 BAKER, DAVID (US)

(74)代理人：袁鐵生；劉偉隆

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：30 項 圖式數：0 共 106 頁

(54)名稱

用於治療乳糜瀉的組合物及方法

(57)摘要

本揭示案係關於能夠裂解例如麥膠蛋白等麩質蛋白的多肽、編碼其之核酸分子、包含其之醫藥組合物及使用其治療乳糜瀉及/或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）的方法。

The present disclosure is directed to polypeptides capable of cleaving gluten proteins, e.g., gliadins, nucleic acid molecules encoding the same, pharmaceutical compositions comprising the same, and methods of use thereof for treating celiac sprue disease and/or non-celiac gluten sensitivity (NCGS).



【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於治療乳糜瀉的組合物及方法

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CELIAC
SPRUE DISEASE

【中文】

本揭示案係關於能夠裂解例如麥膠蛋白等麩質蛋白的多肽、編碼其之核酸分子、包含其之醫藥組合物及使用其治療乳糜瀉及/或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）的方法。

【英文】

The present disclosure is directed to polypeptides capable of cleaving gluten proteins, *e.g.*, gliadins, nucleic acid molecules encoding the same, pharmaceutical compositions comprising the same, and methods of use thereof for treating celiac sprue disease and/or non-celiac gluten sensitivity (NCGS).

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於治療乳糜瀉的組合物及方法

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CELIAC
SPRUE DISEASE

【技術領域】

【0001】

相關應用

本申請案主張 2020 年 10 月 30 日提交的美國臨時申請案第 63/108,163 號之優先權，其全部內容藉由引用併入本文。

【0002】

參考序列表

本申請案含有已以 ASCII 格式以電子方式提交的序列表，且在此藉由引用整體併入。該 ASCII 複本創建於 2021 年 10 月 15 日，名為 7281_50WO2_Seqlisting_ST25.txt，且大小為 31,599 字節。

【0003】 本揭示案係關於能夠裂解例如麥膠蛋白等麩質肽的組合物，及其用於治療包括乳糜瀉在內之麩質敏感的用途。

【先前技術】

【0004】 乳糜瀉是一種非常流行的疾病，其中在小麥、大麥及黑麥產品中發現的被稱為「麩質」的膳食蛋白質在遺傳易感個體的小腸中引起免疫反應。由此產生的炎症會導致小腸絨毛退化，阻礙營養物質的吸收。症狀可能出現在早期兒童時代或晚年，且其嚴重程度範圍很廣，自腹瀉、疲勞及體重減輕到腹

脹、貧血及神經系統症狀。除了自飲食中完全消除麩質外，目前沒有針對此終生疾病的有效療法。儘管乳糜瀉在很大程度上無法加以全面診斷，但其在美國及歐洲的患病率估計為人口的 0.5-1.0%。除了乳糜瀉外，很大一部分人群被認為患有非乳糜瀉型麩質敏感(NCGS)病況，此係由攝入麩質引起，儘管症狀通常與乳糜瀉的症狀無法區分，但在機制上與乳糜瀉不同。由於在人類消化道的嚴酷及高酸性環境中特異性及有效地降解麩質衍生肽的物理及化學要求嚴格，因此難以鑑定出天然存在之合適酶作為乳糜瀉及 NCGS 的口服治療劑。由於麩質肽在進入腸道後立即起始免疫反應，因此任何治療乳糜瀉的口服酶治療劑均必須使此等免疫原性麩質區域在胃隔室中分解，從而防止此等麩質肽引起因炎症所致的腸道損傷。

【發明內容】

【0005】 本揭示案的某些態樣係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列多肽。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0006】 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 467 的胺基酸殘基

為 Ser。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。
 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0007】 在一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【0008】 本揭示案的某些態樣係針對包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0009】 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 278 的胺基酸殘基為 Ser。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 78 的胺基酸殘基為 Glu。
 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 82 的胺基酸殘基為 Asp。

【0010】 在一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【0011】 本揭示案的某些態樣係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽；其中多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID

NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95% 序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99% 序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0012】 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0013】 在一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【0014】 在一些態樣中，多肽包含組胺酸標籤，其中組胺酸標籤融合在多肽的 C 端。在一些態樣中，組胺酸標籤包含在 SEQ ID NO: 17 中所述之胺基酸序列 (GSTENLYFQSGALEHHHHHH)。在一些態樣中，組胺酸標籤包含可裂解組胺酸標籤，包括但不限於包含在 SEQ ID NO: 15 中所述之胺基酸序列的可裂解組胺酸標籤 (X_N PQ(L/Q)PX_NHHHHHH)，其中 X_N 為 1-25 個胺基酸殘基的連接子。在一些態樣中，可裂解組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 16 中所述之胺基酸序列 (GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH)。

【0015】 本揭示案的某些態樣係針對編碼本文揭示之多肽的核酸分子。

【0016】 本揭示案的某些態樣係針對包含本文揭示之核酸分子的核酸表現載體。

【0017】 本揭示案的某些態樣係針對包含本文揭示之核酸分子或核酸表現載體的重組宿主細胞。

【0018】 本揭示案的某些態樣係針對一種醫藥組合物，其包含本文揭示之多肽、本文揭示之核酸分子、本文揭示之核酸表現載體、本文揭示之重組宿主細胞或其任何組合以及醫藥學上可接受之載劑。

【0019】 本揭示案之某些態樣係針對一種用於治療乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感 (NCGS) 的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體施用有效治療

乳糜瀉或 NCGS 的量的本文揭示之多肽、本文揭示之核酸分子、本文揭示之核酸表現載體、本文揭示之重組宿主細胞或本文揭示之醫藥組合物。在一些態樣中，口服投與多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物。

【0020】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽之 N 端處的第一胺基酸為 Ser (S)。在一些態樣中，多肽具有麥膠蛋白酶活性。

【0021】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽在多肽之 N 端處不包含 Met (M)。

【0022】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 23 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中 SEQ ID NO: 23 中的 Xaa 不為 Met (M)。

【0023】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽之 N 端處的第一胺基酸為 Ser (S)；其中多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0024】 在一些態樣中，多肽自 N 端至 C 端的前兩個 N 端胺基酸為 Ser-Asp (SD)。在一些態樣中，多肽自 N 端至 C 端的前三個 N 端胺基酸為 Ser-Asp-Met (SDM)。在一些態樣中，多肽自 N 端至 C 端的前四個 N 端胺基酸為

Ser-Asp-Met-Glu (SDME)。

【0025】 在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0026】 在本文揭示之多肽的一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。在本文揭示之多肽的一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。在本文揭示之多肽的一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0027】 在本揭示案的一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。在一些態樣中，與 Kuma011 相比，多肽具有改良之酶活性。

【0028】 在一些態樣中，本文揭示之多肽進一步包含組胺酸標籤，其中組胺酸標籤融合在多肽之 C 端處。在一些態樣中，組胺酸標籤包含在 SEQ ID NO: 17 中所述之胺基酸序列 (GSTENLYFQSGALEHHHHHH)。在一些態樣中，組胺酸標籤包含可裂解組胺酸標籤，包括但不限於包含在 SEQ ID NO: 15 中所述之胺基酸序列的可裂解組胺酸標籤 (XNPQ(L/Q)PXNHHHHHH)，其中 XN 為 1-25 個胺基酸殘基的連接子。在一些態樣中，可裂解組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 16 中所述之胺基酸序列 (GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH)。

【0029】 在一些態樣中，本揭示案係針對編碼本文所述之多肽的核酸分子。在一些態樣中，本揭示案係針對包含本文所述之核酸分子的核酸表現載體。

【0030】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含本文所述之核酸分子或核酸

表現載體的重組宿主細胞。在一些態樣中，宿主細胞是原核的。在一些態樣中，宿主細胞是真核的。

【0031】 在一些態樣中，本揭示案係針對一種醫藥組合物，其包含本文所述之多肽、核酸分子、核酸表現載體或重組宿主細胞，或其任何組合以及醫藥學上可接受之載劑。

【0032】 在一些態樣中，本揭示案係針對一種用於治療個體之乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與有效治療乳糜瀉或 NCGS 的量的本文所述之多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物，從而治療乳糜瀉或 NCGS。

【0033】 在一些態樣中，本揭示案係針對一種用於減輕個體的乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）相關炎症的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與有效減輕乳糜瀉或 NCGS 相關炎症的本文所述之多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物，從而減輕炎症。在一些態樣中，口服投與多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物。

【0034】 在一些態樣中，本揭示案係針對用於降解食品中的麩質的方法，包含將有效降解麩質之量的食品與本文所述之多肽或醫藥組合物接觸，從而降解食品中的麩質。

【0035】 在一些態樣中，本揭示案係針對用於降解食品中的麥膠蛋白的方法，其包含使食品與有效降解麥膠蛋白之量的本文所述之多肽或醫藥組合物接觸，從而降解食品中的麥膠蛋白。

【0036】 在一些態樣中，該方法降解食品中的至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 的麩質或麥膠蛋白。在一些態樣中，該方法在不到約 1.5 小時、不到約 1 小時、不到約 45 分鐘、不到約 40 分鐘、不到約 30 分鐘、不到約 25 分鐘、

不到約 20 分鐘、不到約 15 分鐘、不到約 10 分鐘或不到約 5 分鐘降解食品中之麩質或麥膠蛋白。在一些態樣中，該方法在小於約 6.5、小於約 6.0、小於約 5.5、小於約 5.0、小於約 4.5、小於約 4.0、小於約 3.5、小於約 3.0、小於約 2.5、小於約 2.0 或小於約 1.5 的 Ph 值下降解食品中之麩質或麥膠蛋白。

【圖式簡單說明】

【0037】 無

【實施方式】

【0038】 本揭示案的某些態樣係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列多肽。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0039】 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0040】 在一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【0041】 本揭示案的某些態樣係針對包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0042】 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 278 的胺基酸殘基為 Ser。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 78 的胺基酸殘基為 Glu。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 82 的胺基酸殘基為 Asp。

【0043】 在一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【0044】 本揭示案的某些態樣係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽；其中多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0045】 在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。在一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0046】 在一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【0047】 在一些態樣中，多肽包含組胺酸標籤，其中組胺酸標籤融合在多肽的 C 端。在一些態樣中，組胺酸標籤包含在 SEQ ID NO: 17 中所述之胺基酸序列 (GSTENLYFQSGALEHHHHHH)。在一些態樣中，組胺酸標籤包含可裂解組胺酸標籤，包括但不限於包含在 SEQ ID NO: 15 中所述之胺基酸序列的可裂解組胺酸標籤 (X_N PQ(L/Q)PX_NHHHHHH)，其中 X_N 為 1-25 個胺基酸殘基的連接子。在一些態樣中，可裂解組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 16 中所述之胺基酸序列 (GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH)。

【0048】 本揭示案的某些態樣係針對編碼本文揭示之多肽的核酸分子。

【0049】 本揭示案的某些態樣係針對包含本文揭示之核酸分子的核酸表現載體。

【0050】 本揭示案的某些態樣係針對包含本文揭示之核酸分子或核酸表現載體的重組宿主細胞。

【0051】 本揭示案的某些態樣係針對一種醫藥組合物，其包含本文揭示之多肽、本文揭示之核酸分子、本文揭示之核酸表現載體、本文揭示之重組宿主細胞或其任何組合以及醫藥學上可接受之載劑。

【0052】 本揭示案之某些態樣係針對一種用於治療乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感 (NCGS) 的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體施用有效治療乳糜瀉或 NCGS 的量的本文揭示之多肽、本文揭示之核酸分子、本文揭示之核酸表現載體、本文揭示之重組宿主細胞或本文揭示之醫藥組合物。在一些態樣中，口服投與多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物。

【0053】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽之 N 端處的第一胺基酸為 Ser (S)。在一些態樣中，多肽具有麥膠蛋白酶活性。

【0054】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽在多肽之 N 端處不包含 Met (M)。

【0055】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 23 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中 SEQ ID NO: 23 中的 Xaa 不為 Met (M)。

【0056】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽之 N 端處的第一胺基酸為 Ser (S)；其中多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0057】 在一些態樣中，多肽自 N 端至 C 端的前兩個 N 端胺基酸為 Ser-Asp (SD)。在一些態樣中，多肽自 N 端至 C 端的前三個 N 端胺基酸為 Ser-Asp-Met (SDM)。在一些態樣中，多肽自 N 端至 C 端的前四個 N 端胺基酸為 Ser-Asp-Met-Glu (SDME)。

【0058】 在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之

多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90% 序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95% 序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99% 序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，本文揭示之多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0059】 在本文揭示之多肽的一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。在本文揭示之多肽的一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。在本文揭示之多肽的一些態樣中，對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0060】 在本揭示案的一些態樣中，多肽能夠裂解麥膠蛋白。在一些態樣中，與 Kuma011 相比，多肽具有改良之酶活性。

【0061】 在一些態樣中，本文揭示之多肽進一步包含組胺酸標籤，其中組胺酸標籤融合在多肽之 C 端處。在一些態樣中，組胺酸標籤包含在 SEQ ID NO: 17 中所述之胺基酸序列 (GSTENLYFQSGALEHHHHHH)。在一些態樣中，組胺酸標籤包含可裂解組胺酸標籤，包括但不限於包含在 SEQ ID NO: 15 中所述之胺基酸序列的可裂解組胺酸標籤 (XNPQ(L/Q)PXNHHHHHH)，其中 XN 為 1-25 個胺基酸殘基的连接子。在一些態樣中，可裂解組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 16 中所述之胺基酸序列 (GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH)。

【0062】 在一些態樣中，本揭示案係針對編碼本文所述之多肽的核酸分子。在一些態樣中，本揭示案係針對包含本文所述之核酸分子的核酸表現載體。

【0063】 在一些態樣中，本揭示案係針對包含本文所述之核酸分子或核酸表現載體的重組宿主細胞。在一些態樣中，宿主細胞是原核的。在一些態樣中，宿主細胞是真核的。

【0064】 在一些態樣中，本揭示案係針對一種醫藥組合物，其包含本文所

述之多肽、核酸分子、核酸表現載體或重組宿主細胞，或其任何組合以及醫藥學上可接受之載劑。

【0065】 在一些態樣中，本揭示案係針對一種用於治療個體之乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與有效治療乳糜瀉或 NCGS 的量的本文所述之多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物，從而治療乳糜瀉或 NCGS。

【0066】 在一些態樣中，本揭示案係針對一種用於減輕個體的乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）相關炎症的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與有效減輕乳糜瀉或 NCGS 相關炎症的本文所述之多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物，從而減輕炎症。在一些態樣中，口服投與多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物。

【0067】 在一些態樣中，本揭示案係針對用於降解食品中的麩質的方法，包含將有效降解麩質之量的食品與本文所述之多肽或醫藥組合物接觸，從而降解食品中的麩質。

【0068】 在一些態樣中，本揭示案係針對用於降解食品中的麥膠蛋白的方法，其包含使食品與有效降解麥膠蛋白之量的本文所述之多肽或醫藥組合物接觸，從而降解食品中的麥膠蛋白。

【0069】 在一些態樣中，該方法降解食品中的至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 的麩質或麥膠蛋白。在一些態樣中，該方法在不到約 1.5 小時、不到約 1 小時、不到約 45 分鐘、不到約 40 分鐘、不到約 30 分鐘、不到約 25 分鐘、不到約 20 分鐘、不到約 15 分鐘、不到約 10 分鐘或不到約 5 分鐘降解食品中之麩質或麥膠蛋白。在一些態樣中，該方法在小於約 6.5、小於約 6.0、小於約 5.5、小於約 5.0、小於約 4.5、小於約 4.0、小於約 3.5、小於約 3.0、小於約 2.5、小

於約 2.0 或小於約 1.5 的 Ph 值下降解食品中之麩質或麥膠蛋白。

【0070】

具體實施方式

本揭示案提供能夠降解麥膠蛋白肽之麥膠蛋白酶。本揭示案的一些態樣係關於包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽，其中多肽之 N 端處的第一胺基酸為 Ser (S)。在一些態樣中，多肽在多肽之 N 端處不包含 Met (M)。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0071】

1. 定義

為了可以更容易地理解本揭示案，首先定義某些術語。除非本文另有定義，否則與本揭示案相關的科學及技術術語應具有一般技術者通常理解的含義。術語的含義及範疇應該是明確的，然而，在任何潛在歧義的情況下，本文提供之定義優先於任何字典或外部定義。

【0072】此外，應當注意，每當引用參數的值或值的範圍時，希望引用值的中間值及範圍亦為本揭示案的一部分。

【0073】如本文所用，單數形式「一個/種 (a/an)」及「the (該)」包括複數所指對象，除非上下文另有明確規定。除非另有明確規定，否則本文所用之“及”與“或”可互換使用。除非另有說明，否則術語「包含」、「具有」、「包括」及「含有」應被解釋為開放式術語（即，意為「包括但不限於」）。除非在本文中另有說明，否則本文對數值範圍的引用僅旨在作為引用的或落入該範圍內的各單獨值的簡寫方法，且每個單獨的值均併入說明書中，如同其被單獨引用一樣。

