

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610153713.7

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 5 月 30 日

[11] 公开号 CN 1970078A

[22] 申请日 2002.5.13

[21] 申请号 200610153713.7

分案原申请号 02814009.5

[30] 优先权

[32] 2001.5.11 [33] US [31] 60/290196

[71] 申请人 安姆根有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 闵湖盛 许海琳 熊 非

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 梁 谋

权利要求书 3 页 说明书 205 页 附图 37 页

[54] 发明名称

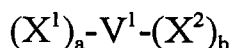
与 TALL - 1 结合的肽和相关分子

[57] 摘要

本发明涉及能调节 TALL - 1 活性的治疗剂。根据本发明, TALL - 1 的调节剂可以包括氨基酸序列 Dz^2Lz^4 , 其中, z^2 是氨基酸残基, z^4 是苏氨酰和异亮氨酰。典型分子包括具有下式的序列 $f^1f^2f^3Kf^5Df^7Lf^9f^{10}Qf^{12}f^{13}f^{14}$ (SEQ ID NO: 109), 其中取代基团如说明书中定义的。本发明还包括通式 $(X^1)_a - V^1 - (X^2)_b$ 的组合物, 其中, V^1 是一种媒介物, 它与上述 TALL - 1 调节组合物的一种或多种共价连接。所述媒介物和所述 TALL - 1 调节组合物可以通过 TALL - 1 调节部分的 N - 或 C - 末端连接。优选的媒介物是 Fc 结构域, 并且优选的 Fc 结构域是 IgG Fc 结构域。

$a^1a^2a^3CDa^6La^8a^9a^{10}Ca^{12}a^{13}a^{14}$
(SEQ.ID.NO:100)
 $b^1b^2b^3Cb^5b^6Db^8Lb^{10}b^{11}b^{12}b^{13}b^{14}Cb^{16}b^{17}b^{18}$
(SEQ.ID.NO:104)
 $c^1c^2c^3Cc^5Dc^7Lc^9c^{10}c^{11}c^{12}c^{13}c^{14}Cc^{16}c^{17}c^{18}$
(SEQ.ID.NO:105)
 $d^1d^2d^3Cd^5d^6d^7WDd^{10}Ld^{13}d^{14}d^{15}Cd^{16}d^{17}d^{18}$
(SEQ.ID.NO:106)
 $e^1e^2e^3Ce^5e^6e^7De^9Le^{11}Ke^{13}Ce^{15}e^{16}e^{17}e^{18}$
(SEQ.ID.NO:107)
 $f^1f^2f^3Kf^5Df^7Lf^9f^{10}Qf^{12}f^{13}f^{14}$
(SEQ.ID NO:109)
 $(X^1)_a - V^1 - (X^2)_b$

1. 一种下式的单体或其多聚体的组合物:



其中:

V^1 是媒介物;

X^1 和 X^2 各自独立地选自 $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ 和 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$;

P^1 , P^2 , P^3 和 P^4 中的一个或多个各自独立地包括 Dz^2Lz^4 ;

L^1 , L^2 , L^3 和 L^4 各自独立是接头; 而

a , b , c , d , e 和 f 各自独立地是 0 或 1, 其前提是 a 和 b 中的至少一个是 1;

P^1 , P^2 , P^3 和 P^4 中的一个或多个各自独立地包括以下序列:

$f^1f^2f^3Kf^4Df^5Lf^6f^7Qf^8f^9f^{10}Kf^{11}Df^{12}Lf^{13}QWf^{14}$ (SEQ.ID NO:109)

其中:

f^2 为 W, Y 或 F;

f^1 , f^2 和 f^3 不存在或者是氨基酸残基;

f^6 是 W, Y 或 F;

f^7 是氨基酸残基;

f^9 是 T 或 I;

f^{10} 是 K, R 或 H;

f^{12} 是 C, 中性极性残基, 或者碱性残基;

f^{13} 是 C, 中性极性残基, 或者不存在; 和

f^{14} 是任何氨基酸残基或者不存在;

其前提是, f^1 , f^2 和 f^3 中只有一个可以是 C, 并且 f^{12} , f^{13} 和 f^{14} 中只有一个可以是 C。

2. 如权利要求 1 的组合物, 其中:

f^1 是 W;

f^2 是 W;

f^6 是 T;

f^7 是 L;

f^7 是 K; 和

f^0 是 V。

3. 如权利要求 1 的组合物, 其中 P^1 , P^2 , P^3 和 P^4 中的一个或多个各自独立地包括

$$f^1 f^2 f^3 K W D f^7 L f^9 K Q f^{12} f^{13} f^{14}$$

(SEQ ID NO: 125)。

4. 如权利要求 3 的组合物, 具有下式结构:

$$P^1-(L^1)_c-P^2-(L^2)_d-V^1。$$

5. 如权利要求 3 的组合物, 具有下式结构:

$$V^1-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2。$$

6. 如权利要求 3 的组合物, 具有选自 SEQ ID NOS: 122, 123, 和 124 的氨基酸序列。

7. 如权利要求 4 的组合物, 其中 L^2 大于 5 个氨基酸。

8. 如权利要求 7 的组合物, 其中 L^2 选自:

$$GSGSATGGSGSTASSGSGSATx^1x^2$$

(SEQ ID NO: 193) 和

$$GSGSATGGSGSTASSGSGSATx^1x^2GSGSATGGSGSTASSGSGSATx^3x^4$$

(SEQ ID NO: 194)

其中, x^1 和 x^3 各自独立地是碱性或疏水性残基, 而 x^2 和 x^4 各自独立地是疏水性残基。

9. 如权利要求 5 的组合物, 其中 L^2 选自

$$GSGSATGGSGSTASSGSGSATH$$

(SEQ ID NO: 59),

$$GSGSATGGSGSTASSGSGSATGM$$

(SEQ ID NO: 190)

$$GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS$$

(SEQ ID NO: 191), 和

$$GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM$$

(SEQ ID NO: 192)。

10. 权利要求 1-9 任一项的组合物在制备用于治疗选自 B 细胞介导的自身免疫病、狼疮和 B 细胞介导的癌症的疾病的药物中的应用。

与 TALL-1 结合的肽和相关分子

本申请是以下申请的分案申请：申请日：2002 年 5 月 13 日；申请号：02814009.5 (PCT/US02/15273)；发明名称：“与 TALL-1 结合的肽和相关分子”。

本发明涉及 2001 年 5 月 11 日提交的美国临时申请 60/290,196，该申请被引入本文作为参考。

发明背景

在对肿瘤坏死进行若干年的研究之后，最终在 1984 年克隆了肿瘤坏死因子(TNFs) α 和 β 。在随后的几年中，发现了 TNF 细胞因子超家族，包括 fas 配体(FasL)、CD27 配体(CD27L)、CD30 配体(CD30L)、CD40 配体(CD40L)、TNF-相关的细胞程序死亡诱导配体(TRAIL，又被称为 AGP-1)，骨保护素(osteoprotegerin)结合蛋白(OPG-BP 或 OPG 配体)，4-1BB 配体，LIGHT，APRIL，和 TALL-1。Smith 等(1994)，Cell 76: 959-962；Lacey 等(1998)，Cell 93: 165-176；Chichepotiche 等(1997)，J. Biol.Chem. 272:32401-32410；Mauri 等(1998)，Immunity 8: 21-30；Hahne 等(1998)，J. Exp. Med. 188: 1185-90；Shu 等(1999)，J. Leukocyte Biology 65:680-3。该家族是通过它的结构，特别是 C-末端而统一化的。另外，迄今为止，已知的大多数成员是在免疫区室(compartment)中表达的，不过，某些成员也可以在其他组织或器官中表达。Smith 等(1994)，Cell 76: 959-62。除了 LT- α 以外的所有配体都是 II 型跨膜蛋白，以在 C-末端细胞外结构域中的保守的 150 个氨基酸区域为特征。尽管局限于仅有 20-25% 的相同性，所述保守的 150 个氨基酸结构域折叠成特有的 β -折叠片夹层，并且三聚体化。所述保守片段可以通过蛋白水解释放，从而产生可溶性功能形式。Banner 等(1993)，Cell 73: 431-445。

该配体家族的很多成员都是在富含淋巴的组织中表达的，并且在免疫系统发育和调节中发挥重要作用。Smith 等(1994)。例如，TNF α 主要是由巨噬细胞合成的，并且是炎症反应和免疫防御的重要介体。Tracey & Cerami (1994)，Ann. Rev. Med. 45: 491-503。Fas-L 主要在激活的 T 细胞中表达，调节胸腺细胞的 TCR 介导的细胞程序死亡。Nagata, S. & Suda, T. (1995) Immunology Today 16: 39-43；Castrim 等(1996)，

Immunity 5: 617-27。CD40L 也能通过激活的 T 细胞表达, 提供了 B 细胞存活, 增殖和免疫球蛋白同种型转变的重要信号。Noelle (1996), Immunity 4: 415-9。

业已鉴定了大多数 TNF 配体家族成员的关联受体。所述受体在它们的细胞外结构域内拥有特有的富含多个半胱氨酸的重复, 并且在细胞质区内不具有催化性基序。Smith 等(1994)。所述受体信号通过直接与死亡结构域(例如 TRADD, FADD, 和 RIP)或 TRAF 蛋白(例如 TRAF2, TRAF3, TRAF5, 和 TRAF6)相互作用, 启动多样的和重叠的信号传导途径, 例如, 细胞程序死亡, NF- κ B 激活, 或 JNK 激活。Wallach 等(1999), Annual Review of Immunology 17: 331-67。所述信号传导事件导致细胞死亡、增殖、激活或分化。每一个受体成员的表达方式是不同的。例如, TNFR1 是在多种组织和细胞中表达的, 而 OPGL 的细胞表面受体主要局限于破骨细胞。Hsu 等(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 3540-5。

最近, 多个研究小组业已证实 TNF 家族配体具有相同的或大体上相似的序列。所述配体拥有各种不同的名称: neutrokin α (WO 98/18921, 公开日为 1998 年 5 月 7 日), 63954 (WO98/27114, 公开日为 1998 年 6 月 25 日), TL5 (EP869 180, 公开日为 1998 年 10 月 7 日), NTN-2 (WO 98/55620 和 WO98/55621, 公开日为 1998 年 12 月 10 日), TNRL1- α (WO9911791, 公开日为 1999 年 3 月 11 日), kay 配体 (WO99/12964, 公开日为 1999 年 3 月 18 日), 和 AGP-3 (1999 年 2 月 12 日提交的美国临时申请 60/119,906 和 1999 年 11 月 18 日提交的 60/166,271); 和 TALL-1 (WO 00/68378, 公开日为 2000 年 11 月 16 日)。以上每一份文献都被引入本文作为参考。在下文中, 上面所报导的配体被统称为 TALL-1。

TALL-1 是 TNF 配体超家族的一个成员, 它在功能上与 B 细胞存活和增殖相关。超量表达 TALL-1 的转基因小鼠, 具有严重的 B 细胞增殖过度和狼疮样自身免疫疾病。Khare 等(2000) PNAS 97 (7): 3370-3375)。TACI 和 BCMA 都起着 TALL-1 细胞表面受体的作用。Gross 等(2000), Nature 404: 995-999; Ware (2000), J. Exp. Med. 192(11): F35-F37; Ware (2000), Nature 404: 949-950; Xia 等 (2000), L. Med. 192(1):

137-143; Yu 等 (2000), *Nature Immunology* 1 (3): 252-256; Marsters 等(2000), *Current Biology* 10: 785-788 ; Hatzoglou 等(2000)*J. of Immunology* 165: 1322-1330; Shu 等(2000) *PNAS* 97 (16): 9156-9161; Thompson 等(2000) *J. Exp. Med.* 192 (1) : 129-135; Mukhopadhyay 等 (1999) *J. Biol. Chem.* 274 (23):15978-81 ; Shu 等(1999)*J. Leukocyte Biol.* 65: 680-683; Gruss 等(1995) *Blood* 85 (12): 3378-3404; Smith 等(1994), *Cell* 76: 959-962; 美国专利 5,969,102, 于 1999 年 10 月 19 日授权; WO 00/67034, 公开日为 2000 年 11 月 9 日; WO 00/40716, 公开日为 2000 年 7 月 13 日; WO 99/35170, 公开日为 1999 年 7 月 15 日。以上两种受体都是在 B 细胞上表达的, 并且通过与 TRAF 蛋白相互作用传导信号。另外, TACI 和 BCMA 还能结合 TNF 配体家族的另一个成员 APRIL。Yu 等(2000), *Nature Immunology* 1 (3): 252-256。还证实了 APRIL 能诱导 B 细胞增殖。

迄今为止, 尚未披露采用 TALL-1 的肽调节剂的重组或修饰蛋白。重组和修饰蛋白是一类正在显现(emerging)的治疗剂。蛋白治疗剂的有用的修饰包括与一种抗体的“Fc”结构域结合, 以及与诸如聚乙二醇(PEG)和葡聚糖的聚合物连接。所述修饰在题为“作为治疗剂的修饰肽”的公开号为 WO 00/24782 专利申请中有详细说明, 该专利申请被以全文形式引入本文参考。

一种开发治疗剂的非常不同的方法是肽文库筛选。蛋白配体与它的受体的相互作用, 通常是在较大的界面上进行的。不过, 正如在人类生长激素及其受体上所证实的, 在所述界面上仅有少数的关键残基提供了大部分的结合能量。Clackson 等(1995), *Science* 267: 383-6。所述蛋白配体总体上在正确拓扑学上仅仅发挥结合表位的作用, 或发挥与结合无关的功能。因此, 仅为“肽”长度(2-40 个氨基酸)的分子能够结合在特定大型蛋白配体的受体蛋白上。所述肽可以模拟所述大型蛋白配体的生物活性(“肽刺激剂”)或通过竞争结合, 抑制所述大型蛋白配体的生物活性(“肽拮抗剂”)。

噬菌体展示肽文库业已作为鉴定所述肽刺激剂和拮抗剂的有效方法出现。例如, 参见 Scott 等(1990), *Science* 249: 386 ; Devlin 等(1990), *Science* 249: 404; 美国专利 5,223,409, 于 1998 年 3 月 31 日授权; U. S.

Pat. No. 5,498,530, 于 1996 年 3 月 12 日授权; U. S. Pat. No. 5,432,018, 于 1995 年 7 月 11 日授权; 美国专利号 5,338,665, 于 1994 年 8 月 16 日授权; 美国专利号 5,922,545, 于 1999 年 7 月 13 日授权; WO 96/40987, 于 1996 年 12 月 19 日授权; 和 WO 98/15833, 公开日为 1998 年 4 月 16 日(以上每一份文献都被以全文形式引入本文作为参考)。在所述文库中, 通过与丝状噬菌体的外被蛋白融合展示随机的肽序列。通常, 所展示的肽针对固定的靶蛋白而言是通过亲和洗脱的。所保留的噬菌体可以通过连续循环的亲和纯化和再繁殖富集。可以对最佳结合肽进行测序, 以便确定在一个或多个结构上相关的肽家族内的关键残基。例如, 参见 Cwirla 等(1997), *Science* 276: 1696-9, 其中, 鉴定了两个不同的家族。所述肽序列还可能暗示哪些残基可以通过丙氨酸扫描或通过 DNA 水平上的诱变被安全地取代。可以制备并且筛选诱变文库, 以便进一步优化所述最佳结合物的序列。Lowman (1997), *Ann.Rev.Biophys. Biomol. Struct.* 26: 401-24。

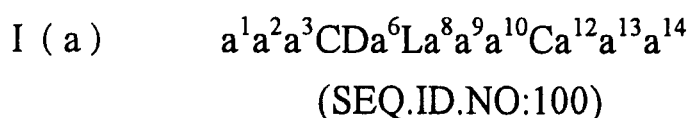
还可利用蛋白-蛋白相互作用的结构分析揭示能模拟大型蛋白配体的结合活性的肽。在所述分析中, 晶体结构可以揭示所述大型蛋白配体的关键残基的身份和相对取向, 通过它可以设计一种肽。例如, 参见 Takasaki 等(1997), *Nature Biotech.* 15: 1266-70。所述分析方法还可用于研究受体蛋白和通过噬菌体展示筛选的肽之间的相互作用, 这种研究可以揭示所述肽的其他修饰, 以便提高结合亲和力。

其他方法与肽研究中的噬菌体展示进行竞争。可以将一种肽文库融合在 lac 抑制子的羧基末端, 并且在大肠杆菌中表达, 另一种大肠杆菌型方法可以通过与肽聚糖-结合的脂蛋白(PAL)融合展示在细胞外膜上。在以下说明中, 上述和其他方法被统称为“大肠杆菌展示”。在另一种方法中, 在核糖体释放之前终止随机 RNA 翻译, 得到了仍然与相关的 RNA 结合的多肽文库。在以下说明中, 上述及相关的方法被统称为“核糖体展示”。其他方法采用与 RNA 连接的肽; 例如, PRO 融合技术, Phyllos, Inc.。例如, 参见 Roberts & Szostak (1997), *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 12297-303。在以下说明中, 该方法以及相关方法被统称为“RNA-肽筛选”。业已开发出了化学衍生的肽文库, 其中, 将肽固定在诸如聚乙烯棒或溶剂可渗透的树脂上的稳定的、非生物学材料

上。另一种化学衍生的肽文库利用照相平板印刷技术扫描固定在玻璃载玻片上的肽。在以下说明中，上述和相关方法被统称为“化学-肽筛选”。化学-肽筛选的优点可能是，它可以使用 D-氨基酸或其他非天然类似物，以及非肽因子。生物学和化学方法在以下文献中进行过综述：Wells & Lowman (1992), Curr. Opin. Biotechnol.3: 355-62。从理论上讲，人们可以通过噬菌体展示，RNA-肽筛选，和上面提到的其他方法发现任何蛋白的肽模拟物。

发明概述

本发明涉及能调节 TALL-1 活性的治疗剂。根据本发明，TALL-1 的调节剂可以包括一种氨基酸序列 Dz^2Lz^4 (SEQ ID NO: 108)，其中， z^2 是氨基酸残基，而 z^4 是苏氨酸或异亮氨酸。TALL-1 的所述调节剂包括具有以下结构式的分子：



其中：

a^1 , a^2 , a^3 分别是缺失的或者是氨基酸残基；

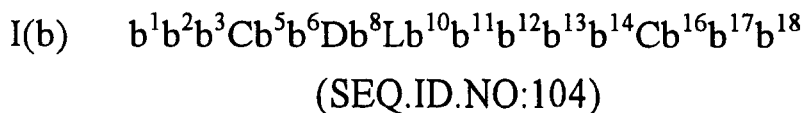
a^6 是氨基酸残基；

a^9 是碱性或疏水性残基；

a^8 是苏氨酸或异亮氨酸；

a^{12} 是中性极性残基；

a^{13} 和 a^{14} 分别是缺失的或者是氨基酸残基。



其中：

b^1 和 b^2 分别是缺失的或者是氨基酸残基；

b^3 是酸性或酰胺残基；

b^5 是氨基酸残基；

b^6 是芳族残基；

b^8 是氨基酸残基；

b^{10} 是 T 或 I；

b^{11} 是碱性残基;
 b^{12} 和 b^{13} 分别是独立的氨基酸残基;
 b^{14} 是中极性残基; 和
 b^{16} , b^{17} 和 b^{18} 分别是缺失的或是氨基酸残基。
 I(c) $c^1 c^2 c^3 C c^5 D c^7 L c^9 c^{10} c^{11} c^{12} c^{13} c^{14} C c^{16} c^{17} c^{18}$
 (SEQ.ID.NO:105)

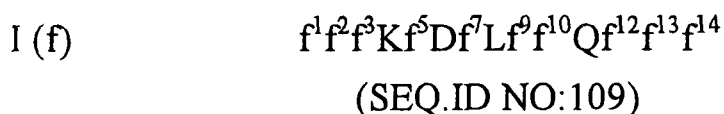
其中:
 c^1 , c^2 和 c^3 分别是缺失的或者是氨基酸残基;
 c^5 是氨基酸残基;
 c^7 是氨基酸残基;
 c^9 是 T 或 I;
 c^{10} 是碱性残基;
 c^{11} 和 c^{12} 分别是独立的氨基酸残基;
 c^{13} 是中极性残基;
 c^{14} 是氨基酸残基;
 c^{16} 是中极性残基; 和
 c^{18} 是氨基酸残基或者是缺失的。
 I(d) $d^1 d^2 d^3 C d^5 d^6 d^7 W D d^{10} L d^{13} d^{14} d^{15} C d^{16} d^{17}$
 (SEQ.ID.NO:106)

其中:
 d^1 , d^2 和 d^3 分别是缺失的或是氨基酸残基;
 d^5 , d^6 和 d^7 分别是独立的氨基酸残基;
 d^{10} 是氨基酸残基;
 d^{13} 是 T 或 I;
 d^{14} 是氨基酸残基; 而
 d^{16} , d^{17} 和 d^{18} 分别是缺失的或是氨基酸残基。
 I(e) $e^1 e^2 e^3 C e^5 e^6 e^7 D e^9 L e^{11} K e^{13} C e^{15} e^{16} e^{17} e^{18}$
 (SEQ.ID.NO:107)

其中:
 e^1 , e^2 和 e^3 分别是缺失的或者是氨基酸残基;
 e^5 , e^6 , e^7 , e^9 和 e^{13} 分别是氨基酸残基;

e^{11} 是 T 或 I; 和

e^{15} , e^{16} 和 e^{17} 分别是缺失的或者是氨基酸残基。



其中:

f^1 , f^2 和 f^3 是缺失的或者是氨基酸残基 (当 f^{12} , f^{13} , f^{14} 之一是 C 时, f^1 , f^2 和 f^3 中的一个优选是 C);

f^5 是 W, Y 或 F (优选 W);

f^7 是氨基酸残基 (优选 L);

f^9 是 T 或 L (优选 T);

f^{10} 是 K, R 或 H (优选 K);

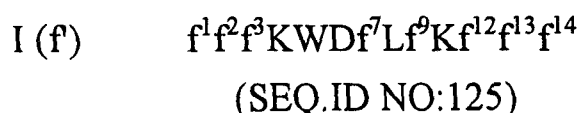
f^{12} 是 C, 一种中性极性残基, 或者碱性残基 (优选 W, C 或 R);

f^{13} 是 C, 一种中性极性残基或者是缺失的 (优选 V); 和

f^{14} 是任何氨基酸残基或者是缺失的;

其前提是, 仅有 f^1 , f^2 和 f^3 之一可以是 C, 并且仅有 f^{12} , f^{13} 和 f^{14} 之一是 C。

上面的结构式 I(a) 或 I(f) 的化合物整合了 Dz^2Lz^4 以及下面的 SEQ ID NO: 63。正如在下面的例 1 中所披露的, I(f) 的序列是作为共有序列衍生的。在结构式 I(f) 的化合物中, 优选以下结构式



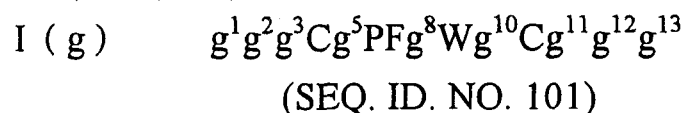
属于结构式 I(f) 的化合物包括 SEQ ID NOS: 32, 58, 60, 62, 63, 66, 67, 69, 70, 114, 115, 122, 123, 124, 147-150, 152-177, 179, 180, 187。

同样符合本发明的是具有以下共有基序的化合物:



它还能结合 TALL-1。

另外, 符合本发明的化合物是具有以下结构式的化合物:



其中:

g^1 , g^2 和 g^3 分别是缺失的或者是氨基酸残基;

g^5 是中极性残基;

g^8 是中极性残基;

g^{10} 是酸性残基;

g^{12} 和 g^{13} 分别是氨基酸残基; 和

g^{14} 是缺失的或者是氨基酸残基。

I(h) $h^1 h^2 h^3 C W h^6 h^7 W G h^{10} C h^{12} h^{13} h^{14}$

(SEQ. ID. NO: 102)

其中:

h^1 , h^2 , 和 h^3 分别是缺失的或者是氨基酸残基;

h^6 是疏水性残基;

h^7 是疏水性残基;

h^{10} 是酸性或极性疏水性残基; 和

h^{12} , h^{13} 和 h^{14} 分别是缺失或者是氨基酸残基。

I(i) $i^1 i^2 i^3 C i^5 i^6 i^7 i^8 i^9 i^{10} C i^{12} i^{13} i^{14}$

(SEQ. ID. NO: 103)

其中:

i^1 是缺失的或者是氨基酸残基;

i^2 是中极性残基;

i^3 是氨基酸残基;

i^5 , i^6 , i^7 和 i^8 分别是氨基酸残基;

i^9 是酸性残基;

i^{10} 是氨基酸残基;

i^{12} 和 i^{13} 分别是氨基酸残基; 和

i^{14} 是中极性残基。

由结构式 I(g)-I(i) 所定义的化合物也能结合 TALL-1。

另外, 根据本发明, TALL-1 的调节剂包括:

a) TALL-1 调节结构域 (例如, 结构式 I(a)-I(i) 的氨基酸序列), 优选氨基酸序列 Dz^2Lz^4 , 或者通过噬菌体展示, RNA-肽筛选, 或上面提到的其他技术由它所衍生的序列; 和

b) 一种媒介物, 如聚合物 (例如, PEG 或葡聚糖) 或 Fc 结构域, 它是优选的;

其中, 所述媒介物是与 TALL-1 调节结构域共价连接的。正如下文所披露的, 所述媒介物或 TALL-1 结构域可以通过 TALL-1 调节结构域的 N-或 C-末端连接。优选的是媒介物是 Fc 结构域, 而优选的 Fc 结构域是 IgG Fc 结构域。在本文中, 所述 Fc-连接的肽被称为“肽体”。优选的 TALL-1 调节结构域包括在下面的表 1 和 2 中所披露的氨基酸序列。其他 TALL-1 调节结构域, 可以通过本文所提到的噬菌体展示, RNA-肽筛选和其他技术制备。

另外, 本发明涉及一种用于生产 TALL-1 调节剂的方法, 该方法包括:

- a. 筛选至少一种能结合 TALL-1 的肽; 和
- b. 让所述肽与一种媒介物共价连接。

优选的媒介物是 Fc 结构域。步骤 (a) 优选是通过选自下面的表 2 中的肽序列或选自本文所提到的噬菌体展示, RNA-肽筛选, 或其他技术完成的。

本发明的化合物可以通过标准合成方法, 重组 DNA 技术或制备肽或融合蛋白的任何其他方法制备。包括非肽部分的本发明的化合物, 可以通过标准有机化学反应合成, 另外, 在需要时还可以采用标准肽化学反应。

与本发明化合物相关的主要用途是作为治疗剂或预防剂。所述媒介物连接的肽, 可能具有与所述肽所模拟的天然配体相当-或者甚至更高-的活性。

本发明的化合物可用于治疗和预防目的, 包括将它们与合适的药用载体材料配制在一起, 并且给需要使用它的诸如人 (或其他哺乳动物) 的患者服用有效的数量。本发明还包括其他相关的方面。

通过阅读附图和本发明的详细说明, 可以了解本发明的很多其他特征和优点。

附图的简要说明

图 1 表示典型 Fc 双体, 它可能源于 IgG1 抗体。附图中的 “Fc”

表示本发明“Fc 结构域”含义内的任何 Fc 变体。“X¹”和“X²”表示如下文所定义的肽或接头肽组合。具体的双体如下：

A, D: 单一二硫键结合的双体。IgG1 抗体在该抗体的铰链区通常具有两个二硫键。图 1A 和 1D 中的 Fc 结构域可以通过在两个二硫键位点之间截断或通过用非活性残基（例如，丙氨酰）取代半胱氨酰残基。在图 1A 中，Fc 结构域连接在所述肽的氨基末端；在图 1D 中，连接在羧基末端。

B, E: 双二硫键双体。该 Fc 结构域可以通过截短亲代抗体以便保留 Fc 结构域链上的两个半胱氨酰残基而形成或者通过用包括编码所述 Fc 结构域的序列的构建体表达。在图 1B 中，Fc 结构域连接在所述肽的氨基末端；在图 1E 中，连接在羧基末端。

C, F: 非共价双体。该 Fc 结构域可以通过截短或取代消除半胱氨酰残基而形成。人们可能需要消除半胱氨酰残基，以便避免通过该半胱氨酰残基与存在于其他宿主细胞中的蛋白的半胱氨酰残基起反应所形成的杂质。所述 Fc 结构域的非共价结合由于将所述双体保持在一起。其他双体可以通过使用源于不同类型抗体（例如，IgG2, IgM）的 Fc 结构域形成。

图 2 表示本发明优选化合物的结构，它以药理学活性肽的串联重复为特征。图 2A 表示单链分子，并且还可以表示该分子的第一构建体。图 2B 表示一种双体，其中，所述接头肽部分仅存在于该双体的一条链上。图 2C 表示在两条链上都具有肽部分的双体。图 2C 所示的双体是在某些宿主细胞中表达编码图 3A 所示的单链的 DNA 构建体时能自主形成。在其他宿主细胞中，将所述细胞放置在有利于双体形成的条件下，或者所述双体可以在体外形成。

图 3 表示可用于本发明中的人 IgG1 Fc 的典型的核酸和氨基酸序列（分别为 SEQ ID NOS: 1 和 2）。

图 4A-4F 表示编码肽和接头的 NdeI-SalI 片段的核苷酸和氨基酸序列(SEQ ID NOS: 3-27)。

图 5A-5M 表示 pAMG21-RANK-Fc 载体的核苷酸序列(SEQ ID NO: 28)，它被用于构建本发明的 Fc-连接的分子。以上附图确定了有关核酸的多种特征，包括：

- 启动子区 PcopB, PrepA, RNAI, APHII, luxPR, 和 luxPL;
- 编码 APHII, luxR 的 mRNA;
- copB 蛋白, copT, repAI, repA4, APHII, luxR, RANK, 和 Fc 蛋白的编码序列和氨基酸序列;
- 蛋白 copB, CRP 的结合位点;
- 发卡 T1, T2, T7, 和 toop;
- lux 蛋白的操纵子位点;
- PflII08I, BglII, ScaI, BmnI, DrdII, DraIII, BstBI, AceIII, AflII, PflMI, BglI, SfiI, BstEII, BspLullI, NspV, BplI, EagI, BcgI, NsiI, BsaI, PspI406I, AatII, BsmI, NruI, NdeI, ApaLI, Acc65I, KpnI, Sall, AccI, BspEI, AhdI, BspHI, EconI, BsrGI, BmaI, SmaI, SexAI, BamHI 和 BlpI 的酶限制位点。

图 6A 和 6B 表示插入 pCFM1656 的单一的 AatII (pCFM1656 上 4364 号位置)和 SacII (pCFM1656 的 4585 号位置)限制位点之间的 DNA 序列(SEQ ID NO: 97), 以便形成表达质粒 pAMG21 (ATCC 保藏号 98113)。