【0074】術語「約」或「大約」通常意調在給定值或範圍的 10%以內、5%以內或更佳 1%以內。

【0075】術語「胺基酸」係指二十種常見的天然存在的胺基酸。天然存在之胺基酸包括：丙胺酸 (Ala; A)、天冬醯胺 (Asn; N)、天冬胺酸 (Asp; D)、精胺酸 (Arg; R)、半胱胺酸 (Cys; C)、麩胺酸 (Glu; E)、麩醯胺酸 (Gln; Q)、甘胺酸 (Gly; G)、組胺酸 (His; H)、異白胺酸 (Ile; I)、白胺酸 (Leu; L)、離胺酸 (Lys; K)、甲硫胺酸 (Met; M)、苯丙胺酸 (Phe; F)、脯胺酸 (Pro; P)、絲胺酸 (Ser; S)、蘇胺酸 (Thr; T)、色胺酸 (Trp; W)、酪胺酸 (Tyr; Y) 以及纈胺酸 (Val; V)。

【0076】術語「乳糜瀉 (Celiac disease 及 celiac sprue disease)」可互換使用，且係指以對麩質（小麥粉中的主要蛋白質）中的免疫原性肽及相關蛋白質發生炎症反應為特徵的病況。攝入後， α -麥膠蛋白被胃及腸蛋白酶部分降解為寡肽，本文中稱為「麥膠蛋白」。由於麥膠蛋白異常高的脯胺酸及麩醯胺酸含量，其對在胃條件下進一步的蛋白水解具有抗性。

【0077】如本文所用，「保守胺基酸取代」是其中一個胺基酸殘基經另一個具有相似化學特性（例如電荷或疏水性）的側鏈（R 基團）的胺基酸殘基取代的胺基酸殘基。一般而言，保守的胺基酸取代基本上不會改變蛋白質的功能特性。在兩個或更多個胺基酸序列因保守取代而彼此不同的情況下，可以上調序列一致性百分比或相似度以校正取代的保守性質。進行此調整的手段是熟習此項技術者熟知的。參見例如 Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331，其藉由引用併入本文中。具有類似化學特性之側鏈的胺基酸組的實例包括（1）脂肪族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；（2）脂肪族羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；（3）含醯胺之側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；（4）芳香族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；（5）鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；

(6) 酸性側鏈：天冬胺酸及麩胺酸，及(7) 含硫側鏈為半胱胺酸及甲硫胺酸。較佳的保守胺基酸取代基為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬胺酸及天冬醯胺-麩醯胺酸。或者，保守的置換係在藉由併入本文之 Gonnet 等人. (1992) *Science* 256: 1443-1445 中揭示的 PAM250 對數似然矩陣中具有正值的任何變化。「中等保守」置換係在 PAM250 對數似然矩陣中具有非負值的任何變化。

【0078】 如本文所用，術語「降解 (degrade 及 degradation)」係指將靶標，例如多肽，例如麩質、麥膠蛋白及相關蛋白質破壞或分解成較小的寡肽。在某些實施例中，麥膠蛋白之降解導致與乳糜瀉相關的免疫原性肽的減少及/或移除。

【0079】 如本文所用，術語「麥膠蛋白酶」係指可有效降解一或多種麥膠蛋白的多肽 (酶)。如本文所用，術語「麥膠蛋白」係指麩質的富含脯胺酸 (P) 及麩醯胺酸 (Q) 的肽組分。例示性麥膠蛋白包含 PQLP (SEQ ID NO: 9) 或 PQQP (SEQ ID NO: 10) 模體 (諸如 PFPQPQLPY (SEQ ID NO: 11) 及/或 PFPQPQQPF (SEQ ID NO: 12))。在某些態樣中，麥膠蛋白酶在酸性條件下，例如在 pH 4 或更低下降解一或多種麥膠蛋白。

【0080】 如本文所用，術語「突變」係指多肽中一或多個胺基酸或聚核苷酸中一或多個核苷酸的插入、缺失或取代。

【0081】 如本文所用，術語「變異體」係指相對於參考多肽或聚核苷酸包含一或多個胺基酸或核苷酸插入、取代或缺失的多肽或聚核苷酸。在某些態樣中，變異體多肽或聚核苷酸與參考多肽或聚核苷酸序列具有至少約 75% 的胺基酸或核苷酸序列一致性，例如至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 91%、至少約 92%、至少約 93%、至少約 94%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 序列一致性。在一些態樣中，參考多肽或聚核苷酸之變異體保持參考多肽或聚核苷酸的一或多種功能、活性及/

或結構。例如，本文揭示之麥膠蛋白酶的變異體保持有效降解麩質及/或麥膠蛋白的功能。在另一個實例中，編碼麥膠蛋白酶的聚核苷酸的變異體編碼功能性麥膠蛋白酶。

【0082】 通常使用序列分析軟體量測序列一致性。蛋白質分析軟體使用分配給各種取代、缺失及其他修飾（包括保守胺基酸替代）的相似性度量來匹配相似序列。例如，GCG 軟體含有諸如 Gap 及 Bestfit 之程式，其可使用系統內定參數來確定密切相關多肽，諸如來自不同生物物種的同源多肽之間或野生型蛋白質及其突變蛋白之間的序列同源性或序列一致性。參見例如 GCG 版本 6.1。亦可使用 FASTA 使用系統內定或推薦參數（GCG 版本 6.1 中的程式）比較多肽序列。FASTA（例如 FASTA2 及 FASTA3）提供查詢及搜索序列之間最佳重疊區域的比對及序列一致性百分比（Pearson (2000)同上）。可用於將本揭示案的序列與含有來自不同生物體的大量序列的資料庫進行比較的算法的另一個非限制性實例係使用系統內定參數的電腦程式 BLAST，例如 BLASTP 或 TBLASTN。參見例如 Altschul 等人. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410 及 Altschul 等人. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402，每篇文獻的全部內容藉由引用併入本文。

【0083】 如本文所用，「治療（treatment 或 treating）」係指產生有益效果的作用，例如改善疾病或病症的至少一種症狀。有益效果可採取比基線改良之形式，即比根據該方法在開始治療之前進行的量測或觀測的改良。有益效果亦可採取阻止、減緩、延緩或穩定損傷（例如炎症）的形式，其可導致小腸絨毛降解（包括增生及絨毛萎縮），其特徵為乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）。有效治療可指減輕或預防乳糜瀉或 NCGS 的至少一種症狀。此類有效治療可減輕乳糜瀉或 NCGS 的腸內及/或腸外臨床表現，諸如腹瀉、腹痛、營養不良、貧血、骨質疏鬆症或任何已知症狀，抑制症狀惡化；限制或預防既往患有該病症之患者的乳糜瀉復發；限制或預防既往有乳糜瀉或 NCGS 症狀之患者的症狀復

發；及/或限制有發展乳糜瀉或 NCGS 風險或尚未顯示出乳糜瀉或 NCGS 的臨床作用之個體的乳糜瀉或 NCGS 的發展。

【0084】 在一些態樣中，治療減少小腸中的炎症。與治療之前的炎症相比，炎症的有效減輕可包含炎症減輕至少約 1%、至少約 5%、至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 40%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 99%或約 100%。可藉由任何方式量測炎症的減輕。

【0085】 任何對麩質敏感的個體均可根據本揭示案的方法進行治療。在某些態樣中，個體正經歷乳糜瀉。在某些態樣中，個體患有 NCGS。在某些態樣中，個體為人類個體。在某些態樣中，個體正經歷一或多種與麩質敏感相關的症狀。在某些態樣中，個體是無症狀的。

【0086】 如本文所用，「有效量」係指足以引起一或多種麩質敏感症狀（例如乳糜瀉或 NCGS）的嚴重程度或頻率降低的多肽的量。

【0087】 本文揭示之多肽可配製成醫藥組合物，諸如上文揭示之彼等，且可經任何合適的途徑投與，包括口服、非經腸、吸入噴霧或以含有習知醫藥學上可接受之載劑、佐劑及媒劑的單位劑量調配物局部投與。

【0088】 本揭示案的所有態樣均可組合使用，除非上下文另有明確規定。引用的所有參考文獻藉由引用整體併入本文。在本申請案中，除非另有說明，否則所使用的技術可在幾個熟知的參考文獻中找到，諸如：*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Sambrook 等人, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press), *Gene Expression Technology* (Methods in Enzymology, 第 185 卷, D. Goeddel 編, 1991.Academic Press, San Diego, CA), 「Guide to Protein Purification」 in *Methods in Enzymology* (M.P. Deutshcer 編, (1990) Academic Press, Inc.)；*PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (Innis 等人, 1990.Academic Press, San Diego, 第 18 頁，共 74 頁(發明說明書))

CA), *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 第 2 版.(R.I. Freshney.1987.Liss, Inc. New York, NY), *Gene Transfer and Expression Protocols*, pp. 109-128, E.J. Murray 編, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.), and the Ambion 1998 Catalog (Ambion, Austin, TX)。

【0089】

2. 本揭示案之組合物

本揭示案提供有效降解麥膠蛋白之麥膠蛋白酶。本揭示案至少部分基於以下發現：如本文所述，含有一或多個相對於 Kuma011 之突變的各種多肽具有相對於 Kuma011 及其他已知的麥膠蛋白酶，諸如 SC-PEP（鞘膜單胞菌莢膜肽酶）及內切蛋白酶 EPB2 改良的活性，包括增加的麥膠蛋白降解活性。在某些實施例中，本文描述之各種多肽在酸性條件下具有優於 Kuma011 及其他已知麥膠蛋白酶的改良之麥膠蛋白酶活性。

【0090】 在一些態樣中，本揭示案提供包含與 SEQ ID NO: 6 中所述之胺基酸序列至少 75%一致之胺基酸序列的多肽，其中（a）殘基 467 為 Ser，殘基 267 為 Glu，且殘基 271 為 Asp；且（b）多肽在一或多個選自由以下組成之群的殘基處包含相對於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸取代：221、262E、268、269、270、319A、320、354E/Q/R/Y、358S/Q/T、368F/Q、399、402、406、424、449、461、463、105、171、172、173、174 及 456。在一些態樣中，多肽在一或多個選自由以下組成之群的殘基處包含相對於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸取代：221、262E、268、269、270、319A、320、354E/Q/R/Y、358S/Q/T、368F/Q、399、402、406、424、449、461 及 463。

表 1：Kuma 序列

Kuma011 (全長) SEQ ID NO: 6 (粗體 = 前蛋白質結構域)	MSDMEKPWKEGEEARAVLQGHARAQAPQAVDKGPVAG DERMAVTVVLRRQRAGELAAHVERQAAIAPHAREHLKR EAFAASHGASLDDFAELRRFADAHGLALDRANVAAGTAV LSGPDDAINRAFGVELRHFDHPDGSYRSYLGEVTVPASIA PMIEAVLGLDTRPVARPHFRMQRRAEAGGFARSQAAPT AYTPLDVAQAYQFPEGLDGQGQCIAIHELGGGYDEASLAQYF ASLGVPAPQVVSVSVDGASNQPTGDPKGPDPGEVELDIEVAG ALAPGAKFAVYFAPDTTAGFLDAITTAIHDPTLKPSVVSISWS GPEDSWTSAAIAAMNRAFLDAAALGVTVLAAAGDSGSTGG EQDGLYHVHFPAASPYVLACGGTRLVASGGRIAQETVWNDG PDGGATGGGVSRIFPLPAWQEHANVPPSANPGASSGRGVPD LAGNADPATGYEVVIDGEATVIGGTSAVAPLFAALVARINQK LGKAVGYLNPTLYQLPADVFHDITEGNNDIANRAQIYQAGP GWDPC TGLGSPIGVRLLQALLPSASQPQP
Kuma011 前蛋白質結構域 SEQ ID NO: 2	MSDMEKPWKEGEEARAVLQGHARAQAPQAVDKGPVAGDE RMAVTVVLRRQRAGELAAHVERQAAIAPHAREHLKREAF ASHGASLDDFAELRRFADAHGLALDRANVAAGTAVLSGPDD AINRAFGVELRHFDHPDGSYRSYLGEVTVPASIA PMIEAVLGLDTRPVARPHFRMQRRAEAGGFARSQA
Kuma011 成熟肽 SEQ ID NO: 3	AAPTAYTPLDVAQAYQFPEGLDGQGQCIAIHELGGGYDEASL AQYFASLGVPAPQVVSVSVDGASNQPTGDPKGPDPGEVELDI EVAGALAPGAKFAVYFAPDTTAGFLDAITTAIHDPTLKPSVVS ISWSGPEDSWTSAAIAAMNRAFLDAAALGVTVLAAAGDSG STGGEQDGLYHVHFPAASPYVLACGGTRLVASGGRIAQETV WNDGPDGGATGGGVSRIFPLPAWQEHANVPPSANPGASSGR GVPDLAGNADPATGYEVVIDGEATVIGGTSAVAPLFAALVARI NQKL GKAVGYLNPTLYQLPADVFHDITEGNNDIANRAQIYQ AGPGWDPC TGLGSPIGVRLLQALLPSASQPQP
Kuma010 (全長) SEQ ID NO: 4 (粗體 = 前蛋白質結構域)	MSDMEKPWKEGEEARAVLQGHARAQAPQAVDKGPVAG DERMAVTVVLRRQRAGELAAHVERQAAIAPHAREHLKR EAFAASHGASLDDFAELRRFADAHGLALDRANVAAGTAV LSGPDDAINRAFGVELRHFDHPDGSYRSYLGEVTVPASIA PMIEAVLGLDTRPVARPHFRMQRRAEAGGFARSQAAPT

	AYTPLDVAQAYQFPEGLDGQGQCIAIHELGGGYDEASLAQYF ASLGVPAPQVVSVDGASNQPTGDPKGPGEVELDIEVAG ALAPGAKFAVYFAPDTTAGFLDAITTAIHDPTLKPSVVSISWS GPEDSWTSAAIAAMNRAFLDAAALGVTVLAAAGDSGSTGG EQDGLYHVHFPAASPYVLACGGTRLVASGGRIAQETVWNDG PDGGATGGGVSRIFPLPAWQEHANVPPSANPGASSGRGVPD LAGNADPATGYEVVIDGEATVIGGTSAVAPLFAALVARINQK LGKAVGYLNPTLYQLPADVFHDITEGNNDIANRAQIYQAGP GWDPCITGLGSPIGVRLQALLPSASQPQPGSTENLYFQSGAL EHHHHHHH
Kuma010 成熟 肽 SEQ ID NO: 5	AAPTAYTPLDVAQAYQFPEGLDGQGQCIAIHELGGGYDEASL AQYFASLGVPAPQVVSVDGASNQPTGDPKGPGEVELDI EVAGALAPGAKFAVYFAPDTTAGFLDAITTAIHDPTLKPSVVS ISWSGPEDSWTSAAIAAMNRAFLDAAALGVTVLAAAGDSG STGGEQDGLYHVHFPAASPYVLACGGTRLVASGGRIAQETV WNDGPDGGATGGGVSRIFPLPAWQEHANVPPSANPGASSGR GVPDLAGNADPATGYEVVIDGEATVIGGTSAVAPLFAALVARI NQKLKGKAVGYLNPTLYQLPADVFHDITEGNNDIANRAQIYQ AGPGWDPCITGLGSPIGVRLQALLPSASQPQPGSTENLYFQS GALEHHHHHHH
Kuma062-M (全長) SEQ ID NO: 1 (粗體 = 前蛋白 質結構域)	SDMEKPWKEGEEARAVLQGHARAQAPQAVDKGPVAGD ERMAVTVVLRRQRAGELAAHVERQAAIAPHAREHLKRE AFAASHGASLDDFAELRRFADAHGLALDRANVAAGTAVL SGPDDAINRAFGVELRHFDPDGSYRSYLGEVTVASIAP MIEAVLGLDTRPVARRRFRMQRRRAEGGFARSQAAAPTA YTPLDVAQAYQFPEGLDGQGQCIAIHELGGGYDEASLAQYFA SLGVPAPQVVSVDGASNQPTGDPEGPDGEVTLIDIEVAGA LAPGAKFAVYFAPDTTAGFLDAITTAIHDPTLKPSVVSISWSM PEDSWTSAAIAAMNRAFLDAAALGVTVLAAAGDQGSGTSGE QDGLYHVHFPAASPYVLACGGTRLVASGGRIAQETVWNQGP DGGATGGGVSRIFPLPAWQEHANVPPSANPGASSGRGVPDL AGNADPQTGYEVVIDGEATVTGGTSAVAPLFAALVARINQKL GKAVGYLNPTLYQLPADVFHDITEGNNDIANRAQIYQAGPG WDPCITGLGSPIGVRLQALLPSASQPQP

Kuma062-M 前 蛋白質結構域 SEQ ID NO: 7	SDMEKPWKEGEEARAVLQGHARAQAPQAVDKGPVAGDER MAVTVVLRRQRAGELAAHVERQAAIAPHAREHLKREAF SHGASLDDFAELRRFADAHGLALDRANVAAGTAVLSGPDDA INRAFGVELRHFDHPDGSYRSYLGEVTVPASIAMIEAVLGL DTRPVARRRRFRMQRRRAEGGFARSQA
Kuma062-M 成 熟肽 SEQ ID NO: 8	AAPTAYTPLDVAQAYQFPEGLDGQGQCIHIELGGGYDEASL AQYFASLGVPAQVVSVSVDGASNQPTGDPEGPDGEVTLDI EVAGALAPGAKFAVYFAPDTTAGFLDAITTAIHDP TLKPSVVSISWSMPEDSWTSAAIAAMNRAFLDAAALGVT VLAAAGDQGSTSGEQDGLYHVHFPAA SPYVLACGGTRLVASGGRIAQETV WNQGPDGGATGGGVSRIFPLPAWQEHANVPPSANPGASSGR GVPDLAGNADPQTGYEVVIDGEATVTGGTSAVAPLFAALVA RINQKLKGAVGYLNPTLYQLPADVFHDITEGNNDIANRAQIY QAGPGWDPCTGLGSPIGVRLQALLPSASQPQ

【0091】 如本文所述，Kuma010 包含藉由胺基鍵連接至 Kuma010 序列之 C 端處的組胺酸標籤序列 GSTENLYFQSGALEHHHHHH (SEQ ID NO: 17) 的 Kuma011。

【0092】 表 1 中提供之序列中的粗體殘基代表未處理多肽中存在之 N 端部分（即在處理期間經裂解除去）；且非粗體字體代表多肽的經處理型式（即成熟肽序列）中存在的殘基。括號內的數字表示殘基數；其中有兩個以「/」隔開的數字，左邊的數字係未處理型式的殘基數，右邊的數字係處理型式的殘基數。SEQ ID NO: 6 係 Kuma011 的未處理型式；SEQ ID NO: 3 係 Kuma011 之處理型式。因此，包含 SEQ ID NO: 6 中所述之胺基酸序列的多肽（全長 Kuma011 多肽）亦必然包含 SEQ ID NO: 3 中所述之胺基酸序列（成熟 Kuma011 多肽）。SEQ ID NO: 1 為 Kuma062-M 之未處理型式；SEQ ID NO: 8 係 Kuma062-M 的處理型式。因此，包含 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列的多肽（全長 Kuma062-M 多肽）亦必然包含 SEQ ID NO: 8 所述之胺基酸序列（成熟 Kuma062-M 多肽）。

【0093】 在一些態樣中，本揭示案之麥膠蛋白酶在其 N 端處具有絲胺酸

(Ser 或 S)。在一些態樣中，本揭示案之麥膠蛋白酶在其 N 端處具有 SD 模體。在一些態樣中，本揭示案之麥膠蛋白酶在其 N 端處具有 SDM 模體。在一些態樣中，本揭示案之麥膠蛋白酶在其 N 端處具有 SDME (SEQ ID NO: 21)。在此類態樣中，第一胺基酸 (多肽自其 N 端開始之位置 1 為 S；第二胺基酸 (多肽自其 N 端開始之位置 2 為 D；第三胺基酸 (多肽自其 N 端開始之位置 3 為 M)；且第四胺基酸 (多肽自其 N 端開始之位置 4 為 E。在一些態樣中，寡肽在其 N 端連接至 N 端 S，其中在其 N 端與 S 相鄰之胺基酸不為甲硫胺酸 (M)。

【0094】 在一些態樣中，多肽 (例如麥膠蛋白酶) 包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100% 的序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 80%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 96%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 97%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 98%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽在對應於 SEQ ID NO: 1 中之胺基酸 467

的胺基酸殘基處包含 Ser。在一些態樣中，多肽在對應於 SEQ ID NO: 1 中之胺基酸 267 的胺基酸殘基處包含 Glu。在一些態樣中，多肽在對應於 SEQ ID NO: 1 中之胺基酸 271 的胺基酸殘基處包含 Asp。

【0095】 在一些態樣中，多肽（例如麥膠蛋白酶）包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100% 的序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含在 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 80%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 85%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 90%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 95%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 96%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 97%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 98%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 99%序列一致性的胺基酸序列。在一些態樣中，多肽在對應於 SEQ ID NO: 3 中的胺基酸 278 的胺基酸殘基處包含 Ser。在一些態樣中，多肽在對應於 SEQ ID NO: 3 中的胺基酸 78 的胺基酸殘基處包含 Glu。在一些態樣中，多肽在對應於 SEQ ID NO: 3 中的胺基酸 82 的胺基酸殘基處包含 Asp。

【0096】 在一些態樣中，多肽（例如麥膠蛋白酶）包含與 SEQ ID NO: 1 中

第 24 頁，共 74 頁(發明說明書)

所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100% 的序列一致性的胺基酸序列，其中多肽包含在 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。在一些態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列；其中多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列；且其中多肽在對應於 SEQ ID NO: 3 中之胺基酸 278 的胺基酸殘基處包含 Ser、在對應於 SEQ ID NO: 3 中之胺基酸 78 的胺基酸殘基處包含 Glu、以及在對應於 SEQ ID NO: 3 中之胺基酸 82 的胺基酸殘基處包含 Asp。

【0097】 在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 N 端或 C 端的一或多個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少一個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少兩個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少三個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少四個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少五個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少一個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少兩個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少三個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 1 或 6 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少四個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO:

1 或 6 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少五個胺基酸缺失。

【0098】 在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 N 端或 C 端的一或多個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少一個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 N 末端的至少兩個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少三個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少四個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 N 端的至少五個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少一個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少兩個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少三個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少四個胺基酸缺失。在一些態樣中，多肽包含相對於 SEQ ID NO: 3 或 8 中所述之胺基酸序列自 C 端的至少五個胺基酸缺失。

【0099】 如以下實例中所揭示，根據本揭示案之一些態樣的多肽係用於例如治療乳糜瀉的改良之多肽。多肽是對應於 SEQ ID NO: 4 (KUMAMAX™，下文稱為 Kuma010；參見 WO2013/023151，其藉由全文引用併入本文中) 的經處理（即成熟）多肽或預處理（即全長）多肽的變異體。用於治療乳糜瀉之多肽能夠降解富含脯胺酸（P）及麩醯胺酸（Q）的麩質組分，稱為「麥膠蛋白」，據信此等組分是大多數乳糜瀉患者免疫反應的主要來源。與揭示為適用於治療乳糜瀉（參見例如 WO2015/023728 及 WO2016/200880，其各自藉由全文引用併入本文）及/或顯示改良之多肽產生的 Kuma011 及其他多肽相比，本揭示案的多

肽在 pH4 下在降解具有 PQLP (SEQ ID NO: 9) 或 QQP (SEQ ID NO: 10) 模體的肽(諸如 PFPQPQLPY(SEQ ID NO: 11) 及/或 PFPQPQQPF(SEQ ID NO: 12)), 其為代表麥膠蛋白的受質) 時顯示出優異的活性。因此, 本揭示案的多肽構成了顯著改良之用於治療乳糜瀉的治療劑。

【0100】 在一些態樣中, 本文揭示之多肽能夠在 pH 4 下降解包含選自 PFPQPQLPY (SEQ ID NO: 11) 、PFPQPQQPF (SEQ ID NO: 12) 、LQLQPFPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQQPF (SEQ ID NO: 13) 及/或 FLQPQQPFPQQPQQPYPQQPQQPFPQ (SEQ ID NO: 14) 之胺基酸序列的多肽。

【0101】 本揭示案之第一態樣的多肽包含本揭示案的多肽酶的預處理型式。

本揭示案之第一態樣的多肽包含本揭示案的多肽酶的處理型式, 且亦在 pH 4 下降解 PFPQPQLPY (SEQ ID NO: 11) 肽及/或 PFPQPQQPF (SEQ ID NO: 12) 肽, 以及 LQLQPFPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQQPF (SEQ ID NO: 13) 及/或 FLQPQQPFPQQPQQPYPQQPQQPFPQ (SEQ ID NO: 14) 。

【0102】 如本文所用, 「至少 75%一致」或「具有至少 75%序列一致性」意謂多肽相對於參考序列, 例如相對於選自 SEQ ID NO: 1-8 的胺基酸序列在其全長胺基酸序列中相差 25%或更少(包括任何胺基酸取代、缺失、添加或插入)。在一些態樣中, 多肽包含與根據 SEQ ID NO: 1 (預處理) 或 SEQ ID NO: 8 (處理) 之胺基酸序列具有至少 76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性的胺基酸序列或由其組成。

本揭示案的多肽的任何態樣的多肽可包含來自 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 8 在 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或全部 24 個 (取決於態樣) 所述殘基處的胺基酸取代。

【0103】 在本揭示案的第一態樣的多肽的一個態樣中，多肽在一或多個選自由 221D/N/Q/H、262E、268S/T/A、269L/T、270A/T/V、319A、354E/Q/R/Y、358S/Q/T、368F/Q、399Q、402S/Q、406S、424K、449E/N/Q、461R 及 463A/L/M/Q/R/T/V 組成之群的殘基處包含自 SEQ ID NO: 6 的一或多個胺基酸取代。通篇使用之數字表示 SEQ ID NO: 6 或 SEQ ID NO: 3 多肽序列中的殘基編號，且數字右側的單字母胺基酸縮寫表示與存在於 SEQ ID NO: 6 或 3 中彼位置的胺基酸殘基相比可能的胺基酸取代。

【0104】 在本揭示案的第一態樣的多肽的另一態樣中，多肽在殘基 399 及 449 處包含來自 SEQ ID NO: 6 的胺基酸取代。在一個態樣中，多肽包含胺基酸取代 399Q 及 449Q。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽在位置 399 處包含 Q 且在位置 449 處包含 Q。

【0105】 在本揭示案的第一態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 358S 及 463T。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 358 處的 S，及 (ii) 位置 463 處的 T，或 (i)-(ii) 的任何組合。

【0106】 在本揭示案的第一態樣的多肽的一個態樣中，多肽包含 262E、269T、354Q、358S、399Q、449Q 及 463T。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 262 處的 E，(ii) 位置 269 處的 T，(iii) 位置 354 處的 Q，(iv) 位置 358 處的 S，(v) 位置 399 處的 Q、(vi) 位置 449 處的 Q 及 (vii) 位置 463 處的 T 或 (i)-(vii) 之任何組合。

【0107】 此等多肽在 WO2016/200880 中揭示之實例中得到廣泛表徵，如命名為 Kuma030 之多肽及其變異體所例示。在本揭示案之第一態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 319A、368F、399Q、449Q 及 I463T。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 319 處之 A，(ii) 位置 368 處之 F，(iii) 位置 399 處之 Q，(iv) 位置 449 處之 Q，以及 (v) 位置 463 處之 T，或 (i) -

(v) 的任何組合。此等多肽在 WO2016/200880 中揭示之實例中得到廣泛表徵，如命名為 Kuma040 之多肽及其變異體所例示。在本揭示案之第一態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 262E、269T、270V、354Q、358S、399Q 及 A449Q。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 262 處之 E，(ii) 位置 269 處之 T，(iii) 位置 270 處之 V，(vi) 位置 354 處之 Q，(v) 位置 358 處之 S、(vi) 位置 399 處之 Q 及 (vii) 位置 449 處之 Q 或 (i) - (vii) 之任何組合。此等多肽在 WO2016/200880 中揭示之實例中得到廣泛表徵，如命名為 Kuma050 之多肽及其變異體所例示。在本揭示案之第一態樣的多肽的一個態樣中，多肽包含 262E、269T、320M、354Q、358S、399Q、449Q 及 463T。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 262 處之 E，(ii) 位置 269 處之 T，(iii) 位置 320 處之 M，(vi) 位置 354 處之 Q，(v) 位置 358 處之 S、(vi) 位置 399 處之 Q 及 (vii) 位置 449 處之 Q 或 (i) - (vii) 之任何組合。此等多肽在 WO2016/200880 中揭示之實例中得到廣泛表徵，如命名為 Kuma060 之多肽及其變異體所例示。在本揭示案的第一態樣的多肽的又一態樣中，多肽包含 319A、320M、368F、399Q、449Q 及 463T。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 319 處的 A，(ii) 位置 320 處的 M，(iii) 位置 368 處的 F，(v) 位置 399 處的 Q，及 (v) 位置 449 處的 Q 或 (i)-(v) 的任何組合。此等多肽在 WO2016/200880 中揭示之實例中得到廣泛表徵，如命名為 Kuma070 之多肽及其變異體所例示。如本文所用，術語「Kuma020」、「Kuma030」、「Kuma040」、「Kuma050」及「Kuma070」係指具有與在 WO2016/200880 中揭示的相同名稱的相同多肽。

【0108】 在本揭示案的第一態樣的多肽的另一態樣中，多肽在一或多個選自由 105、171、172、173、174 及 456 組成之群的胺基酸位置處包含來自 SEQ ID NO: 6 的胺基酸取代。在一個態樣中，胺基酸取代為 105H；171R A 或 S；172R、

A 或 S；173R 或 S、174S 及/或 456V。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 在位置 105 處的 H；(ii) 在位置 171 處的 R、A 或 S；(iii) 在位置 172 處的 R、A 或 S；(iv) 及在位置 173 處的 R 或 S；(v) 在位置 174 處的 S；(vi) 在位置 456 處的 V；或 (vii) (i) - (vi) 之任何組合。在另一態樣中，胺基酸取代為 171R、172R 及/或 456V。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO: 6 之編號，多肽包含 (i) 位置 171 處的 R，(ii) 位置 172 處的 R，(iii) 位置 456 處的 V，或 (iv) (i) - (iii) 之任何組合。

【0109】 在本揭示案的第二態樣的多肽的一個態樣中，多肽在一或多個選自由 32D/N/Q/H、73E、79S/T/A、80L/T、81A/T/V、130A、165E/Q/R/Y、169S/Q/T、179F/Q、210Q、213S/Q、217S、235K、260E/N/Q、272R 及 274A/L/M/Q/R/T/V 組成之群的殘基處包含一或多個來自 SEQ ID NO: 3 的胺基酸取代。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽在殘基 210 及 260 處包含來自 SEQ ID NO: 3 的胺基酸取代。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含胺基酸取代 210Q 及 260Q。在一些態樣中，基於 SEQ ID NO:3 之編號，多肽包含 (i) 位置 210 處的 Q，(ii) 位置 260 處的 Q，或 (i) - (ii) 的任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的一個態樣中，多肽包含 169S 及 274T。(Kuma020 屬)。在此類態樣中，基於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽包含 (i) 位置 169 處的 S，(ii) 位置 274 處的 T，或 (iv) (i) - (ii) 的任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 73E、80T、165Q、169S、210Q、260Q 及 274T。(Kuma030 屬)。在此類態樣中，基於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽包含 (i) 位置 73 處的 E，(ii) 位置 80 處的 T，(iii) 位置 165 處的 Q，(iv) 位置 169 處的 S，(v) 位置 210 處的 Q，(vi) 位置 260 處的 Q 及 (vii) 位置 274 處的 T 或 (i) - (vii) 之任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 130A、179F、210Q、260Q 及 274T。(Kuma040 屬)。在此類態樣中，基

於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽包含 (i) 位置 130 處的 A，(ii) 位置 179 處的 F，(iii) 位置 210 處的 Q，(iv) 位置 260 處的 Q，(v) 位置 274 處的 T，或 (i) - (v) 之任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 73E、80T、81V、165Q、169S、210Q 及 260Q。(Kuma050 屬)。在此類態樣中，基於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽包含 (i) 位置 73 處的 E，(ii) 位置 80 處的 T，(iii) 位置 81 處的 V，(iv) 位置 165 處的 Q，(v) 位置 169 處的 S，(vi) 位置 210 處的 Q，(vii) 位置 260 處的 Q 或 (i) - (vii) 之任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的一個態樣中，多肽包含 73E、80T、320M、165Q、169S、210Q、260Q 及 274T。(Kuma060 屬)。在此類態樣中，基於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽包含 (i) 位置 73 處的 E，(ii) 位置 80 處的 T，(iii) 位置 320 處的 M，(iv) 位置 165 處的 Q，(v) 位置 169 處的 S，(vi) 位置 210 處的 Q，(vii) 位置 260 處的 Q，(viii) 位置 274 處的 T，或 (i) - (vii) 的任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽包含 130A、131M、179F、210Q、260Q 及 274T。(Kuma070 屬)。在此類態樣中，基於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽包含 (i) 位置 130 處的 A，(ii) 位置 131 處的 M，(iii) 位置 179 處的 F，(iv) 位置 210 處的 Q，(v) 位置 260 處的 Q，(vi) 位置 274 處的 T 或 (i) - (vi) 的任何組合。在本揭示案的第二態樣的多肽的另一態樣中，多肽在一或多個選自由 267 組成之群的胺基酸位置處包含來自 SEQ ID NO: 3 的胺基酸取代。在一個態樣中，胺基酸取代為 267V。在此類態樣中，基於 SEQ ID NO: 3 之編號，多肽在位置 267 處包含 V。