图 7 表示能抑制 TALL-1 介导的 B 细胞增殖的 TALL-1 肽体 (SEQ ID NO: 70)。在存在 10 纳克/毫升 TALL-1 + 2 微克/毫升抗 IgM 抗体的条件下, 将来自 B6 小鼠的纯化 B 细胞(10^5)与标明数量的 TALL-1 共有肽体一起在 96 孔平板上培养, 重复 3 次。培养 18 小时之后, 通过放射性 [3 H]胸苷吸收测定增殖。所示出的数据表示平均值 $\pm$ SD 三个重复的孔。

图 8 表示 TALL-1 N-末端串联双体肽体(参见表 5B 中的 SEQ ID NO: 123, 124)优选被用于抑制 TALL 介导的 B 细胞增殖。在存在 10 纳克/毫升 TALL-1 + 2 微克/毫升抗 IgM 抗体的条件下, 将来自 B6 小鼠的纯化 B 细胞(10^5)与标明数量的 TALL-1 12-3 肽体和 TALL 共有肽体 (表 5B 中的 SEQ ID NOS: 115 和 122)或相关的双体肽体(SEQ ID NOS: 123, 124) 一起在 96 孔平板上培养, 重复 3 次。培养 18 小时之后, 通过放射性 [3 H]胸苷吸收测定增殖。所示出的数据表示平均值 $\pm$ SD 三个重复的孔。

图 9 表示以高亲和力与 AGP3 结合的 AGP3 肽体。使用双曲线单

位点均匀结合模型由非线性回归的竞争曲线获得了解离平衡常数(K_D) (KinEx™软件)。对于与人 AGP3 (SEQ ID NO: 123)结合的 AGP3 肽体来说, K_D 大约为 4pM。

图 10A 和 10B。在 Biacore 竞争测定中, AGP3 肽体能抑制人类和鼠类 AGP3。将可溶性人 TACI 蛋白固定在 B1 芯片上。将 1 nM 重组人 AGP3 蛋白 (上图) 或 5 nM 重组鼠类 AGP3 蛋白 (下图) 与标明数量的 AGP3 肽体一起培养, 然后加注到受体表面上。示出了相对的人 AGP3 和鼠 AGP3 结合反应 (SEQ ID NO: 123)。

图 11A 和 11B。在 Biacore 竞争测定中, AGP3 肽体抑制了 AGP3 与所有三种受体 TACI, BCMA 和 BAFFR 的结合。将重组可溶性受体 TACI, BCMA 和 BAFFR 蛋白固定在 CM5 芯片上。将 1 nM 重组人 AGP3 (上图) 与标明数量的 AGP3 肽体一起培养, 然后加注到每一种受体表面上。测定 AGP3 的相对结合。类似地, 将 1 nM 重组 APRIL 蛋白与标明数量的 AGP3 肽体一起培养, 然后加注到每一种受体表面上。AGP3 肽不能抑制 APRIL 与所有三种受体的结合 (SEQ ID NO: 123)。

图 12A 和 12B。AGP3 能抑制通过人 AGP3 刺激诱导的小鼠血清免疫球蛋白含量的提高。每天 1 次, 连续 7 天给 Balb/c 小鼠腹膜内注射 1 mg/Kg 人 AGP3 蛋白, 同时注射标明剂量的盐水、人 Fc 或 AGP3 肽体, 并且在第 8 天放血。通过 ELISA 测定血清总 IgM 和 IgA 含量 (SEQ ID NO: 123)。

图 13。AGP3 肽体治疗减轻了小鼠 CIA 模型的关节炎严重程度。通过在尾巴根处经皮注射用完全弗氏佐剂乳化的牛 II 型胶原 (bCII), 对 8-12 周大的 DBA/1 雄性小鼠进行免疫, 并且在首次免疫之后三周, 通过用不完全弗氏佐剂乳化的 bCII 进行强化免疫。从强化免疫当天开始用标明剂量的 AGP3 肽体治疗 4 周时间。正如以前所披露的 (Khare 等, J. Immunol. 155: 3653-9, 1995), 采用 0-3 的评分等级, 分别对所有 4 只爪子进行关节炎严重性评分 (SEQ ID NO: 123)。

图 14。AGP3 肽体治疗抑制了抗胶原抗体在小鼠 CIA 模型中的产生。如上文所述, 在最后一次处理之后 1 周 (35 天) 采集血清样品。通过 ELISA 分析, 测定血清抗胶原 II 抗体含量 (SEQ ID NO: 123)。

图 15A 和 15B。AGP3 肽体治疗延缓了蛋白尿的发作, 并且改善

了 NZB/NZW 狼疮小鼠的存活。用 PBS 或标明剂量的 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 或人 Fc 蛋白对易感狼疮的 5 个月大小的 NZB × NZBW F1 小鼠进行腹膜内注射治疗, 每周 3 次, 共 8 周时间。在整个实验期间, 用 Albustix 试剂条 (Bayer AG) 每月评估尿液中的蛋白。

图 16A 和 16B 表示优选的 TALL-1 结合肽体的核酸和氨基酸序列 (SEQ ID NOS: 189 和 123)。

发明详述

术语的定义

除非在特定情况中另有限定, 在本说明书中所使用的术语定义如下:

一般定义

术语“包括(comprising)”表示在特定序列的 N-或 C-末端中的一个或两个上可以包括其他氨基酸的化合物。当然, 所述其他氨基酸不应当明显干扰该化合物的活性。

另外, 本发明还包括本发明化合物的可以药用的盐。术语“生理学可接受的盐”表示已知的或者后来发现的在药理学上可接受的任何盐。某些具体例子是: 乙酸盐; 三氟乙酸盐; 氢卤酸盐, 如氢氟酸盐和氢溴酸盐; 硫酸盐; 柠檬酸盐; 酒石酸盐; 乙醇酸盐; 和草酸盐。

氨基酸

术语“酸性残基”表示具有包括酸性基团的侧链的 D-或 L-形式的具有包括酸性基团的侧链的氨基酸残基。典型的酸性残基包括 D 和 E。

术语“酰胺残基”表示具有包括酸性基团的酰胺衍生物的侧链的 D-或 L-形式的氨基酸。典型的残基包括 N 和 Q。

术语“芳族残基”表示具有芳族基团的侧链的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的芳族残基包括 F, Y, 和 W。

术语“碱性残基”表示具有碱性基团的侧链的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的碱性残基包括 H, K, 和 R。

术语“亲水性残基”表示包括极性基团侧链的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的亲水性残基包括 C, S, T, N, 和 Q。

术语“非功能残基”表示具有缺少酸性、碱性或芳族基团的侧链

的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的非功能性氨基酸残基包括 M, G, A, V, I, L 和正亮氨酸(Nle)。

术语“中性极性残基”表示具有缺少碱性、酸性或极性基团的侧链的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的中性极性氨基酸残基包括 A, V, L, I, P, W, M, 和 F。

术语“极性疏水性残基”表示具有包括极性基团的侧链的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的极性疏水性氨基酸残基包括 T, G, S, Y, C, Q, 和 N。

术语“疏水性残基”表示具有缺少碱性或酸性基团的侧链的 D-或 L-形式的氨基酸残基。典型的疏水性氨基酸残基包括 A, V, L, I, P, W, M, F, T, G, S, Y, C, Q, 和 N。

肽

术语“肽”表示具有 1-40 个氨基酸的分子, 优选具有 5-20 个氨基酸的分子。典型的肽可以包括天然存在分子的 TALL-1 调节结构域或随机化的序列。

术语“随机化的”在用于表示肽序列时, 是指完全随机的序列(例如, 通过噬菌体展示方法或 RNA-肽筛选方法选择的)和天然存在的分子上的一个或多个残基, 被天然存在的分子上的某个位置上不存在的氨基酸残基所取代的序列。用于鉴定肽序列的典型方法, 包括噬菌体展示, 大肠杆菌展示, 核糖体展示, RNA-肽筛选, 和化学筛选等。

术语“TALL-1 调节结构域”表示能结合 TALL-1 的任何氨基酸序列, 并且包括天然存在的序列或随机化的序列。典型的 TALL-1 调节结构域可以通过噬菌体展示或本文提到过的其他方法鉴定或衍生。

术语“TALL-1 拮抗剂”表示能与 TALL-1 结合, 并且增强或减弱一种或多种特定参数的分子, 所述增强或减弱与完整长度天然 TALL-1 对所述参数的影响相反。例如, 所述活性可以通过披露于以下文献中的测定方法测定: 题为“TNF-相关蛋白”的公开日为 2000 年 8 月 17 日的 WO 00/47740 的专利申请的材料和方法部分的标题为“AGP-3 的生物学活性”的小部分。

媒介物和肽体

术语“媒介物(vehicle)”表示能抑制治疗性蛋白降解和/或延长半

衰期，减弱毒性，减弱免疫原性或提高其生物学活性的分子。典型的媒介物包括 Fc 结构域（它是优选的）以及线性聚合物（例如聚乙二醇 (PEG)，聚赖氨酸，葡聚糖等）；支链聚合物（例如，参见于 1981 年 9 月 15 日授予 Denkenwalter 等的美国专利 4289872；于 1993 年 7 月 20 日授予 Tam 的 5229490；于 1993 年 10 月 28 日的 Frechet 等的 WO 93/21259）；脂类；胆甾醇类（如类固醇）；糖类或寡聚糖（例如葡聚糖）；能与挽救受体结合的任何天然或合成蛋白、多肽或肽；白蛋白，包括人血清白蛋白 (HAS)，亮氨酸拉链结构域，和其他诸如此类的蛋白和蛋白片段。下面将对媒介物作进一步说明。

术语“天然 Fc”表示包括通过消化完整抗体而产生的序列的单体或多聚体形式的分子或序列。天然 Fc 的原始免疫球蛋白来源优选人类来源，并且可以是任何免疫球蛋白，不过优选 IgG1 和 IgG2。天然 Fc's 由单聚体多肽组成，所述单聚体多肽可以通过共价（二硫键）和非共价结合，连接成双体或多聚体形式。天然 Fc 分子的单体亚基之间的分子间二硫键的数量，根据类型（例如 IgG, IgA, IgE）或亚型（例如 IgG1, IgG2, IgG3, IgA1, IgGA2）在 1-4 之间变化。天然 Fc 的一种例子是通过木瓜蛋白酶消化 IgG 所产生的二硫键连接的双体（参见 Ellison 等 (1982), Nucleic Acids Res. 10: 4071-9）。本文所使用的术语“天然 Fc”是对单体、双体和多聚体形式的统称。

术语“Fc 变体”表示由天然 Fc 修饰而来的分子或序列，不过，它仍然包括对挽救受体的结合位点 FcRn。国际申请 WO 97/34631 (公开日为 1997 年 9 月 25 日)和 WO 96/32478 披露了典型的 Fc 变体，以及与所述挽救受体的相互作用，以上申请被以全文形式引入本文作为参考。因此，术语“Fc 变体”包括来自非人天然 Fc 的人源化分子或序列。另外，天然 Fc 包括可以除去的位点，因为它们提供了本发明融合分子所不需要的结构特征或生物学活性。因此，术语“Fc 变体”包括缺少一个或多个天然 Fc 位点或残基的分子或序列，所述位点或残基影响或与（1）二硫键形成，（2）与选择的宿主细胞的不兼容性，（3）在选择宿主细胞中表达时 N-末端的不一致性，（4）糖基化，（5）与补体的相互作用，（6）与 Fc 受体而不是挽救受体结合，或（7）抗体决定型细胞毒性 (ADCC)相关。下面将对 Fc 变体作更详细地说明。

术语“Fc 结构域”包括如上文所定义的天然 Fc 和 Fc 变体分子和序列。对于 Fc 变体和天然 Fc's 来说，术语“Fc 结构域”包括单体或多聚体形式，无论是通过消化完整抗体而形成的还是通过其他方式形成的。

用于表示 Fc 结构域或分子的术语“多聚体”包括表示具有两个或两个以上共价、非共价或同时通过共价和非共价相互作用结合的多肽链的分子的 Fc 结构域。IgG 分子通过形成双体；IgM，五聚体；IgD，双体；和 IgA，单体，双体，三体，或四聚体。多聚体可以通过采用 Fc 的天然 Ig 来源的序列和所产生的活性或通过衍生（如下文所定义的）所述天然 Fc 而形成。

用于 Fc 结构域或分子上的术语“双体(dimer)”包括表示具有两个共价或非共价结合的多肽链的分子的 Fc 结构域。因此，在图 1 中示出了本发明范围内的典型的双体。

术语“衍生化”和“衍生物”或“衍生化的”包括有关过程和所得到的相应的化合物，其中（1）所述化合物具有一个环状部分，例如，在所述化合物内半胱氨酰残基之间的交联；（2）所述化合物是交联的或具有交联位点；例如，所述化合物具有一个半胱氨酸残基，因此在培养中或在体内形成交联的双体；（3）一个或多个肽键被非肽键所取代；（4）N-末端被-NRR¹，NRC(O)R¹，-NRC(O)OR¹，-NRS(O)₂R¹，-NHC(O)NHR 琥珀亚胺基或取代过的或未取代过的苄氧基羰基-NH-所取代，其中 R 和 R¹和环状取代基如下文所定义；（5）C-末端被-C(O)R²或-NR³R⁴所取代，其中，R²，R³和 R⁴如、下文所定义；和（6）其中的单个氨基酸组份通过用能够与侧链或末端残基起反应的试剂处理修饰过的化合物。在下文中将对衍生物作进一步说明。

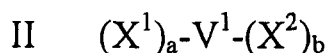
术语“肽体(peptibody)”表示包括 Fc 结构域和至少一种肽的分子。所述肽体可以是多聚体或它的双体或片段，并且它们可以是衍生化的。在本发明中，当 V¹ 是 Fc 结构域时，下面的结构式 II-VI 的分子是肽体。

化合物的结构

一般说明。本发明人鉴定了能够与 TALL-1 结合并且调节其生物学活性的序列。可以通过上面所提到的方法对所述序列进行修饰，通

过所述修饰可以改变一个或多个氨基酸，同时保持或者甚至提高所述肽的结合亲和力。

在根据本发明制备的物质的组合物中，可以通过肽的 N-末端或 C-末端将所述肽与媒介物连接。所述任何肽都可以串联连接（即顺序连接），有或没有接头。因此，本发明的媒介物-肽分子可以通过以下结构式表示：



其中：V¹是媒介物（优选是Fc结构域）；

X¹和X²分别选自-(L¹)_c-P¹，-(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²，-(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³，和-(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³-(L⁴)_f-P⁴；

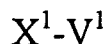
p¹，p²，p³，和P⁴分别是TALL-1调节结构域的序列，如结构式I(a)-I(i)的序列；

L¹，L²，L³，和L⁴分别是接头；和

a，b，c，d，e，和f分别是0或1，其前提是，a和b中的至少一个是1。

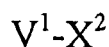
因此，化合物II包括以下结构式的优选化合物

III



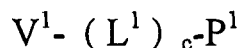
和它的多聚体，其中，V¹是Fc结构域，并且连接在A¹的C-末端；

IV



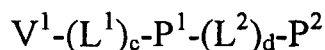
以及它的多聚体，其中，V¹是Fc结构域，并且与A²的N-末端连接；

V



和它的多聚体，其中，V¹是Fc结构域，并且与-(L¹)_c-P¹的N-末端连接；和

VI



和它的多聚体，其中，V¹是Fc结构域，并且与-L¹-P¹-L²-P²的N-

末端连接。

肽。本发明的肽可以用作 TALL-1 调节肽或用作结构式 II-VI 分子中的 TALL-1 结构域。本发明的分子包括可以通过本领域已知方法制备的肽序列。

优选的肽序列是优选具有下文所述取代基的上面的结构式 I (a) 的序列。

表 1——优选的肽取代基

式 I(a)	a^8 是 T; a^9 是碱性残基 (最优选 K); a^{12} 是中性极性残基 (最优选 F)
式 I(b)	b^3 是 D、Q 或 E; b^6 是 W 或 Y; b^{10} 是 T; b^{11} 是 K 或 R; b^{14} 是 V 或 L
式 I(c)	c^9 是 T; c^{10} 是 K 或 R; c^{13} 是 I、L 或 V; c^{17} 是 A 或 L
式 I(d)	d^{13} 是 T
式 I(e)	e^{11} 是 T
式 I(f)	f^6 是 T; f^7 是 K; f^{10} 是 V
式 I(g)	g^5 是 W; g^8 是 P; g^{10} 是 E; g^{13} 是碱性残基
式 I(h)	h^1 是 G; h^6 是 A; h^7 是中性极性残基;

	h^{10} 是酸性残基
式 I(i)	i^2 是 W; i^{14} 是 W

优选的肽序列如下面的表 2 所示

表 2——优选的 TALL-1 调节结构域
(原文 25-26 页表 2)

应当指出的是, TALL-1 的已知受体与优选的肽具有某些序列同源性:

12-3 LPGCKWDLLIKQWVCDPL
BAFFR MRRGPRSLRGRDAPVPTPCVPTECYDLLVRKCVDCRLL
TACI TICNHQSQRRTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASI
BCMA FVSPSQEIRGRFRRMLQMAGQCSQNEYEDSLLHACIPCQLRC
(分别为序列 SEQ ID NOS: 33, 195, 196 和 197)。

任何含有半胱氨酸残基的肽都可以与另一种含有 Cys 的肽交联, 它们中的一个或两个可以与媒介物连接。任何具有一个以上 Cys 残基的肽也都可以形成肽内二硫键。上述任何肽都可以按下文所述方法衍生化。

其他有用的肽序列可以通过对表 2 中的氨基酸序列进行保守性和/或非保守性修饰而形成。

保守性修饰能产生具有类似于对它进行所述修饰的肽的功能和化学特征的肽。相反, 通过在氨基酸序列上进行选择性取代可以获得对所述肽的功能和/或化学特征的实质性修饰, 所述修饰在以下方面的作用显著不同: 维持 (a) 取代部位的分子主链的结构, 例如, 作为折叠或螺旋构象, (b) 所述分子对于靶位点的电荷或疏水性; 或 (c) 所述分子的大小。

例如, “保守性氨基酸取代”可能包括非天然残基对天然氨基酸残基的取代, 以便对该位点上的氨基酸残基的极性 or 电荷少有或没有影响。另外, 正如以前说明“丙氨酸扫描诱变时”所披露的, 所述多肽上的任何天然残基都可以用丙氨酸取代 (例如, 参见 MacLennan 等, 1998, Acta Physiol. Scand. Suppl. 643: 55-67; Sasaki 等, 1998, Adv. Biophys. 35: 1-24, 以上文献讨论了丙氨酸扫描诱变。

理想的氨基酸取代 (无论是保守性或非保守性取代) 可以由本领域技术人员在需要进行所述取代时确定。例如, 可以用氨基酸取代鉴定所述肽序列的重要残基, 或用于提高或减弱本文所披露的肽或媒介物-肽分子 (参见上文的结构式) 的亲合力。典型的氨基酸取代如表 3 所示。

表 3-氨基酸取代基

原残基	例示取代	优选取代
Ala(A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg(R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn(N)	Gln	Gln
Asp(D)	Glu	Glu
Cys(C)	Ser, Ala	Ser
Gln(Q)	Asn	Asn
Glu(E)	Asp	Asp
Gly(G)	Pro, Ala	Ala
His(H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile(I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, 正亮氨酸	Leu
Leu(L)	正亮氨酸, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys(K)	Arg, 1,4-二氨基丁 酸, Gln, Asn	Arg
Met(M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe(F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro(P)	Ala	Gly
Ser(S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr(T)	Ser	Ser
Trp(W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val(V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, 正亮氨酸	Leu

在某些实施方案中，保守性氨基酸取代还包括非天然存在的氨基酸残基，这些残基是通过化学肽合成整合的，而不是通过在生物学系

统中合成整合的。

正如在上面的“术语的定义”部分所指出的，天然存在的残基可以根据可用于序列修饰的共同的侧链特性进行分类。例如，非保守性取代可能涉及一种类型的成员对另一种类型的成员的取代。可以将所述取代残基导入所述肽的与非人直向同源基因同源的区域，或导入所述分子的非同源区。另外，人们还可以用 P 或 G 进行修饰，以便影响侧链的方向。

在进行所述修饰时，可以考虑氨基酸的亲水性指数。根据其疏水性和电荷特征，为每一种氨基酸确定一个亲水指数，所述亲水指数为：异亮氨酸(+4.5)；缬氨酸(+4.2)；亮氨酸(+3.8)；苯丙氨酸(+2.8)；半胱氨酸/胱氨酸(+2.5)；甲硫氨酸(+1.9)；丙氨酸(+1.8)；甘氨酸(-0.4)；苏氨酸(-0.7)；丝氨酸(-0.8)；色氨酸(-0.9)；酪氨酸(-1.3)；脯氨酸(-1.6)；组氨酸(-3.2)；谷氨酸(-3.5)；谷氨酰胺(-3.5)；天冬氨酸(-3.5)；天冬酰胺(-3.5)；赖氨酸(-3.9)；和精氨酸(-4.5)。

亲水性氨基酸指数在赋予蛋白的相互作用生物学功能方面的重要性为本领域所公知。Kyte 等, J. Mol. Biol., 157: 105-131 (1982)。已知，某些氨基酸可以取代具有类似亲水指数或得分的其他氨基酸，并且仍然保留类似的生物学活性。在进行基于亲水性指数的改变时，优选取代其亲水指数在 ± 2 以内的氨基酸，特别优选在 ± 1 范围内的氨基酸，更优选 ± 0.5 范围内的氨基酸。

本领域还可以理解的是，类似氨基酸的取代还可以根据亲水性有效进行。一种蛋白的最大局部平均亲水性，是由其相邻氨基酸的亲水性决定的，这种亲水性与它的免疫原性和抗原性相关，即与该蛋白的生物学特性相关。

业已为氨基酸确定了以下亲水性值：精氨酸(+3.0)；赖氨酸(+3.0)；天冬氨酸($+3.0 \pm 1$)；谷氨酸($+3.0 \pm 1$)；丝氨酸(+0.3)；天冬酰胺(+0.2)；谷氨酰胺(+0.2)；甘氨酸(0)；苏氨酸(-0.4)；脯氨酸(-0.5 ± 1)；丙氨酸(-0.5)；组氨酸(-0.5)；半胱氨酸(-1.0)；甲硫氨酸(-1.3)；缬氨酸(-1.5)；亮氨酸(-1.8)；异亮氨酸(-1.8)；酪氨酸(-2.3)；苯丙氨酸(-2.5)；色氨酸(-3.4)。在基于类似的亲水性值进行取代时，优选取代其疏水性值在 ± 2 以内的氨基酸，特别优选在 ± 1 范围内的氨基酸，更优选 ± 0.5 范围内的氨基

酸。人们还可以根据亲水性从一级氨基酸序列上确定表位。所述区域又被称作“表位核心区”。

本领域技术人员可以用众所周知的技术确定在上述序列中所提供的多肽的合适的变体。为了确定所述分子的可以改变而又不破坏活性的合适部位，本领域技术人员可以针对被认为是对活性不重要的区进行。例如，当来自相同物种或来自其他物种的具有相似活性的相似的多肽是已知的时，本领域技术人员可以将一种肽的氨基酸序列与类似肽的序列进行比较。通过这种比较，人们可以确定在类似多肽之间保守的所述分子的残基和部分。还可以理解的是，在一种肽的相对所述类似肽而言不保守的部位上进行的改变，不大可能对所述肽的活性和/或结构造成负面影响。本领域技术人员还可以理解的是，即使是在相对保守的区域，人们也可以用化学上类似的氨基酸取代天然存在的氨基酸，同时又保留了其活性（保守性氨基酸残基取代）。因此，即使是对生物学活性或结构重要的部位也可以进行保守性氨基酸取代，而又不破坏其生物学活性或不会对所述肽的结构产生负面影响。

另外，本领域技术人员可以进行结构-功能研究，以便确定类似肽上的对活性或结构重要的残基。就所述比较而言，人们可以预测一种肽上的氨基酸残基的重要性，所述残基相当于对类似肽的活性或结构重要的氨基酸残基。本领域技术人员可以用化学上类似的氨基酸取代所述肽的推测的重要氨基酸残基。

人们还可以相对类似多肽的结构，分析三维结构和氨基酸序列。根据所述信息，本领域技术人员可以推测一种肽的氨基酸残基相对其三维结构的排列。本领域技术人员可以选择不对推测存在于所述蛋白表面上的氨基酸残基进行基团改变，因为所述残基可能参与和其他分子的重要的相互作用。另外，本领域技术人员可以制备在每一个需要的氨基酸残基上包括单一的氨基酸取代的测验变体。然后，可以用本领域技术人员所公知的活性测定方法筛选所述变体。可以利用所述数据收集有关合适变体的信息。例如，如果人们发现对一个特定氨基酸残基的取代会导致受到破坏的、不希望的减弱的或不合适的活性的话，具有这种取代的变体就应当避免。换句话说，根据从所述常规实验所收集到信息，本领域技术人员可以方便地确定应当避免单独的或

与其他突变组合的进一步取代的氨基酸。

大量的科技文献业已披露了对二级结构的预测。参见 Moulton J., Curr.Op. in Biotech., 7 (4): 422-427 (1996), Chou 等, Biochemistry, 13 (2): 222-245 (1974); Chou 等, Biochemistry, 113 (2): 211-222 (1974); Chou 等, Adv.Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol., 47: 45-148 (1978); Chou 等, Ann. Rev. Biochem., 47: 251-276 和 Chou 等, Biophys. J., 26: 367-384 (1979)。另外, 目前可以获得用于协助预测二级结构的计算机程序。预测二级结构的一种方法是基于同源性模拟。例如, 具有超过 30%的序列相同性, 或超过 40%的相似性的两种多肽或蛋白通常具有类似的结构拓扑关系。蛋白结构数据库(PDB)的最近的增长, 业已提供了增强了的二级结构的可预测性, 包括在一种多肽或蛋白结构内的折叠的潜在数量。参见 Holm 等, Nucl.Acids. Res., 27(1): 244-247 (1999)。有人业已提出 (Brenner 等 Curr. Opin. Struct. Biol., 7 (3): 369-376 (1997)), 在特定多肽或蛋白内存在有限数量的折叠, 并且一旦分析了关键数量的结构, 结构预测将获得极高的精确性。

预测二级结构的其他方法包括 “threading” (Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol., 7 (3): 377-87 (1997); Sippl 等, Structure, 4(1): 15-9 (1996)), “分布分析” (Bowie 等, Science, 253: 164-170 (1991); Gribskov 等, Meth. Enzym., 183: 146-159 (1990); Gribskov 等, Proc. Nat. Acad.Sci., 84 (13): 4355-8(1987)), 和 “进化连锁” (参见 Home, 同上, 和 Brenner, 同上)。

媒介物。本发明需要通过 N-末端、C-末端或一个氨基酸残基的侧链与一种肽连接的至少一个媒介物(V^1)的存在。还可以使用多个媒介物, 例如, 位于每一个末端的 Fc's, 或位于一个末端的 Fc 或位于另一个末端或侧链上的 PEG 基团。典型的媒介物包括:

- 一个 Fc 结构域;
- 能够与挽救受体结合的其他蛋白、多肽、或肽;
- 人血清白蛋白(HSA);
- 亮氨酸拉链(LZ)结构域;
- 聚乙二醇(PEG), 包括 5 kD, 20 kD, 和 30 kD PEG, 以及其他聚合物;

· 葡聚糖;

以及本领域已知的其他分子, 以便提供延长了的半衰期和/或对蛋白水解降解作用或清除作用的保护作用。

优选的媒介物是 Fc 结构域。所述 Fc 结构域可以与所述肽的 N 或 C 末端或同时与 N 和 C 末端融合。优选与 N 末端融合。

正如上文所提到的, 在本发明范围内, Fc 变体是合适的媒介物。可以对天然 Fc 进行深入修饰, 以便形成本发明的 Fc 变体, 其前提是保留了与挽救受体的结合。例如, 参见 WO97/34631 和 WO 96/32478。在所述 Fc 变体中, 人们可以去掉天然 Fc 的一个或多个位点, 这些位点所提供的结构特征或功能活性是本发明的融合分子所不需要的。例如, 人们还可以通过取代或缺失残基, 将残基插入所述位点, 或截短含有所述位点的部分除去所述位点。所述插入或取代的残基还可以是改变了的氨基酸, 例如肽模拟物或 D-氨基酸。因为多种原因, 需要 Fc 变体, 其中的某些原因将在下面披露。典型的 Fc 变体包括这样的分子和序列, 其中:

1. 消除了参与二硫键形成的位点。所述位点的消除可以避免与存在于被用来生产本发明分子的宿主细胞中的其他含有半胱氨酸的蛋白的反应。为此, 位于 N-末端的含有半胱氨酸的片段可以截短或可以将半胱氨酸残基缺失或用其他氨基酸 (例如丙氨酰、丝氨酰) 取代。具体地讲, 人们可以截去 SEQ ID NO: 2 的 N-末端 20 个氨基酸的片段或缺失或取代位于 SEQ ID NO: 2 的 7 和 10 号位置上的半胱氨酸残基。即使是消除了半胱氨酸残基, 单链 Fc 结构域仍然能形成非共价结合在一起的双体 Fc 结构域。

2. 对天然 Fc 进行修饰, 以便使它与特定宿主细胞的兼容性提高。例如, 人们可以消除靠近典型的天然 Fc 的 N-末端的 PA 序列, 该序列可以被大肠杆菌中的消化酶, 如脯氨酸亚氨基肽酶识别。人们还可以增加一个 N-末端甲硫氨酸残基, 特别是当所述分子是在诸如大肠杆菌的细菌细胞中重组表达时。SEQ ID NO: 2 的 Fc 结构域就是这样一种 Fc 变体。

3. 去掉天然 Fc 的 N-末端的一部分, 以便避免在特定宿主细胞中表达时 N-末端的不一致性。为此, 人们可以去掉位于 N-末端的前 20 个

氨基酸残基中的任一个，特别是1，2，3，4和5号位置上的氨基酸残基。

4.去掉一个或多个糖基化位点。通常被糖基化的残基（例如天冬酰胺）可以赋予细胞裂解反应。可以去掉所述残基，或者用非糖基化残基（例如丙氨酸）取代。

5.去掉参与和补体的相互作用的位点，如C1q结合位点。例如，人们可以去掉或取代人IgG1的EKK序列。对于本发明的分子来说，补体恢复可能不是有利的，因此，可以避免这种Fc变体。

6.去掉影响与除了挽救受体以外的Fc受体结合的位点。天然Fc可能具有与某些白血细胞相互作用的位点，这些位点对本发明的融合分子来说是不需要的，因此可能去掉。

7.去掉了ADCC位点。ADCC位点是本领域所公知的。例如，有关IgG1的ADCC位点参见Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992)。这些位点同样是本发明的融合分子所不需要的，因此可以去掉。

8.当天然Fc源于非人抗体时，所述天然Fc可以是人源化的。通常，为了将天然Fc人源化，人们可以用正常情况下存在于人类天然Fc上的残基取代非人天然Fc上的特定残基。用于抗体人源化的技术为本领域所熟知。