【0110】 在本揭示案的任何態樣的多肽的另一態樣中，多肽在多肽的 C 端進一步包含組胺酸標籤，以促進多肽的分離。可使用任何合適的組胺酸標籤；在一個態樣中，標籤與 TEV 蛋白酶切割位點 (ENLYFQS) (SEQ ID NO: 18) 連接以允許在純化後用 TEV 蛋白酶有效移除，例如標籤可包含胺基酸序列

GSTENLYFQSGALEHHHHHH (SEQ ID NO: 17) 或由其組成。在另一態樣中，組胺酸標籤為 a.可裂解組胺酸標籤，其允許更容易地移除 His 標籤。在一個態樣中，可裂解的組胺酸標籤包含胺基酸序列 X_N PQ(L/Q)PX_NHHHHHH (SEQ ID NO: 15)，其中 X_N 為 1-25 個胺基酸殘基的连接子。在一個非限制性實例中，可裂解組胺酸標籤包含胺基酸序列 GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH (SEQ ID NO: 16)。

在本揭示案的多肽的任何態樣的一個態樣中，與 SEQ ID NO: 6 或 SEQ ID NO: 3 相比的胺基酸取代可包含表 2 或 3 中所指出的一或多個取代。發現此等位置處的取代通常良好耐受（即通常對活性產生輕微影響或無影響），且在一些情況下將本揭示案的多肽的活性增加不超過 20%。

表 2.相對於 Kuma010 位置處的可能胺基酸取代。

殘基數 (預處理/處理)	殘基	殘基數 (預處理/處理)	殘基
221/32	D、N、Q、H	358/169	A、S、N、Q、T
261/72	A、R、N、D、C、Q、 E、G、H、I、L、K、 M、S、T、W、Y、V	368/179	A、R、N、C、Q、 E、G、K、M、F、 S、T、W、Y
262/73	A、R、N、D、C、Q、 E、G、H、I、L、M、 F、T、W、Y、V	397/208	A、C、F、Y
264/75	A、N、D、C、Q、E、 G、S、T、Y	399/210	Q、N
266/77	A、C、S	402/213	Q、N、S
268/79	S、T	406/217	S
269/80	L、T	424/235	K
270/81	A、R、N、D、C、Q、 E、G、I、K、S、T、 V	446/257	G、S
317/128	A、N、C、G、T、V	448/259	A、R、N、D、C、

			Q、E、G、H、I、 L、K、M、F、S、 T、W、Y、V
318/129	A、R、N、D、C、Q、 E、G、H、L、K、M、 F、S、T、Y、V	449/260	Q、E、G、N
319/130	A、N、D、C、Q、H、 M、T	456/267	A、N、D、C、Q、 E、G、H、L、S、 T、V
320/131	A、R、N、D、C、Q、 K、M、S	461/272	R
350/161	N、D、C、G、S、T	463/274	A、R、N、D、C、 Q、E、G、H、L、 K、M、F、S、T、 W、Y、V
351/162	G、S	464/277	A、N、D、C、S、
353/164	A、R、N、C、Q、E、 G、I、K、M、S、T、 V	466/279	D、C、G、S
354/165	A、R、N、D、C、Q、 E、G、H、L、K、M、 F、T、W、Y		

【0111】 在本揭示案的多肽的任何態樣的另一實施例中，與 SEQ ID NO: 6 或 SEQ ID NO: 3 相比之胺基酸取代可包含表 3 中指出的一或多個取代。

表 3

殘基數 (預處理/處理)	殘基	殘基數 (預處理/處理)	殘基
221/32	D、N、Q、H	358/169	A、S、N、Q、T
261/72	S	368/179	A、N、D、Q、E、 S、T
262/73	A、R、N、D、Q、E、 G、L、M、T	402/213	Q、S
264/75	A	406/217	S
268/79	S、T	424/235	K
269/80	L、T	446/257	S
270/81	A、T、V	449/260	Q、N、A
317/128	A、T	456/267	V
319/130	A	461/272	R
354/165	A、R、N、D、Q、E、 K、T、Y	463/274	A、R、Q、L、M、 T、V

【0112】 在本揭示案的多肽的任何態樣的另一實施例中，本揭示案的多肽的每個殘基處的胺基酸可如表 4 中所指出，該表列出了藉由計算誘變分析預測的在多肽酶的每個位置處的所有可能突變。如在 WO2016/200880 中揭示之實施例中所述，使用簡併引子在活性位點中存在的每個位置（殘基 261-264、266-267、270、317-320、350-354、368、397、403-404、446、448、456 及 463-468）處測試突變，以測試各種胺基酸取代對活性的影響；不干擾活性的彼等可併入本揭示案的多肽中，如表 4 所示。

表 4：與 Kuma 010 相關的殘基處的可能胺基酸

全長	成熟	胺基酸可能性
190	1	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
191	2	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、VAL
192	3	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、TRP、TYR
193	4	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
194	5	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
195	6	ALA、ASN、CYS、GLN、HIS、LEU、MET、PHE、THR、TYR
196	7	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
197	8	ALA、GLY、PRO、SER
198	9	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
199	10	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
200	11	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、ILE、SER、THR、VAL
201	12	ALA、CYS、GLY、SER
202	13	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
203	14	ALA、GLY、SER
204	15	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR
205	16	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
206	17	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、

		LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
207	18	ALA、CYS、GLN、GLU、GLY、LYS、PRO、SER、THR、TRP
208	19	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
209	20	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
210	21	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、MET、SER、THR、VAL
211	22	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR
212	23	GLY
213	24	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
214	25	GLY
215	26	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、SER、THR
216	27	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、SER、THR、VAL
217	28	ALA、CYS、ILE、LEU、SER、THR、VAL
218	29	ALA、GLY、SER
219	30	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、MET、SER、THR、VAL
220	31	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、SER、THR、VAL
221	32	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、SER、THR、VAL
222	33	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、SER、THR、VAL
223	34	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLU、GLY、LYS、MET、SER
224	35	GLY
225	36	GLY

226	37	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLU、GLY、HIS、LEU、PHE、SER、THR、TRP、TYR
227	38	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LYS、MET、SER
228	39	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
229	40	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
230	41	ALA、GLY、SER
231	42	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、SER、THR
232	43	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
233	44	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
234	45	ALA、ASN、CYS、GLY、HIS、PHE、SER、TYR
235	46	ALA、ASN、ASP、CYS、HIS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
236	47	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
237	48	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
238	49	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、MET、SER、THR、VAL
239	50	GLY
240	51	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、SER、THR、TYR、VAL
241	52	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
242	53	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PRO、SER、THR、VAL

243	54	ALA、GLY、PRO、SER
244	55	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
245	56	ALA、ASN、CYS、GLY、SER、THR、VAL
246	57	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
247	58	ALA、ARG、ASP、CYS、GLY、ILE、LYS、MET、PRO、SER
248	59	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
249	60	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR
250	61	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、SER、THR、VAL
251	62	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
252	63	ASN、ASP、GLY、SER
253	64	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP
254	65	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
255	66	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、MET、SER、THR
256	67	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
257	68	ALA、ARG、ASN、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LYS、MET、PRO、SER、THR、VAL
258	69	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
259	70	GLY
260	71	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL

261	72	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
262	73	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
263	74	GLY
264	75	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、PRO、SER、THR、TRP
265	76	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、SER、THR、VAL
266	77	ALA、CYS、GLY、SER
267	78	GLU
268	79	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR、VAL
269	80	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
270	81	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、SER、THR、VAL
271	82	ASP
272	83	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、MET、SER、THR、VAL
273	84	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、SER、THR
274	85	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、ILE、SER、THR、VAL
275	86	ALA、CYS、GLY、SER
276	87	GLY
277	88	ALA、GLY、SER
278	89	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、MET、SER、THR、VAL
279	90	ALA、GLY、SER
280	91	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、MET、PHE、PRO、SER、TRP、TYR
281	92	GLY

282	93	ALA、GLY、SER
283	94	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
284	95	CYS、HIS、ILE、LEU、MET、PHE、THR、TYR、VAL
285	96	ALA、GLY、SER
286	97	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR、VAL
287	98	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、HIS、LEU、PHE、SER、TYR
288	99	HIS、PHE
289	100	ALA、GLY、SER
290	101	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
291	102	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
292	103	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
293	104	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、VAL
294	105	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
295	106	GLY
296	107	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、VAL
297	108	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
298	109	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
299	110	ALA、GLY、SER
300	111	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL

301	112	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、VAL
302	113	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、SER、THR、TRP、VAL
303	114	ALA、GLY、SER
304	115	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、SER、THR、VAL
305	116	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
306	117	ALA、ASN、ASP、SER
307	118	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
308	119	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
309	120	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
310	121	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
311	122	ALA、CYS、GLY、PRO、SER
312	123	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
313	124	ALA、CYS、GLY、ILE、SER、THR、VAL
314	125	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、SER、THR、VAL
315	126	ALA、CYS、GLY、SER、THR
316	127	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、MET、SER、THR、VAL
317	128	ALA、ASN、CYS、GLY、SER、THR、VAL
318	129	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL

319	130	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、HIS、MET、SER、THR
320	131	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、LYS、MET、SER
321	132	ALA、CYS、GLY、PRO、SER
322	133	ALA、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、SER
323	134	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、VAL、
324	135	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
325	136	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、TRP、TYR
326	137	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
327	138	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
328	139	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
329	140	ALA、ASP、CYS、GLY、SER
330	141	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
331	142	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
332	143	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
333	144	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
334	145	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLU、GLY、MET、SER、THR、VAL
335	146	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
336	147	ALA、ARG、CYS、GLN、GLU、GLY、MET、SER

337	148	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
338	149	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
339	150	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
340	151	ALA、ASN、ASP、GLY、SER
341	152	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、SER、THR、VAL
342	153	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
343	154	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
344	155	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
345	156	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
346	157	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、THR
347	158	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LYS、MET、PRO、SER、THR、VAL
348	159	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、SER、THR、VAL
349	160	ALA、CYS、GLY、SER、THR
350	161	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR
351	162	ALA、GLY、SER
352	163	GLY
353	164	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LYS、MET、SER、THR、VAL
354	165	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、

		LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
355	166	GLY
356	167	ALA、GLY、SER
357	168	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、MET、SER、THR、VAL
358	169	ALA、GLY、SER
359	170	ASN、GLY
360	171	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
361	172	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
362	173	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
363	174	ASN、ASP、GLY、SER
364	175	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
365	176	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLY、HIS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
366	177	ALA、ASN、ASP、CYS、HIS、LYS、SER
367	178	ALA、ASP、CYS、GLY、SER、THR、VAL
368	179	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
369	180	ALA、CYS、HIS、PHE、SER、TYR
370	181	ALA、ASP、CYS、GLY、PRO、SER
371	182	ALA、GLY、SER
372	183	ALA、CYS、GLY、SER
373	184	ALA、GLY、SER
374	185	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、TRP、VAL

375	186	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
376	187	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、HIS、ILE、LEU、SER、THR、VAL
377	188	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
378	189	ALA、GLY、SER
379	190	ALA、ASP、CYS、GLY、SER、THR
380	191	GLY
381	192	GLY
382	193	ALA、CYS、GLY、SER、THR
383	194	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
384	195	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、SER、THR
385	196	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、TRP、VAL
386	197	ALA、CYS、GLY、MET、SER、THR
387	198	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
388	199	ASN、ASP、GLY、LYS、SER
389	200	GLY
390	201	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
391	202	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、ILE、MET、PRO、SER、THR、VAL
392	203	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
393	204	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR

394	205	ALA、CYS、GLN、GLU、GLY、SER、THR
395	206	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LYS、MET、SER、THR、VAL
396	207	ALA、CYS、GLY、SER、THR、VAL
397	208	ALA、CYS、PHE、TRP、TYR
398	209	ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、MET、SER
399	210	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、LYS、MET、SER
400	211	GLY
401	212	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
402	213	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
403	214	GLY
404	215	GLY
405	216	ALA、GLY、SER
406	217	ALA、CYS、GLY、SER、THR
407	218	GLY
408	219	GLY
409	220	GLY
410	221	ALA、ASN、CYS、GLY、ILE、SER、THR、VAL
411	222	ALA、GLY、SER
412	223	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
413	224	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
414	225	ALA、ASN、CYS、GLN、GLU、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
415	226	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、

		LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
416	227	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、VAL
417	228	ALA、CYS、GLN、GLU、GLY、MET、PRO、SER、THR
418	229	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
419	230	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、PHE、SER、TRP、TYR
420	231	GLN、GLU
421	232	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
422	233	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
423	234	ALA、GLY、SER
424	235	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
425	236	ALA、CYS、GLY、PRO、SER、THR、VAL
426	237	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
427	238	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
428	239	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、SER、THR、VAL
429	240	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER
430	241	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR
431	242	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
432	243	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
433	244	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、

434	245	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
435	246	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
436	247	GLY
437	248	ALA、ARG、ASN、CYS、GLN、SER、THR
438	249	GLY
439	250	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、MET、SER、THR、VAL
440	251	ALA、GLY、PRO、SER
441	252	ASP
442	253	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、MET、SER、THR
443	254	ALA、GLY、SER
444	255	ALA、GLY
445	256	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER
446	257	ALA、GLY、SER
447	258	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR
448	259	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
449	260	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
450	261	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、HIS、SER、THR
451	262	GLY
452	263	ALA、ASN、CYS、GLN、HIS、ILE、LEU、PHE、SER、THR、TYR、VAL
453	264	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
454	265	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR、VAL

455	266	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLU、GLY、HIS、ILE、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
456	267	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、SER、THR、VAL
457	268	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、ILE、MET、SER、THR、TRP、VAL
458	269	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LYS、MET、SER
459	270	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
460	271	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TYR、VAL、
461	272	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、HIS、LYS、MET、SER、THR
462	273	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
463	274	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL、
464	275	GLY
465	276	GLY
466	277	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR
467	278	SER
468	279	ALA、ASP、CYS、GLY、SER
469	280	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER、THR、VAL
470	281	ALA、GLY、SER
471	282	ALA、CYS、GLY、PRO、SER
472	283	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、MET、SER、THR、VAL
473	284	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL

474	285	ALA、GLY、SER
475	286	ALA、GLY、SER
476	287	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
477	288	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、SER、THR、VAL
478	289	ALA、GLY、SER
479	290	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、TRP、TYR
480	291	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
481	292	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、MET、SER
482	293	ALA、GLN、GLU、HIS、LYS、THR
483	294	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、TRP、TYR
484	295	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
485	296	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、TRP、TYR、VAL
486	297	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
487	298	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、TRP、VAL
488	299	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、SER、THR、VAL
489	300	GLY
490	301	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
491	302	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、VAL

492	303	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、VAL
493	304	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
494	305	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
495	306	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、MET、SER、THR
496	307	ALA、HIS、PHE、SER、THR、TYR
497	308	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
498	309	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、MET、SER、THR
499	310	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR
500	311	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
501	312	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
502	313	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、ILE、MET、SER、THR、VAL
503	314	ALA、ASN、ASP、CYS、HIS、LEU、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
504	315	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
505	316	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PRO、SER、THR、TRP、VAL
506	317	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLY、ILE、SER、THR、VAL
507	318	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
508	319	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、

		LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
509	320	GLY
510	321	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、SER、THR、TRP、TYR
511	322	ALA、ASN、ASP、CYS、GLY、SER
512	323	ALA、ASN、ASP、CYS
513	324	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LYS、MET、SER、THR、VAL
514	325	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
515	326	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LYS、MET、SER
516	327	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
517	328	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
518	329	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
519	330	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
520	331	HIS、PHE、THR、TRP、TYR
521	332	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
522	333	ALA、GLY、SER
523	334	CYS、GLY、HIS、LYS、MET、PHE、SER、TYR
524	335	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、PRO、SER、THR、TRP、TYR、VAL
525	336	GLY
526	337	HIS、PHE、TRP

527	338	ALA、ASN、ASP、CYS、SER
528	339	ALA、GLY、PRO、SER
529	340	ALA、ASP、CYS、GLY、SER、THR
530	341	ALA、ASN、CYS、GLY、SER、THR、VAL
531	342	GLY
532	343	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、LYS、MET、SER
533	344	GLY
534	345	ALA、CYS、GLY、SER、THR
535	346	ALA、CYS、GLY、PRO、SER、THR
536	347	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TYR、VAL
537	348	GLY
538	349	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
539	350	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR
540	351	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、LYS、SER、THR、VAL
541	352	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、LYS、MET、SER、THR
542	353	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP、TYR、VAL
543	354	ALA、ARG、CYS、GLN、GLU、GLY、MET、SER、THR
544	355	ALA、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、LEU、MET、SER、THR
545	356	ALA、ARG、ASN、ASP、CYS、GLN、GLU、GLY、HIS、ILE、LEU、LYS、MET、PHE、SER、THR、TRP
546	357	任何殘基

547	358	任何殘基
548	359	任何殘基
549	360	任何殘基
550	361	任何殘基
551	362	任何殘基
552	363	任何殘基
553	364	任何殘基

【0113】 在一些態樣中，本文揭示之多肽序列進一步包含組胺酸標籤。在一些態樣中，組胺酸標籤在多肽的 C 端與多肽融合。可以使用任何合適的組胺酸標籤。在一些態樣中，組胺酸標籤與 TEV 蛋白酶切割位點 (ENLYFQS) (SEQ ID NO: 18) 連接以允許在純化後用 TEV 蛋白酶有效移除，例如，標籤可包含胺基酸序列 GSTENLYFQSGALEHHHHHH (SEQ ID NO: 17) 或由其組成。在另一態樣中，在多肽序列的 C 端併入可裂解組胺酸標籤，其包含胺基酸序列 X_NPQ(L/Q)PX_NHHHHHH (SEQ ID NO: 15)，其中 X_N 是 1-25 個胺基酸殘基的连接子。在一個非限制性實例中，可裂解組胺酸標籤包含胺基酸序列 GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH (SEQ ID NO: 16)。

【0114】 如表 5 所示，相對於 Kuma010/011 胺基酸序列的點取代會影響催化活性。表 5 列出了單個突變在催化各種麥膠蛋白肽序列降解態樣的有效性。WO2016/200880 中公開的實施例提供了關於特定個體和組合突變異體的進一步資料。

表 5.