优选的Fc变体包括以下变体。在SEQ ID NO: 2 (图3)中，15号位置上的亮氨酸可以用谷氨酸取代；99号位置上的谷氨酸可以用丙氨酸取代；而101和103号位置上的赖氨酸可以用丙氨酸取代。另外，一个或多个酪氨酸残基可以用苯丙氨酸残基取代。

其他媒介物可以是能够与挽救受体结合的蛋白、多肽、肽、抗体、抗体片段、或小分子（例如，肽模拟化合物）。例如，人们可以将披露于以下美国专利中的多肽用作媒介物：美国专利5,739,277，于1998年4月14日授予Presta等。还可以通过噬菌体展示或对与FcRn挽救受体的结合的RNA-肽筛选选择肽。所述挽救受体-结合化合物也包括在“媒介物”的含义范围内，并且属于本发明的范围。可以筛选所述媒介物的延长了的半衰期（例如，通过避免由蛋白酶识别的序列）和降低了的免疫原性（通过有利于非免疫原性的序列，如在抗体人源化中所发现的）。

正如上文所指出的,还可将聚合物媒介物用于 V^1 。用于连接被用作媒介物的化学部分的各种方法目前都可以获得,例如,参见专利合作条约(PCT)国际公开号 WO 96/11953,题为“N-末端化学修饰的蛋白组合物和方法”,以它的全文形式引入本文作为参考。在该 PCT 公开文本中披露了水溶性聚合物与蛋白 N-末端的选择性连接。

一种优选的聚合物媒介物是聚乙二醇(PEG)。PEG 基团可以具有任何常见的分子量,并且可以是线性的或分支的。PEG 的平均分子量优选在大约 2 千道尔顿("kD")-大约 100 kD,更优选大约 5 kD-大约 50 kD,最优选大约 5 kD-大约 10kD。通过可以通过乙酰化或还原性烷基化连接在本发明的化合物上,通过 PEG 部分上的活性基团(例如,醛基、氨基、硫醇基、或酯基)连接在本发明化合物的活性基团上(例如,醛基、氨基、或酯基)。

用于合成肽的 PEG 化的有用方法,包括通过在溶液中形成缀合键结合一个肽和一个 PEG 部分,它们各自具有能彼此相互起反应的特殊的官能团。所述肽可以通过常规固相合成方便地制备。通过位于特定位点上的一个合适的官能团将所述肽“预活化”在与所述 PEG 部分反应之前,对所述前体进行纯化和全面表征。所述肽与 PEG 的连接通常是在水相中进行的,并且可以通过反相分析 HPLC 方便地监测。可以通过制备 HPLC,方便地纯化 PEG 化的肽,并且通过分析 HPLC、氨基酸顺序和激光解吸质谱分析表征。

多糖聚合物是可用于蛋白修饰的另一种类型的水溶性聚合物。葡聚糖是由主要通过 α 1-6 连键连接的单个葡萄糖亚基组成的多糖聚合物。葡聚糖本身能够以多种分子量存在,并且可以方便地获得大约 1 kD-大约 70 kD 的分子量。葡聚糖是可以单独作为媒介物或与另一种媒介物(例如 Fc)组合用于本发明中的合适的水溶性聚合物,例如,参见 WO 96/11953 和 WO 96/05309。业已报道了与治疗性或诊断免疫球蛋白缀合的葡聚糖。例如,参见欧洲专利公开号 0 315 456,该专利以其全文形式引入本文作为参考。当葡聚糖被用作本发明的媒介物时,优选大约 1 kD-大约 20 kD 的葡聚糖。

接头。可以选择任何“接头”基团。在存在接头时,其化学结构并不重要,因为它主要起着间隔基团的作用。所述接头优选是由通过

肽键连接在一起的氨基酸形成。因此，在优选实施方案中，所述接头是由通过肽键连接的 1-30 个氨基酸组成，其中，所述氨基酸是从 20 种天然存在的氨基酸中选择的。正如本领域技术人员所了解的，其中的某些氨基酸可以是糖基化的。在一种更优选的实施方案中，所述 1-20 个氨基酸是从甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、和赖氨酸中筛选的。更优选的是，主要由空间上非位阻的氨基酸，如甘氨酸和丙氨酸组成的接头。因此，优选的接头是与甘氨酸（特别是(Gly)₄，(Gly)₅），聚(Gly-Ala)，和聚丙氨酸。接头的其他特定例子有：

(Gly)₃Lys(Gly)₄, (SEQ ID NO: 40);

(Gly)₃AsnGlySer (Gly)₂ (SEQ ID NO: 41);

(Gly)₃Cys(Gly)₄ (SEQ ID NO: 42); 和

GlyProAsnGlyGly (SEQ ID NO: 43)。

为了解释上述命名方法，例如，(Gly)₃Lys(Gly)₄ 表示 Gly-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 40)。Gly 和 Ala 的组合同样是优选的。这里所提供的接头是举例性的；本发明范围内的接头可以更长，并且可以包括其他残基。

优选的接头是包括超过 5 个氨基酸的氨基酸接头，合适的接头具有高达大约 500 个选自甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、苏氨酸、苏氨酸或天冬氨酸的氨基酸。最优选的是大约 20-50 个氨基酸的接头。一类优选的接头是具有以下结构式的接头

GS GSATGGSGSTASSGSGSATx¹x²

(SEQ ID NO: 193)

和

GS GSATGGSGSTASSGSGSATx¹x²GS GSATGGSGSTASSGSGSATx³x⁴

(SEQ ID NO: 194)

其中，x¹和 x³ 分别是碱性和疏水性残基，而 x²和 x⁴ 分别是疏水性残基。特别优选的接头是：

GS GSATGGSGSTASSGSGSATHM

(SEQ ID NO: 59)

GS GSATGGSGSTASSGSGSATGM

(SEQ ID NO: 190)

GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS

(SEQ ID NO: 191), 和

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM

(SEQ ID NO: 192)。

非肽接头也是可行的。例如, 可以使用烷基接头, 如-NH-(CH₂)_s-C(O)-, 其中 s =2-20。所述烷基接头还可以通过诸如低级烷基(例如 C₁-C₆) 低级酰基, 卤基(例如, Cl, Br), CN, NH₂, 苯基等的非空间位阻基团所取代。一种代表性的非肽接头是 PEG 接头,

VII

(原文 39 页结构式)

其中, n 是这样的, 它使得该接头的分子量为 100 -5000 kD, 优选 100 -500 kD。还可以改变所述肽接头, 以便形成与上文所述相同形式的衍生物。

衍生物

本发明人还披露了所述化合物的肽和/或媒介物部分的衍生化。所述衍生物可以提高所述化合物的溶解度、吸收性、生物学半衰期等。所述部分还可以消除或减弱所述化合物的任何不希望的副作用等。代表性衍生物包括以下化合物, 其中:

1.所述化合物或它的某些部分是环状的, 例如, 可以将所述肽部分修饰成包括两个或两个以上包括 Cys 残基(例如在所述接头上), 它可以通过形成二硫键而环化。

2.将所述化合物交联或者使得它能够在分子间交联。例如, 可以将所述肽部分修饰成包括一个 Cys 残基, 并且因此能够与一种类似分子形成分子间二硫键。所述化合物还可以通过其 C-末端交联, 如下面的分子所示。

VIII

(原文 40 页结构式)

在结构式 VIII 中, 每一个“V¹”通常可以表示 Fc 结构域的一条链。

3. 一个或多个肽[-C(O)NR-]连键(键)被非肽键所取代。典型的非肽键是-CH₂-氨甲酸[-CH₂-OC(O)NR-], 磷酸根, -CH₂-磺酰胺[-CH₂-S(O)₂NR-], 脲[-NHC(O)NH-], -CH₂-仲胺, 和烷基化肽 [-C(O)NR⁶- 其中, R⁶ 是低级烷基]。

4. N-末端是衍生化的。通常, N-末端可以酰化或者修饰成取代胺。典型的 N-末端衍生基团包括-NRR¹ (而不是 NH₂), -NRC(O)R¹, -NRC(O)OR¹, -NRS(O)₂R¹, -NHC(O)NHR¹, 琥珀酰亚胺, 或苄氧基羰基-NH-(CBZ-NH-), 其中 R 和 R¹ 分别是氢或低级烷基, 并且, 其中, 所述苯环可以用 1-3 个选自 C₁-C₄ 烷基, C₁-C₄ 烷氧基, 氯和溴的取代基取代。

5. 游离的 C-末端是衍生化的。通常, C-末端是酯化或酰胺化的。举例来说, 典型的 C-末端衍生基团包括-C(O)R², 其中, R² 是低级烷氧基, 或-NR³R⁴, 其中 R³ 和 R⁴ 分别是氢或 C¹-C⁸ 烷基 (C¹-C⁴ 烷基)。

6. 二硫键被另一种键, 优选更稳定的交联部分(例如亚烷基)所取代。例如, 参见 Bhatnagar 等(1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9; Alberts 等 (1993) Thirteenth Am.Pep. Symp., 357-9。

7. 一种或多个独立的氨基酸残基是修饰过的。正如在下面详细披露的, 已知各种衍生剂能够与各种特定的侧链或末端残基专一性起反应。

赖氨酰残基和氨基末端残基可以与琥珀酸或其他羧酸酐起反应, 它能颠倒赖氨酰残基的电荷。适合衍生含有 α 氨基的残基的其他合适的试剂包括亚胺基酯, 如甲基吡啶亚胺; 磷酸吡多醛; 吡多醛; 氯溴氢酸; 三硝基苯磺酸; O-甲基异脲; 2, 4-戊二酮; 和转氨酶催化的与乙醛酸的反应。

精氨酰残基可以通过与任一种常规试剂或若干种常规试剂的组合起反应进行修饰, 所述试剂包括苯基吡多醛, 2, 3-丁二酮, 1, 2-环己二酮, 和茚三酮。精氨酰残基的衍生化, 需要该反应在碱性条件下进行, 因为胍官能团具有高的 pKa。另外, 所述试剂还可以与赖氨酸的基

团和精氨酸的 ϵ -氨基起反应。

业已对酪氨酸残基的特殊修饰进行过深入研究，特别感兴趣的是通过与芳族重氮化合物或四硝基甲烷起反应将光谱标记导入酪氨酸残基。最常见的是，利用 N-乙酰咪唑和四硝基甲烷分别形成 o-乙酰酪氨酸类和 3-硝基衍生物。

可以通过与碳二亚胺 ($R'-N=C=N-R'$) 起反应，选择性地修饰羧基侧链基团 (天冬氨酸和谷氨酸)，如 1-环己基-3-(2-咪唑基-(4-乙基)碳二亚胺或 1-乙基-3-(4-氮杂-4, 4-二甲基戊基)碳二亚胺。另外，可以通过与铵离子起反应，将天冬氨酸和谷氨酸残基转化成天冬酰胺和谷氨酰胺残基。

可以对谷氨酰胺和天冬酰胺残基进行脱酰胺化，形成相应的谷氨酸和天冬氨酸残基，另外，所述残基是在温和的酸性条件下脱酰胺化的。所述残基的任一种形式都属于本发明的范围。

半胱氨酸残基可以被氨基酸残基或其他部分所取代，以便消除二硫键，或者相反，使交联稳定。例如，参见 Bhatnagar 等(1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9。

通过双功能试剂的衍生化，可用于将肽或它们的功能衍生物交联在水不溶性支持基质上或交联在其他大分子媒介物上。常用的交联剂包括，例如，1, 2-二(重氮乙酰)-2-苯基乙烷，戊二醛，N-羧基琥珀酰亚胺酯，例如，与 4-重氮水杨酸形成的酯，高双功能亚胺酸酯，包括二琥珀酰亚胺酯，包括 3, 3'-二硫二(琥珀酰亚胺丙酸)，和双功能马来酰胺，如 2-N-马来酰-1, 8-辛烷。诸如甲基-3-[(p-重氮苯基)二硫]丙酸亚胺酸酯的衍生剂能产生可以光活化的中间物，所述中间物能够在存在光线的条件下形成交联键。另外，将披露于美国专利 3, 969, 287; 3, 691, 016; 4, 195, 128; 4, 247, 642; 4, 229, 537; 和 4, 330, 440 中的诸如氰溴酸活化的碳水化合物和活性底物的活性水不溶性基质用于蛋白固定化。

可以将碳水化合物(寡糖)基团方便地连接在蛋白上的已知是糖基化位点的位点上。一般，当它们是 Asn-X-Ser/Thr 序列的一部分时，o-连接的寡糖连接在丝氨酸(Ser)或苏氨酸(Thr)残基上，而 N-连接的寡糖连接在天冬酰胺(Asn)残基上，其中，X 可以是除了脯氨酸以外的任

何氨基酸。X 是除了脯氨酸以外的 19 种天然存在的氨基酸中的一种。出现在每一种类型中的 N-连接的和 O-连接的寡糖和糖残基的结构是不同的。通常在两种类型上常见的一类糖是 N-乙酰神经氨酸（被称为唾液酸）。唾液酸通常是 N-连接的和 O-连接的寡糖的末端残基，并且通过它的负电荷，可赋予所述糖基化化合物酸性特性。所述位点可以整合到本发明化合物的接头上，并且优选是在所述多肽化合物的重组生产期间由细胞糖基化的（例如，在哺乳动物细胞内，如 CHO, BHK, COS）。不过，所述位点还可以通过本领域已知的合成或半合成方法糖基化。

其他可行的修饰包括脯氨酸和赖氨酸的羟基化，丝氨酰和苏氨酰残基的羟基基团的磷酸化，Cys 中的硫原子的氧化，赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的 α 氨基的甲基化。Creighton, *Proteins: Structure and Molecule Properties* (W. H. Freeman & Co., San Francisco), pp. 79-86(1983)。

本发明的化合物还可以在 DNA 水平上改变。所述化合物的任何部分的 DNA 序列都可以改变成与所选择的宿主细胞更兼容的密码子。对于大肠杆菌（它是优选的宿主细胞）来说，优化密码子在本领域是公知的。可以取代密码子，以便消除限制位点或包括沉默的限制位点，这将有助于在特定的宿主细胞中加工所述 DNA。可以将所述媒介物、接头和肽 DNA 序列修饰成包括上述任何序列变化。

生产方法

本发明的化合物在很大程度上可以通过重组 DNA 技术在转化过的宿主细胞中生产。为此，制备了编码所述肽的重组 DNA 分子。制备所述 DNA 分子的方法为本领域所熟知。例如，可以利用合适的限制酶将编码所述肽的序列从 DNA 上切除。另外，可以通过化学合成技术合成所述 DNA 分子，如氨基磷酸盐方法。另外，还可以使用所述技术的组合。

本发明还包括能够在合适的宿主中表达所述肽的载体。所述载体包括可操作地与合适的表达控制序列连接的编码所述肽的 DNA 分子。将该操作连接插入所述载体的 DNA 分子之前或之后的方法是众所周知的。表达控制序列包括启动子、激活子、操纵子、核糖体结合位点、

起始信号、终止信号、加帽信号、聚腺苷酸化信号、和其他与转录或翻译控制相关的其他信号。

将所得到的在它上面具有所述 DNA 分子的载体用于转化合适的宿主。该转化可以通过本领域众所周知的方法进行。

大量现有的和众所周知的宿主细胞中的任一种，都可用于实施本发明。特定宿主的选择取决于本领域所认可的多种因素。其中包括，例如，与所选择的表达载体的兼容性，由所述 DNA 分子所编码的肽的毒性，转化速度，肽回收的难易程度，表达特征，生物安全性和成本。所述因素的平衡必须符合以下理解，即并非所有的宿主在表达特定 DNA 序列时都同样有效。在这种一般性指导下，有用的微生物宿主包括细菌（如大肠杆菌），酵母（如酵母菌）和其他培养中的真菌，昆虫，植物，哺乳动物（包括人类）细胞，或本领域已知的其他宿主。

然后，培养并且纯化转化过的宿主，宿主细胞可以在常规发酵条件下培养，以便表达所需要的化合物。所述发酵条件是本领域所熟知的。最后，通过本领域所熟知的方法从培养物中纯化所述肽。

所述化合物还可以通过合成方法形成。例如，可以使用固相合成技术。合适的技术为本领域所熟知，并且包括披露于以下文献中的技术：Merrifield (1973), *Chem. Polypeptides*, pp. 335-61 (Katsoyannis 和 Panayotis eds.); Merrifield (1963), *I. Am. Chem. Soc.* 85 : 2149; Davis 等(1985), *Biochem. Intl.* 10: 394-414; Stewart 和 Young (1969), *Solid Phase Peptide Synthesis* ; 美国专利 3, 941, 763; Finn 等(1976), *The Proteins* (3rd ed.) 2: 105-253; 和 Erickson 等(1976), *The Proteins* (3rd ed.) 2: 257-527。固相合成是生产单一肽的优选技术，因为它是生产小型肽的最经济的方法。

可以通过众所周知的有机化学技术合成含有衍生化的肽或含有非肽基团的化合物。

化合物的用途

本发明的化合物特别适用于治疗 B-细胞介导的自身免疫病。具体地讲，本发明的化合物可用于治疗、预防、缓解、诊断或预测狼疮，包括系统性红斑狼疮（SLE），和狼疮相关的疾病和症状。其他优选的疾病包括 B-细胞介导的癌症，包括 B-细胞淋巴瘤。

本发明的化合物还可用于治疗关节的炎性症状。关节的炎性症状包括能以不同程度使世界范围内的数百万人痛苦和致残的慢性关节疾病。类风湿关节炎是一种关节疾病，其中，软骨和骨骼被称为血管翳的增殖的、侵入性结缔组织缓慢侵蚀，所述组织来自关节滑液膜。所述疾病可能涉及外周关节疾病，如滑囊，腱鞘和腱，以及关节外组织，如皮下组织，心血管系统，肺，脾，淋巴结，骨骼肌，神经系统（中枢和外周神经）和眼睛(Silberberg (1985), Anderson's Pathology, Kissane (ed.), 11:1828)。骨关节炎是一种常见的关节疾病，其特征是关节软骨的退化改变和关节周围的骨头和软骨的活跃增殖。骨关节炎是一种细胞介导的活性过程，它有可能是因为软骨细胞对代谢和合成刺激作出的不适当的反应所导致的。据报导，关节软骨的某些基质分子的变化出现在早期骨关节炎中(Thonar 等(1993), Rheumatic disease clinics of North America, Moskowitz (ed.), 19: 635-657 和 Shinmei 等 (1992), Arthritis Rheum., 35: 1304-1308)。TALL-1, TALL-1R 和它的调节剂被认为可用于治疗所述症状和相关的症状。

本发明的化合物还可用于治疗多种其他疾病和失调，包括：

- 急性胰腺炎；
- ALS；
- Alzheimer's 病
- 哮喘
- 动脉硬化；
- 自身免疫溶血性贫血；
- 癌症，特别是与 B 细胞相关的癌症；
- 恶病质/厌食；
- 慢性疲劳综合症；
- 硬变（例如，原发性胆汁肝硬变）
- 糖尿病（例如，胰岛素糖尿病）；
- 发热；
- 肾小球肾炎，包括 IgA 肾小球肾炎和原发性肾小球肾炎；
- Goodpasture's 综合症；
- Guillain-Barre 综合症；

- 移植物抗宿主病;
- Hashimoto's 甲状腺炎;
- 出血性休克;
- 痛觉过敏;
- 炎性肠炎;
- 关节的炎性症状, 包括骨关节炎, 牛皮癣关节炎和类风湿关节炎;
- 由拉伤, 扭伤, 软骨损伤, 创伤, 整形手术, 感染或其他病变过程导致的炎性症状;
- 胰岛素依赖型糖尿病;
- 缺血性损伤, 包括大脑缺血 (例如, 由创伤、癫痫、出血或中风所导致的大脑损伤, 上述每一种疾病都可能导致神经变性);
- 认知障碍;
- 肺病 (例如, ARDS);
- 多发性骨髓瘤;
- 多发性硬化;
- 重症肌无力;
- 骨髓性 (例如, AML 和 CML) 和其他白血病;
- 肌病 (例如, 肌肉蛋白代谢, 特别是败血症);
- 神经毒性 (例如, 通过 HIV 诱导的神经毒性);
- 骨质疏松;
- 疼痛;
- 帕金森病;
- 天疱疮;
- 多发性肌炎/皮肤肌炎;
- 肺炎, 包括自身免疫肺炎;
- pre-term labor;
- 牛皮癣
- Reiter's 病
- reperfusion 损伤;
- 脓毒性休克;

- 由放射治疗产生的副作用;
- Sjogren's 综合症;
- 睡眠紊乱;
- 临时性下颌骨关节病;
- 血小板减少症, 包括特发性血小板减少症和自身免疫新生儿血小板减少症;
- 肿瘤转移;
- 眼色素层炎; 和
- 脉管炎。

本发明的化合物可以单独服用, 或者与治疗有效量的其他药物组合服用, 包括止痛剂, 疾病修饰抗风湿病药物(DMARDs), 非甾醇抗炎性药物(NSAIDs), 和任何免疫和/或炎症调节剂。因此, 本发明的化合物还可以与以下药物一起服用;

- TNF/TNF 受体家族其他成员的调节剂, 包括 TNF 拮抗剂, 如 etanercept (Enbrel™), sTNF-RI, onercept, D2E7, 和 Remicade™。
- 神经生长因子(NGF)调节剂。
- IL-1 抑制剂, 包括 IL-1ra 分子, 如 anakinra 和最近发现的 IL-1ra-样分子, 如 IL-1Hyl 和 IL-1Hy2; 披露于 1998 年 12 月 1 日授权的美国专利 5, 844, 099 中的 IL-1 IL-1 “trap”; IL-1 抗体, 溶解的 IL-1 受体等。
- IL-6 抑制剂 (例如, IL-6 的抗体)。
- IL-8 抑制剂 (例如, IL-8 的抗体)。
- IL-18 抑制剂 (例如, IL-18 结合蛋白, 溶解的 IL-18 受体, 或 IL-18 抗体。
- 白介素-1 转化酶 (ICE) 调节剂。
- 胰岛素样生长因子 (IGF-1, IGF-2) 和它的调节剂。
- 转化生长因子- β (TGF- β), TGF- β 家族成员, 和 TGF- β 调节剂。
- 成纤维细胞生长因子 FGF-1-FGF-10, 和 FGF 调节剂。
- Osteoprotegerin (OPG), OPG 类似物, 骨保护剂, 和 OPG 配体的抗体(OPG-L)。
- 骨合成剂, 如甲状旁腺素(PTH), PTH 片段, 和结合了 PTH 片

段的分子（例如，PTH (1-34)-Fc）。

- PAF 拮抗剂。
- 角质形成细胞生长因子（KGF），KGF-相关分子（例如 KGF-2），和 KGF 调节剂。
- COX-2 抑制剂，如 Celebrex™和 Vioxx™。
- 前列腺素类似物（例如，E 系列前列腺素）。
- 基质金属蛋白酶(MMP)调节剂。
- 氧化氮合成酶(NOS)调节剂，包括诱导型 NOS 的调节剂。
- 糖皮质激素受体的调节剂。
- 谷氨酸受体的调节剂。
- 脂多糖(LPS)含量的调节剂。
- 抗癌制剂，包括致癌基因（例如，fos, jun）的抑制剂和干扰素。
- 去甲肾上腺素和它的调节剂和模拟物。

药用组合物

一般说明。本发明还提供了使用本发明化合物的药用组合物的方法。所述药用组合物可以注射服用，或口服，经肺、鼻腔、经皮服用，或以其他形式服用。一般，本发明包括含有有效数量的本发明化合物的药用组合物，同时还含有可以药用的稀释剂，防腐剂，稳定剂，乳化剂，佐剂和/或载体。所述组合物包括各种缓冲成分的稀释剂（例如，Tris-HCl，乙酸，磷酸），pH 和离子强度；添加剂，如洗涤剂 and 稳定剂（例如，Tween 80，Polysorbate 80），抗氧化剂（例如，抗坏血酸，偏亚硫酸氢钠），防腐剂（例如，Thimersol，苄醇）和填充物质（例如，乳糖，甘露糖醇）；将所述材料结合到诸如聚乳酸，聚乙醇酸的聚合物的颗粒状制剂中的材料，或结合到脂质体。还可以使用透明质酸，并且这种材料具有改善在循环系统中的持续时间的的作用。所述组合物可以影响本发明蛋白和衍生物的物理状态，稳定性，体内释放速度和体内清除速度。例如，参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA18042) pages 1435-1712, 该文献被以全文形式引入本文作为参考。所述组合物可以以液体形式制备，或者以干燥粉末形式制备，如冷冻干燥形式。置入式缓释制剂也是可行的，如经皮制剂。

口服剂型。本发明涉及口服固体剂型，这种剂型一般披露于 Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), 18th Ed., Mack Publishing Co. Easton PA18042 的第 89 章，该文献以全文形式引入本文作为参考。固定剂型包括片剂、胶囊、丸剂、药片或锭剂、扁胶囊或小药丸。还可将脂质体或蛋白类胶囊用于制备本发明组合物（例如，在美国专利 4, 925, 673 中所报导的蛋白类微球）。还可以使用脂质体胶囊化，并且可以用各种聚合物对脂质体进行衍生化（例如美国专利 5, 013, 556）。在以下文献的第 10 章披露了用于治疗的可行的固体剂型：Marshall, K., Modern Pharmaceutics (1979), edited by G. S. Banker and C.T. Rhodes, 第 10 章，该文献被以全文形式引入本文作为参考。一般，所述制剂可以包括本发明的化合物，和惰性成分，这些惰性成分可以对抗肠胃环境，并且在小肠中释放生物学活性材料。

另外，还具体涉及上述本发明化合物的口服剂型。如果必要的话，可以对所述化合物进行化学修饰，以便口服输送更为有效。一般，所涉及到的化学修饰是将至少一种成分连接在化合物分子本身上，其中，所述部分可以(a)抑制蛋白水解作用；和(b)从胃或小肠中吸收到血液中。另外还希望所述化合物的总体稳定性提高，以及在体内的循环时间延长。可用作本发明的共价连接媒介物的部分也可用于这一目的。所述分子的例子包括：PEG，乙二醇和丙二醇的共聚物，羧甲基纤维素，葡聚糖，聚乙烯基醇，聚乙烯吡咯烷酮和聚脯氨酸。例如，参见 Abuchowski 和 Davis, Soluble Polymer-Enzyme Adducts, Enzymes as Drugs (1981), Hoenberg 和 Roberts, eds., Wiley-Interscience, New York, NY, pp. 36783; Newmark, 等(1982), J. Appl. Biochem. 4: 185-9。可以使用的其他聚合物是聚-1, 3-环氧戊烷和聚 1, 3, 6-tioxocane。如上文所述的优选的药物药用用途是 PEG 成分。

对于口服输送剂型来说，还可以使用修饰过的脂族氨基酸的盐，如 N-(8-[2-羟基苄基]氨基)辛酸钠(SNAC)，作为一种载体以便增强本发明治疗性化合物的吸收。业已在通过 Emisphere Technologies 进行的 II 期实验中，证实了使用 SNAC 的肝素制剂的临床效力。参见美国专利 5, 792, 451, “口服药物输送组合物和方法”。

本发明的化合物可以作为粒度为大约 1 毫米的颗粒小团形式的细

的多颗粒添加在所述制剂中。用于胶囊服用的所述材料的制剂还可以作为粉末、略微压缩的栓剂，甚至是作为片剂。所述治疗剂可以通过压缩制备。

还可以添加着色剂和香味剂。例如，可以制备所述蛋白（或衍生物）（如通过脂质体或小球胶囊），然后，进一步包含在食品中，如含有着色剂和香味剂的冰镇饮料。

人们可以用一种惰性材料稀释或增加本发明化合物的体积。所述稀释剂可以包括碳水化合物，特别是甘露糖醇， α -乳糖，无水乳糖，纤维素，蔗糖，改性葡聚糖和淀粉。某些无机盐也可用作填充材料，包括三磷酸钙，碳酸镁和氯化钠。某些可以从商业渠道获得的稀释剂包括 Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress 和 Avicell。

在所述治疗剂的制剂中还可以添加分散剂，以便制成固体剂型。用作分散剂的材料包括，但不局限于淀粉，包括基于淀粉的商业化分散剂，Explotab。淀粉乙醇酸钠，Amberlite，羧甲基纤维素钠，超级支链淀粉，藻酸钠，明胶，橙皮，酸性羧甲基纤维素，天然海绵和膨润土都可以使用。另一种形式的分散剂是不溶性阳离子交换树脂。粉末状的树胶可以用作分散剂以及用作粘接剂，并且所述树胶可以包括粉状树胶，如琼脂，Karaya 或黄耆胶。

可以使用粘接剂将所述治疗剂保持在一起，以便形成硬的片剂，并且包括来自天然产品的材料，如合欢胶，黄耆胶，淀粉和明胶。其他材料包括甲基纤维素(MC)，乙基纤维素(EC)和羧甲基纤维素(CMC)。聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和羟丙基甲基纤维素(HPMC)都可用于醇溶液中，以便使所述治疗剂颗粒化。

在所述治疗剂的配方中还可以添加抗摩擦剂，以便防止在制备过程发生粘连。可以将润滑剂用作治疗剂和模具壁之间的一个层，所述润滑剂可以包括，但不局限于硬脂酸，包括它的镁和钙盐，聚四氟乙烯(PTFE)，液体石蜡，植物油和蜡。还可以使用可溶性润滑剂，如十二烷基硫酸钠，十二烷基硫酸镁，各种分子量的聚乙二醇，Carbowax 4000 和 6000。

可以添加能够在制备期间改善药物的流动特性，并且在压缩期间有助于重新排列的滑动剂。所述滑动剂包括淀粉、滑石、火成硅和水

合硅铝酸盐。

为了帮助将本发明的化合物溶解在含水环境中，可以作为湿润剂添加表面活性剂。表面活性剂可以包括阴离子洗涤剂，如十二烷基硫酸钠，二辛基硫代琥珀酸钠，和二辛基磺酸钠。可以使用阳离子洗涤剂，并且包括 benzalkonium chloride 或 benzethonium chloride。在所述制剂中可以作为表面活性剂使用的阴离子洗涤剂包括 lauromacrogol 400, polyoxyl 40 硬脂酸，聚环氧乙烷氢化蓖麻油 10, 50 和 60, 硬脂酸单甘油酯，polysorbate 40, 60, 65 和 80, 蔗糖脂肪酸酯，甲基纤维素和羧甲基纤维素。所述表面活性剂可以单独或作为不同比例的混合物存在于所述蛋白或衍生物的制剂中。

在所述制剂中还可以添加增强所述化合物吸收的添加剂。例如，可能具有这种特性的添加剂有脂肪酸油酸，亚油酸和亚麻酸。

可能需要控制释放制剂。可以将本发明的化合物结合在惰性基质。该基质可以通过扩散或浸泡机制释放；例如，树胶。还可以将缓慢降解的基质整合在所述制剂中，例如，藻酸，多糖。本发明化合物的另一种形式的控制释放是一种基于 Oros 治疗系统的方法(Alza Corp.)，即，将所述药物包在半透膜中，由于渗透作用，这种膜使得水能够进入并且通过单一的小孔将药物从里面推出。某些肠包衣也具有缓释效果。