位置(全長)	位置(截斷)	Kuma010 A.A.	A.A.相對於 Kuma010/011	PFPQPQLPY (SEQ ID NO: 11) 的改良百分比	PFPQPQQPF (SEQ ID NO: 12) 的改良百分比
221	32	E	D、N、Q、H	105%	ND

262	73	K	E	109%	110%
268	79	V	A	107%	89%
268	79	V	S	104%	83%
268	79	V	T	127%	105%
269	80	E	L	113%	84%
269	80	E	T	263%	191%
270	81	L	A	203%	92%
270	81	L	T	307%	29%
270	81	L	V	474%	61%
319	130	S	A	154%	184%
354	165	S	A	152%	140%
354	165	S	E	124%	120%
354	165	S	Q	145%	141%
354	165	S	R	109%	82%
354	165	S	Y	46%	105%
358	169	G	N	120%	99%
358	169	G	S	331%	224%
358	169	G	Q	147%	149%
358	169	G	T	283%	128%
368	179	H	F	334%	104%
368	179	H	Q	199%	195%
399	210	D	Q	149%	208%
402	213	D	S	94%	108%
402	213	D	Q	164%	111%
406	217	T	S	84%	101%
424	235	N	K	285%	ND
449	260	A	E	149%	208%

449	260	A	N	119%	118%
461	272	T	R	120%	86%
463	274	I	A	51%	234%
463	274	I	L	124%	22%
463	274	I	M	123%	53%
463	274	I	Q	129%	69%
463	274	I	R	29%	110%
463	274	I	T	130%	239%
463	274	I	V	256%	141%

【0115】 在某些態樣中，本揭示案提供了包括至少一個提高多肽產量的突變的多肽。在某些態樣中，提高產量的突變提供以下三類之一的改良：1.改變純化方法；2.產量增加；及 3.降低純化期間發生酶促自處理的可能性，從而簡化分析。可藉由本文揭示之多肽的蛋白水解活性移除之 His 標籤的添加屬於第 1 類；R105H 突變體似乎將產量提高了約 2 倍，將此突變歸入第 2 類；且位置 171-174 處的突變將此等突變體歸入第 3 類。

【0116】 在本申請案全文中使用之術語「多肽」以其最廣泛的意義使用，係指亞基胺基酸序列，無論是天然存在的還是合成來源的。本揭示案的多肽可包含 L-胺基酸、D-胺基酸（其在體內對 L-胺基酸特異性蛋白酶具有抗性）或 D-和 L-胺基酸的組合。本文所述的多肽可為化學合成的或重組表現的。多肽可與其他化合物連接以促進活體內半衰期的延長，諸如藉由 PEG 化、HES 化、PAS 化或糖基化。如熟習此項技術者所理解，此類連接可為共價的或非共價的。在一些態樣中，多肽與任何其他合適的連接子連接，包括但不限於可用於純化或偵測的任何連接子（諸如 FLAG 或 His 標籤）。

【0117】

A. 核酸

[illegible]

SIQ ID NO: 22

類經分離之核酸序列可包含適用於促進編碼蛋白之表現及/或純化的額外序列，包括但不限於 polyA 序列、經修飾之 Kozak 序列及編碼抗原決定基標籤、輸出信號及分泌信號、核定位信號及質膜定位信號的序列。基於本文之教示，熟習此項技術者將顯而易知什麼核酸序列將編碼本揭示案之多肽。

【0119】 在另一態樣中，本揭示案提供包含與合適的控制序列可操作地連接的本揭示案的任何態樣的經分離之核酸的核酸表現載體。「重組表現載體」包括將核酸編碼區或基因可操作地連接至能夠影響基因產物表現之任何控制序列的載體。與本揭示案的核酸序列可操作地連接的「控制序列」是能夠影響核酸分子表現之核酸序列。控制序列不需要與核酸序列相鄰，只要它們起到指導其表現的作用。因此，例如，插入之未轉譯但轉錄之序列可存在於啟動子序列與核酸序列之間，且啟動子序列仍然可以認為與編碼序列「可操作地連接」。其他此類控制序列包括但不限於聚腺苷酸化信號、終止信號及核糖體結合位點。此類表現載體可為此項技術中已知的任何類型，包括但不限於基於質體及病毒之表現載體。用於驅動哺乳動物系統中揭示之核酸序列表現的控制序列可為組成型的（由多種啟動子中的任一種驅動，包括但不限於 CMV、SV40、RSV、肌動蛋白、EF）或誘導型的（由多種誘導型啟動子中的任一種驅動，包括但不限於四環素、蛻皮激素、類固醇反應性啟動子）。用於轉染原核細胞之表現載體的構建亦為此項技術中熟知的，因此可藉由標準技術完成。（參見例如 Sambrook, Fritsch 及 Maniatis, in: *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; *Gene Transfer and Expression Protocols*, 第 109 頁-第 128 頁, E.J. Murray 編, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.), 及 the Ambion 1998 Catalog (Ambion, Austin, TX)。表現載體必須可在宿主生物體中作為附加體或藉由整合至宿主染色體 DNA 中進行複製。在一個較佳態樣中，表現載體包含質體。然而，本揭示案旨在包括具有等效功能之其他表現載體，諸如

第 58 頁，共 74 頁(發明說明書)

病毒載體。

【0120】

B. 宿主細胞

【0121】 在另一態樣中，本揭示案提供包含本揭示案之核酸表現載體的重組宿主細胞。任何能夠產生重組蛋白之宿主細胞均可用於本文揭示之方法中。宿主細胞可為原核的或真核的。在一些態樣中，宿主細胞為原核細胞。合適的原核宿主細胞之非限制性實例包括大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、新月柄桿菌 (*Caulobacter crescentus*)、亞比多球型紅桿菌 (*Rodhobacter sphaeroides*)、假交替單胞菌 (*Pseudoalteromonas haloplanktis*)、希瓦氏菌屬 Ac10 菌株 (*Shewanella sp. strain Ac10*)、螢光假單胞菌惡臭假單胞菌 (*Pseudomonas fluorescens Pseudomonas putida*)、銅綠假單胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、高嗜鹽菌 (*Halomonas elongata*)、需鹽色鹽桿菌 (*Chromohalobacter salexigens*)、變鉛青鏈黴菌 (*Streptomyces lividans*)、灰色鏈黴菌 (*Streptomyces griseus*)、耐內醯胺諾卡氏菌 (*Nocardia lactamdurans*)、恥垢分枝桿菌 (*Mycobacterium smegmatis*)、麩胺酸棒狀桿菌 (*Corynebacterium glutamicum*)、產氨棒狀桿菌 (*Corynebacterium ammoniagenes*)、乳酸發酵短桿菌 (*Brevibacterium lactofermentum*)、枯草芽孢桿菌 (*Bacillus subtilis*)、短芽孢桿菌 (*Bacillus brevis*)、巨大芽孢桿菌 (*Bacillus megaterium*)、地衣型芽孢桿菌 (*Bacillus licheniformis*)、澱粉樣芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)、植物乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum*)、乾酪乳桿菌 (*Lactobacillus casei*)、羅伊氏乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*) 及格氏乳桿菌 (*Lactobacillus gasseri*)。在一些態樣中，宿主細胞為真核細胞。合適的真核宿主細胞的非限制性實例包括釀酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 及構巢麴黴 (*Aspergillus nidulans*)。細胞可瞬時或穩定轉染或轉導。可經由此項技術中已知的任何技術，包括但不限於

標準細菌轉型、磷酸鈣共沈澱、電穿孔或脂質體介導的、DEAE 葡聚糖介導的、聚陽離子介導的或病毒介導的轉染。(參見例如 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Sambrook 等人, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press; *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 第 2 版.(R.I. Freshney.1987.Liss, Inc. New York, NY)。產生根據本揭示案之多肽的方法係本揭示案之附加部分。該方法包含以下步驟：(a) 在有助於表現多肽之條件下培養根據本揭示案之此態樣的宿主，及 (b) 任選地，回收表現之多肽。表現至多肽可自無細胞提取物、細胞集結粒中回收，或自培養基中回收。純化重組表現之多肽的方法係熟習此項技術者熟知的。

【0122】

C. 醫藥組合物

在另一態樣中，本揭示案提供醫藥組合物，其包含本揭示案之任何態樣或態樣的多肽、核酸、核酸表現載體及/或重組宿主細胞，以及醫藥學上可接受之載劑。本揭示案的醫藥組合物可用於例如下文所述的本揭示案之方法中。除了本揭示案之多肽、核酸等之外，醫藥組合物可包含 (a) 凍乾保護劑；(b) 界面活性劑；(c) 增積劑；(d) 張力調節劑；(e) 穩定劑；(f) 防腐劑及/或 (g) 緩衝劑。

【0123】 在一些態樣中，醫藥組合物中之緩衝劑為 Tris 緩衝劑、組胺酸緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑、檸檬酸鹽緩衝劑或乙酸鹽緩衝劑。醫藥組合物亦可包括凍乾保護劑，例如蔗糖、山梨糖醇或海藻糖。在某些態樣中，醫藥組合物包括防腐劑，例如苯紫氯銨、苄索氯銨、氯己定、苯酚、間甲酚、苯甲醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯丁醇、鄰甲酚、對甲酚、氯甲酚、硝酸苯汞、硫柳汞、苯甲酸以及其各種混合物。在其他態樣中，醫藥組合物包括增積劑，如甘胺酸。在其他態樣中，醫藥組合物包括界面活性劑，例如聚山梨醇酯-20、

聚山梨醇酯-40、聚山梨醇酯-60、聚山梨醇酯-65、聚山梨醇酯-80、聚山梨醇酯-85、泊洛沙姆-188、脫水山梨糖醇單月桂酸酯、脫水山梨糖醇單棕櫚酸酯、脫水山梨糖醇單硬脂酸酯、脫水山梨糖醇單油酸酯、脫水山梨糖醇三月桂酸酯、脫水山梨糖醇三硬脂酸酯、脫水山梨糖醇三油酸酯或其組合。醫藥組合物亦可包括張力調節劑，例如使製劑與人血液基本上等張或等滲之化合物。例示性張力調節劑包括蔗糖、山梨糖醇、甘胺酸、甲硫胺酸、甘露糖醇、右旋糖、肌醇、氯化鈉、精胺酸及精胺酸鹽酸鹽。在其他態樣中，醫藥組合物另外包括穩定劑，例如當與所關注之蛋白質組合時基本上防止或降低凍乾形式或液體形式的所關注之蛋白質的化學及/或物理不穩定性的分子。例示性穩定劑包括蔗糖、山梨糖醇、甘胺酸、肌醇、氯化鈉、甲硫胺酸、精胺酸及精胺酸鹽酸鹽。

【0124】 本揭示案之多肽、核酸等可為醫藥組合物中唯一的活性劑，或組合物可進一步包含一或多種適用於預期用途的其他活性劑。

【0125】 本文所述之醫藥組合物通常包含本文所述之化合物與醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑的組合。此類組合物基本上不含非醫藥學上可接受之組分，即含有低於提交本申請案時美國監管要求所允許之量的非醫藥學上可接受之組分。在此態樣之一些態樣中，若化合物溶解或懸浮於水中，則組合物進一步視情況包含額外的醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。在其他態樣中，本文所述之醫藥組合物為固體醫藥組合物（例如頂級、膠囊等）。

【0126】 如美國監管機構所描述，本文所述之組合物亦可作為膳食補充劑提供。

【0127】 此等組合物可以醫藥領域熟知的方式製備，且可藉由任何合適的途徑投與。在一較佳態樣中，醫藥組合物及調配物設計用於口服投與。細緻醫藥載劑、水溶液、粉劑或油性基劑、增稠劑及其類似物可能是必要的或期望的。

【0128】 醫藥組合物可為任何合適的形式，包括但不限於錠劑、丸劑、粉

劑、口含錠、藥囊、扁囊劑、酞劑、混懸劑、乳劑、溶液、糖漿、氣霧劑（作為固體或在液體介質中）、含有例如至多 10 重量%活性化合物之軟膏、軟質及硬質明膠膠囊、無菌注射液及無菌封裝粉劑。

【0129】

3. 本揭示案之方法

在另一態樣中，本揭示案提供用於治療乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感（NCGS）的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與有效治療乳糜瀉或 NCGS 之量的一或多種選自由本揭示案之多肽組成之群的多肽，或使用此等多肽中的一或多種處理食物以供患有乳糜瀉或 NCGS 之個體食用。

【0130】 在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 90%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 95%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 96%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 97%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 98%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少

約 99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列的多肽。

【0131】 在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 90%序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 95%序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 96%序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 97%序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 98%序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 的個體投與包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 99%序列一致性的胺基酸序列的多肽。在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列的多肽。

【0132】 在某些態樣中，該方法包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列的多肽；其中多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列；且其中多肽在對應於 SEQ ID NO: 3 中之胺基酸 278

的胺基酸殘基處包含 Ser、在對應於 SEQ ID NO: 3 中之胺基酸 78 的胺基酸殘基處包含 Glu、以及在對應於 SEQ ID NO: 3 中之胺基酸 82 的胺基酸殘基處包含 Asp。

【0133】在某些態樣中，本揭示案提供一種用於降解食品中的麩質的方法，其包含使食品與有效降解麩質之量的與上文所述之多肽接觸，從而降解食品中的麩質。

【0134】在某些態樣中，本揭示案提供一種用於降解食品中的麩質的方法，其包含使食品與有效降解麩質之量的上文所述之醫藥組合物接觸，從而降解食品中的麩質。

【0135】在某些態樣中，本揭示案提供一種用於降解食品中的麥膠蛋白的方法，其包含使食品與有效降解麥膠蛋白之量的上文所述之多肽或醫藥組合物接觸，從而降解食品中的麩質。在一些態樣中，該方法降解食品中的至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 的麩質或麥膠蛋白。在一些態樣中，本文揭示之方法可在不到約 1.5 小時、不到約 1 小時、不到約 45 分鐘、不到約 40 分鐘、不到約 30 分鐘、不到約 25 分鐘、不到約 20 分鐘、不到約 15 分鐘、不到約 10 分鐘或不到約 5 分鐘降解食品中之麩質或麥膠蛋白。在一些態樣中，本文揭示之方法可在小於約 6.5、小於約 6.0、小於約 5.5、小於約 5.0、小於約 4.5、小於約 4.0、小於約 3.5 或小於約 3.0 之 pH 值下降解食品中的麩質或麥膠蛋白。