可以将其他包衣剂用于所述制剂。其中包括多种可用于包衣锅的多种糖类。所述治疗剂还能够以薄膜包衣的片剂形式提供，并且用于这种场合的材料被分成两类。第一类是非肠衣材料，并且包括甲基纤维素，乙基纤维素，羟乙基纤维素，甲基羟基-乙基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基-甲基纤维素，羧甲基纤维素钠，providone 和聚乙二醇。第二类包括糖衣材料，它通常是苯二甲酸的酯。

可以将一种材料的混合物用于提供最佳膜包衣。膜包衣可以在锅包衣器或流化床或通过压缩包衣进行。

肺输送形式。本发明还涉及本发明蛋白（或其衍生物的肺输送）。所述蛋白（或衍生物）是通过吸入输送到哺乳动物肺中的，并且通过肺上皮衬里细胞到达血液系统（包括这一方面内容的其他报导包括 Adjei 等, *Pharma. Res.* (1990) 7: 565-9; Adjei 等(1990), *Internatl. J.*

Pharmaceutics 63: 135-44 (leuprolide acetate); Braquet 等(1989), J. Cardiovasc. Pharmacol. 13 (suppl. 5): s. 143-146 (内皮肤 1); Hubbard 等(1989), Annals Int. Med. 3: 206-12 (α 1-抗胰蛋白酶); Smith 等(1989), J. Clin. Invest. 84: 1145-6 (α 1-蛋白酶); Oswein 等 (March 1990), “蛋白的气溶胶化”, Proc.Symp. Resp. Drug Delivery II, Keystone, Colorado (重组人生长激素); Debs 等(1988), J. Immunol. 140: 3482-8 (干扰素 γ 和肿瘤坏死因子 α)和 Platz 等, 美国专利号 5, 284, 656 (粒细胞集落刺激因子)。

在实施本发明时, 可以使用多种为了肺输送治疗制品而设计的机械装置, 包括, 但不限于雾化器, 计量剂量的吸入器, 和粉末吸入器, 所有这些装置都是本领域技术人员所熟悉的。适用于实施本发明的市售装置的某些具体例子包括 Ultravent 雾化器, 由 Mallinckrodt, Inc. 生产, St. Louis, Missouri; Acorn II 喷雾器, 由 Marquest Medical Products 生产, Englewood, Colorado; Ventolin 计量剂量吸入器, 由 Glaxo Inc. 生产, Research Triangle Park, North Carolina; 和 Spinhaler 粉末吸入器, 由 Fisons Corp. 生产, Bedford, Massachusetts。

所有上述装置都需要使用适合分配本发明化合物的制剂。通常, 每一种制剂对所使用的装置的类型是专一的, 并且除了用于治疗的稀释剂、佐剂和/或载体之外可以包括使用合适的推进剂材料。

本发明的化合物最优选以颗粒形式制备, 平均粒度小于 10 微米, 最优选 0.5-5 微米, 以便最有效地输送到肺的远端。

可以药用的载体包括碳水化合物, 如海藻糖, 甘露糖醇, 木糖醇, 蔗糖, 乳糖和山梨糖醇。用于制剂中的其他成分可以包括 DPPC, DOPE, DSPC 和 DOPC。可以使用天然或表面合成表面活性剂。可以使用 PEG (不是用于对所述蛋白或类似物进行衍生化)。可以使用葡聚糖, 如环葡聚糖。可以使用胆酸盐和其他相关的强化剂。可以使用纤维素和纤维素衍生物。可以使用氨基酸, 如用于缓冲液制备。

另外, 还可以使用脂质体, 微胶囊或微球体, 包含体复合物或其他类型的载体。

适用于喷射型或超声波型的喷雾器的制剂通常包括溶解在水中的本发明的化合物, 每毫升溶液中生物学活性蛋白的浓度大约 0.5-25 毫

克。所述制剂还可以含有缓冲剂和一种简单的糖（例如，用于蛋白稳定和调节渗透压）。喷雾器配方还可以包括表面活性剂，以便降低或防止由表面诱导的形成气溶胶的溶液的雾化所导致的蛋白的聚集。

用于计量剂量吸入器装置的制剂通常包括细碎的粉末，它含有借助于表面活性剂而悬浮在推进剂中的本发明的化合物。所述推进剂可以是任何用于这一目的的常规材料，如氯氟烃、氢氯氟烃、氢氟烃、或烃，包括酸氯氟甲烷，二氯二氟甲烷，二氯四氟乙醇，和 1, 1, 1, 2-四氟乙烷，或它们的组合。合适的表面活性剂包括山梨聚糖三硫酸酯和大豆卵磷脂。还可以将油酸用作表面活性剂。

用于从粉末吸入器中分配的制剂可以包括含有本发明化合物的细碎的干燥粉末并且还可以包括填充剂，如乳糖、山梨糖醇，蔗糖，甘露糖醇，海藻糖，或木糖醇，其用量有利于所述粉末从该装置中分散，例如占该制剂重量的 50-90%。

鼻腔输送形式。还涉及本发明化合物的鼻腔输送。鼻腔输送可以使在将所述治疗产品服用到鼻腔之后使所述蛋白直接输送到血液中，而没有使所述产品沉积在肺里。适合鼻腔输送的制剂包括含有葡聚糖或环葡聚糖的制剂。通过其他黏膜的输送也是可行的。

剂量。与用于治疗上述症状的方法相关的剂量方案可以由主治医生确定，要考虑多种可能改变药物作用的因素，例如患者的年龄、症状、体重、性别和饮食，任何感染的严重程度、服用时间和其他临床因素。一般，每天的方案应当在每千克体重 0.1-1000 微克本发明化合物的范围内，优选每千克体重 0.1-150 微克。

特别优选的实施方案

本发明人业已确定了在下面的表 4 中列举的优选肽的优选结构。符号“A”可以是本文所披露的任何接头，或者可能简单地表示一种普通的肽键（即不存在接头）。为了清楚起见，串联重复和接头是分开示出的。

表 4-优选实施方案

（原文 59 页）

“V¹”是如本文前面所定义的 Fc 结构域。除了在表 4 中所列举的之外，本发明人还提出了异源双体，其中，Fc 双体的每一条链与一种不同的肽序列连接；例如，其中，每一种 Fc 与选自表 2 的一种不同的序列连接。

本发明的所有化合物都可以通过在 PCT 申请号 WO 99/25044 中所披露的方法制备。

下面将通过实际例子对本发明作进一步说明，这些例子是说明性的而不是限定性的。

例 1

肽

肽噬菌体展示

1. 磁性珠制备

A. 固定在磁性珠上的 Fc-TALL-1

将重组 Fc-TALL-1 蛋白固定在蛋白 A Dynabeads (Dynal) 上，浓度为每 100 微升从生产商那里购买的磁性珠原料中使用 8 微克的 Fc-TALL-1。通过使用磁铁将所述珠吸到试管的一侧，并且将液体移出，用磷酸缓冲的盐溶液 (PBS) 洗涤所述珠两次，并且重新悬浮在 PBS 中。以上述浓度将 Fc-TALL-1 蛋白添加到洗涤过的磁性珠中，并且在室温下旋转培养 1 小时。然后通过以 1% 的最终浓度添加牛血清白蛋白 (BSA) 并且在 4℃ 下旋转培养过夜，对 Fc-TALL-1 包衣的珠进行封闭。然后用 PBST (含有 0.05% Tween-20) 的 PBS 洗涤所得到的 Fc-TALL-1 包衣的珠，然后进行所述筛选方法。

B. 阴性筛选珠制备

为了进行阴性筛选，还制备了另外的珠。对每一种淘选条件来说，对从生产商那里购买的 250 微升的珠原料进行上述方法的处理 (1A 部分)，所不同的是，去掉了用 FTALL-1 培养的步骤。在最后的洗涤步骤中，将所述珠分成 5 个 50 微升的等份。

2.TALL-1 结合噬菌体的筛选

A.总体方法

将两种丝状噬菌体文库 TN8-IX(5×10^9 独立转化体)和 TN12-I (1.4×10^9 独立转化体) (Dyax Corp.)用于筛选 TALL-1 结合噬菌体。对每一个文库进行 pH 2 洗脱或‘珠洗脱’(2E 部分)。因此,对于 TALL-1 项目来说,采用了四种不同的淘选条件(TN8-IX 使用 pH2 洗脱方法, TN8-IX 使用珠洗脱方法, TN12-I 使用 pH2 洗脱方法, 而 TN12-I 使用珠洗脱方法)。对每一种条件来说进行三轮选择。

B.阴性筛选珠制备

对每一种淘选条件来说,从所述文库母液中等分出大约 100 个随机的文库等分体(对于 TN8-IX 来说为 5×10^{11} pfu,而对于 TN12-I 来说为 1.4×10^{11} pfu),并且用 PBST 稀释到 300 微升。在最后一次洗涤之后,将液体从为了进行阴性筛选而制备的珠的第一个 50 微升等份样品中吸出(1B 部分)。将 300 微升稀释过的文库的母液添加所述珠中。所得到的混合物在室温下旋转培养 10 分钟。利用磁力将噬菌体上清液吸出,并且添加到第二个 50 微升的等份样品中,进行另一个阴性筛选步骤。通过这种方式,进行了 5 个阴性筛选步骤。

C.利用 Fc-TALL-1 蛋白包衣的珠进行筛选

在最后的阴性筛选步骤之后(1A 部分)将噬菌体上清液添加到最后的洗涤步骤之后的 Fc-TALL-1 包衣的珠中。在室温下旋转培养该混合物 2 小时,使特定噬菌体与所述靶蛋白结合。在将上清液去掉之后,用 PBST 洗涤所述珠 7 次。

D. 结合噬菌体的 pH2 洗脱

在最后的洗涤步骤之后(2C 部分)。通过添加 200 微升的 CBST (50 mM 柠檬酸钠, 150 mM 氯化钠, 0.05% Tween-20, pH2)将结合的噬菌体从磁性珠上洗脱。在室温下培养 5 分钟之后,将含有洗脱的噬菌体的液体吸出,并且转移到另一只试管中。通过添加 200 微升 CBST 并且培养 5 分钟再次重复所述洗脱步骤。将来自两个洗涤步骤的液体混合在一起,并且添加 100 微升 2 M Tris 溶液(pH 8),以便中和 pH。添加 500 微升 Min A Salts 溶液(60 mM K_2HPO_4 , 33 mM KH_2PO_4 , 7.6 mM $(NH_4)_2SO_4$, 和 1.7 mM 柠檬酸钠),将最终体积调整为 1 毫升。

E.‘珠洗脱’

在最后的洗涤之后,将液体吸出(2C部分),将1 ml Min A salts 溶液添加到所述珠中。将该珠混合物直接添加到浓缩细菌样品中进行感染(3A和3B部分)。

3. 扩增

A.铺平板细胞的制备

在含有 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 四环素的 LB 培养基中,将新鲜大肠杆菌(XL-1 Blue MRF')培养物生长到 $\text{OD}_{600} = 0.5$ 。对每一种淘选条件来说,在冰上冷却 20 微升的该培养物,并且离心。将细菌沉淀物重新悬浮在 1 毫升的 Min A Salts 溶液中。

B.转导

将来自不同洗脱方法的每一种混合物(2D和2E部分)添加到浓缩细菌样品(3A部分)中,并且在 37℃ 下培养 15 分钟。将 2 毫升 NZCYM 培养基(2×NZCYM, 50 $\mu\text{g/ml}$ 氨苄青霉素)添加到每一种混合物中,并且在室温下培养 15 分钟。将所得到的 4 毫升溶液铺平板在 50 $\mu\text{g/ml}$ 氨苄青霉素的大型 NZCYM 琼脂平板上,并且在 37℃ 下培养过夜。

C. 噬菌体收获

将在大型 NZCYM 琼脂平板(3B部分)上生长过夜的每一种细菌/噬菌体混合物刮取到 35 毫升 LB 培养基中,并且再用 35 毫升的 LB 培养基进一步漂洗所述琼脂平板。对所得到的存在于 LB 培养基中的细菌/噬菌体混合物进行离心,以便使细菌沉淀。将 50 毫升的噬菌体上清液转移到新的试管中,并且添加 12.5 毫升的 PEG 溶液(20% PEG8000, 3.5M 乙酸铵),并且在冰上培养 2 小时,以便使噬菌体沉淀。通过离心使沉淀的噬菌体下落,并且重新悬浮在 6 毫升的噬菌体再悬浮缓冲液中(250 mM NaCl, 100 mM Tris, pH8, 1 mM EDTA)。通过离心再次纯化该噬菌体溶液,除去其余的细菌,并且通过添加 1.5 毫升 PEG 溶液再次沉淀噬菌体。在离心步骤之后,将噬菌体沉淀重新悬浮在 400 微升 PBS 中。对该溶液进行最后的离心,以便消除其余的细菌碎片。通过标准噬斑形成测定对所得到的噬菌体制剂进行滴定(Molecular Cloning, Maniatis 等 3rd Edition)。

4.另两轮筛选和扩增

在第二轮中,将来自第一轮(3C部分)的扩增噬菌体(10^{10} pfu)用作输入噬菌体,进行筛选和扩增步骤(2和3部分)。将来自第二轮的扩增噬菌体(10^{10} pfu)再用作输入噬菌体进行第三轮筛选和扩增(2和3部分)。在第三轮的洗脱步骤之后(2D和2E部分),向在噬菌体形成测定(3C部分)那样对少量的洗脱噬菌体进行铺平板。挑选单独的噬斑,并且放入在每一个孔中含有100微升TE缓冲液的96孔微量滴定板上。将所述主平板放入37℃的培养箱中培养1小时,以便将噬菌体洗脱到TE缓冲液中。

5.克隆分析(噬菌体 ELISA 和测序)

通过噬菌体 ELISA 和测序方法分析噬菌体克隆。根据来自这两种分析的组合结果对序列进行分级。

A.噬菌体 ELISA

将 XL-1 BlueMRF'培养物生长到 OD_{600} 达到 0.5。将 30 微升的该培养物等分到 96 孔微量滴定板的每一个孔中。将 10 微升洗脱噬菌体(第四部分)添加到每一个孔中,并且在室温下感染细菌 15 分钟。向每一个孔中添加 130 微升含有 12.5 μ g/ml 四环素和 50 μ g/ml 氨苄青霉素的 LB 培养基。然后在 37℃ 下培养所述微量滴定板过夜。在 4℃ 下,让重组 TALL-1 蛋白(1 μ g/ml,溶解在 PBS 中)对 96 孔 Maxisorp 平板(NUNC)进行包衣过夜。作为对照,以与 TALL-1 蛋白相同的摩尔浓度将重组 Fc-Trail 蛋白包衣在另一个 Maxisorp 平板上。

在次日,将蛋白包衣的 Maxisorp 平板中的液体倒掉,并且每一个孔用 300 微升的 2%BSA 溶液在 37℃ 下封闭 1 小时。倒掉 BSA 溶液,并且用 PBST 溶液洗涤所述孔 3 次。在最后的洗涤步骤之后,将 50 微升 PBST 添加到蛋白包衣的 Maxisorp 平板的每一个孔中。将 96 孔微量滴定板上的每一种 50 微升的过夜培养物转移到 TALL-1 包衣的平板以及对照 Fc-Trail 包衣平板的相应的孔中。在室温下培养这两种类型平板上的 100 微升混合物 1 小时。将液体从 Maxisorp 平板上倒掉,并且用 PBST 洗涤孔 5 次。将 HRP-缀合的抗-M13 抗体 (Pharmacia)稀释 1:7500 倍,并且将 100 微升稀释液添加到 Maxisorp 平板上的每一个孔中,在室温下培养 1 小时。再次倒掉液体,并且用 PBST 洗涤所述孔 7 次。将 100 微升四甲基联苯胺(TMB)底物(Sigma)添加到每一个孔中,以便进行

显色反应，并且用 50 微升的 5 N H₂SO₄ 溶液终止该反应。在平板读数器(Molecular Devices)上读出 OD₄₅₀。

B. 噬菌体克隆的测序

对每一种噬菌体克隆来说，测序模板是通过 PCR 方法制备的。利用以下寡核苷酸的扩增大约 500 个核苷酸片段：

引物 1(5'-CGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTG-3') (SEQ ID NO: 56)和

引物 2(5'-CATGTACCGTAACACTGAGTTTCGTC-3 (SEQ ID NO: 57)。

为每一种克隆制备以下混合物

(原文 64 页表)

用热循环仪(GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems)执行以下程序：94℃，5 分钟；[94℃，30 秒，55℃，30 秒，72℃，45 秒]×30 轮；72℃，7 分钟。冷却到 4℃。通过将每一个 PCR 反应的 5 微升样品在 1%琼脂糖凝胶上电泳，检查所述 PCR 产物。使用 QIAquick Multiwell PCR 纯化试剂盒(Qiagen)，按照生产商的方法对来自每一种反应的 45 微升的 PCR 产物进行纯化。然后用 ABI 377 测序仪(Perkin-Elmer)，按照生产商推荐的方法对所得到的产物进行测序。

6. 序列分级和共有序列测定

A. 序列分级

将由可变核苷酸序列(5B 部分)翻译的肽序列与 ELISA 数据相关联。将与 TALL-1 包衣的孔中表现出高的 OD₄₅₀，并且在 Fc-Trail 包衣的孔中表现出低的 OD₄₅₀ 的克隆被认为更重要一些。多次出现的序列也被认为是重要的。根据以上标准选择候选序列作为肽或肽体进行进一步分析。分别从 TN8-IX 和 TN12-I 文库中选择 9 个候选肽序列。

B. 共有序列确定

从 TN12-I 文库中选择的大部分序列包括一个非常保守的 DBL 基序。该基序在从 TN8-IB 文库中选择的序列中同样是保守的。在从

TN8-IB 文库中获得的序列中也观察到了另一种基序 PFPWE (SEQ ID NO: 110)。

根据 DBL 基序确定了一种共有肽 FHDCKWDLLTKQWYCHGL (SEQID NO: 58)。由于来自 TN12-I 文库的肽是活性最高的肽,通过 DBL 基序对基于上述分类标准(5A 部分)上面 26 种肽序列进行排比。通过确定在每一个位置上出现次数最多的氨基酸获得了加下划线的“核心氨基酸序列”。靠近所述核心序列的两个半胱氨酸是 TN12-I 文库中的固定氨基酸。所有共有肽上的其余的氨基酸序列来自候选肽之一 TALL-1-12-10 (表 2, SEQID NO: 37)。在 B 细胞增殖测定中,来自该共有序列的肽和肽体是最活跃的。

例 2

肽体

构建一套 12 TALL-1 抑制肽体(表 5),其中,将每一种肽的一个单体融合在人 IgG1 的 Fc 区的框内。每一种 TALL-1 抑制肽体是通过以下方法构建的,对表 6 所示的寡核苷酸对进行退火,以便产生编码所述肽和接头的双链体,它包括 5 个甘氨酸残基和一个缬氨酸残基,是作为 NdeI -Sall 片段形式出现的。将该双链分子连接到同样用 NdeI 和 Sall 消化过的含有人 Fc 基因的载体上(pAMG21 RANK-Fc,如本文所披露的)。通过电穿孔将所得到的连接混合物转入大肠杆菌菌株 2596 细胞中(GM221,如本文所披露的)。筛选克隆产生重组蛋白产物和拥有具备正确核苷酸序列的基因融合体的能力。对每一种肽体选择一个这样的克隆。所述融合蛋白的核苷酸和氨基酸序列如图 4A-4F 所示。

表 5.用于制备 TALL-1 抑制肽体的肽序列和寡核苷酸
(原文 66-70 页表)

pAMG21-RANK-Fc 载体

pAMG21。表达质粒 pAMG21 (ATCC 保藏号 98113)可源于 Amgen 表达载体 pCFM1656 (ATCC 保藏号 69576), 而后者又源于在美国专利 4,710,473 中所披露的 Amgen 表达载体系统。pCFM1656 质粒 pCFM836 质粒通过以下方式源于 (美国专利 4,710,473) :

- 通过用 T4 聚合物补平末端, 随后进行平端连接破坏两个内源 NdeI 限制位点;

- 用从 pCFM636 (专利号 4,710,473)中获得的含有 P_L 启动子(参见下面的 SEQ ID NO: 95) 的类似片段取代单一的 AatII 和 ClaI 限制位点之间的含有合成 P_L 启动子的 DNA 序列; 和

- 用具有 SEQ ID NO: 96 序列的寡核苷酸取代位于单一 ClaI 和 KpnI 限制位点之间的小 DNA 序列。

SEQ ID NO: 95:

AatII

原文序列

SEQ ID NO: 96:

5'CGATTTGATTCTAGAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTG
GAATTCGGTAC3'

3'TAAACTAAGATCTTCCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTT
AAGC 5'

ClaI

KpnI

然后通过 PCR 重叠寡核苷酸诱变和 DNA 序列取代进行一系

列的定点碱基改变由 CFM1656 制备表达质量 pAMG21。从紧靠质粒复制启动子 P_{copB} 的 5'末端的 BglII 位点（质粒 bp 180）开始，并且向质粒复制基因方向进行，进行下面的表 7 中所示出的碱基对改变。

表 7-产生 pAMG21 的碱基对改变
(原文 71 页表)

用下面的 DNA 序列（SEQ ID NO: 97）取代位于单一 AatII（pCFM1656 上的 4364 号位置）和 SacII（pCFM1656 上的 4585 号位置）限制位点之间的 DNA 序列。

(原文 72-73 页序列)

在连接该取代 DNA 序列的粘性末端之间，破坏了外侧的 AatII 和 SacII 位点上。在取代的 DNA 上具有单一的 AatII 和 SacII 位点。

将编码与 Fc 的 N-末端融合的人 RANK 的基因以 NdeI-BamHI 片段形式连接在 pAMG21 上，以便制备 Amgen 菌株#4125。对该构建体进行修饰，以便在 RANK 和 Fc 的结合部分插入一个缬氨酸密码子。相邻的缬氨酸和天冬氨酸密码子形成了一个单一的 SalI 位点。这使得所述肽可以融合在 Fc3 的 N-末端的 NdeI 和 SalI 位点之间。在插入一个新的 NdeI 和 SalI 片段之后，破坏了 RANK 序列。在图 5A-5M 中提供了所述载体的序列。

GM221（Amgen#2596）。Amgen 宿主菌株#2596 是源于 Amgen

菌株#393 的大肠杆菌 K-12 菌株, 后者是大肠杆菌 W1485 的衍生物, 它是从耶鲁大学的大肠杆菌遗传学资源中心获得的, New Haven, Connecticut (CGSC 菌株 6159)。业已将它修饰在早期 ebg 区含有温度敏感型 λ 抑制子 cI857s7, 在晚期 ebg 区含有 lacI^Q 抑制子 (68 分钟)。这两个抑制基因的存在, 使得该宿主能够使用多种表达系统, 不过, 这两种抑制子与 luxP_R 的表达无关。未转化过的宿主没有抗生素抗性。

业已对 cI857s7 基因的核糖体结合位点进行了修饰, 以便包括强化的 RBS。业已将它插入 1170 和 1411 号核苷酸位置之间的 ebg 操纵子, 所述编号是按照 Genbank 保藏号 M64441Gb_Ba 进行的, 缺失了插入的 ebg 序列。下面示出了插入片段的序列, 用小写字母表示位于下面所示插入序列旁侧的 ebg 序列 (SEQ ID NO: 98):

(原文 74 页序列)

利用被称为 Mmebg-cI857s7 基因强化 RBS#4 的重组噬菌体将所述构建体输送到 F'tet/393 的染色体中。在重组和分离之后, 只有上述染色体插入片段还保留在所述细胞内。将它重新命名为 F'tet/GM101。然后通过将 lacI^Q 构建体输送到 2493 和 2937 号核苷酸之间的 ebg 操纵子上将 F'tet/GM101 进行修饰, 所述编号是按照 Genbank 保藏号 M64441Gb_Ba 进行的, 缺失了插入的 ebg 序列。下面示出了插入片段的序列, 用小写字母表示位于下面所示插入序列旁侧的 ebg 序列 (SEQ ID NO: 99):

(原文 74-75 页序列)

用被称为 AGebg-LacIQ#5 的重组噬菌体将所述构建体输送到 F'tet/GM101 的染色体中。在重组和分离之后, 只有上述染色体插入片段还保留在所述细胞内。将它重新命名为 F'tet/GM221。在 LB 中使用浓度为 25 微克/毫升的吡啶橙将 F'tet 附加体从所述菌株中清除。所述清除后的菌株被确定为四环素敏感性, 并且作为 GM221 保存。

在大肠杆菌中的表达。在 37℃ 下在 LB 培养基中生长存在于大肠杆菌 GM221 中的每一种 pAMG21-Fc-融合构建体的培养物。通过以 20 纳克/毫升的最终浓度向培养基中添加合成的自身诱导剂 N-(3-羟基叠烷酰)-DL-高丝氨酸内酯实现了来自 luxPR 启动子的基因产物表达的诱导。在 37℃ 下再培养 3 小时。3 小时之后, 通过显微技术检查包含体的存在, 然后通过离心收集。在诱导过的培养物中观察到了折射包含体的存在, 这表明 Fc 融合体最有可能以不可溶的级份在大肠杆菌中产生的。通过重新悬浮在含有 10% β -巯基乙醇的 Laemmli 样品缓冲液中直接裂解细胞沉淀, 并且通过 SDS-PAGE 分析。在每一种场合下, 在 SDS-PAGE 凝胶上都观察到了分子量大致相当的强的考马斯染色带。

例 3

TALL-1 肽体能抑制 TALL-1 介导的 B 细胞增殖。

通过阴性选择从 C57BL/6 脾中分离小鼠 B 淋巴细胞 (MACS CD43(Ly-48)Microbeads, Miltenyi Biotech, Auburn, CA)。在 MEM (10% 热失活 FCS, 5×10^{-5} M 2-巯基乙醇, 100U/ml 青霉素, 100 微克/毫升链霉素) 中培养纯化的 (10^5) B 细胞, 培养是在 96 孔平底组织培养平板上进行的, 重复 3 次, 在 37℃, 5% 二氧化碳的条件下用 2 微克/毫升山羊 F(ab')₂ 抗小鼠 IgM (Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania) 和标明数量的重组 TALL-1 肽体培养 4 天时间。在经过 18 小时的培养时间之后, 根据放射性 ³[H]胸苷的吸收测定增殖。

例 4

TALL-1 肽体能抑制 TALL-1 与它的受体结合

用 AGP3 (又被称为 TALL-1, Khare 等, Proc.Natl.Acad.Sci. 97:3370-3375, 2000) 对 Reacti-Gel 6x (Pierce) 进行预先包衣, 并且用 BSA 封闭。在室温下将 100 皮摩尔和 40 皮摩尔的 AGP3 肽体样品与标明的各种浓度的人 AGP3 一起培养 8 小时, 然后通过人 AGP3-包衣的珠。通过荧光 (Cy5) 标记的山羊的抗人 Fc 抗体 (Jackson ImmunoResearch) 定量珠结合的肽体的数量。结合信号与在结合平衡时游离肽体的浓度成正比。解离平衡常数 (K_D) 是利用双曲线单一位

点同源结合模型 (KinEx™软件) 从竞争曲线的非线性回归获得的。对于与人 AGP3 结合的 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 来说, K_D 大约为 4 皮摩尔 (图 10)。

为了确定 AGP3 肽体是否能中和鼠 AGP3 结合和人 AGP3 结合, 采用了 BIAcore 中和测定。所有实验都是在室温下在 BIAcore 3000 上进行的。用 10mM 乙酸 pH4.0 将人 TACI-Fc 蛋白 (Xia 等, *J. Exp. Med.* 192,137-144,2000) 固定在 B1 芯片上, 达到 2900RU 的水平。将空白流式细胞用作背景对照。使用含有 0.005%P20 的流动 PBS 缓冲液 (不含钙或镁), 在没有和有所标明的各种数量的 AGP3 肽体 (x 轴) 的条件下培养 1nM 重组人 AGP3 (在添加了 0.1 毫克/毫升 BSA 的流动缓冲液中), 然后加注到所述受体表面上。再生是通过以下方式进行: 使用 8mM 甘氨酸 pH1.5, 1 分钟, 25mM 3-[环己基氨基]-1-丙磺酸 (CAPS) pH10.5, 1mM 氯化钠, 1 分钟。为了测定鼠 AGP3 结合, 在上述缓冲液中将人 his-标记的 TACI 固定到 1000RU 上。在有和没有图 11 中所标明的各种量的 AGP3 肽体 (x 轴) 的条件下, 培养 5nM 重组鼠 AGP3 (在添加了 0.1 毫克/毫升 BSA 的流动缓冲液中), 然后加注到受体表面上。再生是按照以下方式进行: 10mM 氯化氢 pH2, 2 次, 30 秒, 测定了在有和没有 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 的条件下人和鼠 AGP3 的相对结合 (y 轴)。相对结合反应是作为 (RU-RU 空白/Ruo-RU 空白) 测定的。AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 能抑制人和鼠 AGP3 与它的受体 ACT1 的结合 (图 11A 和 11B)。

为了检验这种 AGP3 肽体是否能抑制 AGP3 与所有三种受体 (TACI, BCMA 和 BAFFR) 的结合, 将重组可溶性受体 TACI, BCMA 和 BAFFR 蛋白固定在 CM5 芯片上。使用 10mM 乙酸, pH4, 将人 TACI-Fc 蛋白固定在 6300RU 上, 将 BCMA-Fc 固定在 5000RU 上, 而将 BAFFR-Fc 固定在 6000RU 上。将 1nM 重组人 AGP3 (在含有 0.1 毫克/毫升 BSA 和 0.1 毫克/毫升肝素的流动缓冲液中) 或 1nM 重组 APRIL 蛋白 (Yu 等, *Nat. Immunol.*, 1:252-256,2000) 与标明数量的 AGP3 肽体一起培养, 然后加注到每一种受体表面上。AGP3 实验的再生是这样进行的: 8mM 甘氨酸 pH1.5, 1 分钟, 然后使用 25mM CAPS, pH10.5, 1mM 氯化钠, 1 分钟。APRIL 实验的再生是这样进行的: 8mM 甘氨酸 pH2, 1 分钟,

然后使用 25mM CAPS, pH4.5, 1mM 氯化钠, 1 分钟。测定了 AGP3 和 APRIL 的相对结合。AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 能抑制 AGP3 与所有三种受体的结合 (图 12A)。AGP3 肽体不会影响 APRIL 与所述受体的结合 (图 12B)。

例 5

AGP3 肽体能抑制 AGP3 介导的 B 细胞增殖

通过阴性筛选从 C57BL/6 脾中分离小鼠 B 淋巴细胞 (MACS CD43(Ly-48)Microbeads, Miltenyi Biotech, Auburn, CA)。基本必需培养基 (MEM), 10% 热失活胎牛血清 (FCS), 5×10^{-5} M 2-巯基乙醇, 100U/ml 青霉素, 100 微克/毫升链霉素) 中培养纯化的 (10^5) B 细胞, 培养是在 96 孔平底组织培养平板上进行的, 重复 3 次, 在 37°C, 5% 二氧化碳的条件下用 10 纳克/毫升 AGP3 (TALL-1) 蛋白和 2 微克/毫升山羊 F(ab')₂ 抗小鼠 IgM (Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania) 和标明数量 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 一起培养 4 天时间。在经过 18 小时的培养时间之后, 根据放射性 ³[H]胸苷的吸收测定增殖。

例 6

在小鼠中 AGP3 肽体对 AGP3-刺激 Ig 产生的影响

对从 Charles River Laboratory, Wilmington, MA. 购买的小鼠 (Balb/c 雌性 9-14 周大的体重为 19-21 克) 的小鼠进行处理。每天用 1 毫克/千克人 AGP3 i.p. 处理小鼠 (n=10) 1 次, 连续进行 5 天, 然后用 5 毫克/千克或 0.5 毫克/千克 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 或用盐水或 5 毫克/千克人 Fc 处理。其他小鼠不进行处理。在第 6 天宰杀小鼠, 以便测定血清 IgM 和 IgA, 是通过 ELISA 测定的。简单地讲, 用对 IgM 或 IgA 专一的捕捉抗体 (Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AL) 对平板进行包衣, 封闭, 并且添加标准稀释液 (IgM 购自 Calbiochem, San Diego, CA, 而 IgA 购自 Southern Biotechnology Associates) 或测试样品。使用对 IgM 或 IgA 专一的生物素化的抗体 (Southern Biotechnology

Associates), neutravidin-缀合的过氧化物酶 (Pierce,Rockford,IL) 和四甲基联苯胺 (TMB) 微孔过氧化物酶底物 (KPL,Gaithersburg, MD) 观察捕捉的 Ig。在 Thermomax ELISA 读数器 (Molecular Devices,Menlo Park,CA) 上对光学密度进行定量。

通过 5 毫克/千克的抗 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 而不是通过 0.5 毫克/千克抑制由人 AGP3-刺激的 IgM 和 IgA 的血清含量的提高(图 14A 和 14B)。

例 7

AGP3 肽体降低小鼠体内脾 B 细胞数量

用 5 毫克/千克或 1/5 毫克/千克或 0.5 毫克/千克的 AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 或用盐水或用 5 毫克/千克的人 Fc 连续 i.p.处理小鼠 (如上文所述, n=7) 7 天时间。在第 8 天宰杀小鼠, 以便统计脾 B 细胞数量。将脾脏收集到盐水, 并通过手工匀浆融合破碎, 以便得到细胞悬浮液。总的细胞数量是通过 H1E 计数器 (Techincon,Tarrytowu,NY) 获得的。B 细胞的百分比是通过免疫荧光双染色和流式细胞测定获得的, 分别使用了荧光素异硫氰酸酯 (FITC) 缀合的和藻红素 (PE)-缀合的 Ab 抗 AD3 和 B220 抗体 (PharMingen,San Diego,CA) 和 FACScan 分析仪 (Becton and Dickinson,Mountain View,CA)。确定 B 细胞是 CD3-B220+。在所有剂量下, AGP3 肽体 (SEQ ID NO: 123) 能以剂量响应形式减少脾 B 细胞数量 (图 14) (SEQ ID NO: 123)。

例 8

AGP3 肽体能减轻小鼠 CIA 模型的关节炎严重程度

用乳化在完全弗氏佐剂 (Difco) 中的牛 II 型胶原 (bCII) (从他大学购买) 通过在尾巴根处经皮注射对 8-12 周大的 DBA/1 小鼠 (获自 Jackson Laboratories,Bar Harbor,ME) 进行免疫。每次注射 100 微升含有 100 微克的 bCII。在首次免疫之后 3 周, 用乳化在不完全弗氏佐剂中的 bCII 进行加强免疫。从加强免疫当天开始进行治疗 4 周时间。检查小鼠关节炎的发展。正如以前所披露的 (Khare 等, *J.Immunol.*155:3653-9,1995), 对所有四只爪子分别进行 0-3 的评分。因

此,对每一只动物来说,关节炎严重程度可以在 0-12 之间变化。AGP3 (SEQ ID NO: 123) 肽体治疗显著减轻了关节炎评分的严重程度(图 15)。

在最后治疗(第 35 天)之后 1 周采集血清样品,分析抗胶原抗体含量。用溶解在碳酸缓冲液中的 50 微升 4 微克/毫升的牛 CII 溶液对高结合 ELISA 平板(Immulon,Nunc)进行包衣,并且在冰箱中冷藏保持平板过夜。用冰镇水洗涤平板 3 次。用 75 微升的由 PBS/.05%Tween20/1%BSA 组成的封闭溶液封闭非专一性结合 1 小时。以 1: 25, 1: 100, 1: 400, 和 1: 1600 的比例在稀释平板上稀释样品(用封闭缓冲液稀释),并且将 25 微升所述样品添加到 ELISA 平板的每一个孔中,使最终稀释倍数为 100, 400, 1600 和 6400,最终体积为 100 微升/孔。在室温下培养 3 小时之后,再次洗涤平板 3 次。将 100 微升用封闭缓冲液稀释的二级抗体(大鼠抗小鼠 IgM,IgG2a, IgG2b, IgG1, IgG3-HRP)添加到每一个孔中,并且培养平板至少 2 小时。洗涤平板 4 次。将 100 微升 TMB 溶液(Sigma)添加到每一个孔中,并且用 50 微升的 25%硫酸终止反应。用 ELISA 平板读数器在 450nm 波长下对所述平板进行读数。将 OD 与表示单位/毫升的标准库进行比较。与 PBS 或 Fc 对照处理组相比,AGP3 肽体(SEQ ID NO: 123)降低了血清抗胶原 II IgG1, IgG 3, IgG 2a 和 IgG 2b 水平(图 16)。

例 9

AGP3 肽体治疗 NZB/NZW 狼疮小鼠

用 PBS 或标明剂量的 AGP3 肽体或人 Fc 蛋白通过 i.p.治疗 5 周大的易感狼疮的 NZB × NZBWF1 小鼠,每周 3 次,共 8 周时间。在治疗之前用 Albustix 试剂条(Bayer AG)对尿液中的蛋白进行预筛选。在本研究中不包括尿液中超过 100 毫克/dl 蛋白的小鼠。在该实验的整个过程中,每月评估尿液中的蛋白。AGP3 肽体(SEQ ID NO: 123)治疗导致了蛋白尿发作的推迟,并且提高了成活率(图 17)。AGP3 肽体治疗降低了小鼠的 B 细胞数量。Balb/c 小鼠接受了 7 次每天 1 次的腹膜内注射标明数量的 AGP3 肽体(SEQ ID NO: 123)或人 Fc 蛋白。在第 8 天,收集脾,并且对 B220+B 细胞进行 FACS 分析,如表 8 所示。

表 8

AGP3 Pb 能减少正常小鼠的 B 细胞数量

n=7	剂量 (1/天 × 7)	脾 B 细胞 (1 × 10 ⁶)	SD	t 测验
盐水		51.3	9.6	
Fc	5 毫克/千克	45.5	7.1	
肽体	5 毫克/千克	20.1	3.8	1.37856E-05
	1.5 毫克/千克	22.6	6.9	5.10194 E-05
	0.5 毫克/千克	25.8	3.6	0.000111409

现在对本发明进行了全面说明, 本领域技术人员可以理解的是, 在不超出所提出的本发明构思和范围的前提下, 可以对它进行多种改变和改进。

序列表

<110> AMGEN INC.

<120> 与 TALL-1 结合的肽和相关分子

<130> A-743 (PCT)

<140> PCT/US 02/15273

<141> 2002-05-13

<150> US 60/290,196

<151> 2001-05-11

<160> 197

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 684

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(684)

<400> 1

atg gac aaa act cac aca tgt cca oct tgt cca gct cgg gaa ctc ctg	48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	
1 5 10 15	

ggg gga cgg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc	96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
20 25 30	

atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc	144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
35 40 45	

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag	192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
50 55 60	

gtg cat aat gcc aag aca aag cgg cgg gag gag cag tac aac agc acg	240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
65 70 75 80	

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat	288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
85 90 95	
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc	336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	
100 105 110	
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc	432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val	
130 135 140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
145 150 155 160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct	528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	
165 170 175	
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc	576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	
180 185 190	
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg	624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	
195 200 205	
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg	672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	
210 215 220	
tct ccg ggt aaa	684
Ser Pro Gly Lys	
225	

<210> 2
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 2

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys
225

<210> 3
<211> 62
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>
<221> CDS
<222> (2)..(61)

<400> 3
t atg ccg ggt act tgt ttc ccg ttc ccg tgg gaa tgc act cac gct ggt 49
Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
1 5 10 15

gga ggc ggt ggg g 62
Gly Gly Gly Gly
20

<210> 4
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 4

Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 5
- <211> 62
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> NdeI 至 SalI 片段

- <220>
- <221> CDS
- <222> (2)..(61)

<400> 5
t atg tgg ggt gct tgt tgg ccg ttc ccg tgg gaa tgt ttc aaa gaa ggt 49
Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

gga ggc ggt ggg g 62
Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 6
- <211> 20
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 6

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 7
- <211> 62

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(61)

<400> 7

t atg gtt ccg ttc tgt gac ctg ctg act aaa cac tgt ttc gaa gct ggt	49
Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly	
1 5 10 15	

gga ggc ggt ggg g	62
Gly Gly Gly Gly	
20	

<210> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 8

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

<210> 9

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2).. (73)

<400> 9

```

t atg ggt tct cgt tgt aaa tac aaa tgg gac gtt ctg act aaa cag tgt      49
Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
  1             5             10             15

```

```

ttc cac cac ggt gga ggc ggt ggg g      74
Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly
          20

```

<210> 10

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 10

```

Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
  1             5             10             15

```

```

Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly
          20

```

<210> 11

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2).. (73)

<400> 11

```

t atg ctg ccg ggt tgt aaa tgg gac ctg ctg atc aaa cag tgg gtt tgt      49
Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys

```

1 5 10 15

gac ccg ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly

20

<210> 12

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 12

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys

1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly

20

<210> 13

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<400> 13

t atg tct gct gac tgt tac ttc gac atc ctg act aaa tct gac gtt tgt 49

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys

1 5 10 15

act tct tct ggt gga ggc ggt ggg g 74

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly

20

<210> 14
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 14

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 15
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> NdeI 至 SalI 片段

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)

<400> 15
 t atg tct gac gac tgt atg tac gac cag ctg act cgt atg ttc atc tgt 49
 Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
 1 5 10 15

tct aac ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 16
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 16

Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
1 5 10 15

Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 17

<211> 76

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<400> 17

t atg gac ctg aac tgt aaa tac gac gaa ctg act tac aaa gaa tgg tgt 49
Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
1 5 10 15

cag ttc aac ggg gtg gag gcg gtg ggg 76
Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
20

<210> 18

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 18

Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
1 5 10 15

Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
20

- <210> 19
- <211> 74
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> NdeI 至 SalI 片段

- <220>
- <221> CDS
- <222> (2)..(73)

<400> 19
t atg ttc cac gac tgt aaa tac gac ctg ctg act cgt cag atg gtt tgt 49
Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 20
- <211> 24
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 20

Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 21
- <211> 74
- <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<400> 21

```
t atg cgt aac cac tgt ttc tgg gac cac ctg ctg aaa cag gac atc tgt      49
Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1           5           10           15
```

```
cgc tct ccg ggt gga ggc ggt ggg g      74
Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
20
```

<210> 22

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 22

```
Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1           5           10           15
```

```
Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
20
```

<210> 23

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<400> 23

t atg gct aac cag tgt tgg tgg gac tct ctg ctg aaa aaa aac gtt tgt 49
Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
1 5 10 15

gaa ttc ttc ggt gga ggc ggt ggg g 74
Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 24

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 24

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
1 5 10 15

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 25

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> NdeI 至 SalI 片段

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<400> 25

t atg ttc cac gac tgc aaa tgg gac ctg ctg acc aaa cag tgg gtt tgc 49
Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 26
- <211> 24
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> NdeI 至 SalI 片段

<400> 26

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

- <210> 27
- <211> 7285
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<223> pAMG21-RANK-Fc 载体

<400> 27

gatcagcagt ccccggaaca tcgtagctga cgccttcgcg ttgctcagtt gtccaacccc 60
ggaaacggga aaaagcaagt tttccccgct cccggcggtt caataactga aaaccatact 120
atttcacagt ttaaatacaca ttaaagcaca gtaatccccg ttgatttggt cgccaacaca 180
gatcttcgtc acaattctca agtcgctgat ttcaaaaaac ttagtatatcc tctgcgaaac 240
gatccctgtt tgagtattga ggagcgaga tgcgcagac agaaaatgca gtgacttcct 300
cattgagtca aaagcggtt gtgcgcagag gtaagcctat gactgactct gagaacaaaa 360
tgcccggttgt tgcaagaaaa cgtcttacac acaaagagat aaaagttttt gtcaaaaatc 420
ctctgaagga totcatggtt gagtaactgc agagagaggg gataacacag gctcagttcg 480

ttgagaaaat catcaaagat gaactgcaaa gactggatat actaaagtaa agactttact 540
 ttgtggcgta gcatgctaga ttactgatcg tttaaggaat ttgtggctg gccacgccgt 600
 aaggtggcaa ggaactggtt ctgatgtgga ttacaggag ccagaaaagc aaaaaccccg 660
 ataattcttct tcaacttttg cgagtacgaa aagattaccg gggcccactt aaaccgtata 720
 gccacaatt cagctatgcg gggagtatag ttatatgcc ggaaaagttc aagacttctt 780
 tctgtgctcg ctcttctgc gcattgtaag tgcaggatgg tgtgactgat cttcaccaaa 840
 cgtattaccg ccaggtaaag aaccogaatc cgggttttac accccgtgaa ggtgcaggaa 900
 cgtgaagtt ctgcagaaaa ctgatggaaa aggcgggtgg cttcacttcc cgttttgatt 960
 tcgccattca tgtggcgcac gcccgttcgc gtgatctgcg tcgccgtatg ccaccagtgc 1020
 tgcgtcgtcg ggctattgat gcgctcttgc aggggctgtg ttccactat gaccgcgtgg 1080
 ccaaccggt ccagtgtcc atcaccacgc tggccattga gtgcggactg gcgacggagt 1140
 ctgctgccgg aaaactctcc atcaccctg ccaccctgc cctgacgttc ctgtcagagc 1200
 tgggactgat tacctaccag acggaatatg acccgcttat cgggtgctac attccgaccg 1260
 atatcacgtt cacatctgca ctgtttgctg cctcgtatgt atcagaggag gcagtggccg 1320
 ccgcgcgccg cagccgtgtg gtatgggaaa acaacaacg caaaaagcag gggctggata 1380
 cctgggcat ggatgaactg atagcgaaag cctggcgttt tgttcgtgag cgttttcgca 1440
 gttatcagac agagcttaag tcccgtggaa taaagcgtgc ccgtgcgcgt cgtgatgcgg 1500
 acaggaacg tcaggatatt gtcaccctgg tgaaacggca gctgacgcgc gaaatcgcg 1560
 aaggcgctt cactgccaat cgtgaggcgg taaaacgcga agttgagcgt cgtgtgaagg 1620
 agcgcattgat tctgtcacgt aaccgtaatt acagccggct ggccacagct tccccctgaa 1680
 agtgacctcc totgaataat ccggcctgcg ccggaggctt ccgcacgtct gaagcccgac 1740
 agcgcacaaa aatcagcac cacatacaaa aaacaacctc atcatccagc ttctggtgca 1800
 tccggccccc cctgttttcg atacaaaaca cgcctcacag acggggaatt ttgcttatcc 1860
 acattaaact gcaagggaact tcccataag gttacaaccg ttcattgat aaagcgccat 1920

ccgccagcgt tacaggggtgc aatgtatctt ttaaacacct gtttatatct cctttaaaact 1980
 acttaattac attcatttaa aaagaaaacc tattcactgc ctgtccttgg acagacagat 2040
 atgcacctcc caccgcaagc ggcgggcccc taccggagcc gctttagtta caacactcag 2100
 acacaaccac cagaaaaacc ccggtccagc gcagaactga aaccacaaag cccctccctc 2160
 ataactgaaa agcggccccc ccccggtccg aagggccgga acagagtcgc ttttaattat 2220
 gaatgttgta actacttcat catcgtgtc agtcttctcg ctggaagttc tcagtacacg 2280
 ctcgtaagcg gccctgacgg ccgctaacg cggagatacg ccccgacttc gggtaaaccc 2340
 tcgtcgggac cactccgacc ggcacagaa gctctctcat ggctgaaagc gggatatggc 2400
 tggcagggtt ggggatgggt aagtgaaat ctatcaatca gtaccggctt acgccgggct 2460
 tcggcgggtt tactcctgtt tcatatatga aacaacaggt caccgccttc catgccgtg 2520
 atgcggcata tcctggtaac gatatctgaa ttgttataca tgtgtatata cgtggtaatg 2580
 aaaaaatag gacaagttaa aaatttacag gcgatgcaat gattcaaaca cgtaatcaat 2640
 atcgggggtg ggcaagaac tccagcatga gatccccg cgaggagtc atccagccgg 2700
 cgtcccgaa aacgattccg aagcccaacc ttcatagaa ggcggcggtg gaatcgaaat 2760
 ctcgtgatgg caggttgggc gtgccttggc cggtcatttc gaacccaga gtcccgctca 2820
 gaagaactcg tcaagaagc gatagaagc gatgcgtgc gaatcgggag cggcgatacc 2880
 gtaaagcacg aggaagcgt cagcccatc gcgccaaagc tcttcagcaa tatcaggggt 2940
 agccaacgct atgtctgat agcggtcgc cacaccagc cggccacagt cgatgaatcc 3000
 agaaaagcgg ccattttcca ccatgatatt cggcaagcag gcatcgccat gagtcacgac 3060
 gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gagcctggcg aacagttcgg ctggcgcgag 3120
 cccctgatgc tcttcgtcca gatcatctg atgacaaga ccggcttcca tccagtaacg 3180
 tgctcgtcg atcgatgtt tcgcttgggt gtogaatggg caggtagccg gatcaagcgt 3240
 atgcagccgc cgcattgcat cagccatgat ggatactttc tcggcaggag caaggtgaga 3300
 tgacaggaga tctgccccg gcacttcgcc caatagcagc cagtcccttc ccgcttcagt 3360

gacaacgtcg agcacagctg cgcaaggaac gcccgctcgtg gccagccacg atagccgcgc 3420
 tgcctcgtcc tgcaattcat tcaggacacc ggacaggtcg gtcttgacaa aaagaaccgg 3480
 gcgcccctgc gctgacagcc ggaacacggc ggcatcagag cagccgattg tctgttgtgc 3540
 ccagtcatag ccgaatagcc tctccacca agcggccgga gaacctgcgt gcaatccatc 3600
 ttgttcaatc atgcgaaacg atcctcatcc tgtctcttga tctgatcttg atcccccg 3660
 ccatcagatc cttggcggca agaaagccat ccagtttact ttgcagggtt tcccaacctt 3720
 accagagggc gcccagctg gcaattccgg ttcgcttgct gtccataaaa ccgcccagtc 3780
 tagctatcgc catgtaagcc cactgcaagc tacctgcttt ctctttgcgc ttgcgttttc 3840
 ccttgctcag atagcccagt agctgacatt catccgggtt cagcacgtt tctgcggact 3900
 ggctttctac gtgttcgct tcttttagca gcccttgcc cctgagtgt tgcggcagcg 3960
 tgaagctaca tatatgtgat ccgggcaaat cgtgaatat tcttttgc tccgaccatc 4020
 aggcacctga gtcgctgtct tttcgtgac attcagttcg ctgcgctcac ggctctggca 4080
 gtgaatgggg gtaaattggca ctacaggcgc cttttatgga ttcattgcaag gaaactaccc 4140
 ataatacaag aaaagcccgt cacgggcttc tcagggcgtt ttatggcggg tctgctatgt 4200
 ggtgctatct gactttttgc tgttcagcag ttcctgccct ctgattttcc agtctgacca 4260
 ctteggatta tccgtgaca ggtcattcag actggctaata gcaccagta aggcagcggt 4320
 atcatcaaca ggcttaccgg tcttactgtc gaagacgtgc gtaacgtatg catggtctcc 4380
 ccatgcgaga gtagggaact gccaggcatc aaataaaacg aaaggctcag tcgaaagact 4440
 gggcctttcg ttttatctgt tgtttgtcgg tgaacgtct cctgagtagg acaaatccgc 4500
 cgggagcggg tttgaacgtt gcgaagcaac ggcccgagg gtggcgggca ggacgcccgc 4560
 cataaactgc caggcatcaa attaagcaga aggccatcct gacggatggc ctttttgcgt 4620
 ttctacaaac tcttttgttt atttttctaa atacattcaa atatggacgt cgtacttaac 4680
 ttttaaagta tgggcaatca attgctcctg ttaaaattgc tttagaaata ctttggcagc 4740
 ggtttgttgt attgagtttc atttgcgat tggttaaatg gaaagtgacc gtgcgcttac 4800

tacagcctaa tatttttgaa atateccaag agctttttcc ttogcatgcc cacgctaaac 4860
 attctttttc tcttttggtt aaatcgttgt ttgatttatt atttgctata tttatttttc 4920
 gataattatc aactagagaa ggaacaatta atggtatgtt catacacgca tgtaaaaata 4980
 aactatctat atagttgtct ttctctgaat gtgcaaaact aagcattccg aagccattat 5040
 tagcagtatg aatagggaaa ctaaaccag tgataagacc tgatgatttc gottctttaa 5100
 ttacatttgg agatttttta ttacagcat tgttttcaaa tatattccaa ttaatcgggtg 5160
 aatgattgga gtagaataa tctactatag gatcatattt tattaaatta gogtcatcat 5220
 aatattgcct ccatttttta gggtaattat ccagaattga aatatcagat ttaaccatag 5280
 aatgaggata aatgatcgcg agtaaataat attcacaatg taccatttta gtcatatcag 5340
 ataagcattg attaatatca ttattgcttc tacagccttt aattttatta attattctgt 5400
 aagtgtogtc ggcatttatg tctttcatac ccattctttt atccttacct attgtttgtc 5460
 gcaagttttg cgtgttatat atcattaaaa cggtaataga ttgacatttg attctaataa 5520
 attggatttt tgtcacacta ttatatcgtc tgaaatacaa ttgtttaaca taagtacctg 5580
 taggatogta caggtttacg caagaaaatg gtttgttata gtogattaat cgatttgatt 5640
 ctagatttgt ttaactaat taaaggagga ataacatatg atcgtccac catgcaccag 5700
 tgagaagcat tatgagcatc tgggacgggtg ctgtaacaaa tgtgaaccag gaaagtacat 5760
 gtcttctaaa tgcactacta cctctgacag tgtatgtctg ccctgtggcc cggatgaata 5820
 cttggatagc tggaatgaag aagataaatg cttgctgcat aaagtttgtg atacaggcaa 5880
 ggccctgggtg gccgtggctg ccggcaacag tacgaccccc cggcgtgctg cgtgcacggc 5940
 tgggtaccac tggagccagg actgcgagtg ctgccgccgc aacaccgagt gcgcgccggg 6000
 cctgggcgcc cagcaccctg tgcagctcaa caaggacaca gtgtgcaaac cttgccttgc 6060
 aggetacttc tctgatgcct ttctctccac ggacaaatgc agaccctgga ccaactgtac 6120
 cttccttggg aagagagtag aacatcatgg gacagagaaa tccgatgtgg tttgcagttc 6180
 ttctctgcca gctagaaaac caccaaatga accccatgtt tacgtcgaca aaactcacac 6240

```

atgtccacct tgtccagctc cggaactcct ggggggaccg tcagtcttcc ttttccccc 6300
aaaacccaag gacacctca tgatctcccg gacctctgag gtcacatgcg tggtagtgga 6360
cgtgagccac gaagacctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca 6420
taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt 6480
cctcacgcgc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa 6540
caaagccctc ccagccccc tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga 6600
accacaggtg tacacctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct 6660
gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatgcc gtggagtggg agagcaatgg 6720
gcagccggag acaactaca agaccacgcc tcccgctg gactccgacg gctccttctt 6780
cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg 6840
ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc 6900
gggtaaataa tggatccgog gaaagaagaa gaagaagaag aaagcccgaa aggaagctga 6960
gttggctgct gccaccgctg agcaataact agcataaccc cttggggcct ctaaocgggt 7020
cttgaggggt tttttgctga aaggaggaac cgctcttcac gctcttcacg cggataaata 7080
agtaacgatc cggtcagta atgacctcag aactccatct ggatttgttc agaocgctcg 7140
gttgccgcgc ggcgtttttt attggtgaga atcgcagcaa cttgtcgcgc caatcgagcc 7200
atgtcgtcgt caacgacccc ccattcaaga acagcaagca gcattgagaa ctttgaatc 7260
cagtcctctt tccacctgct gaccg 7285

```

<210> 28

<211> 7285

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pAMG21-RANK-Fc 载体

<220>

<221> misc_特征

<223> Xaa (Pos1, 2, 3, 15, 16, 17)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;
Xaa (Pos5, 6, 7, 9, 13)各自独立地是氨基酸残基。

<400> 28

Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Cys Gly Gly
1 5 10 15

Ala Ala Cys Ala Thr Cys Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly
20 25 30

Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Ala Gly
35 40 45

Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala
50 55 60

Ala Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Thr
65 70 75 80

Thr Thr Thr Cys Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Cys
85 90 95

Gly Thr Thr Thr Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala
100 105 110

Ala Cys Cys Ala Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Ala
115 120 125

Gly Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ala Ala
130 135 140

Ala Cys Gly Ala Cys Ala Gly Thr Ala Ala Thr Cys Cys Cys Cys Gly
145 150 155 160

Thr Thr Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala Ala
165 170 175

Cys Ala Cys Ala Gly Ala Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys Ala Cys
 180 185 190

Ala Ala Thr Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly
 195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala
 210 215 220

Gly Thr Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala Cys
 225 230 235 240

Gly Ala Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 245 250 255

Thr Thr Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Gly Ala Gly Ala Thr Gly
 260 265 270

Thr Cys Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly
 275 280 285

Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys Thr Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Thr
 290 295 300

Gly Ala Gly Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr
 305 310 315 320

Gly Thr Gly Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Thr Ala Ala Gly Cys
 325 330 335

Cys Thr Ala Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala
 340 345 350

Gly Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr
 355 360 365

Gly Thr Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Gly Thr Cys
370 375 380

Thr Thr Ala Cys Ala Cys Ala Cys Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Thr
385 390 395 400

Ala Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Ala Ala
405 410 415

Ala Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Thr Cys
420 425 430

Thr Cys Ala Thr Gly Gly Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly
435 440 445

Cys Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Thr Ala
450 455 460

Ala Cys Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly
465 470 475 480

Thr Thr Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala
485 490 495

Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Ala
500 505 510

Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala Ala Gly Thr
515 520 525

Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Thr
530 535 540

Gly Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Ala Thr Gly Cys Thr Ala Gly Ala
545 550 555 560

Thr Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Thr Thr Ala Ala Gly
565 570 575

Gly Ala Ala Thr Thr Thr Thr Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys
580 585 590

Cys Ala Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Gly Cys
595 600 605

Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala
610 615 620

Thr Gly Thr Gly Gly Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly
625 630 635 640

Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Ala Cys
645 650 655

Cys Cys Cys Gly Ala Thr Ala Ala Thr Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys
660 665 670

Ala Ala Cys Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly
675 680 685

Ala Ala Ala Ala Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys
690 695 700

Cys Cys Ala Cys Thr Thr Ala Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Thr Ala
705 710 715 720

Gly Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Ala
725 730 735

Thr Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr
740 745 750

Ala Thr Ala Thr Gly Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Gly Thr
755 760 765

Thr Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly
770 775 780

Thr Gly Cys Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys
785 790 795 800

Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly
805 810 815

Ala Thr Gly Gly Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
820 825 830

Thr Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Cys Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys
835 840 845

Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys
850 855 860

Cys Gly Ala Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys
865 870 875 880

Ala Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala
885 890 895

Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys Thr
900 905 910

Gly Cys Gly Ala Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
915 920 925

Ala Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys
930 935 940

Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Thr Thr Thr Thr Gly Ala Thr Thr
945 950 955 960

Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Gly Gly Cys
965 970 975

Gly Cys Ala Cys Gly Cys Cys Cys Gly Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr
980 985 990

Gly Ala Thr Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala
995 1000 1005

Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly Cys
1010 1015 1020

Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly Cys Thr Ala Thr Thr Gly
1025 1030 1035

Ala Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
1040 1045 1050

Gly Gly Cys Thr Gly Thr Gly Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Thr
1055 1060 1065

Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala
1070 1075 1080

Ala Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr
1085 1090 1095

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Gly Gly
1100 1105 1110

Cys Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys
1115 1120 1125

Thr Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Ala Gly Thr Cys Thr Gly
1130 1135 1140

Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr
1145 1150 1155

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Ala
1160 1165 1170

Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr
1175 1180 1185

Thr Cys Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly
1190 1195 1200

Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys
1205 1210 1215

Ala Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys
1220 1225 1230

Cys Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Gly Gly Gly Thr Gly Cys Thr
1235 1240 1245

Ala Cys Ala Thr Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Gly Ala Thr Ala
1250 1255 1260

Thr Cys Ala Cys Gly Thr Thr Cys Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly
1265 1270 1275

Cys Ala Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Cys
1280 1285 1290

Thr Cys Gly Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Gly
1295 1300 1305

Ala Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly
1310 1315 1320

Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Thr Gly
1325 1330 1335

Thr Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Ala
1340 1345 1350

Ala Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys
1355 1360 1365

Ala Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Cys Cys Cys
1370 1375 1380

Thr Gly Gly Gly Cys Ala Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys
1385 1390 1395

Thr Gly Ala Thr Ala Gly Cys Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr
1400 1405 1410

Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Gly Thr Thr Cys Gly Thr Gly
1415 1420 1425

Ala Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Cys Gly Cys Ala Gly Thr Thr
1430 1435 1440

Ala Thr Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Thr Ala
1445 1450 1455

Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Ala
1460 1465 1470

Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys
1475 1480 1485

Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys Ala
1490 1495 1500

Gly Gly Gly Ala Ala Cys Gly Thr Cys Ala Gly Gly Ala Thr Ala
1505 1510 1515

Thr Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Ala
1520 1525 1530

Ala Ala Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly Cys
1535 1540 1545

Gly Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Gly Cys Gly Gly Ala Ala Gly
1550 1555 1560

Gly Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala
1565 1570 1575

Ala Thr Cys Gly Thr Gly Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Ala Ala
1580 1585 1590

Ala Ala Cys Gly Cys Gly Ala Ala Gly Thr Thr Gly Ala Gly Cys
1595 1600 1605

Gly Thr Cys Gly Thr Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Gly Cys
1610 1615 1620