【0136】本揭示案的發明者已發現，本揭示案之多肽能夠降解麩質中稱為『麥膠蛋白』的富含脯胺酸 (P) 及麩醯胺酸 (Q) 的組分，咸信此等組分負責大多數乳糜瀉患者的大部分免疫反應。與 Kuma010/011 及揭示為適用於治療乳糜瀉之其他多肽 (WO2015/023728) 相比，本揭示案的多肽在 Ph 4 下降解具有 PQLP (SEQ ID NO: 9) 或 PQQP (SEQ ID NO: 10) 模體 (諸如 PFPQPQLPY (SEQ ID

NO: 11) 及/或 PFPQPQQPF (SEQ ID NO: 12)) 的肽時具有優越活性，其為代表麥膠蛋白之受質)。因此，本揭示案的多肽構成用於治療乳糜瀉及 NCGS 的顯著改良之治療劑。

【0137】 在某個態樣中，本文揭示之多肽的醫藥組合物及/或調配物係口服投與。口服投與途徑之非限制性實例包括使用錠劑、丸劑、口含錠、酏劑、混懸劑、乳劑、溶液、糖漿或其任何組合。在某些態樣中，包含本文揭示之多肽的醫藥組合物在個體攝取包含一或多種麩質蛋白的物質，例如食物之前投與個體。在一些態樣中，包含本文揭示之多肽的醫藥組合物在個體攝取包含一或多種麩質蛋白的物質，例如食物的同時投與個體。在一些態樣中，包含本文揭示之多肽的醫藥組合物在個體攝取包含一或多種麩質蛋白的物質，例如食物之後投與個體。

【0138】 可調整劑量方案以提供最佳的所需反應（例如治療或預防反應）。合適的劑量範圍可為例如 0.1 ug/kg-100 mg/kg 體重；或者，其可為 0.5 ug/kg 至 50 mg/kg；1 ug/kg 至 25 mg/kg，或 5 ug/kg 至 10 mg/kg 體重。多肽可以單次推注遞送，或可如主治醫師所確定投與超過一次（例如，2、3、4、5 次或更多次）。

【0139】 本揭示案藉由以下實例進一步說明，其不應被解釋為限制性的。所有引用的來源，例如在本文引用之參考文獻、出版物、資料庫、資料庫條目及技術，均藉由引用併入本申請案，即使在引文中沒有明確說明。若引用之來源及本申請案的陳述發生衝突，則以本申請案中的陳述為準。

【0140】 章節及表格標題並非旨在為限制性的。

【0141】

實例

實例 1：藉由 Kuma062-M 降解全麵包中的麩質

第 65 頁，共 74 頁(發明說明書)

本研究旨在證明 Kuma062-M 可有效降解麩質。

【0142】胃消化的實驗室模擬設計成代表人類的胃消化。麵包樣品首先在人工唾液中搗碎以模擬咀嚼，隨後藉由添加鹽酸酸化。除非另有說明，否則胃消化的 pH 值為 3.6-4.5。混合樣品以確保能夠通過狹窄的移液器吸頭抽出適當的材料代表（因為 ELISA 方法必須使用極小的體積）；然而，在指明的情況下，樣品僅被搗碎。膳食樣品的最終總體積為 400-800 mL，隨後將膳食的等分試樣分配到個別管中以開始消化過程。藉由添加胃蛋白酶及/或麥膠蛋白酶 Kuma062-M 開始消化。隨後將樣品在體溫（37°C）下培育指定的時間點。在大多數全麥麵包/膳食消化實驗中，使樣品消化 30 分鐘，因為食物在開始通過幽門瓣進入十二指腸之前在胃中攪動的平均滯留時間為 30-60 分鐘。在消化期結束時，藉由加熱至使所有存在的酶不可逆地失活的溫度來停止酶活性。

【0143】按照製造商提供的說明，藉由 R5 Ridascreen™ ELISA 套組（R-Biopharm）或 G12 Gluentox® ELISA 套組（Biomedal）對消化樣品中的麩質進行定量。此等套組基於單克隆抗體，R5（識別 QQPFP）或 G12（識別 QPQLPY）（分別為 SEQ ID NO: 19 及 SEQ ID NO: 20）。此等抗原決定基存在於麩質的大多數免疫原性片段中，包括所有免疫顯性片段。G12 抗體偵測 α -麥膠蛋白的免疫原性區域，而 R5 抗體偵測 ω -麥膠蛋白及 γ -麥膠蛋白的免疫原性區域。雖然 R5 ELISA 方法已顯示有效估計未處理食物的麩質濃度，但吾人發現在麩質與胃蛋白酶一起培育後，R5 抗體識別的麩質部分會部分減少。胃蛋白酶已顯示對 G12 抗體識別之部分，即 33mer 片段 LQLQPFPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQPF8（SEQ ID NO: 13）的效果較差。與 R5 抗體不同，G12 抗體對麩質抗原決定基之檢測通常被觀測到藉由胃蛋白酶消化不受影響或甚至略有增加，表明用胃蛋白酶處理可能會使麩質的含有 QPQLPY（SEQ ID NO: 20）抗原決定基的區域更適用於 G12 抗體。在本實例中，

兩種基於 ELISA 之方法菌用於評估麥膠蛋白酶降低所有三個免疫原性麥膠蛋白家族： α -、 ω -及 γ -麥膠蛋白之量的能力。在下文詳述的實例之一中，使用基於 G12 之內部 ELISA 方法。此內部開發之方法雖然比市售套組便宜，但在定量低濃度麩質方面的可靠性較低。因此，此方法僅用於評估樣品之間的相對差異。

【0144】 表 6 顯示 Kuma062-M 在模擬胃消化中可有效降解麩質。胃蛋白酶可在模擬胃消化中以低水準降解麩質。

表 6：Kuma062-M 在刺激胃消化過程中對麩質的降解*

酶	時間點	麩質 ppm 剩餘	St Dev	降解%	St Dev%
胃蛋白酶	30	17920	640	4.55	3.41
Kuma062-M	5	200	14	98.93	0.07
Kuma062-M	30	48	4	99.75	0.02

酶濃度：100 $\mu\text{g/ml}$ ；麵包混合物：16 mg/ml ；St Dev：標準差

【0145】

實例 2：Kuma062-M 在不同 pH 值下降解全麵包中的麩質

本研究旨在評估 Kuma062-M 在不同 pH 值下降解麩質的能力。

模擬胃消化的方案與實例 1 中的方案基本上類似。產生具有以下 pH 水準的麵包漿：3.9、4.5、5.0、5.5 及 5.9。pH 5.9 係在用人工唾液搗碎後僅向麵包漿中添加水而非 HCl 時麵包漿的 pH 值。

【0146】 表 7 顯示 Kuma062-M 在各種 pH 值下均能有效降解麩質。

表 7：Kuma062-M 在不同 pH 值下對麩質的降解*

		RS ELISA				G12 ELISA			
酶濃度	pH	平均 ppm	標準 Dev	麩質降解%	標準 Dev	平均 ppm	標準 Dev	麩質降解之 %	標準 Dev
1000 $\mu\text{g/mL}$	3.9	5.9	0.8	99.93%	0.01%	13.8	1.2	99.84%	0.01%
	4.5	11.2	4.7	99.88%	0.05%	19.2	6.5	99.80%	0.08%

	5.0	16.2	2.6	99.85%	0.02%	26.2	7.5	99.75%	0.09%
	5.5	15.5	3.3	99.86%	0.03%	30.5	8.2	99.72%	0.10%
	5.9	24.1	6.2	99.80%	0.05%	56.0	4.1	99.54%	0.03%
400 ug/mL	3.9	11.7	3.8	99.86%	0.04%	20.3	4.3	99.76%	0.05%
	4.5	11.9	0.3	99.88%	0.00%	19.4	3.1	99.80%	0.04%
	5.0	13.3	3.9	99.88%	0.04%	19.6	2.3	99.82%	0.03%
	5.5	9.9	1.4	99.91%	0.01%	22.4	2.4	99.80%	0.03%
	5.9	15.9	1.2	99.87%	0.01%	29.5	4.1	99.75%	0.03%
200 ug/mL	3.9	9.6	1.8	99.89%	0.02%	19.0	2.0	99.78%	0.02%
	4.5	12.4	4.5	99.87%	0.05%	22.8	3.2	99.76%	0.04%
	5.0	5.5	0.8	99.95%	0.01%	25.0	6.7	99.77%	0.08%
	5.5	11.7	1.9	99.89%	0.02%	24.9	2.6	99.77%	0.03%
	5.9	15.3	1.5	99.87%	0.01%	37.5	5.0	99.69%	0.04%

麩質濃度：10 mg/ml

【0147】

實例 3：藉由 Kuma062-M 降解快餐中的麩質

本研究旨在評估 Kuma062M 是否能夠在存在其他膳食蛋白質的情況下保持顯著的抗麩質活性。

【0148】 模擬胃消化的方案與實例 1 中的方案基本上類似。估計香草奶昔（粗略地，藉由與 McDonalds®之類似大小的奶昔進行比較）含有 10 公克蛋白質，而漢堡肉餅估計含有 7 公克蛋白質。胃消化中膳食的 pH 值為 4.0-4.5。將對照餐中的漢堡包的量調整為與漢堡的小圓麵包及奶昔餐中的量相同。漢堡包及奶昔的胃消化體積為 500 mL；對照餐亦調整至 500 mL。將搗碎及混合後的料漿分裝至較小的試管中，且將麩質酶及胃蛋白酶添加至此等等分試樣中。Kuma062-M 的酶濃度為 700 µg/mL 或 70 µg/mL。膳食消化 30 分鐘或 5 分鐘。本研究亦包括

黑麴黴衍生的脯胺醯內切蛋白酶（AN-PEP）及 EPB2/SCPEP。

【0149】 表 8 及 9 表明，Kuma062-M 可在其他膳食蛋白質存在的情況下有效降解麩質。表 8 顯示使用 G12 ELISA 分析之結果。表 9 顯示使用 R5 ELISA 分析之結果。

表 8：在快餐 G12 ELISA 分析中藉由 Kuma062-M 降解麩質

酶	µg/ml	時間點	膳食	剩餘麩質 (ppm)	St Dev	降解 %	St Dev%	剩餘當量 mg	mg St Dev
胃蛋白酶	700	30	僅小圓麵包	13380	1004	8.03	6.41	6690	502
胃蛋白酶	700	30	漢堡包	8056	464	55.61	2.54	4028	232
ANPEP	700	30	僅小圓麵包	434	23	97.06	0.15	217	12
ANPEP	700	30	漢堡包	4261	263	77.23	1.44	2131	132
EP/SC	700	30	僅小圓麵包	2394	97	85.08	0.62	1197	48
EP/SC	700	30	漢堡包	9401	940	54.47	5.15	4701	470
Kuma062	700	5	僅小圓麵包	69	4	99.53	0.03	35	2
Kuma062	700	30	僅小圓麵包	30	2	99.82	0.02	15	1
Kuma062	700	5	漢堡包	83	7	99.59	0.04	42	4
Kuma062	700	30	漢堡包	54	4	99.68	0.02	27	2
Kuma062	70	30	僅小圓麵包	56	3	99.62	0.02	28	2
Kuma062	70	30	漢堡包	151	6	99.14	0.03	75	3

表 9：在快餐 R5 ELISA 分析中藉由 Kuma062-M 消化麩質

酶	µg/ml	時間點	膳食	剩餘麩質 (ppm)	St Dev	降解 %	St Dev%	剩餘當量 mg	mg St Dev
胃蛋白酶	700	30	僅小圓麵包	9680	554	38.27	3.53	4840	277
胃蛋白酶	700	30	漢堡包	9493	1398	48.03	7.65	4747	699
EP/SC	700	30	僅小圓麵包	747	92	95.24	0.59	373	46
EP/SC	700	30	漢堡包	10400	604	43.07	3.31	5200	302
Kuma062	700	5	僅小圓麵包	23	3	99.86	0.02	11	2
Kuma062	700	30	僅小圓麵包	9	2	99.94	0.01	4	1
Kuma062	700	5	漢堡包	113	17	99.38	0.09	56	9
Kuma062	700	30	漢堡包	35	13	99.81	0.07	18	6
Kuma062	70	30	僅小圓麵包	23	1	99.86	0.01	11	1
Kuma062	70	30	漢堡包	147	6	99.20	0.03	73	3

【0150】**等效物**

【0151】 熟習此項技術者將認識到或能夠僅使用不超過一種常規實驗來確定本揭示案的特定態樣的許多等效物。此類等效物旨在包含在以下申請專利範圍中。

【0152】**態樣**

E1. 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列。

【0153】 E2. 如 E1 之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。

【0154】 E3. 如 E1 或 E2 之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。

【0155】 E4. 如 E1 至 E3 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。

【0156】 E5. 如 E1 至 E4 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。

【0157】 E6. 如 E1 至 5 中任一項之多肽，其包含 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0158】 E7. 如 E1 至 E6 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。

【0159】 E8. 如 E1 至 E7 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。

【0160】 E9. 如 E1 至 E8 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0161】 E10. 如 E1 至 E9 中任一項之多肽，其能夠裂解麥膠蛋白。

【0162】 E11. 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列胺基酸序列。

【0163】 E12. 如 E11 之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。

【0164】 E13. 如 E11 或 E12 之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。

【0165】 E14. 如 E11 至 E13 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。

【0166】 E15. 如 E11 至 14 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。

【0167】 E16. 如 E11 至 E15 中任一項之多肽，其包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0168】 E17. 如 E11 至 E16 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 278 的胺基酸殘基為 Ser。

【0169】 E18. 如 E11 至 E17 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 78 的胺基酸殘基為 Glu。

【0170】 E19. 如 E11 至 E18 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 3 的胺基酸 82 的胺基酸殘基為 Asp。

【0171】 E20. 如 E11 至 E19 中任一項之多肽，其能夠裂解麥膠蛋白。

【0172】 E21. 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%的序列一致性的胺基酸序列胺基酸序列；其中多肽包含在 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【0173】 E22. 如 E21 之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。

【0174】 E23. 如 E21 或 E22 之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。

【0175】 E24. 如 E21 至 E23 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。

【0176】 E25. 如 E21 至 24 中任一項的之肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。

【0177】 E26. 如 E21 至 E25 中任一項之多肽，其包含 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列。

【0178】 27. 如 E21 至 E26 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 6 之胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。

【0179】 E28. 如 E21 至 E27 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。

【0180】 E29. 如 E21 至 E28 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 6 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【0181】 E30. 如 E21 至 E29 中任一項之多肽，其能夠裂解麥膠蛋白。

【0182】 E31. 如 E1 至 E30 中任一項之多肽，其進一步包含組胺酸標籤，其中組胺酸標籤在多肽之 C 端融合。

【0183】 E32. 如 E 之多肽，其中組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 17 中所述之

第 73 頁，共 74 頁(發明說明書)

胺基酸序列 (GSTENLYFQSGALEHHHHHH)。

【0184】 E33. 如 E32 或 E33 之多肽，其中組胺酸標籤包含可裂解組胺酸標籤，包括但不限於包含 SEQ ID NO: 15 中所述之胺基酸序列的可裂解組胺酸標籤 (X_N PQ(L/Q)PX_NHHHHHH)，其中 X_N 為 1-25 個胺基酸殘基的连接子。

【0185】 E34. 如 E31 至 E33 中任一項之多肽，其中可裂解組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 16 中所述之胺基酸序列 (GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH)。

【0186】 E35. 一種核酸分子，其編碼如 E1 至 E34 中任一項之多肽。

【0187】 E36. 一種核酸表現載體，其包含如 E35 之核酸分子。

【0188】 E37. 一種重組宿主細胞，其包含如 E35 之核酸分子或如 E36 之核酸表現載體。

【0189】 E38. 一種醫藥組合物，其包含如 E1 至 E34 中任一項之多肽、如 E35 之核酸分子、如 E36 之核酸表現載體、如 E37 之重組宿主細胞或其任何組合，以及醫藥學上可接受之載劑。

【0190】 E39. 一種治療乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感 (NCGS) 的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之個體投與有效治療乳糜瀉或 NCGS 之量的如 E1 至 E34 中任一項之多肽、如請求項 35 之核酸分子、如請求項 36 之核酸表現載體、如請求項 37 之重組宿主細胞或如請求項 38 之醫藥組合物。

【0191】 E40. 如 E39 之方法，其中多肽、核酸分子、核酸表現載體、重組宿主細胞或醫藥組合物係口服投與的。

【符號說明】

【0192】 無

序列表

<110> 武田腫瘤

<120> 用於治療乳糜瀉的組合物及方法

<130> 7281.50W02

<150> US 63/108,163

<151> 2020-10-30

<160> 23

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 552

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Kuma062-M

<400> 1

Ser Asp Met Glu Lys Pro Trp Lys Glu Gly Glu Glu Ala Arg Ala Val

1 5 10 15

Leu Gln Gly His Ala Arg Ala Gln Ala Pro Gln Ala Val Asp Lys Gly

20 25 30

Pro Val Ala Gly Asp Glu Arg Met Ala Val Thr Val Val Leu Arg Arg

35 40 45

Gln Arg Ala Gly Glu Leu Ala Ala His Val Glu Arg Gln Ala Ala Ile

50 55 60

Ala Pro His Ala Arg Glu His Leu Lys Arg Glu Ala Phe Ala Ala Ser

65 70 75 80

His Gly Ala Ser Leu Asp Asp Phe Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ala Asp

85 90 95

Ala His Gly Leu Ala Leu Asp Arg Ala Asn Val Ala Ala Gly Thr Ala
100 105 110

Val Leu Ser Gly Pro Asp Asp Ala Ile Asn Arg Ala Phe Gly Val Glu
115 120 125

Leu Arg His Phe Asp His Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Tyr Leu Gly
130 135 140

Glu Val Thr Val Pro Ala Ser Ile Ala Pro Met Ile Glu Ala Val Leu
145 150 155 160

Gly Leu Asp Thr Arg Pro Val Ala Arg Arg Arg Phe Arg Met Gln Arg
165 170 175

Arg Ala Glu Gly Gly Phe Glu Ala Arg Ser Gln Ala Ala Ala Pro Thr
180 185 190

Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln Phe Pro Glu Gly
195 200 205

Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu Leu Gly Gly Gly
210 215 220

Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser Leu Gly Val Pro
225 230 235 240

Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala Ser Asn Gln Pro
245 250 255

Thr Gly Asp Pro Glu Gly Pro Asp Gly Glu Val Thr Leu Asp Ile Glu
260 265 270

Val Ala Gly Ala Leu Ala Pro Gly Ala Lys Phe Ala Val Tyr Phe Ala
275 280 285

Pro Asp Thr Thr Ala Gly Phe Leu Asp Ala Ile Thr Thr Ala Ile His
290 295 300

Asp Pro Thr Leu Lys Pro Ser Val Val Ser Ile Ser Trp Ser Met Pro
305 310 315 320

Glu Asp Ser Trp Thr Ser Ala Ala Ile Ala Ala Met Asn Arg Ala Phe
325 330 335

Leu Asp Ala Ala Ala Leu Gly Val Thr Val Leu Ala Ala Ala Gly Asp
340 345 350

Gln Gly Ser Thr Ser Gly Glu Gln Asp Gly Leu Tyr His Val His Phe
355 360 365

Pro Ala Ala Ser Pro Tyr Val Leu Ala Cys Gly Gly Thr Arg Leu Val
370 375 380

Ala Ser Gly Gly Arg Ile Ala Gln Glu Thr Val Trp Asn Gln Gly Pro
385 390 395 400

Asp Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Val Ser Arg Ile Phe Pro Leu Pro
405 410 415

Ala Trp Gln Glu His Ala Asn Val Pro Pro Ser Ala Asn Pro Gly Ala
420 425 430

Ser Ser Gly Arg Gly Val Pro Asp Leu Ala Gly Asn Ala Asp Pro Gln
435 440 445

Thr Gly Tyr Glu Val Val Ile Asp Gly Glu Ala Thr Val Thr Gly Gly
450 455 460

Thr Ser Ala Val Ala Pro Leu Phe Ala Ala Leu Val Ala Arg Ile Asn
465 470 475 480

Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro Thr Leu Tyr Gln
485 490 495

Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly Asn Asn Asp Ile
500 505 510

Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly Trp Asp Pro Cys
515 520 525

Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu Gln Ala Leu Leu
530 535 540

Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln Pro
545 550

<210> 2
<211> 189
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma011前蛋白質結構域

<400> 2

Met Ser Asp Met Glu Lys Pro Trp Lys Glu Gly Glu Glu Ala Arg Ala
1 5 10 15

Val Leu Gln Gly His Ala Arg Ala Gln Ala Pro Gln Ala Val Asp Lys
20 25 30

Gly Pro Val Ala Gly Asp Glu Arg Met Ala Val Thr Val Val Leu Arg
35 40 45

Arg Gln Arg Ala Gly Glu Leu Ala Ala His Val Glu Arg Gln Ala Ala
50 55 60

Ile Ala Pro His Ala Arg Glu His Leu Lys Arg Glu Ala Phe Ala Ala
65 70 75 80

Ser His Gly Ala Ser Leu Asp Asp Phe Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ala
85 90 95

Asp Ala His Gly Leu Ala Leu Asp Arg Ala Asn Val Ala Ala Gly Thr
100 105 110

Ala Val Leu Ser Gly Pro Asp Asp Ala Ile Asn Arg Ala Phe Gly Val
115 120 125

Glu Leu Arg His Phe Asp His Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Tyr Leu
130 135 140

Gly Glu Val Thr Val Pro Ala Ser Ile Ala Pro Met Ile Glu Ala Val
145 150 155 160

Leu Gly Leu Asp Thr Arg Pro Val Ala Arg Pro His Phe Arg Met Gln
165 170 175

Arg Arg Ala Glu Gly Gly Phe Glu Ala Arg Ser Gln Ala
180 185

<210> 3
<211> 364
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma011成熟肽

<400> 3

Ala Ala Pro Thr Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln
1 5 10 15

Phe Pro Glu Gly Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu
20 25 30

Leu Gly Gly Gly Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser
35 40 45

Leu Gly Val Pro Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala
50 55 60

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

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

Ala Arg Ile Asn Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro
290 295 300

Thr Leu Tyr Gln Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly
305 310 315 320

Asn Asn Asp Ile Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly
325 330 335

Trp Asp Pro Cys Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu
340 345 350

Gln Ala Leu Leu Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln Pro
355 360

<210> 4
<211> 573
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma010（全長）

<400> 4

Met Ser Asp Met Glu Lys Pro Trp Lys Glu Gly Glu Glu Ala Arg Ala
1 5 10 15

Val Leu Gln Gly His Ala Arg Ala Gln Ala Pro Gln Ala Val Asp Lys
20 25 30

Gly Pro Val Ala Gly Asp Glu Arg Met Ala Val Thr Val Val Leu Arg
35 40 45

Arg Gln Arg Ala Gly Glu Leu Ala Ala His Val Glu Arg Gln Ala Ala
50 55 60

Ile Ala Pro His Ala Arg Glu His Leu Lys Arg Glu Ala Phe Ala Ala
65 70 75 80

Ser His Gly Ala Ser Leu Asp Asp Phe Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ala
85 90 95

Asp Ala His Gly Leu Ala Leu Asp Arg Ala Asn Val Ala Ala Gly Thr
100 105 110

Ala Val Leu Ser Gly Pro Asp Asp Ala Ile Asn Arg Ala Phe Gly Val
115 120 125

Glu Leu Arg His Phe Asp His Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Tyr Leu
130 135 140

Gly Glu Val Thr Val Pro Ala Ser Ile Ala Pro Met Ile Glu Ala Val
145 150 155 160

Leu Gly Leu Asp Thr Arg Pro Val Ala Arg Pro His Phe Arg Met Gln
165 170 175

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

Thr Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln Phe Pro Glu
195 200 205

Gly Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu Leu Gly Gly
210 215 220

Gly Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser Leu Gly Val
225 230 235 240

Pro Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala Ser Asn Gln
245 250 255

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

Glu Val Ala Gly Ala Leu Ala Pro Gly Ala Lys Phe Ala Val Tyr Phe
275 280 285

Ala Pro Asp Thr Thr Ala Gly Phe Leu Asp Ala Ile Thr Thr Ala Ile
290 295 300

His Asp Pro Thr Leu Lys Pro Ser Val Val Ser Ile Ser Trp Ser Gly
305 310 315 320

Pro Glu Asp Ser Trp Thr Ser Ala Ala Ile Ala Ala Met Asn Arg Ala
325 330 335

Phe Leu Asp Ala Ala Ala Leu Gly Val Thr Val Leu Ala Ala Ala Gly
340 345 350

Asp Ser Gly Ser Thr Gly Gly Glu Gln Asp Gly Leu Tyr His Val His
355 360 365

Phe Pro Ala Ala Ser Pro Tyr Val Leu Ala Cys Gly Gly Thr Arg Leu
370 375 380

Val Ala Ser Gly Gly Arg Ile Ala Gln Glu Thr Val Trp Asn Asp Gly
385 390 395 400

Pro Asp Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Val Ser Arg Ile Phe Pro Leu
405 410 415

Pro Ala Trp Gln Glu His Ala Asn Val Pro Pro Ser Ala Asn Pro Gly
420 425 430

Ala Ser Ser Gly Arg Gly Val Pro Asp Leu Ala Gly Asn Ala Asp Pro
435 440 445

Ala Thr Gly Tyr Glu Val Val Ile Asp Gly Glu Ala Thr Val Ile Gly
450 455 460

Gly Thr Ser Ala Val Ala Pro Leu Phe Ala Ala Leu Val Ala Arg Ile
465 470 475 480

Asn Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro Thr Leu Tyr
485 490 495

Gln Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly Asn Asn Asp
500 505 510

Ile Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly Trp Asp Pro
515 520 525

Cys Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu Gln Ala Leu
530 535 540

Leu Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln Pro Gly Ser Thr Glu Asn Leu Tyr
545 550 555 560

Phe Gln Ser Gly Ala Leu Glu His His His His His His
565 570

<210> 5
<211> 384
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma010成熟肽

<400> 5

Ala Ala Pro Thr Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln
1 5 10 15

Phe Pro Glu Gly Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu
20 25 30

Leu Gly Gly Gly Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser
35 40 45

Leu Gly Val Pro Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala
50 55 60

Ser Asn Gln Pro Thr Gly Asp Pro Lys Gly Pro Asp Gly Glu Val Glu
65 70 75 80

Leu Asp Ile Glu Val Ala Gly Ala Leu Ala Pro Gly Ala Lys Phe Ala
85 90 95

Val Tyr Phe Ala Pro Asp Thr Thr Ala Gly Phe Leu Asp Ala Ile Thr
100 105 110

Thr Ala Ile His Asp Pro Thr Leu Lys Pro Ser Val Val Ser Ile Ser
115 120 125

Trp Ser Gly Pro Glu Asp Ser Trp Thr Ser Ala Ala Ile Ala Ala Met
130 135 140

Asn Arg Ala Phe Leu Asp Ala Ala Ala Leu Gly Val Thr Val Leu Ala
145 150 155 160

Ala Ala Gly Asp Ser Gly Ser Thr Gly Gly Glu Gln Asp Gly Leu Tyr
165 170 175

His Val His Phe Pro Ala Ala Ser Pro Tyr Val Leu Ala Cys Gly Gly
180 185 190

Thr Arg Leu Val Ala Ser Gly Gly Arg Ile Ala Gln Glu Thr Val Trp
195 200 205

Asn Asp Gly Pro Asp Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Val Ser Arg Ile
210 215 220

Phe Pro Leu Pro Ala Trp Gln Glu His Ala Asn Val Pro Pro Ser Ala
225 230 235 240

Asn Pro Gly Ala Ser Ser Gly Arg Gly Val Pro Asp Leu Ala Gly Asn
245 250 255

Ala Asp Pro Ala Thr Gly Tyr Glu Val Val Ile Asp Gly Glu Ala Thr
260 265 270

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

Ala Arg Ile Asn Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro
290 295 300

Thr Leu Tyr Gln Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly
305 310 315 320

Asn Asn Asp Ile Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly
325 330 335

Trp Asp Pro Cys Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu
340 345 350

Gln Ala Leu Leu Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln Pro Gly Ser Thr Glu
355 360 365

Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Ala Leu Glu His His His His His His
370 375 380

<210> 6
<211> 553
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma011

(全長)

<400> 6

Met Ser Asp Met Glu Lys Pro Trp Lys Glu Gly Glu Glu Ala Arg Ala
1 5 10 15

Val Leu Gln Gly His Ala Arg Ala Gln Ala Pro Gln Ala Val Asp Lys
20 25 30

Gly Pro Val Ala Gly Asp Glu Arg Met Ala Val Thr Val Val Leu Arg
35 40 45

Arg Gln Arg Ala Gly Glu Leu Ala Ala His Val Glu Arg Gln Ala Ala
50 55 60

Ile Ala Pro His Ala Arg Glu His Leu Lys Arg Glu Ala Phe Ala Ala
65 70 75 80

Ser His Gly Ala Ser Leu Asp Asp Phe Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ala
85 90 95

Asp Ala His Gly Leu Ala Leu Asp Arg Ala Asn Val Ala Ala Gly Thr
100 105 110

Ala Val Leu Ser Gly Pro Asp Asp Ala Ile Asn Arg Ala Phe Gly Val
115 120 125

Glu Leu Arg His Phe Asp His Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Tyr Leu
130 135 140

Gly Glu Val Thr Val Pro Ala Ser Ile Ala Pro Met Ile Glu Ala Val
145 150 155 160

Leu Gly Leu Asp Thr Arg Pro Val Ala Arg Pro His Phe Arg Met Gln
165 170 175

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

Thr Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln Phe Pro Glu
195 200 205

Gly Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu Leu Gly Gly
210 215 220

Gly Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser Leu Gly Val
225 230 235 240

Pro Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala Ser Asn Gln
245 250 255

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

Glu Val Ala Gly Ala Leu Ala Pro Gly Ala Lys Phe Ala Val Tyr Phe
275 280 285

Ala Pro Asp Thr Thr Ala Gly Phe Leu Asp Ala Ile Thr Thr Ala Ile
290 295 300

His Asp Pro Thr Leu Lys Pro Ser Val Val Ser Ile Ser Trp Ser Gly
305 310 315 320

Pro Glu Asp Ser Trp Thr Ser Ala Ala Ile Ala Ala Met Asn Arg Ala
325 330 335

Phe Leu Asp Ala Ala Ala Leu Gly Val Thr Val Leu Ala Ala Ala Gly
340 345 350

Asp Ser Gly Ser Thr Gly Gly Glu Gln Asp Gly Leu Tyr His Val His
355 360 365

Phe Pro Ala Ala Ser Pro Tyr Val Leu Ala Cys Gly Gly Thr Arg Leu
370 375 380

Val Ala Ser Gly Gly Arg Ile Ala Gln Glu Thr Val Trp Asn Asp Gly
385 390 395 400

Pro Asp Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Val Ser Arg Ile Phe Pro Leu
405 410 415

Pro Ala Trp Gln Glu His Ala Asn Val Pro Pro Ser Ala Asn Pro Gly
420 425 430

Ala Ser Ser Gly Arg Gly Val Pro Asp Leu Ala Gly Asn Ala Asp Pro
435 440 445

Ala Thr Gly Tyr Glu Val Val Ile Asp Gly Glu Ala Thr Val Ile Gly
450 455 460

Gly Thr Ser Ala Val Ala Pro Leu Phe Ala Ala Leu Val Ala Arg Ile
465 470 475 480

Asn Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro Thr Leu Tyr
485 490 495

Gln Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly Asn Asn Asp
500 505 510

Ile Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly Trp Asp Pro
515 520 525

Cys Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu Gln Ala Leu
530 535 540

Leu Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln Pro
545 550

<210> 7
<211> 188
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma062-M前蛋白質結構域

<400> 7

Ser Asp Met Glu Lys Pro Trp Lys Glu Gly Glu Glu Ala Arg Ala Val
1 5 10 15

Leu Gln Gly His Ala Arg Ala Gln Ala Pro Gln Ala Val Asp Lys Gly
20 25 30

Pro Val Ala Gly Asp Glu Arg Met Ala Val Thr Val Val Leu Arg Arg
35 40 45

Gln Arg Ala Gly Glu Leu Ala Ala His Val Glu Arg Gln Ala Ala Ile
50 55 60

Ala Pro His Ala Arg Glu His Leu Lys Arg Glu Ala Phe Ala Ala Ser
65 70 75 80

His Gly Ala Ser Leu Asp Asp Phe Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ala Asp
85 90 95

Ala His Gly Leu Ala Leu Asp Arg Ala Asn Val Ala Ala Gly Thr Ala
100 105 110

Val Leu Ser Gly Pro Asp Asp Ala Ile Asn Arg Ala Phe Gly Val Glu
115 120 125

Leu Arg His Phe Asp His Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Tyr Leu Gly
130 135 140

Glu Val Thr Val Pro Ala Ser Ile Ala Pro Met Ile Glu Ala Val Leu
145 150 155 160

Gly Leu Asp Thr Arg Pro Val Ala Arg Arg Arg Phe Arg Met Gln Arg
165 170 175

Arg Ala Glu Gly Gly Phe Glu Ala Arg Ser Gln Ala
180 185

<210> 8
<211> 363
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Kuma062-M成熟肽