Gly Cys Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys
1625 1630 1635

Gly Thr Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Ala
1640 1645 1650

Gly Cys Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Gly
1655 1660 1665

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Gly Thr
1670 1675 1680

Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Ala
1685 1690 1695

Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Gly
1700 1705 1710

Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Cys Ala Cys Gly Thr
1715 1720 1725

Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Ala Cys Ala Gly Cys
1730 1735 1740

Gly Cys Ala Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Gly Cys
1745 1750 1755

Ala Cys Cys Ala Cys Ala Thr Ala Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1760 1765 1770

Cys Ala Ala Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala
1775 1780 1785

Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala Thr Cys Cys
1790 1795 1800

Gly Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Thr
1805 1810 1815

Cys Gly Ala Thr Ala Cys Ala Ala Ala Ala Cys Ala Cys Gly Cys
1820 1825 1830

Cys Thr Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Gly Gly Gly Gly Ala Ala
1835 1840 1845

Thr Thr Thr Thr Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Cys Ala Cys Ala
1850 1855 1860

Thr Thr Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala
1865 1870 1875

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Ala Thr Ala Ala Gly Gly Thr Thr
1880 1885 1890

Ala Cys Ala Ala Cys Cys Gly Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Cys
1895 1900 1905

Ala Thr Ala Ala Ala Gly Cys Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Gly
1910 1915 1920

Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr
1925 1930 1935

Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Thr Thr Thr Thr Ala
1940 1945 1950

Ala Ala Cys Ala Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr
1955 1960 1965

Cys Thr Cys Cys Thr Thr Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr
1970 1975 1980

Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Thr Thr
1985 1990 1995

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Cys Thr Ala Thr
2000 2005 2010

Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr Thr
2015 2020 2025

Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Ala Thr Gly
2030 2035 2040

Cys Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Ala Ala
2045 2050 2055

Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Ala Cys
2060 2065 2070

Cys Gly Gly Ala Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Thr Ala Gly Thr
2075 2080 2085

Thr Ala Cys Ala Ala Cys Ala Cys Thr Cys Ala Gly Ala Cys Ala
2090 2095 2100

Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
2105 2110 2115

Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Gly Cys Ala
2120 2125 2130

Gly Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Cys Ala Ala
2135 2140 2145

Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr Cys Ala Thr Ala
2150 2155 2160

Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys
2165 2170 2175

Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Ala Ala Gly
2180 2185 2190

Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys
2195 2200 2205

Gly Cys Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Ala
2210 2215 2220

Thr Gly Thr Thr Gly Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys
2225 2230 2235

Ala Thr Cys Ala Thr Cys Gly Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Thr
2240 2245 2250

Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Thr
2255 2260 2265

Thr Cys Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Ala Cys Gly Cys Thr Cys
2270 2275 2280

Gly Thr Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys
2285 2290 2295

Gly Gly Cys Cys Cys Gly Cys Thr Ala Ala Cys Gly Cys Gly Gly
2300 2305 2310

Ala Gly Ala Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Cys Thr
2315 2320 2325

Thr Cys Gly Gly Gly Thr Ala Ala Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly
2330 2335 2340

Thr Cys Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala
2345 2350 2355

Cys Cys Gly Cys Gly Cys Ala Cys Ala Gly Ala Ala Gly Cys Thr
2360 2365 2370

Cys Thr Cys Thr Cys Ala Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Ala
2375 2380 2385

Gly Cys Gly Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly
2390 2395 2400

Cys Ala Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly
2405 2410 2415

Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Ala
2420 2425 2430

Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Cys Gly Gly Cys
2435 2440 2445

Thr Thr Ala Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Gly
2450 2455 2460

Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr Thr Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly
2465 2470 2475

Thr Thr Thr Cys Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Ala Ala Ala Cys
2480 2485 2490

Ala Ala Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Thr
2495 2500 2505

Thr Cys Cys Ala Thr Gly Cys Cys Gly Cys Thr Gly Ala Thr Gly
2510 2515 2520

Cys Gly Gly Cys Ala Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala
2525 2530 2535

Ala Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Thr Gly
2540 2545 2550

Thr Thr Ala Thr Ala Cys Ala Thr Gly Thr Gly Thr Ala Thr Ala
2555 2560 2565

Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys Ala
2570 2575 2580

Ala Ala Ala Ala Thr Ala Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Thr Thr
2585 2590 2595

Ala Ala Ala Ala Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly
2600 2605 2610

Ala Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala
2615 2620 2625

Cys Ala Cys Gly Thr Ala Ala Thr Cys Ala Ala Thr Ala Thr Cys
2630 2635 2640

Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Gly Ala Ala Gly Ala
2645 2650 2655

Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Ala Thr
2660 2665 2670

Cys Cys Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala
2675 2680 2685

Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr
2690 2695 2700

Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Thr Thr Cys
2705 2710 2715

Cys Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Thr
2720 2725 2730

Cys Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly
2735 2740 2745

Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Cys
2750 2755 2760

Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Thr Gly Gly
2765 2770 2775

Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Cys Gly Gly
2780 2785 2790

Thr Cys Ala Thr Thr Thr Cys Gly Ala Ala Cys Cys Cys Cys Ala
2795 2800 2805

Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Gly Ala Ala
2810 2815 2820

Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly
2825 2830 2835

Gly Cys Gly Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Ala Thr
2840 2845 2850

Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Thr Cys Gly Gly Gly
2855 2860 2865

Ala Gly Cys Gly Gly Cys Gly Ala Thr Ala Cys Cys Gly Thr Ala
2870 2875 2880

Ala Ala Gly Cys Ala Cys Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Gly
2885 2890 2895

Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Gly Cys Cys
2900 2905 2910

Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys
2915 2920 2925

Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Cys
2930 2935 2940

Cys Ala Ala Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly
2945 2950 2955

Ala Thr Ala Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys Cys Ala Cys
2960 2965 2970

Ala Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala
2975 2980 2985

Gly Thr Cys Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala
2990 2995 3000

Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Ala Thr Thr Thr Thr Cys
3005 3010 3015

Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Ala Thr Thr Cys Gly Gly
3020 3025 3030

Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys
3035 3040 3045

Ala Thr Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Gly Ala Cys Gly Ala Gly
3050 3055 3060

Ala Thr Cys Cys Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly
3065 3070 3075

Cys Ala Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly
3080 3085 3090

Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly Ala Ala Cys Ala Gly Thr Thr Cys
3095 3100 3105

Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Cys Cys Cys
3110 3115 3120

Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys
3125 3130 3135

Cys Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys
3140 3145 3150

Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr Cys
3155 3160 3165

Cys Ala Thr Cys Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Cys
3170 3175 3180

Thr Cys Gly Cys Thr Cys Gly Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Gly
3185 3190 3195

Thr Thr Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Cys
3200 3205 3210

Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Ala Gly Cys
3215 3220 3225

Cys Gly Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly Cys Gly Thr Ala Thr Gly
3230 3235 3240

Cys Ala Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Cys
3245 3250 3255

Ala Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
3260 3265 3270

Thr Ala Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly
3275 3280 3285

Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Ala
3290 3295 3300

Cys Ala Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys
3305 3310 3315

Cys Gly Gly Cys Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Ala
3320 3325 3330

Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Thr
3335 3340 3345

Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys
3350 3355 3360

Ala Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys
3365 3370 3375

Thr Gly Cys Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Cys
3380 3385 3390

Cys Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala
3395 3400 3405

Cys Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys
3410 3415 3420

Cys Thr Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys
3425 3430 3435

Ala Thr Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Ala
3440 3445 3450

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Cys
3455 3460 3465

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly
3470 3475 3480

Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly
3485 3490 3495

Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys
3500 3505 3510

Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Ala Thr
3515 3520 3525

Thr Gly Thr Cys Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Cys Cys Cys Ala
3530 3535 3540

Gly Thr Cys Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Ala Ala Thr Ala Gly
3545 3550 3555

Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Cys
3560 3565 3570

Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys
3575 3580 3585

Gly Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Gly
3590 3595 3600

Thr Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala
3605 3610 3615

Cys Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Thr
3620 3625 3630

Cys Thr Cys Thr Thr Gly Ala Thr Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
3635 3640 3645

Thr Gly Ala Thr Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala
3650 3655 3660

Thr Cys Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Thr Gly Gly Cys Gly Gly
3665 3670 3675

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Ala
3680 3685 3690

Gly Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly
3695 3700 3705

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Ala Cys Cys
3710 3715 3720

Ala Gly Ala Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys
3725 3730 3735

Thr Gly Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys
3740 3745 3750

Gly Cys Thr Thr Gly Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Thr Ala Ala
3755 3760 3765

Ala Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Gly
3770 3775 3780

Cys Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Gly
3785 3790 3795

Cys Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Ala Cys
3800 3805 3810

Cys Thr Gly Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Gly Cys
3815 3820 3825

Gly Cys Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Cys Cys Cys Thr
3830 3835 3840

Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Cys Ala
3845 3850 3855

Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr
3860 3865 3870

Cys Cys Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly
3875 3880 3885

Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys
3890 3895 3900

Thr Thr Thr Cys Thr Ala Cys Gly Thr Gly Thr Thr Cys Cys Gly
3905 3910 3915

Cys Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys
3920 3925 3930

Cys Thr Thr Gly Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Gly
3935 3940 3945

Cys Thr Thr Gly Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Ala
3950 3955 3960

Ala Gly Cys Thr Ala Cys Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Thr Gly
3965 3970 3975

Ala Thr Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Ala Thr Cys Gly Cys
3980 3985 3990

Thr Gly Ala Ala Thr Ala Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Thr Gly
3995 4000 4005

Thr Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Gly
4010 4015 4020

Cys Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly Thr
4025 4030 4035

Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr
4040 4045 4050

Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys
4055 4060 4065

Ala Cys Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
4070 4075 4080

Ala Ala Thr Gly Gly Gly Gly Gly Thr Ala Ala Ala Thr Gly Gly
4085 4090 4095

Cys Ala Cys Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr
4100 4105 4110

Thr Thr Ala Thr Gly Gly Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Cys Ala
4115 4120 4125

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Cys Cys Ala Thr Ala
4130 4135 4140

Ala Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys
4145 4150 4155

Gly Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Ala
4160 4165 4170

Gly Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly Gly Cys Gly
4175 4180 4185

Gly Gly Thr Cys Thr Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Gly Gly Thr
 4190 4195 4200

Gly Cys Thr Ala Thr Cys Thr Gly Ala Cys Thr Thr Thr Thr Thr
 4205 4210 4215

Gly Cys Thr Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys
 4220 4225 4230

Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Thr Thr Thr
 4235 4240 4245

Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Thr
 4250 4255 4260

Cys Gly Gly Ala Thr Thr Ala Thr Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala
 4265 4270 4275

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Gly Ala Cys Thr
 4280 4285 4290

Gly Gly Cys Thr Ala Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Cys Ala Gly
 4295 4300 4305

Thr Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr Ala Thr Cys
 4310 4315 4320

Ala Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Thr Ala Cys Cys
 4325 4330 4335

Cys Gly Thr Cys Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Gly Ala Ala
 4340 4345 4350

Gly Ala Cys Gly Thr Gly Cys Gly Thr Ala Ala Cys Gly Thr Ala
 4355 4360 4365

Thr Gly Cys Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Cys Cys Ala
 4370 4375 4380

Thr Gly Cys Gly Ala Gly Ala Gly Thr Ala Gly Gly Gly Ala Ala
 4385 4390 4395

Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 4400 4405 4410

Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Ala Ala Gly Gly Cys Thr Cys
 4415 4420 4425

Ala Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly Gly
 4430 4435 4440

Cys Cys Thr Thr Thr Cys Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Cys Thr
 4445 4450 4455

Gly Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly Thr Cys Gly Gly Thr Gly Ala
 4460 4465 4470

Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 4475 4480 4485

Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly
 4490 4495 4500

Gly Ala Gly Cys Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Ala Ala Cys Gly
 4505 4510 4515

Thr Thr Gly Cys Gly Ala Ala Gly Cys Ala Ala Cys Gly Gly Cys
 4520 4525 4530

Cys Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 4535 4540 4545

Cys Ala Gly Gly Ala Cys Gly Cys Cys Cys Gly Cys Cys Ala Thr
4550 4555 4560

Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys
4565 4570 4575

Ala Ala Ala Thr Thr Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly
4580 4585 4590

Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Gly Ala Thr Gly
4595 4600 4605

Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys
4610 4615 4620

Thr Ala Cys Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Thr Thr Thr Gly Thr
4625 4630 4635

Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Ala
4640 4645 4650

Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys
4655 4660 4665

Gly Thr Cys Gly Thr Ala Cys Thr Thr Ala Ala Cys Thr Thr Thr
4670 4675 4680

Thr Ala Ala Ala Gly Thr Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala Ala Thr
4685 4690 4695

Cys Ala Ala Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Thr Thr Ala
4700 4705 4710

Ala Ala Ala Thr Thr Gly Cys Thr Thr Thr Ala Gly Ala Ala Ala
4715 4720 4725

Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr
4730 4735 4740

Thr Thr Gly Thr Thr Gly Thr Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Thr
4745 4750 4755

Thr Cys Ala Thr Thr Thr Gly Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Gly
4760 4765 4770

Thr Thr Ala Ala Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly Ala
4775 4780 4785

Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala Cys
4790 4795 4800

Ala Gly Cys Cys Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Gly
4805 4810 4815

Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys
4820 4825 4830

Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Ala Thr Gly
4835 4840 4845

Cys Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Ala Ala Ala Cys Ala Thr Thr
4850 4855 4860

Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Thr Gly Gly
4865 4870 4875

Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Gly Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly
4880 4885 4890

Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Thr Thr Thr Gly Cys Thr Ala
4895 4900 4905

Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Gly Ala Thr
4910 4915 4920

Ala Ala Thr Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys Thr Ala Gly Ala Gly
4925 4930 4935

Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Ala Ala Thr Gly
4940 4945 4950

Gly Thr Ala Thr Gly Thr Thr Cys Ala Thr Ala Cys Ala Cys Gly
4955 4960 4965

Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Ala Ala Ala Thr Ala Ala Ala Cys
4970 4975 4980

Thr Ala Thr Cys Thr Ala Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr Gly Thr
4985 4990 4995

Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Gly Thr Gly
5000 5005 5010

Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Ala Ala Gly Cys Ala Thr Thr Cys
5015 5020 5025

Cys Gly Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Thr Ala Thr Thr Ala Gly
5030 5035 5040

Cys Ala Gly Thr Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Gly Ala
5045 5050 5055

Ala Ala Cys Thr Ala Ala Ala Cys Cys Cys Ala Gly Thr Gly Ala
5060 5065 5070

Thr Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Thr
5075 5080 5085

Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala
5090 5095 5100

Cys Ala Thr Thr Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr
5105 5110 5115

Thr Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr
5120 5125 5130

Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala Thr Thr Cys Cys
5135 5140 5145

Ala Ala Thr Thr Ala Ala Thr Cys Gly Gly Thr Gly Ala Ala Thr
5150 5155 5160

Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Gly Thr Thr Ala Gly Ala Ala Thr
5165 5170 5175

Ala Ala Thr Cys Thr Ala Cys Thr Ala Thr Ala Gly Gly Ala Thr
5180 5185 5190

Cys Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ala Ala Thr
5195 5200 5205

Thr Ala Gly Cys Gly Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Ala Ala Thr
5210 5215 5220

Ala Thr Thr Gly Cys Cys Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr Thr Thr
5225 5230 5235

Thr Ala Gly Gly Gly Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Cys Cys Ala
5240 5245 5250

Gly Ala Ala Thr Thr Gly Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly
5255 5260 5265

Ala Thr Thr Thr Ala Ala Cys Cys Ala Thr Ala Gly Ala Ala Thr
5270 5275 5280

Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Ala Thr Cys Gly
5285 5290 5295

Cys Gly Ala Gly Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr
5300 5305 5310

Cys Ala Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Cys Cys Ala Thr Thr Thr
5315 5320 5325

Thr Ala Gly Thr Cys Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Thr Ala
5330 5335 5340

Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Ala Thr Thr Ala Ala Thr Ala Thr
5345 5350 5355

Cys Ala Thr Thr Ala Thr Thr Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala Cys
5360 5365 5370

Ala Gly Gly Cys Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Thr Thr Ala Thr
5375 5380 5385

Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Thr Cys Thr Gly Thr Ala Ala Gly
5390 5395 5400

Thr Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Cys Ala Thr Thr Thr Ala
5405 5410 5415

Thr Gly Thr Cys Thr Thr Thr Cys Ala Thr Ala Cys Cys Cys Ala
5420 5425 5430

Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Ala Thr Cys Cys Thr Thr Ala Cys
5435 5440 5445

Cys Thr Ala Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly Thr Cys Gly Cys Ala
5450 5455 5460

Ala Gly Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Thr Gly Thr Thr Ala Thr
5465 5470 5475

Ala Thr Ala Thr Cys Ala Thr Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Gly
5480 5485 5490

Thr Ala Ala Thr Ala Gly Ala Thr Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr
5495 5500 5505

Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala Ala Thr Ala Ala Ala Thr Thr
5510 5515 5520

Gly Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Cys Ala Cys
5525 5530 5535

Thr Ala Thr Thr Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Ala
5540 5545 5550

Ala Ala Thr Ala Cys Ala Ala Thr Thr Gly Thr Thr Thr Ala Ala
5555 5560 5565

Cys Ala Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Cys Thr Gly Thr Ala Gly
5570 5575 5580

Gly Ala Thr Cys Gly Thr Ala Cys Ala Gly Gly Thr Thr Thr Ala
5585 5590 5595

Cys Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly Gly Thr Thr
5600 5605 5610

Thr Gly Thr Thr Ala Thr Ala Gly Thr Cys Gly Ala Thr Thr Ala
5615 5620 5625

Ala Thr Cys Gly Ala Thr Thr Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala
5630 5635 5640

Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Thr Thr Thr Ala Ala Cys Thr Ala
5645 5650 5655

Ala Thr Thr Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Thr Ala
5660 5665 5670

Ala Cys Ala Thr Ala Thr Gly Ala Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys
5675 5680 5685

Ala Cys Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Ala
5690 5695 5700

Gly Ala Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala
5705 5710 5715

Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly
5720 5725 5730

Thr Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Thr Gly Ala Ala Cys Cys
5735 5740 5745

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Ala Cys Ala Thr Gly Thr Cys
5750 5755 5760

Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Cys Thr Ala Cys
5765 5770 5775

Thr Ala Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr
5780 5785 5790

Ala Thr Gly Thr Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Gly
5795 5800 5805

Cys Cys Cys Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Thr
5810 5815 5820

Gly Gly Ala Thr Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Ala
5825 5830 5835

Ala Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Cys Thr Thr
5840 5845 5850

Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Gly
5855 5860 5865

Thr Gly Ala Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys
5870 5875 5880

Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Thr
5885 5890 5895

Cys Gly Cys Cys Gly Gly Cys Ala Ala Cys Ala Gly Thr Ala Cys
5900 5905 5910

Gly Ala Cys Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Cys Gly Cys Thr Gly
5915 5920 5925

Cys Gly Cys Gly Thr Gly Cys Ala Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly
5930 5935 5940

Gly Thr Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Ala
5945 5950 5955

Gly Gly Ala Cys Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly
5960 5965 5970

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Ala Cys Ala Cys Cys Gly Ala
5975 5980 5985

Gly Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys Thr
5990 5995 6000

Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys
6005 6010 6015

Gly Thr Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala
6020 6025 6030

Gly Gly Ala Cys Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala
6035 6040 6045

Ala Cys Cys Thr Thr Gly Cys Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
6050 6055 6060

Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys
6065 6070 6075

Cys Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Ala
6080 6085 6090

Cys Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Cys Cys Thr Gly
6095 6100 6105

Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Thr
6110 6115 6120

Cys Cys Thr Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Gly Thr
6125 6130 6135

Ala Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Ala Cys
6140 6145 6150

Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Ala Thr Gly Thr
6155 6160 6165

Gly Gly Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys Thr Thr Cys
6170 6175 6180

Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Thr Ala Gly Ala Ala Ala
6185 6190 6195

Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Cys
6200 6205 6210

Cys Cys Ala Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala
6215 6220 6225

Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Ala Cys Ala Cys Ala Thr Gly
6230 6235 6240

Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys
6245 6250 6255

Thr Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly
6260 6265 6270

Gly Gly Gly Ala Cys Cys Gly Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Thr
6275 6280 6285

Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Cys Ala Ala Ala
6290 6295 6300

Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr
6305 6310 6315

Cys Ala Thr Gly Ala Thr Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys
6320 6325 6330

Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Ala Thr Gly
6335 6340 6345

Cys Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Thr
6350 6355 6360

Gly Ala Gly Cys Cys Ala Cys Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Cys
6365 6370 6375

Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Ala
6380 6385 6390

Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Gly
6395 6400 6405

Cys Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Thr Ala Ala
6410 6415 6420

Thr Gly Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Ala Ala Ala Gly Cys Cys
6425 6430 6435

Gly Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Ala
6440 6445 6450

Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala Cys Gly Thr Ala Cys Cys Gly
6455 6460 6465

Thr Gly Thr Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Gly Thr Cys Cys Thr
6470 6475 6480

Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Cys Ala
6485 6490 6495

Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Thr Gly Gly
6500 6505 6510

Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Thr Ala Cys Ala Ala Gly Thr Gly
6515 6520 6525

Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala
6530 6535 6540

Ala Gly Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys
6545 6550 6555

Cys Ala Thr Cys Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr
6560 6565 6570

Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Ala Ala Gly Gly
6575 6580 6585

Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys
6590 6595 6600

Ala Cys Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr
6605 6610 6615

Gly Cys Cys Cys Cys Cys Ala Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala
6620 6625 6630

Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala
6635 6640 6645

Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Ala Cys
6650 6655 6660

Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Ala Ala Gly Gly
6665 6670 6675

Cys Thr Thr Cys Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala
6680 6685 6690

Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly
6695 6700 6705

Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala
6710 6715 6720

Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Ala Ala Cys Thr Ala
6725 6730 6735

Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys
6740 6745 6750

Cys Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala
6755 6760 6765

Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys Cys Thr
6770 6775 6780

Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Ala Cys
6785 6790 6795

Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly
6800 6805 6810

Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Ala
6815 6820 6825

Cys Gly Thr Cys Thr Thr Cys Thr Cys Ala Thr Gly Cys Thr Cys
6830 6835 6840

Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Gly Cys
6845 6850 6855

Thr Cys Thr Gly Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Thr Ala
6860 6865 6870

Cys Ala Cys Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Ala Gly Cys Cys Thr
6875 6880 6885

Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Gly
6890 6895 6900

Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly
6905 6910 6915

Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala
6920 6925 6930

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly
6935 6940 6945

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Thr Gly Ala Gly Thr Thr
6950 6955 6960

Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys
6965 6970 6975

Thr Gly Ala Gly Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Ala Gly Cys
6980 6985 6990

Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly Gly Gly Gly Cys
6995 7000 7005

Cys Thr Cys Thr Ala Ala Ala Cys Gly Gly Gly Thr Cys Thr Thr
7010 7015 7020

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Thr Thr Thr Thr Thr Gly Cys Thr
7025 7030 7035

Gly Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Cys Cys Gly Cys
7040 7045 7050

Thr Cys Thr Thr Cys Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Ala
7055 7060 7065

Cys Gly Cys Gly Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Gly Thr
7070 7075 7080

Ala Ala Cys Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly
7085 7090 7095

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys
7100 7105 7110

Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr
7115 7120 7125

Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Cys Gly Gly Thr Thr
7130 7135 7140

Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr
7145 7150 7155

Thr Thr Ala Thr Thr Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Ala Thr Cys
7160 7165 7170

Gly Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Gly Thr Cys Gly Cys
7175 7180 7185

Gly Cys Cys Ala Ala Thr Cys Gly Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly
7190 7195 7200

Thr Cys Gly Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Cys Gly Ala Cys Cys
7205 7210 7215

Cys Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala
7220 7225 7230

Gly Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly
7235 7240 7245

Ala Ala Cys Thr Thr Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly
7250 7255 7260

Thr Cys Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly
7265 7270 7275

Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly
7280 7285

<210> 29

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 29

Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala
1 5 10

<210> 30

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 30

Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu
1 5 10

<210> 31

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 31

Val	Pro	Phe	Cys	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	His	Cys	Phe	Glu	Ala
1				5					10				

<210> 32

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 32

Gly	Ser	Arg	Cys	Lys	Tyr	Lys	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Phe
1				5				10					15		

His His

<210> 33

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 33

Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Val	Cys	Asp
1				5				10					15		

Pro Leu

<210> 34

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 34

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

Ser Ser

<210> 35

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 35

Ser	Asp	Asp	Cys	Met	Tyr	Asp	Gln	Leu	Thr	Arg	Met	Phe	Ile	Cys	Ser
1			5					10					15		

Asn Leu

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 36

Asp	Leu	Asn	Cys	Lys	Tyr	Asp	Glu	Leu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Trp	Cys	Gln
1			5					10					15		

Phe Asn

<210> 37
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 37

Phe	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Leu	Leu	Thr	Arg	Gln	Met	Val	Cys	His
1				5					10					15	

Gly Leu

<210> 38
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 38

Arg	Asn	His	Cys	Phe	Trp	Asp	His	Leu	Leu	Lys	Gln	Asp	Ile	Cys	Pro
1				5					10					15	

Ser Pro

<210> 39
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 39

Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys Glu
1 5 10 15

Phe Phe

<210> 40
<211> 8
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚甘氨酸接头

<400> 40
gggkgggg 8

<210> 41
<211> 8
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚甘氨酸接头

<220>
<221> misc_特征
<222> (4)..(4)
<223> N 是天冬酰胺

<400> 41
gggnsggg 8

<210> 42
<211> 8
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚甘氨酸接头

<400> 42
gggcgggg 8

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚甘氨酸接头

<400> 43

Gly Pro Asn Gly Gly
1 5

<210> 44
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>
<221> misc_特征
<222> (19)..(19)
<223> Xaa = 肽键
Fc 结构域在第 19 位与 C 末端连接

<400> 44

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu Xaa

<210> 45
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 肽键

Fc 结构域在第 1 位与 N 末端连接

<400> 45

Xaa	Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Val	Cys
1				5				10						15	

Asp Pro Leu

<210> 46

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (19)..(19)

<223> Xaa = 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (38)..(38)

<223> Xaa = 肽键

Fc 结构域在第 38 位与 C 末端连接

<400> 46

Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Val	Cys	Asp
1				5				10						15	

Pro	Leu	Xaa	Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp
			20					25						30	

Val Cys Asp Pro Leu Xaa
35

<210> 47
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>
<221> misc_特征
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 肽键
Fc 结构域在第 1 位与 N 末端连接

<220>
<221> misc_特征
<222> (20)..(20)
<223> Xaa = 肽键

<400> 47

Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

Asp Pro Leu Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
20 25 30

Trp Val Cys Asp Pro Leu
35

<210> 48
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>

<221> misc_特征
<222> (19)..(19)
<223> Xaa = 肽键
Fc 结构域在第 19 位与 C 末端连接

<400> 48

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

Ser Ser Xaa

<210> 49
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>
<221> misc_特征
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 肽键
Fc 结构域在第 1 位与 N 末端连接

<400> 49

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15

Thr Ser Ser

<210> 50
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (36)..(36)

<223> Xaa = 肽键

Fc 结构域在第 36 位与 C 末端连接

<400> 50

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

Ser	Xaa	Ser	Ala	Asp	Cys	Tyr	Phe	Asp	Ile	Leu	Thr	Lys	Ser	Asp	Val
		20						25					30		

Thr	Ser	Ser	Xaa
			35

<210> 51

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 肽键

Fc 结构域在第 1 位与 N 末端连接

<220>

<221> misc_特征

<222> (19)..(19)

<223> Xaa = 肽键

<400> 51

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr
1 5 10 15

Ser Ser Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp
20 25 30

Val Thr Ser Ser
35

<210> 52
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>
<221> misc_特征
<222> (19)..(19)
<223> Xaa = 肽键
Fc 结构域在第 19 位与 C 末端连接

<400> 52

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
1 5 10 15

Gly Leu Xaa

<210> 53
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽键

<220>
<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 肽键

Fc 结构域在第 1 位与 N 末端连接

<400> 53

Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys

1

5

10

15

His Gly Leu

<210> 54

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (19)..(19)

<223> Xaa = 肽键

<220>

<221> misc_特征

<222> (38)..(38)

<223> Xaa = 肽键

Fc 结构域在第 38 位与 C 末端连接

<400> 54

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His

1

5

10

15

Gly Leu Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp

20

25

30

Val Cys His Gly Leu Xaa

35

<210> 55
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 肽键

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = 肽键
 Fc 结构域在第 1 位与 N 末端连接

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa = 肽键

<400> 55

Xaa	Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Cys
1				5				10					15		

His	Gly	Leu	Xaa	Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln
		20					25					30			

Trp	Val	Cys	His	Gly	Leu
		35			

<210> 56
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 寡核苷酸

<400> 56
 cggcgcaact atcggtatca agctg

25

<210> 57
 <211> 26

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 57
catgtaccgt aacactgagt ttcgtc

26

<210> 58
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有肽

<400> 58

Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Cys	His
1				5					10					15	

Gly Leu

<210> 59
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的接头序列

<400> 59

Gly	Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Thr	Ala	Ser	Ser	Gly
1				5					10					15	

Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	His	Met
				20		

<210> 60
<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 60

Asn	Gln	Thr	Leu	Trp	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Phe	Ile	Thr
1				5				10						15	

Tyr Met

<210> 61

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 61

Pro	Val	Tyr	Gln	Gly	Trp	Trp	Asp	Thr	Leu	Thr	Lys	Leu	Tyr	Ile	Trp
1				5					10					15	

Asp Gly

<210> 62

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 62

Trp	Leu	Asp	Gly	Gly	Trp	Arg	Asp	Pro	Leu	Ile	Lys	Arg	Ser	Val	Gln
1				5					10					15	

Leu Gly

<210> 63
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 63

Gly	His	Gln	Gln	Phe	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Gln
1				5				10						15	

Ser Asn

<210> 64
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 64

Gln	Arg	Val	Gly	Gln	Phe	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Met	Phe	Ile	Thr
1				5					10					15	

Gly Ser

<210> 65
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 65

Gln Ala Gln Gly Trp Ser Tyr Asp Ala Leu Ile Lys Thr Trp Ile Arg
1 5 10 15

Trp Pro

<210> 66

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 66

Gly Trp Met His Trp Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Ala Leu Pro
1 5 10 15

Trp Met

<210> 67

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 67

Gly His Pro Thr Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Leu
1 5 10 15

Gln Met

<210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 68

Trp Asn Asn Trp Ser Leu Trp Asp Pro Leu Thr Lys Leu Trp Leu Gln
1 5 10 15

Gln Asn

<210> 69

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 69

Trp Gln Trp Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
1 5 10 15

Gln Gln

<210> 70

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 70

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Thr Lys Met Trp Leu Gly
1 5 10 15

Thr Ser

<210> 71
<211> 62
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 71
tatgccgggt acttgtttcc cgttcccggtg ggaatgcact cacgctggtg gaggcggtgg 60
gg 62

<210> 72
<211> 64
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 72
togacccac cgcctcctgg agcgtgagtg cattcccacg ggaagccgaa acaagtaccc 60
ggca 64

<210> 73
<211> 62
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 73
tatgtgggggt gcttgttggc cgttcccggtg ggaatgtttc aaagaagggtg gaggcggtgg 60
gg 62

<210> 74
<211> 64

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 74
tcgacccac cgctccacc ttctttgaaa cattcccacg ggaacggcca acaagcaccc 60

caca 64

<210> 75
<211> 62
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 75
tatggttcg ttctgtgacc tgctgactaa acactgtttc gaagctggcg gaggcggtgg 60

gg 62

<210> 76
<211> 64
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 76
tcgacccac cgctccacc agcttcgaaa cagtgttttag tcagcaggtc acagaacgga 60

acca 64

<210> 77
<211> 74
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 77
tatgggttct cgttgtaaata acaaatggga cgttctgact aaacagtgtt tccaccacgg 60

tggaggcggg gggg 74

<210> 78
<211> 76
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 78
tcgacccac cgcctccacc gtggtggaaa cactgttttag tcagaacgtc ccatttgtat 60

ttacaacgag aaccca 76

<210> 79
<211> 74
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 79
tatgtgcgcg ggttgtaaata gggacctgct gatcaaacag tgggtttgtg acccgctggg 60

tggaggcggg gggg 74

<210> 80
<211> 76
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 80
tcgacccac cgcctccacc cagcgggtca caaacccact gtttgatcag caggctccat 60

ttacaaccgc gcagca 76

<210> 81
<211> 74
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 81
tatgtctgct gactgttact tcgacatcct gactaaatct gacgtttgta cttcttctgg 60
tggaggcggt gggg 74

<210> 82
<211> 76
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 82
tcgacccac cgctccacc agaagaagta caaacgtcag atttagtcag gatgtcgaag 60
taacagtcag cagaca 76

<210> 83
<211> 74
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 83
tatgtctgac gactgtatgt acgaccagct gactcgtatg ttcattctgtt ctaacctggg 60
tggaggcggt gggg 74

<210> 84
<211> 76
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 84

tcgacccac cgcctccacc caggtagaa cagatgaaca tacgagtcag ctggtcgtac 60

atacagtcgt cagaca 76

<210> 85

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 85

tatggacctg aactgtaa at acgacgaact gacttacaaa gaatggtgc agttcaacgg 60

tggaggcggg gggg 74

<210> 86

<211> 76

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 86

tcgacccac cgcctccacc gttgaactga caccattctt tgtaagtcag ttcgtcgtat 60

ttacagttca ggtcca 76

<210> 87

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 87

tatgttccac gactgtaa at acgacctgct gactcgtcag atggtttgc acggtctggg 60

tggaggcggg gggg 74

<210> 88
<211> 76
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 88
tcgacccac cgcctccacc cagaccgtga caaaccatct gacgagtcag caggtcgtat 60
ttacagtcgt ggaaca 76

<210> 89
<211> 74
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 89
tatgcgtaac cactgtttct gggaccacct gctgaaacag gacatctgtc cgtctccggg 60
tggaggcggg gggg 74

<210> 90
<211> 76
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 90
tcgacccac cgcctccacc cggagacgga cagatgtcct gtttcagcag gtggtcccag 60
aaacagtggg tacgca 76

<210> 91
<211> 74
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 91

tatggctaac cagtgttggg gggactctct gotgaaaaa aacgtttgtg aattcttcgg 60

tggaggcggg gggg 74

<210> 92

<211> 76

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 92

tcgacccac cgcctccacc gaagaattca caaacgtttt tttcagcag agagtccac 60

caacactggg tagcca 76

<210> 93

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 93

tatgttccac gactgcaaat gggacctgt gaccaaacag tgggtttgcc acggtctggg 60

tggaggcggg gggg 74

<210> 94

<211> 76

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 94

tcgacccac cgcctccacc cagaccgtgg caaacccact gtttggtcag caggteccat 60

ttgcagtcgt ggaaca 76

<210> 95

<211> 141

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> pAMG21-RANK-Fc 载体

<400> 95

ctaattccgc tctcacctac caaacaatgc cccctgcaa aaaataaatt catataaaaa 60

acatacagat aaccatctgc ggtgataaat tatctctggc ggtgttgaca taaataccac 120

tggcgggtgat actgagcaca t 141

<210> 96

<211> 55

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> pAMG21-RANK-Fc 载体

<400> 96

cgatttgatt ctagaaggag gaataacata tggttaacgc gttggaattc ggtac 55

<210> 97

<211> 1546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> pAMG21

<400> 97

gcgtaacgta tgcattgtct ccccatgca gagtagggaa ctgccaggca tcaaataaaa 60

cgaaggctc agtcgaaaga ctgggccttt cgttttatct gttgtttgtc ggtgaacgct 120

ctctgagta ggacaaatcc gccgggagcg gatttgaacg ttgcgaagca acggcccggga 180

gggtggcggg caggacgcc gccataaact gccaggcatc aaattaagca gaaggccatc 240

```

ctgacggatg gcctttttgc gtttctacaa actcttttgt ttatttttct aaatacattc 300
aaatatggac gtctactta acttttaaag tatgggcaat caattgctcc tgttaaaatt 360
gctttagaaa tactttggca gcggtttgtt gtattgagtt tcatttgcgc attggttaaa 420
tggaagtga ccgtgcgctt actacagcct aatatttttg aaatatccca agagcttttt 480
ccttcgatg cccacgctaa acattctttt tctcttttgg ttaaactggt gtttgattta 540
ttatttgcta tatttatttt tcgataatta tcaactagag aaggaacaat taatggtatg 600
ttcatacag catgtaaaaa taaactatct atatagttgt cttctctga atgtgcaaaa 660
ctaagcattc cgaagccatt attagcagta tgaataggga aactaaaccc agtgataaga 720
cctgatgatt tcgcttcttt aattacattt ggagattttt tatttacagc attgttttca 780
aatatatcc aattaatcgg tgaatgattg gagttagaat aatctactat aggatcatat 840
tttattaaat tagcgtcatc ataattttgc ctccattttt tagggtaatt atccagaatt 900
gaaatatcag atttaacat agaatgagga taaatgatcg cgagtaaata atattcacia 960
tgtaccattt tagtcatatc agataagcat tgattaatat cattattgct tctacaggct 1020
ttaattttat taattattct gtaagtgtcg tcggcattta tgtctttcat acccatctct 1080
ttatccttac ctattgtttg tcgcaagttt tgcgtgttat atatcattaa aacggtaata 1140
gattgacatt tgattctaata aaattggatt tttgtcacac tattatatcg cttgaaatac 1200
aatgttttaa cataagtacc tgtaggatcg tacaggttta cgcaagaaaa tggtttgta 1260
tagtcgatta atcgatttga ttctagattt gttttaacta attaaaggag gaataacata 1320
tggttaacgc gttggaattc gagctcacta gtgtcgacct gcagggtacc atggaagctt 1380
actcgaggat ccgcggaaag aagaagaaga agaagaaagc ccgaaaggaa gctgagttgg 1440
ctgtgccac cgctgagcaa taactagcat aacccttgg ggctctaaa cgggtcttga 1500
ggggtttttt gctgaaagga ggaaccgctc ttcacgctct tcacgc 1546

```

<210> 98

<211> 872

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GM221

<400> 98

```

ttattttcgt gcggccgcac cattatcacc gccagaggta aactagtcaa cacgcacggt      60
gtagatatt tatcccttgc ggtgatagat tgagcacatc gatttgattc tagaaggagg      120
gataatatat gaggacaaaa aagaaaccaa taacacaaga gcagcttgag gacgcacgtc      180
gccttaaagc aatttatgaa aaaaagaaaa atgaacttgg cttatcccag gaatctgtcg      240
cagacaagat ggggatgggg cagtcaggcg ttggtgcttt atttaatggc atcaatgcat      300
taaagtetta taacgcgcga ttgcttaca aaattctcaa agttagcgtt gaagaattta      360
gcccttcaat cgccagagaa tctacgagat gtatgaagcg gttagtatgc agccgtcact      420
tagaagttag tatgagtacc ctgttttttc tcatgttcag gcagggatgt tctacactaa      480
gettagaacc tttaccaaag gtgatgcgga gagatgggta agcacaacca aaaaagccag      540
tgattctgca ttctggcttg aggttgaagg taattocatg accgcaccaa caggctccaa      600
gccaagcttt cctgacggaa tgtaattct cgttgacct gagcaggctg ttgagccagg      660
tgatttctgc atagccagac ttgggggtga tgagtttacc ttcaagaaac tgatcaggga      720
tagcggtcag gtgtttttac aaccactaaa cccacagtac ccaatgatcc catgcaatga      780
gagttgttcc gttgtgggga aagttatgc tagtcagtgg cctgaagaga cgtttggctg      840
atagactagt ggatccacta gtgtttctgc cc                                     872

```

<210> 99

<211> 1197

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GM221

<400> 99

```

ggcggaaacc gacgtccatc gaatggtgca aaacctttcg cggatatggca tgatagcgcc      60

```

cggaagagag tcaattcagg gtggtgaatg tgaaccagt aacgttatac gatgtgcag 120
 agtatgccgg tgtctcttat cagaccgttt cccgcgtggt gaaccaggcc agccacgttt 180
 ctgcgaaaac gcgggaaaaa gtcgaagcgg cgatggcgga gctgaattac attccaacc 240
 gcgtggcaca acaactggcg ggcaaacagt cgtcctgat tggcgttgcc acctccagtc 300
 tggccctgca cgcgccgtcg caaattgtcg cgcgattaa atctgcgcc gatcaactgg 360
 gtgccagcgt ggtggtgtcg atggtagaac gaagcggcgt cgaagcctgt aaagcggcgg 420
 tgcacaatct tctgcgcaa cgcgtcagtg ggctgatcat taactatccg ctggatgacc 480
 aggatgccat tctgttgga gctgcctgca ctaatgttcc ggcgttattt ctgtatgtct 540
 ctgaccagac acccatcaac agtattattt tctcccatga agacggtacg cgactggcgg 600
 tggagcatct ggtgcattg ggtcaccage aaatcgcgct gttagcgggc ccattaagtt 660
 ctgtctcggc gcgtctcgt ctggctggct ggcataaata tctactcgc aatcaaattc 720
 agccgatagc ggaacgggaa ggcgactgga gtgccatgtc cggttttcaa caaaccatgc 780
 aaatgctgaa tgagggcac gttccactg cgatgctggt tgccaacgat cagatggcgc 840
 tgggcgcaat gcgcgccatt accgagtcgg ggctgcgcgt tggcgggat atctcggtag 900
 tgggatacga cgataccgaa gacagctcat gttatatccc gccgttaacc accatcaaac 960
 aggattttcg cctgctgggg caaacccagc tggaccgctt gctgcaactc tctcagggcc 1020
 aggcggtgaa gggcaatcag ctgttgcccg tctactggt gaaaagaaaa accaccctgg 1080
 cgccaatac gcaaaccgcc tctcccgcg cgttgccga ttcattaatg cagctggcac 1140
 gacaggtttc ccgactggaa agcggacagt aaggtacat aggatccagg cacagga 1197

<210> 100

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1, 2, 3, 13)..(14)
 <223> Xaa (Pos1, 2, 3, 13, 14)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa (Pos6)是氨基酸残基; Xaa (Pos9)是碱性或疏水残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa (Pos12)是中性疏水残基.

<400> 100

Xaa Xaa Xaa Cys Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 101
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> TALL-1 调节剂

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1, 2, 3, 12 和)..(13)
 <223> Xaa (Pos1, 2, 3, 12, 13)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (5 and)..(8)
 <223> Xaa (Pos5, 8)是中性疏水残基; Xaa (Pos 10)是酸性残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa (Pos14)是缺失的或是氨基酸残基.

<400> 101

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Phe Xaa Trp Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 102
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> TALL-1 调节剂

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1, 2, 3, 12, 13 和).. (14)
 <223> Xaa (Pos1, 2, 3, 12, 13, 14) 各自独立地是缺失的和是氨基酸残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (6 和).. (7)
 <223> Xaa (Pos6, 7) 是疏水残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (10).. (10)
 <223> Xaa (Pos10) 是酸性和极性疏水残基.

<400> 102

Xaa Xaa Xaa Cys Trp Xaa Xaa Trp Gly Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 103
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> TALL-1 调节剂

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1).. (1)
 <223> Xaa (Pos1) 是缺失的或是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (2 和).. (14)

<223> Xaa (Pos2, 14)是中性的疏水残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (3 和).. (10)

<223> Xaa (Pos3, 10)是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (5, 6, 7, 8, 12 和).. (13)

<223> Xaa (Pos5, 6, 7, 8, 12, 13)各自独立地是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (9).. (9)

<223> Xaa (Pos9)是酸性残基.

<400> 103

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Xaa	Xaa
1				5					10				

<210> 104

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<220>

<221> misc_特征

<222> (1, 2, 12, 13, 16, 17 和).. (18)

<223> Xaa (Pos1, 2, 12, 13, 16, 17, 18)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (3).. (3)

<223> Xaa (Pos3)是酸性或酰胺残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (5 and).. (8)

<223> Xaa (Pos5, 8)是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (6)..(6)

<223> Xaa (Pos6)是芳族残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (11)..(11)

<223> Xaa (Pos11)是碱基残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (14)..(14)

<223> Xaa (Pos14)是中性疏水残基.

<400> 104

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Xaa	Asp	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa
1				5					10					15	

Xaa Xaa

<210> 105

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<220>

<221> misc_特征

<222> (1, 2 和)..(3)

<223> Xaa (Pos1, 2, 3)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (5, 7, 14 和)..(16)

<223> Xaa (Pos5, 7, 14, 16)是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa (Pos10)是碱性残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (11 和)..(12)

<223> Xaa (Pos11, 12) 各自独立地是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (13 和)..(17)

<223> Xaa (Pos13, 17)是中性疏水残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (18)..(18)

<223> Xaa (Pos18)是氨基酸残基和是缺失的.

<400> 105

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Asp	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa
1				5				10						15	

Xaa Xaa

<210> 106

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<220>

<221> misc_特征

<222> (1, 2, 3, 16, 17 和)..(18)

<223> Xaa (Pos1, 2, 3, 16, 17, 18)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;

<220>

<221> misc_特征

<222> (5, 6, 7, 10 和)..(14)

<223> Xaa (Pos5, 6, 7, 10, 14)各自独立地是氨基酸残基.

<400> 106

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Trp Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 107
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> TALL-1 调节剂

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1, 2, 3, 15, 16, 17).. (18)
 <223> Xaa (Pos1, 2, 3, 15, 16, 17, 18)各自独立地是缺失的或是氨基酸残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (5, 6, 7, 9和).. (13)
 <223> Xaa (Pos 5, 6, 7, 9 13) 各自独立地是氨基酸残基;

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (11).. (11)
 <223> Xaa (Pos 11)是 T 或 I; 和

<400> 107

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Leu Xaa Lys Xaa Cys Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 108
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> (Pos 2)的 X 是氨基酸残基

<220>

<221> misc_特征

<222> (4)..(4)

<223> (Pos 4)的 X 是苏氨酰或异亮氨酰

<400> 108

Asp Xaa Leu Xaa

I

<210> 109

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<220>

<221> misc_特征

<222> (1, 2 和)..(3)

<223> X at (Pos 1, 2, 3)是缺失的或是氨基酸残基(当 X12、X13 和 X14 中的一个为 C 时, X1、X2 和 X3 中的一个优选是 C);

<220>

<221> misc_特征

<222> (5)..(5)

<223> (Pos 5)的 X 是 W, Y, 或 F (优选 W);

<220>

<221> misc_特征

<222> (7)..(7)

<223> (Pos 7)的 X 是氨基酸残基(优选 L);

<220>

<221> misc_特征

<222> (9)..(9)

<223> (Pos 9)的X是T或I (优选T);

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> (Pos 10)的X是K, R, 或H (优选K).

<220>

<221> misc_特征

<222> (12)..(12)

<223> at (Pos 12)的X是C, 中性疏水残基或碱基残基(优选W, C, 或R);

<220>

<221> misc_特征

<222> (13)..(13)

<223> (Post 13)的X是C, 中性疏水残基或是缺失的(优选V);

<220>

<221> misc_特征

<222> (14)..(14)

<223> (Pos 14)是X是任意氨基酸残基或是缺失的.

<400> 109

Xaa	Xaa	Xaa	Lys	Xaa	Asp	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Gln	Xaa	Xaa	Xaa
1				5						10			

<210> 110

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 调节剂

<400> 110

Pro	Phe	Pro	Trp	Glu
1			5	

<210> 111

<211> 248

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 111

Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
20 25 30

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

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

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

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 112

<211> 248

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 112

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
20 25 30

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

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

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

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 113

<211> 248

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 113

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
20 25 30

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

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

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

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 114

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 114

Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
1 5 10 15

Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 115
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 115

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 116
<211> 252
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 116

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 117

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 117

Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
1 5 10 15

Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 118

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 118

Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
1 5 10 15

Gln Phe Asn Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 119

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 119

Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 120

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 120

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1 5 10 15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 121

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 121

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys
 1 5 10 15

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 122

<211> 252

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 122

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 123

<211> 293

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 123

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp
35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys
290

<210> 124
<211> 293
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TALL-1 抑制性肽体

<400> 124

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Phe His Asp Cys Lys Trp
35 40 45

Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His Gly Leu Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys
290

<210> 125

<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有序列

<220>
<221> misc_特征
<222> (1, 2 和).. (3)
<223> (Pos 1, 2, 3)的 X 是缺失的或是氨基酸残基(当 X12、X13 和 X14 中的一个为 C 时, X1、X2 和 X3 中的一个为 C);

<220>
<221> misc_特征
<222> (7).. (7)
<223> (Pos 7)的 X 是氨基酸残基(优选 L);

<220>
<221> misc_特征
<222> (9).. (9)
<223> (Pos 9)的 X 是 T 或 I (优选 T);

<220>
<221> misc_特征
<222> (12).. (12)
<223> (Pos 12)的 X 是 C, 中性疏水残基, 或碱性残基(优选 W, C, 或 R);

<220>
<221> misc_特征
<222> (13).. (13)
<223> (Pos 13)的 X 是 C, 中性疏水残基或是缺失的(优选 V);

<220>
<221> misc_特征
<222> (14).. (14)
<223> (Pos 14)的 X 是任意氨基酸残基或是缺失的.

<400> 125

Xaa Xaa Xaa Lys Trp Asp Xaa Leu Xaa Lys Gln Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 126
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 126

Tyr Lys Gly Arg Gln Met Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ser Trp Val Val
1 5 10 15

Ser Leu

<210> 127

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 127

Gln Asp Val Gly Leu Trp Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ala Trp Met Pro
1 5 10 15

Asn Ile

<210> 128

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 128

Gln Asn Ala Gln Arg Val Trp Asp Leu Leu Ile Arg Thr Trp Val Tyr
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 129
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 129

Gly Trp Asn Glu Ala Trp Trp Asp Glu Leu Thr Lys Ile Trp Val Leu
1 5 10 15

Glu Gln

<210> 130
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 130

Arg Ile Thr Cys Asp Thr Trp Asp Ser Leu Ile Lys Lys Cys Val Pro
1 5 10 15

Gln Ser

<210> 131
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 131

Gly Ala Ile Met Gln Phe Trp Asp Ser Leu Thr Lys Thr Trp Leu Arg
1 5 10 15

Gln Ser

<210> 132
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 132

Trp Leu His Ser Gly Trp Trp Asp Pro Leu Thr Lys His Trp Leu Gln
1 5 10 15

Lys Val

<210> 133
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 133

Ser Glu Trp Phe Phe Trp Phe Asp Pro Leu Thr Arg Ala Gln Leu Lys
1 5 10 15

Phe Arg

<210> 134
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 134

Gly Val Trp Phe Trp Trp Phe Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Thr Gln
1 5 10 15

Ala Gly

<210> 135

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 135

Met Gln Cys Lys Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Lys Trp Cys Val Thr
1 5 10 15

Asn Gly

<210> 136

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 136

Leu Trp Ser Lys Glu Val Trp Asp Ile Leu Thr Lys Ser Trp Val Ser
1 5 10 15

Gln Ala

<210> 137
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 137

Lys Ala Ala Gly Trp Trp Phe Asp Trp Leu Thr Lys Val Trp Val Pro
1 5 10 15

Ala Pro

<210> 138
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 138

Ala Tyr Gln Thr Trp Phe Trp Asp Ser Leu Thr Arg Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Thr Thr

<210> 139
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 139

Ser Gly Gln His Phe Trp Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ser Trp Thr Pro
1 5 10 15

Ser Thr

<210> 140
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 140

Leu Gly Val Gly Gln Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Val Ser
1 5 10 15

Arg Gly

<210> 141
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 141

Val Gly Lys Met Cys Gln Trp Asp Pro Leu Ile Lys Arg Thr Val Cys
1 5 10 15

Val Gly

<210> 142
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 142

Cys	Arg	Gln	Gly	Ala	Lys	Phe	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Leu	Leu
1				5					10					15	

Gly Arg

<210> 143

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 143

Gly	Gln	Ala	Ile	Arg	His	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Asp
1				5					10					15	

Ser Gln

<210> 144

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 144

Arg	Gly	Pro	Cys	Gly	Ser	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	His	Cys	Leu	Asp
1				5					10					15	

Ser Gln

<210> 145
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 145

Trp	Gln	Trp	Lys	Gln	Gln	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Met	Val	Trp
1			5					10					15		

Val Gly

<210> 146
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 146

Pro	Ile	Thr	Ile	Cys	Arg	Lys	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Val	Val	Cys
1				5				10					15		

Leu Asp

<210> 147
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 147

Lys Thr Cys Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Ala

<210> 148
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 148

Lys Cys Leu Lys Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Thr
 1 5 10 15

Glu Val

<210> 149
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 149

Arg Cys Trp Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile His
 1 5 10 15

Pro Trp

<210> 150
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 150

Asn	Arg	Asp	Met	Arg	Lys	Trp	Asp	Pro	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Ile	Val
1				5					10					15	

Arg Pro

<210> 151

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 151

Gln	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Leu	Val
1				5					10					15	

Pro Pro

<210> 152

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 152

Pro	Glu	Gly	Gly	Pro	Lys	Trp	Asp	Pro	Leu	Thr	Lys	Gln	Phe	Leu	Pro
1				5					10					15	

Pro Val

<210> 153
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 153

Gln Thr Pro Gln Lys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Phe Thr
1 5 10 15

Arg Asn

<210> 154
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 154

Ile Gly Ser Pro Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Ile Cys
1 5 10 15

Gln Thr

<210> 155
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 155

Cys Thr Ala Ala Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile Gln
1 5 10 15

Glu Lys

<210> 156
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 156

Val Ser Gln Cys Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
1 5 10 15

Gly Trp

<210> 157
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 157

Val Trp Gly Thr Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 158
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 158

Gly	Trp	Trp	Glu	Met	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Tyr	Arg
1				5					10					15	

Pro Gln

<210> 159

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 159

Thr	Ala	Gln	Val	Ser	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Leu	Pro
1				5					10					15	

Leu Ala

<210> 160

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 160

Gln	Leu	Trp	Gly	Thr	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Tyr	Ile	Gln
1				5					10					15	

Ile Met

<210> 161
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 161

Trp	Ala	Thr	Ser	Gln	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Gln
1				5				10					15		

Asn Met

<210> 162
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 162

Gln	Arg	Gln	Cys	Ala	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Val	Leu
1				5				10					15		

Phe Tyr

<210> 163
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 163

Lys Thr Thr Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Arg Ile Cys
 1 5 10 15

Gln Val

<210> 164
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 164

Leu Leu Cys Gln Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Lys
 1 5 10 15

Leu Arg

<210> 165
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 165

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

Thr Phe

<210> 166
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 166

Gln	Thr	Trp	Ala	Trp	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Ile	Gly
1				5				10						15	

Pro Met

<210> 167

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 167

Asn	Lys	Glu	Leu	Leu	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Arg	Gly
1				5				10						15	

Arg Ser

<210> 168

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 168

Gly	Gln	Lys	Asp	Leu	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Tyr	Val	Arg
1				5				10						15	

Gln Ser

<210> 169
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 169

Pro Lys Pro Cys Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gly
1 5 10 15

Ser Val

<210> 170
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 170

Gly Gln Ile Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gln
1 5 10 15

Thr Arg

<210> 171
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 171

Val Trp Leu Asp Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile His
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 172
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 172

Gln Glu Trp Glu Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Gly Trp
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 173
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 173

His Trp Asp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Val
1 5 10 15

Gln Ala

<210> 174
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 174

Thr	Arg	Pro	Leu	Gln	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Leu	Arg
1				5				10						15	

Val Gly

<210> 175

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 175

Ser	Asp	Gln	Trp	Gln	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Phe	Trp
1				5				10						15	

Asp Val

<210> 176

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 176

Gln	Gln	Thr	Phe	Met	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Ile	Arg
1				5				10						15	

Arg His

<210> 177
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 177

Gln	Gly	Glu	Cys	Arg	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Phe	Pro
1				5				10						15	

Gly Gln

<210> 178
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 178

Gly	Gln	Met	Gly	Trp	Arg	Trp	Asp	Pro	Leu	Ile	Lys	Met	Cys	Leu	Gly
1				5				10						15	

Pro Ser

<210> 179
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 179

Gln Leu Asp Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys
1 5 10 15

Ile Pro

<210> 180
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 180

His Gly Tyr Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Ser
1 5 10 15

Ser Glu

<210> 181
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 181

His Gln Gly Gln Cys Gly Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ile Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Cys His

<210> 182
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 182

Leu	His	Lys	Ala	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Trp	Pro
1				5					10					15	

Met Gln

<210> 183

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 183

Gly	Pro	Pro	Gly	Ser	Val	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Ile	Trp	Ile	Gln
1				5					10					15	

Thr Gly

<210> 184

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 184

Ile	Thr	Gln	Asp	Trp	Arg	Phe	Asp	Thr	Leu	Thr	Arg	Leu	Trp	Leu	Pro
1				5					10					15	

Leu Arg

<210> 185
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 185

Gln Gly Gly Phe Ala Ala Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Trp Ile Thr
1 5 10 15

Val Pro

<210> 186
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 186

Gly His Gly Thr Pro Trp Trp Asp Ala Leu Thr Arg Ile Trp Ile Leu
1 5 10 15

Gly Val

<210> 187
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 187

Val Trp Pro Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Val Phe
1 5 10 15

Gln Asp

<210> 188
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的 TALL-1 调节结构域

<400> 188

Trp Gln Gln Trp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Arg Gln Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 189
<211> 882
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> TALL-1 12-3 串联二聚体

<400> 189

```
atgcttcag gctgcaagt ggatcttctt attaagcaat gggatatgga tccacttgga 60
tccggttctg ctactggtgg ttccggctcc accgcaagct ctggttcagg cagtgcgact 120
catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtgggtttg tgaccogctg 180
gggtggaggcg gtggggtcga caaaactcac acatgtccac cttgtccage tccggaactc 240
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaacca aggacaccct catgatctcc 300
cggacccttg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 360
ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 420
```

```

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tctgcacca ggactggctg    480
aatggcaagg agtacaagtg caaggctctc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa    540
accatctcca aagccaaagg gcagcccoga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc    600
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc    660
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg    720
cctcccgtagc tggactccga cggtctcttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag    780
agcagggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgagc tctgcacaac    840
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct cgggtaaat aa                        882

```

<210> 190
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的接头

<400> 190

```

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1           5           10          15

```

```

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Met
                20

```

<210> 191
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 优选的接头

<400> 191

```

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1           5           10          15

```

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser
20

<210> 192

<211> 46

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的接头

<400> 192

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Met Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met
35 40 45

<210> 193

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的接头

<220>

<221> misc_特征

<222> (22)..(23)

<223> (Pos 22)的X独立地是碱性或疏水残基,
(Pos 23)的X独立地是疏水残基.