<400> 8

Ala Ala Pro Thr Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln
1 5 10 15

Phe Pro Glu Gly Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu
20 25 30

Leu Gly Gly Gly Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser
35 40 45

Leu Gly Val Pro Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala
50 55 60

Ser Asn Gln Pro Thr Gly Asp Pro Glu Gly Pro Asp Gly Glu Val Thr
65 70 75 80

Leu Asp Ile Glu Val Ala Gly Ala Leu Ala Pro Gly Ala Lys Phe Ala
85 90 95

Val Tyr Phe Ala Pro Asp Thr Thr Ala Gly Phe Leu Asp Ala Ile Thr
100 105 110

Thr Ala Ile His Asp Pro Thr Leu Lys Pro Ser Val Val Ser Ile Ser
115 120 125

Trp Ser Met Pro Glu Asp Ser Trp Thr Ser Ala Ala Ile Ala Ala Met
130 135 140

Asn Arg Ala Phe Leu Asp Ala Ala Ala Leu Gly Val Thr Val Leu Ala
145 150 155 160

Ala Ala Gly Asp Gln Gly Ser Thr Ser Gly Glu Gln Asp Gly Leu Tyr
165 170 175

His Val His Phe Pro Ala Ala Ser Pro Tyr Val Leu Ala Cys Gly Gly
180 185 190

Thr Arg Leu Val Ala Ser Gly Gly Arg Ile Ala Gln Glu Thr Val Trp
195 200 205

Asn Gln Gly Pro Asp Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Val Ser Arg Ile
210 215 220

Phe Pro Leu Pro Ala Trp Gln Glu His Ala Asn Val Pro Pro Ser Ala
225 230 235 240

Asn Pro Gly Ala Ser Ser Gly Arg Gly Val Pro Asp Leu Ala Gly Asn
245 250 255

Ala Asp Pro Gln Thr Gly Tyr Glu Val Val Ile Asp Gly Glu Ala Thr
260 265 270

Val Thr Gly Gly Thr Ser Ala Val Ala Pro Leu Phe Ala Ala Leu Val
275 280 285

Ala Arg Ile Asn Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro
290 295 300

Thr Leu Tyr Gln Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly
305 310 315 320

Asn Asn Asp Ile Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly
325 330 335

Trp Asp Pro Cys Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu
340 345 350

Gln Ala Leu Leu Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln
355 360

<210> 9
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 麥膠蛋白

<400> 9

Pro Gln Leu Pro
1

<210> 10
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 麥膠蛋白

<400> 10

Pro Gln Gln Pro
1

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 麥膠蛋白

<400> 11

Pro Phe Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 麥膠蛋白

<400> 12

Pro Phe Pro Gln Pro Gln Gln Pro Phe
1 5

<210> 13
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 多肽

<400> 13

Leu Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro
1 5 10 15

Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro
20 25 30

Phe

<210> 14
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 多肽

<400> 14

Phe Leu Gln Pro Gln Gln Pro Phe Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Tyr
1 5 10 15

Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Phe Pro Gln
20 25

<210> 15
<211> 60
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 可裂解組胺酸標籤

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(25)
<223> Xaa爲任何胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(28)
<223> Xaa爲Lys或Gln

<220>
<221> misc_feature
<222> (30)..(55)
<223> Xaa爲任何胺基酸

<400> 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Gln Xaa Pro Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His His His His His His
50 55 60

<210> 16
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解組胺酸標籤

<400> 16

Gly Ser Ser Gly Ser Ser Gly Ser Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Gly Ser
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ser Gly Ser His His His His His His
20 25

<210> 17
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 組胺酸標籤

<400> 17

Gly Ser Thr Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Ala Leu Glu His His
1 5 10 15

His His His His
20

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TEV蛋白酶切割位點

<400> 18

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser
1 5

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> R5

<400> 19

Gln Gln Pro Phe Pro
1 5

<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> G12

<400> 20

Gln Pro Gln Leu Pro Tyr
1 5

<210> 21
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 麥膠酶

<400> 21

Ser Asp Met Glu
1

<210> 22
<211> 1659
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼Kuma062-M蛋白的核酸

<400> 22
agtgatatgg aaaaaccgtg gaaagaaggt gaagaagccc gcgcagtgct gcaaggtcat 60

gctcgtgcgc aggcaccgca agcagtcgat aaaggcccgg tggcaggtga cgaacgcatg 120

gctgttaccg tggttctgcg tcgccagcgt gcaggtgaac tggcggccca cgtggaacgt 180

caagcagcta ttgctccgca tgcgcgcgaa cacctgaaac gtgaagcggt tgcggccagt 240

catggtgcgt ccctggatga ctttgccgaa ctgcgtcgtc tcgcagatgc tcacggcctg 300

gcgctggacc gtgcaaacgt tgcagctggc accgccgttc tgtctggtcc ggacgatgca 360

atcaatcgcg cttttggtgt ggaactgcgt catttcgata acccggacgg ctcatatcgt 420

tcgtacctgg gtgaagtcac cgtgccggcc agtattgcac cgatgatcga agcggttctg	480
ggccttgata cgcgtccggt cgcgcggcgt cgttttcgta tgcagcgtcg cgcagaaggc	540
ggtttcgaag ctcgttccca agcggcggca ccgaccgcat atacgccgtt ggatgttgcg	600
caggcctacc aatttccgga aggtctggac ggccagggtc aatgcattgc cattatcgaa	660
ctgggcggtg gctatgatga agcttcactg gcgcagtact tcgcgtcgtt gggcgtgccg	720
gcaccgcaag tcgtgagtgt ttccgtcgat ggtgcgagca accagccgac cggatgatccg	780
gaagggtccg acgggtgaagt gaccctggat atcgaagttg caggcgtctt ggcgccgggt	840
gccaaatttg cagtgtattt cgcgccggat accactgccg gttttctgga cgcgattacc	900
acggccatcc acgatccgac gctgaaaccg agcgttgtct caatttcgtg gagcatgccg	960
gaagacagct ggacctctgc tgcgatcgcc gcaatgaacc gtgcgtttct ggatgctgcg	1020
gccctgggtg tgaccgttct ggagctgcg ggcgaccagg gtctacgag cggcgaacag	1080
gacggtctgt atcatgtgca ttcccgccg gcatcacctg acgttctggc gtgcggtggc	1140
acgcgcctgg tcgcatcggg tggccgtatt gcgcaggaaa ccgtctggaa ccagggtccg	1200
gacggtggtg caacgggtgg cgggtgtgagc cgcattcttc cgtgccggc atggcaggaa	1260
cacgctaacg ttccgccgtc tgcaaatccg ggcgcgagca gcggccgtgg tgtcccgat	1320
ctggctggta atgcggaccc gcagaccggt tatgaagtgg ttattgatgg cgaagcaacc	1380
gtcaccggcg gtacgagcgc cgtggcaccg ctgtttgctg cgttggttgc gcgtattaac	1440
cagaaactgg gcaaagcagt tggttatctg aatccgaccc tgtaccaact gccggcagat	1500
gttttccatg acatcacgga gggtaacaat gatattgcaa accgtgcgca gatttatcaa	1560
gcagggtccg gctgggaccc gtgtaccggt ctgggttcac cgattggtgt gcgtctgctg	1620
caagcactgt tgccgagtgc ctcccagccg caaccgtga	1659

<210> 23
<211> 553
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 多肽

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> 其中Xaa不爲Met。

<400> 23

Xaa Ser Asp Met Glu Lys Pro Trp Lys Glu Gly Glu Glu Ala Arg Ala
1 5 10 15

Val Leu Gln Gly His Ala Arg Ala Gln Ala Pro Gln Ala Val Asp Lys
20 25 30

Gly Pro Val Ala Gly Asp Glu Arg Met Ala Val Thr Val Val Leu Arg
35 40 45

Arg Gln Arg Ala Gly Glu Leu Ala Ala His Val Glu Arg Gln Ala Ala
50 55 60

Ile Ala Pro His Ala Arg Glu His Leu Lys Arg Glu Ala Phe Ala Ala
65 70 75 80

Ser His Gly Ala Ser Leu Asp Asp Phe Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ala
85 90 95

Asp Ala His Gly Leu Ala Leu Asp Arg Ala Asn Val Ala Ala Gly Thr
100 105 110

Ala Val Leu Ser Gly Pro Asp Asp Ala Ile Asn Arg Ala Phe Gly Val
115 120 125

Glu Leu Arg His Phe Asp His Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Tyr Leu
130 135 140

Gly Glu Val Thr Val Pro Ala Ser Ile Ala Pro Met Ile Glu Ala Val
145 150 155 160

Leu Gly Leu Asp Thr Arg Pro Val Ala Arg Arg Arg Phe Arg Met Gln
165 170 175

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

Thr Ala Tyr Thr Pro Leu Asp Val Ala Gln Ala Tyr Gln Phe Pro Glu
195 200 205

Gly Leu Asp Gly Gln Gly Gln Cys Ile Ala Ile Ile Glu Leu Gly Gly
210 215 220

Gly Tyr Asp Glu Ala Ser Leu Ala Gln Tyr Phe Ala Ser Leu Gly Val
225 230 235 240

Pro Ala Pro Gln Val Val Ser Val Ser Val Asp Gly Ala Ser Asn Gln
245 250 255

Pro Thr Gly Asp Pro Glu Gly Pro Asp Gly Glu Val Thr Leu Asp Ile
260 265 270

Glu Val Ala Gly Ala Leu Ala Pro Gly Ala Lys Phe Ala Val Tyr Phe
275 280 285

Ala Pro Asp Thr Thr Ala Gly Phe Leu Asp Ala Ile Thr Thr Ala Ile
290 295 300

His Asp Pro Thr Leu Lys Pro Ser Val Val Ser Ile Ser Trp Ser Met
305 310 315 320

Pro Glu Asp Ser Trp Thr Ser Ala Ala Ile Ala Ala Met Asn Arg Ala
325 330 335

Phe Leu Asp Ala Ala Ala Leu Gly Val Thr Val Leu Ala Ala Ala Gly
340 345 350

Asp Gln Gly Ser Thr Ser Gly Glu Gln Asp Gly Leu Tyr His Val His
355 360 365

Phe Pro Ala Ala Ser Pro Tyr Val Leu Ala Cys Gly Gly Thr Arg Leu
370 375 380

Val Ala Ser Gly Gly Arg Ile Ala Gln Glu Thr Val Trp Asn Gln Gly
385 390 395 400

Pro Asp Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Val Ser Arg Ile Phe Pro Leu
405 410 415

Pro Ala Trp Gln Glu His Ala Asn Val Pro Pro Ser Ala Asn Pro Gly
420 425 430

Ala Ser Ser Gly Arg Gly Val Pro Asp Leu Ala Gly Asn Ala Asp Pro
435 440 445

Gln Thr Gly Tyr Glu Val Val Ile Asp Gly Glu Ala Thr Val Thr Gly
450 455 460

Gly Thr Ser Ala Val Ala Pro Leu Phe Ala Ala Leu Val Ala Arg Ile
465 470 475 480

Asn Gln Lys Leu Gly Lys Ala Val Gly Tyr Leu Asn Pro Thr Leu Tyr
485 490 495

Gln Leu Pro Ala Asp Val Phe His Asp Ile Thr Glu Gly Asn Asn Asp
500 505 510

Ile Ala Asn Arg Ala Gln Ile Tyr Gln Ala Gly Pro Gly Trp Asp Pro
515 520 525

Cys Thr Gly Leu Gly Ser Pro Ile Gly Val Arg Leu Leu Gln Ala Leu
530 535 540

Leu Pro Ser Ala Ser Gln Pro Gln Pro
545 550

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%序列一致性的胺基酸序列，其中該多肽之 N 端處的第一胺基酸為 Ser (S)。

【請求項2】 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%序列一致性的胺基酸序列，其中在該多肽之 N 端處，該多肽不包含 Met (M)。

【請求項3】 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 23 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%序列一致性的胺基酸序列，其中 SEQ ID NO: 23 中的 Xaa 不為 Met (M)。

【請求項4】 一種多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%序列一致性的胺基酸序列胺基酸序列，其中該多肽的 N 端處之第一胺基酸為 Ser (S)；其中該多肽包含 SEQ ID NO: 8 中所述之胺基酸序列。

【請求項5】 如請求項 1 至 4 中任一項之多肽，其中該多肽自 N 端至 C 端的前兩個 N 端胺基酸為 Ser-Asp (SD)。

【請求項6】 如請求項 1 至 5 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中所述之胺基酸序列具有至少 85%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項7】 如請求項 1 至 6 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 中

所述之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項8】 如請求項 1 至 7 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 所述之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項9】 如請求項 1 至 8 中任一項之多肽，其包含與 SEQ ID NO: 1 所述之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項10】 如請求項 1 至 97 中任一項之多肽，其包含 SEQ ID NO:1 所述之胺基酸序列。

【請求項11】 如請求項 1 至 10 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 467 的胺基酸殘基為 Ser。

【請求項12】 如請求項 1 至 11 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 267 的胺基酸殘基為 Glu。

【請求項13】 如請求項 1 至 10 中任一項之多肽，其中對應於 SEQ ID NO: 1 的胺基酸 271 的胺基酸殘基為 Asp。

【請求項14】 如請求項 1 至 13 中任一項之多肽，其中該多肽能夠裂解麥膠蛋白。

【請求項15】 如請求項 1 至 14 中任一項之多肽，其進一步包含組胺酸標籤，其中該組胺酸標籤在該多肽之 C 端處融合。

【請求項16】 如請求項 15 之多肽，其中該組胺酸標籤包含 SEQ ID NO: 17 中所述之胺基酸序列（GSTENLYFQSGALEHHHHHH）。

【請求項17】 如請求項 15 或 16 之多肽，其中該組胺酸標籤包含可裂解組胺酸標籤，包括但不限於包含 SEQ ID NO: 15 中所述之胺基酸序列（X_NPQ(L/Q)PX_NHHHHHH）的可裂解組胺酸標籤，其中 X_N為 1 至 25 個胺基酸殘基的连接子。

【請求項18】 如請求項 17 之多肽，其中該可裂解組胺酸標籤包含 SEQ ID

NO: 16 中所述之胺基酸序列 (GSSGSSGSQPQLPYGSSGSSGSHHHHHH)。

【請求項19】 一種核酸分子，其編碼如請求項 1 至 18 中任一項之多肽。

【請求項20】 一種核酸表現載體，其包含如請求項 19 之核酸分子。

【請求項21】 一種重組宿主細胞，其包含如請求項 19 之核酸分子或如請求項 20 之核酸表現載體。

【請求項22】 如請求項 21 之重組宿主細胞，其中該宿主細胞係原核的。

【請求項23】 如請求項 21 之重組宿主細胞，其中該宿主細胞係真核的。

【請求項24】 一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 18 中任一項之多肽、如請求項 19 之核酸分子、如請求項 20 之核酸表現載體、如請求項 21 至 23 中任一項之重組宿主細胞，或其任何組合以及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項25】 一種用於治療個體之乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感 (NCGS) 的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之該個體投與有效治療該乳糜瀉或 NCGS 之量的如請求項 1 至 18 中任一項之多肽、如請求項 19 之核酸分子、如請求項 20 之核酸表現載體、如請求項 21 至 23 中任一項之重組宿主細胞，或如請求項 24 之醫藥組合物，從而治療乳糜瀉或 NCGS。

【請求項26】 一種用於減輕個體之乳糜瀉或非乳糜瀉型麩質敏感 (NCGS) 相關炎症的方法，其包含向患有乳糜瀉或 NCGS 之該個體投與有效減輕該乳糜瀉或 NCGS 相關炎症之量的如請求項 1 至 18 中任一項之多肽、如請求項 19 之核酸分子、如請求項 20 之核酸表現載體、如請求項 21 至 23 中任一項之重組宿主細胞或如請求項 24 之醫藥組合物，從而減輕該炎症。

【請求項27】 如請求項 26 之方法，其中該多肽、該核酸分子、該核酸表現載體、該重組宿主細胞或該醫藥組合物經口投與。

【請求項28】 一種降解食品中之麩質之方法，其包含將該食品與有效降解該麩質之量的如請求項 1 至 18 中任一項之多肽或如請求項 24 之醫藥組合物接

觸，從而降解該食品中的該麩質。

【請求項29】 一種降解食品中之麥膠蛋白的方法，其包含將該食品與有效降解該麥膠蛋白之量的如請求項 1 至 18 中任一項之多肽或如請求項 24 之醫藥組合物接觸，從而降解該食品中的該麥膠蛋白。

【請求項30】 如請求項 28 或 29 之方法，其中該方法降解該食品中之至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 98%、至少約 99%或約 100%該麩質或麥膠蛋白。