<400> 193

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa
20

<210> 194
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 优选的接头

<220>
<221> misc_特征
<222> (22, 23, 45 和).. (46)
<223> (Pos 22)和(Pos 45)的 X 各自独立地是碱性或疏水残基, (Pos 23)和 (Pos 46)的 X 各自独立地是疏水残基

<400> 194

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa
35 40 45

<210> 195
<211> 38
<212> PRT
<213> 人

<400> 195

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Val Pro
1 5 10 15

Thr Pro Cys Val Pro Thr Glu Cys Tyr Asp Leu Leu Val Arg Lys Cys
20 25 30

Val Asp Cys Arg Leu Leu
35

<210> 196
<211> 41
<212> PRT
<213> 人

<400> 196

Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg
1 5 10 15

Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu
20 25 30

Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile
35 40

<210> 197
<211> 42
<212> PRT
<213> 人

<400> 197

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile Arg Gly Arg Phe Arg Arg Met Leu
1 5 10 15

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

His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys
35 40

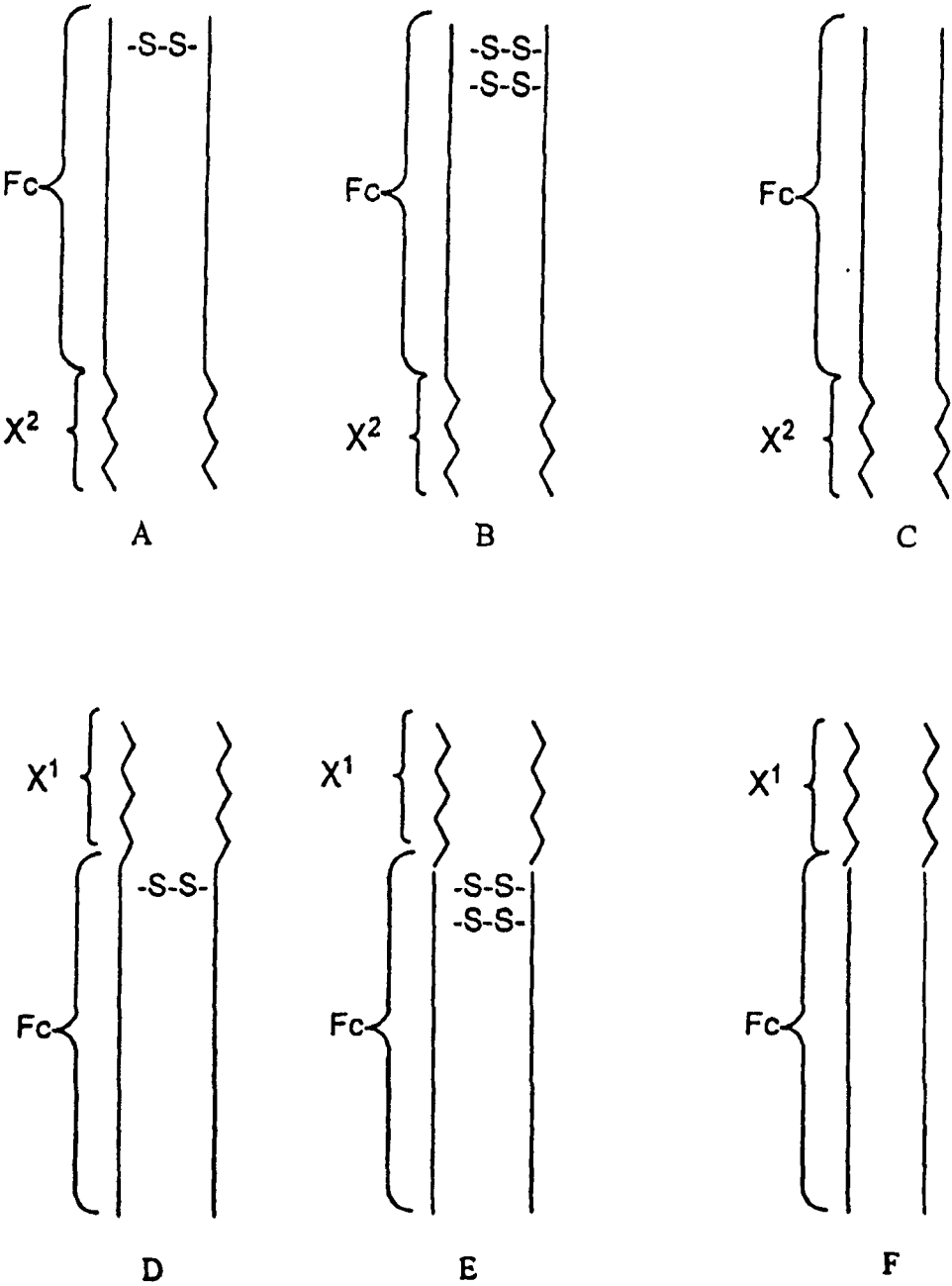


图 1

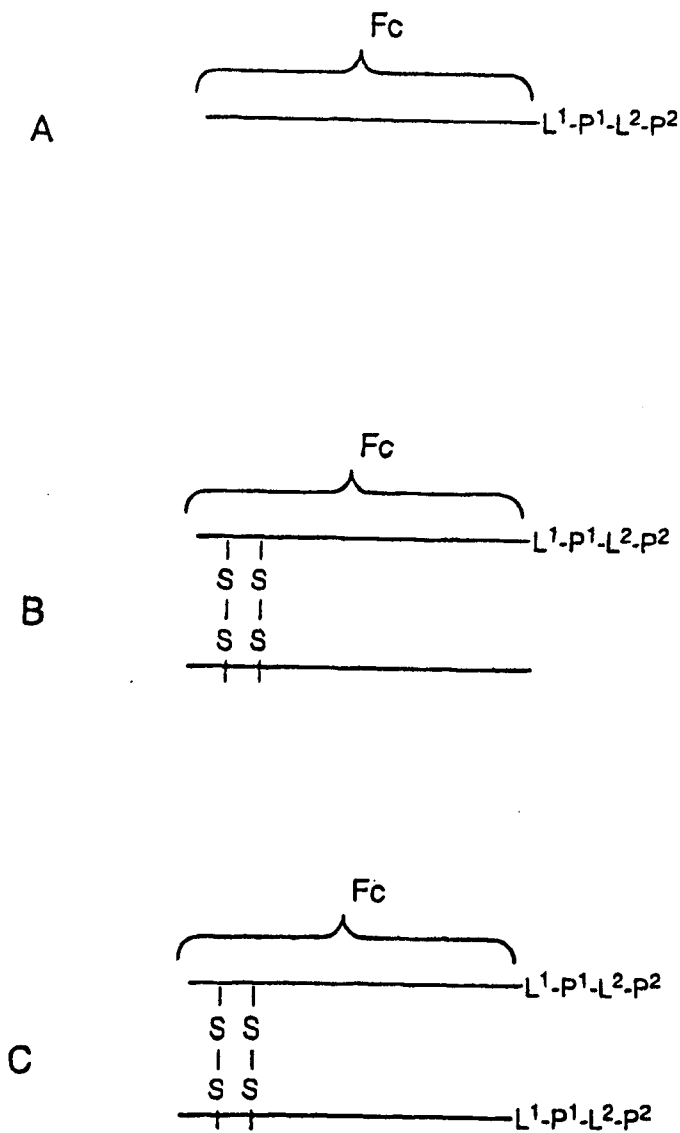


图 2

```

      ATGGACAAAACACACATGTCCACCTTGTCCAGCTCCGGAACCTCTGGGGGGACCGTCA
1  -----+-----+-----+-----+-----+ 60
      TACCTGTTTTGAGTGTGTACAGGTGGAACAGGTCGAGGCCTTGAGGACCCCCCTGGCAGT
a      M D K T H T C P P C P A P E L L G G P S -
      GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTG
61 -----+-----+-----+-----+-----+ 120
      CAGAAGGAGAAGGGGGGTTTGGGTTCTGTGGGAGTACTAGAGGGCCTGGGGACTCCAG
a      V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V -
      ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
121 -----+-----+-----+-----+-----+ 180
      TGTACGCACCACCACCTGCACTCGGTGCTTCTGGGACTCCAGTTCAAGTTGACCATGCAC
a      T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V -
      GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGG
181 -----+-----+-----+-----+-----+ 240
      CTGCCGCACCTCCACGTATTACGGTTCTGTTTCGGCGCCCTCCTCGTCATGTTGTCGTGC
a      D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T -
      TACCGTGTGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
241 -----+-----+-----+-----+-----+ 300
      ATGGCACACCAGTCGCAGGAGTGGCAGGACGTGGTCCTGACCGACTTACCGTTCCTCATG
a      Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y -
      AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC
301 -----+-----+-----+-----+-----+ 360
      TTCACGTTCCAGAGGTTGTTTCGGGAGGGTCGGGGGTAGCTCTTTTGGTAGAGGTTTCGG
a      K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A -
      AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACC
361 -----+-----+-----+-----+-----+ 420
      TTTCCTCGTGGGGCTCTTGGTGTCCACATGTGGGACGGGGGTAGGGCCCTACTCGACTGG
a      K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T -
      AAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG
421 -----+-----+-----+-----+-----+ 480
      TTCTTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACCAGTTTCCGAAGATAGGGTCGCTGTAGCGGCAC
a      K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V -
      GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC
481 -----+-----+-----+-----+-----+ 540
      CTCACCCCTCTCGTTACCCGTCGGCCTCTTGTGATGTTCTGGTGGGAGGGCAGCAGCTG
a      E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D -
      TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAAGACAGGTGGCAGCAG
541 -----+-----+-----+-----+-----+ 600
      AGGCTGCCGAGGAAGAAGGAGATGTCGTTCCAGTGGCACCTGTTCTCGTCCACCGTCGTC
a      S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q -
      GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA
601 -----+-----+-----+-----+-----+ 660
      CCCTTCCAGAAGAGTACGAGGCACTACGTACTCCGAGACGTGTTGGTGATGTGCGTCTTC
a      G N V F S C S V H H E A L H N H Y T Q K -
      AGCCTCTCCCTGTCTCCGGOTAAA
661 -----+-----+-----+-----+ 684
      TCGGAGAGGGACAGAGCCCATTT
a      S L S L S P G K

```

图 3

1) AGP3-8-1-a

NdeI

|

TATGCCGGGTACTTGTTCCTCCGTTCCCGTGGGAATGCACTCACGCTGGTGGAGGCGGT

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

GGCCCATGAACAAAGGGCAAGGGCACCCCTTACGTGAGTGCGACCACCTCCGCCA

a M P G T C F P F P W E C T H A G G G G -

SalI

|

GGGG

61 ----- 69

CCCCAGCT

a G V D -

2) AGP3-8-2-a

NdeI

|

TATGTGGGGTGCTTGTTGGCCGTTCCCGTGGGAATGTTTCAAAGAAGGTGGAGGCGGT

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACACCCACGAACAACCGGCAAGGGCACCCCTTACAAAGTTTCTTCCACCTCCGCCA

a M W G A C W P F P W E C F K E G G G G -

SalI

|

GGGG

61 ----- 69

CCCCAGCT

a G V D -

图 4A

3) AGP3-8-4-a

NdeI
|
TATGGTTCCGTTCTGTGACCTGCTGACTAAACACTGTTTCGAAGCTGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCAAGGCAAGACACTGGACGACTGATTTGTGACAAAGCTTCGACCACCTCCGCCA
a M V P F C D L L T K H C F E A G G G G -

SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT
a G V D -

4) AGP3-12-4-a

November 6, 2000 12:53 ..

NdeI
|
TATGGGTTCTCGTTGTAAATACAAATGGGACGTTCTGACTAAACAGTGTTCACCAC
1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCCAAGAGCAACATTTATGTTTACCCTGCAAGACTGATTTGTCACAAAGGTGGTG
a M G S R C K Y K W D V L T K Q C F H H -

SalI
|
GGTGGAGGCGGTGGGG
61 -----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT
a G G G G G V D -

图 4B

5) AGP3-12-3-a

NdeI

|

TATGCTGCCGGGTTGTAAATGGGACCTGCTGATCAAACAGTGGGTTTGTGACCCGCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACGACGGCCCAACATTTACCCTGGACGACTAGTTTGTCAACCAAACACTGGGCGAC

a M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-- 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

6) AGP3-12-5-a

NdeI

|

TATGTCTGCTGACTGTTACTTCGACATCCTGACTAAATCTGACGTTTGTACTTCTTCT

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACGACTGACAAATGAAGCTGTAGGACTGATTTAGACTGCAAACATGAAGAAGA

a M S A D C Y F D I L T K S D V C T S S -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-- 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

图 4C

7) AGP3-12-8-a

NdeI

|

TATGTCTGACGACTGTATGTACGACCAGCTGACTCGTATGTTTCATCTGTTCTAACCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACTGCTGACATACATGCTGGTCGACTGAGCATACAAGTAGACAAGATTGGAC

a M S D D C M Y D Q L T R M F I C S N L -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

8) AGP3-12-9-a

NdeI

|

TATGGACCTGAACTGTAAATACGACGAACTGACTTACAAAGAATGGTGTCAAGTTCAAC

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACCTGGACTTGACATTTATGCTGCTTGACTGAATGTTTCTTACCACAGTCAAGTTG

a M D L N C K Y D E L T Y K E W C Q F N -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

图 4D

9) AGP3-12-10-a

NdeI

|

TATGTTCCACGACTGTAAATACGACCTGCTGACTCGTCAGATGGTTTGTACGGTCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAAGGTGCTGACATTTATGCTGGACGACTGAGCAGTCTACCAAACAGTGCCAGAC

a M F H D C K Y D L L T R Q M V C H G L -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-- 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT -

a G G G G G V D -

10) AGP3-12-11-a

NdeI

|

TATGCGTAACCACTGTTTCTGGGACCACCTGCTGAAACAGGACATCTGTCCGTCTCCG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACGCATTGGTGACAAAGACCCTGGTGGACGACTTTGTCCTGTAGACAGGCAGAGGC

a M R N H C F W D H L L K Q D I C P S P -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-- 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

图 4E

11) AGP3-12-14-a

|
 NdeI
 |
 1 TATGGCTAACCAGTGTGGTGGGACTCTCTGCTGAAAAAACGTTTGTGAATTCTTC 60
 -----+-----+-----+-----+-----+
 ACCGATTGGTCACAACCACCCTGAGAGACGACTTTTTTTTGCAAACACTTAAGAAG
 a M A N Q C W W D S L L K K N V C E F F -

 SalI
 |
 61 GGTGGAGGCGGTGGGG 81
 -----+-----+
 CCACCTCCGCCACCCAGCT
 a G G G G G V D -

12) AGP3 共有序列

 NdeI
 |
 1 TATGTTCCACGACTGCAAATGGGACCTGCTGACCAAACAGTGGGTTTGCCACGGTCTG 60
 -----+-----+-----+-----+-----+
 gtATACAAGGTGCTGACGTTTACCCTGGACGACTGGTTTGTCACCCAAACGGTGCCAGAC
 a M F H D C K W D L L T K Q W V C H G L -

 SalI
 |
 61 GGTGGAGGCGGTGGGG 81
 -----+-----+
 CCACCTCCGCCACCCAGCT
 a G G G G G V D -

图 4F

图 5A

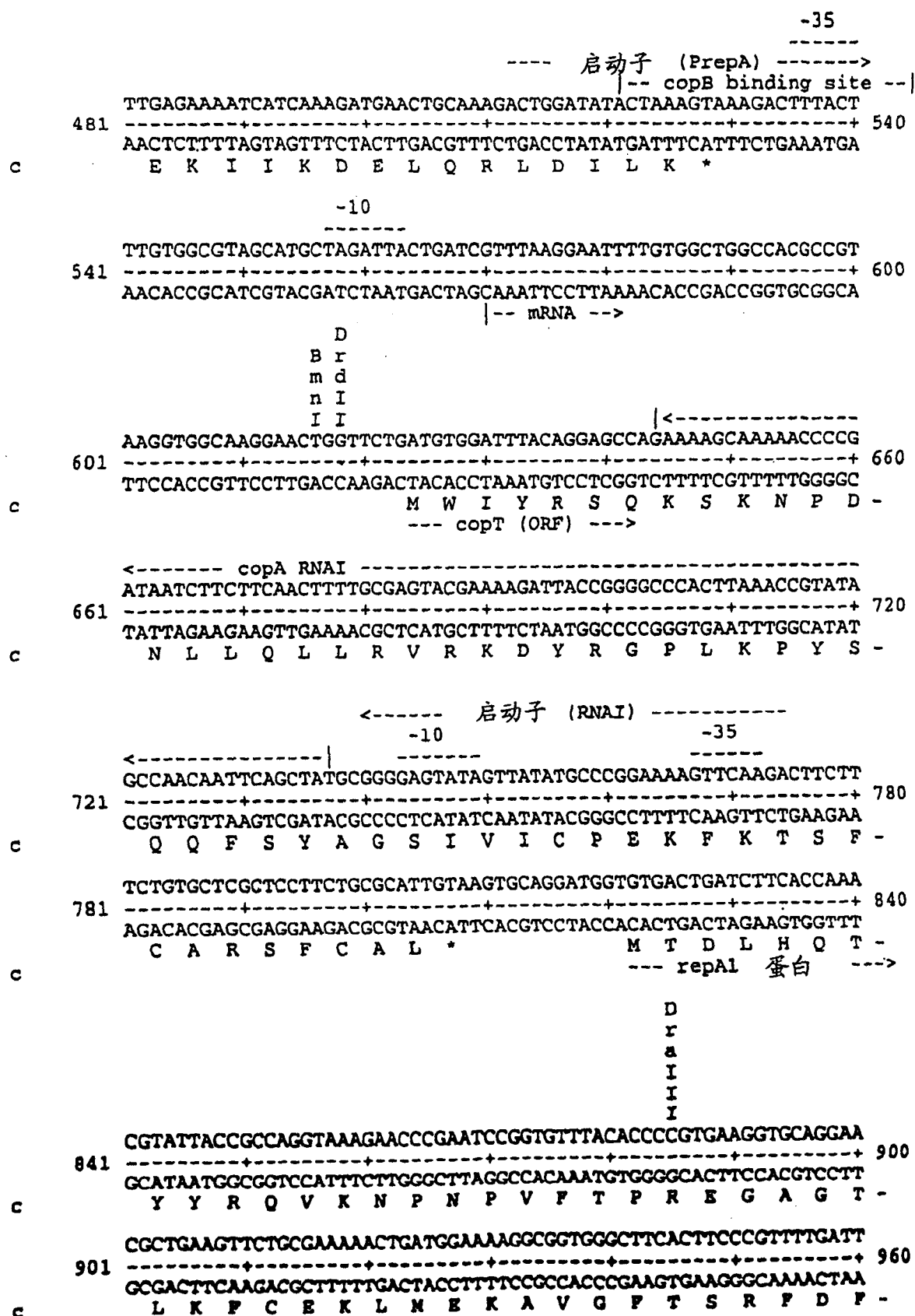


图 5B

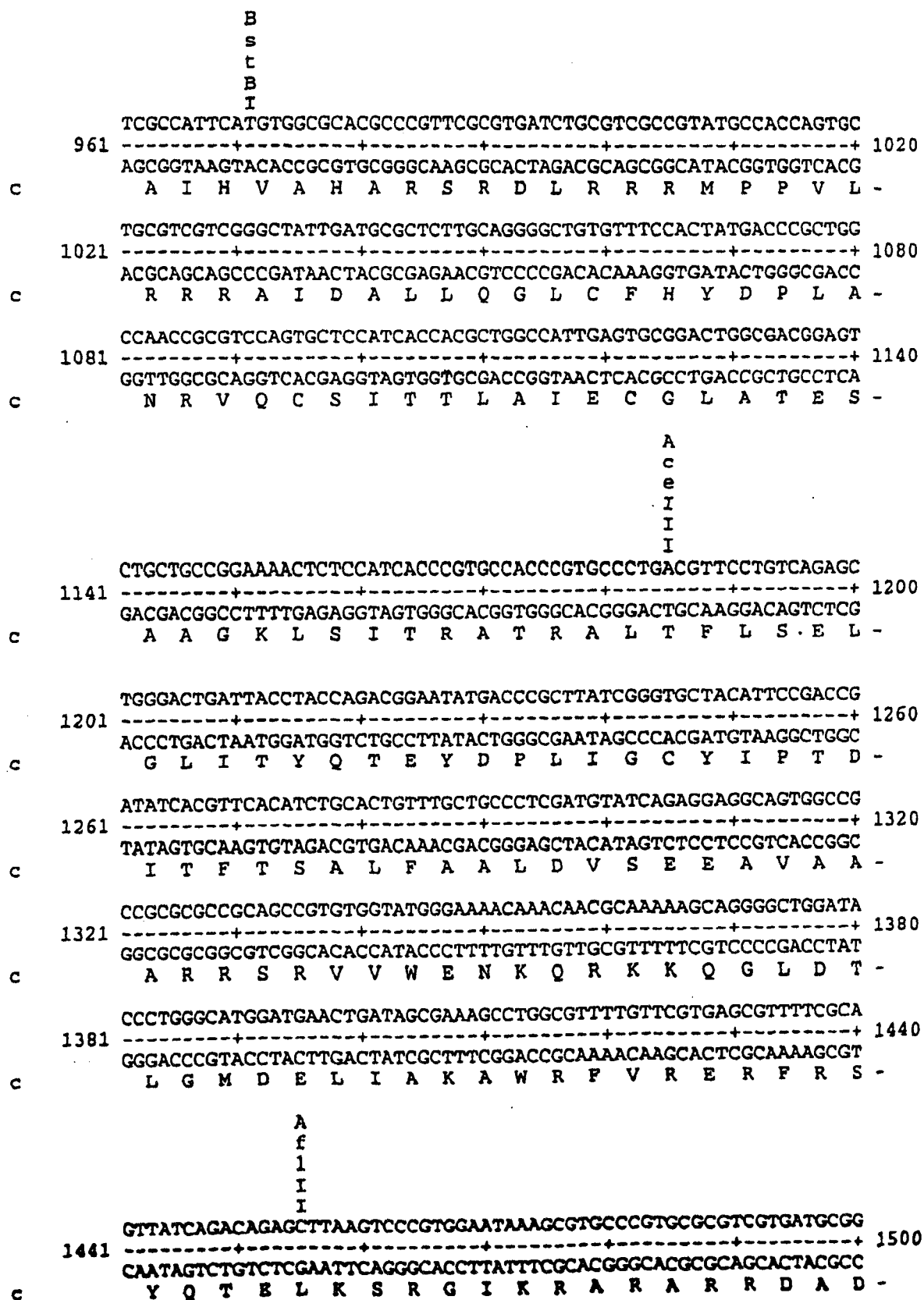


图 5C

```

ACAGGGAACGTCAGGATATTGTCACCCCTGGTGAAACGGCAGCTGACGCGCGAAATCGCGG
1501 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1560
TGTCCTTGCAGTCCATAACAGTGGGACCACTTTGCCGTCGACTGCGCGCTTTAGCGCC
c      R E R Q D I V T L V K R Q L T R E I A E -

AAGGGCGCTTCACTGCCAATCGTGAGGCGGTAAAACGCGAAGTTGAGCGTCGTGTGAAGG
1561 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1620
TTCCCGCGAAGTGACGGTTAGCACTCCGCCATTTTGGCGCTTCAACTCGCAGCACACTTCC
c      G R F T A N R E A V K R E V E R R V K E -

AGCGCATGATTCTGTCACGTAACCGTAATTACAGCCGGCTGGCCACAGCTTCCCCCTGAA
1621 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1680
TCGCGTACTAAGACAGTGCAATTGGCATTAAATGTCGGCCGACCGGTGTCGAAGGGGGACTT
c      R M I L S R N R N Y S R L A T A S . P *

AGTGACCTCCTCTGAATAATCCGGCCTGCGCCGGAGGCTTCCGCACGTCTGAAGCCCCGAC
1681 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1740
TCACTGGAGGAGACTTATTAGCCGGACGCGGCCTCCGAAGGCGTCAGACTTCGGGCTG

                                     P
                                     F
                                     l
                                     M
                                     I

AGCGCACAAAAATCAGCACCATACAAAAACAACCTCATCATCCAGCTTCTGGTGCA
1741 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1800
TCGCGTGTTTTTTAGTCGTGGTGATGTTTTTGTGGAGTAGTAGGTCAAGACCACGT

TCCGGCCCCCCTGTTTTGATACAAAACACGCCTCACAGACGGGGAATTTTGCTTATCC
1801 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1860
AGGCCGGGGGGGACAAAAGCTATGTTTTGTGCGGAGTGCTGCCCCTTAAACGAATAGG

|----- ori -----
ACATTAACTGCAAGGGACTTCCCCATAAGGTTACAACCGTTCATGTCATAAAGCGCCAT
1861 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1920
TGTAATTTGACGTTCCCTGAAGGGGTATTCCAATGTTGGCAAGTACAGTATTTGCGGGTA

----- ori -----
CCGCCAGCGTTACAGGGTGCAATGTATCTTTTAAACACCTGTTTATATCTCCTTTAAACT
1921 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1980
GGCGGTGCAATGTCCACGTTACATAGAAAATTTGTGGACAAATATAGAGGAAATTTGA

-----|-----
ACTTAATTACATTTCATTTAAAAAGAAAACCTATTCACTGCCTGTCCTTGGACAGACAGAT
1981 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2040
TGAATTAATGTAAGTAAATTTTCTTTTGGATAAGTGACGGACAGGAACCTGTCTGTCTA

ATGCACCTCCCACCGCAAGCGGCGGGCCCCCTACCGGAGCCGCTTTAGTTACAACACTCAG
2041 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2100
TACGTGGAGGGTGGCGTTTCGCCGCCCGGGGATGGCCTCGGCGAAATCAATGTTGTGAGTC
a      M H L P P Q A A G P Y R S R F S Y N T Q -
      --- repA4 蛋白 ---->

ACACAACCACCAGAAAAACCCCGGTCCAGCGCAGAACTGAAACCACAAAGCCCCCTCCCTC
2101 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2160
TGCTTTGGTGGTCTTTTGGGGCCAGGTCGCGTCTTGACTTTGGTGTTCGGGGAGGGAG
a      T Q P P E K P R S S A E L K P Q S P S L -

ATAACTGAAAAGCGGCCCCCGCCCGGTCCGAAGGGCCGGAACAGAGTCGCTTTTAATTAT
2161 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2220
TATTGACTTTTTCGCCGGGGCGGGCCAGGCTTCCCGGCTTGTCTCAGCGAAAATTAATA
a      I T E K R P R P G P K G R N R V A F N Y -

```

图 5D

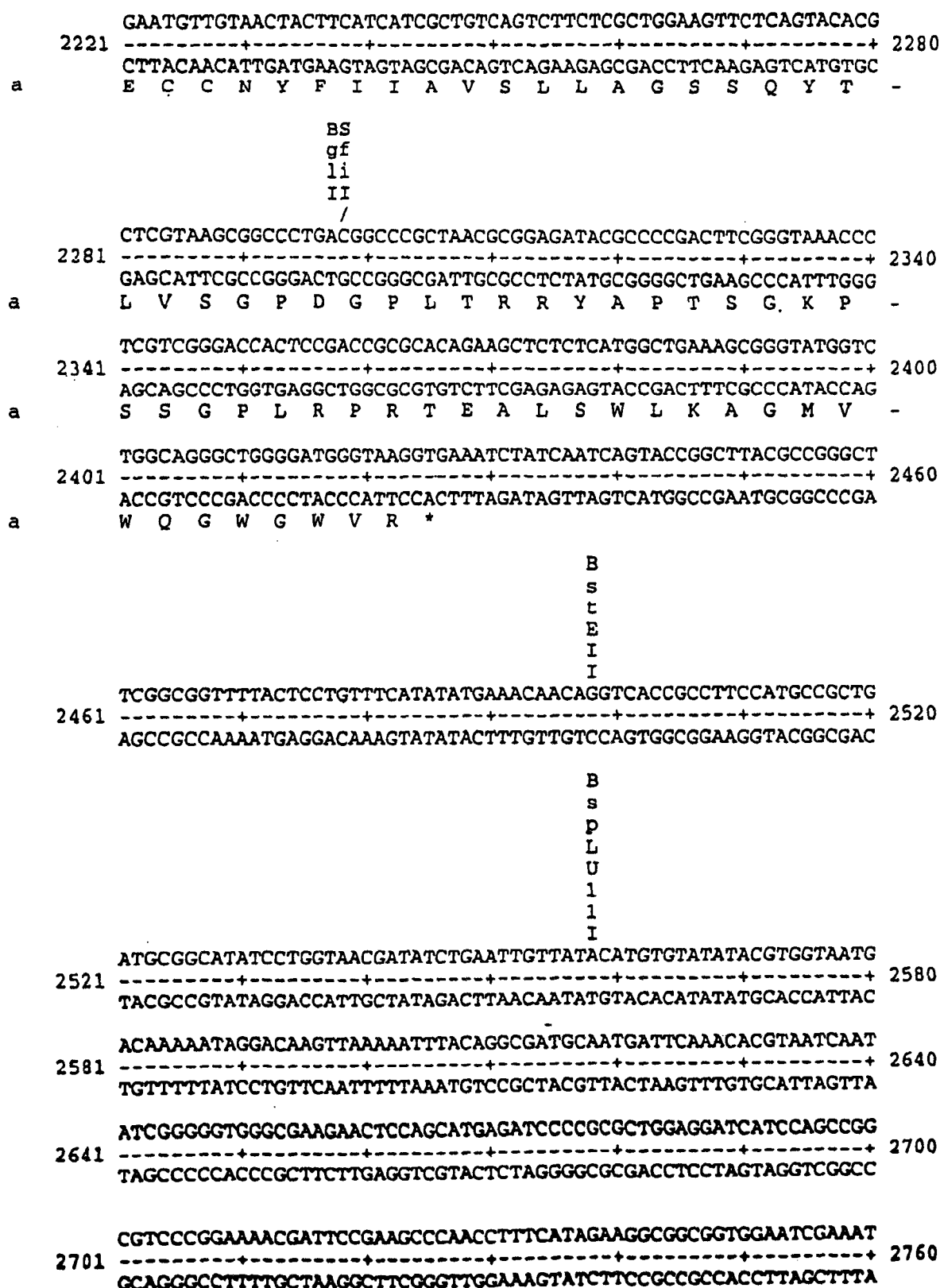


图 5E

```

                                N           B
                                S           P
                                p           l
                                V           I
2761  CTCGTGATGGCAGGTTGGGCGTCGCTTGGTCCGGTCATTTTGAACCCCAGAGTCCCCGCTCA 2820
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GAGCACTACCGTCCAACCCGCAGCGAACCAGCCAGTAAAGCTTGGGGTCTCAGGGCGAGT

GAAGAACTCGTCAAGAAGGCGATAGAAGGCGATGCGCTGCGAATCGGGAGCGGCGATACC
2821  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2880
CTTCTTGAGCAGTTCTTCCGCTATCTTCCGCTACGCGACGCTTAGCCCTCGCCGCTATGG
f  * F F E D L L R Y F A I R Q S D P A A I G -
    <--- APHII 蛋白(卡那霉素抗性基因) } ---

GTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAGCCCATTCGCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGT
2881  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2940
CATTTCGTGCTCCTTCGCCAGTCGGGTAAGCGGCGGTTTCGAGAAGTCGTTATAGTGCCCA
f  Y L V L F R D A W E G G L E E A I D R T -

AGCCAACGCTATGTCCTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGGCCACAGTCGATGAATCC
2941  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3000
TCGGTTGCGATACAGGACTATCGCCAGGCGGTGTGGGTCCGCCGGTGTTCAGCTACTTAGG
f  A L A I D Q Y R D A V G L R G C D I F G -

AGAAAAGCGGCCATTTTCCACCATGATATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGAGTCACGAC
3001  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3060
TCTTTTCGCCGGTAAAAGGTGGTACTATAAGCCGTTTCGTCCGTAGCGGTACTCAGTGCTG
f  S F R G N E V M I N P L C A D G H T V V -

GAGATCCTCGCCGTCGGGCATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTTCGGCTGGCGCGAG
3061  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3120
CTCTAGGAGCGGCAGCCCGTACGCGCGGAAGTTCGGACCGCTTGTCAAGCCGACCGCGCTC
f  L D E G D P M R A K L R A F L E A P A L -

CCCCTGATGCTCTTCGTCCAGATCATCCTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACG
3121  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3180
GGGGACTACGAGAAGCAGGTCTAGTAGGACTAGCTGTTCTGGCCGAAGGTAGGCTCATGC
f  G Q H E E D L D D Q D V L G A E M R T R -

TGCTCGCTCGATGCGATGTTTCGCTTGGTGGTTCGAATGGGCAGGTAGCCGGATCAAGCGT
3181  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3240
ACGAGCGAGCTACGCTACAAAGCGAACCACAGCTTACCCGTCCATCGGCCTAGTTTCGCA
f  A R E I R H K A Q H D F P C T A P D L T -

ATGCAGCCGCCGCATTGCATCAGCCATGATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGA
3241  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3300
TACGTCCGGCGGCGTAACGTAGTCGGTACTACCTATGAAAGAGCCGTCCTCGTTCCACTCT
f  H L R R M A D A M I S V K E A P A L H S -

TGACAGGAGATCCTGCCCCGGCACTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCCTTCCCGCTTCAGT
3301  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3360
ACTGTCTCTTAGGACGGGGCCGTGAAGCGGGTTATCGTCGGTCAGGGAAGGGCGAAGTCA
f  S L L D Q G P V E G L L L W D R G A E T -

GACAACGTCGAGCACAGCTGCCGAAGGAACGCCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGC
3361  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3420
CTGTTGCAGCTCGTGTGACGCGTTCCTTGCGGGCAGCACCGGTCCGTGCTATCGCCGCG
f  V V D L V A A C P V G T T A L W S L R A -

TGCCCTCGTCCTGCAATTTCATTCAGGACACCGGACAGGTCCGTCTTGACAAAAGAACCGG
3421  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3480
ACGGAGCAGGACGTTAAGTAAGTCCTGTGGCCTGTCCAGCCAGAACTGTTTTTCTTGCCC

```

图 5F

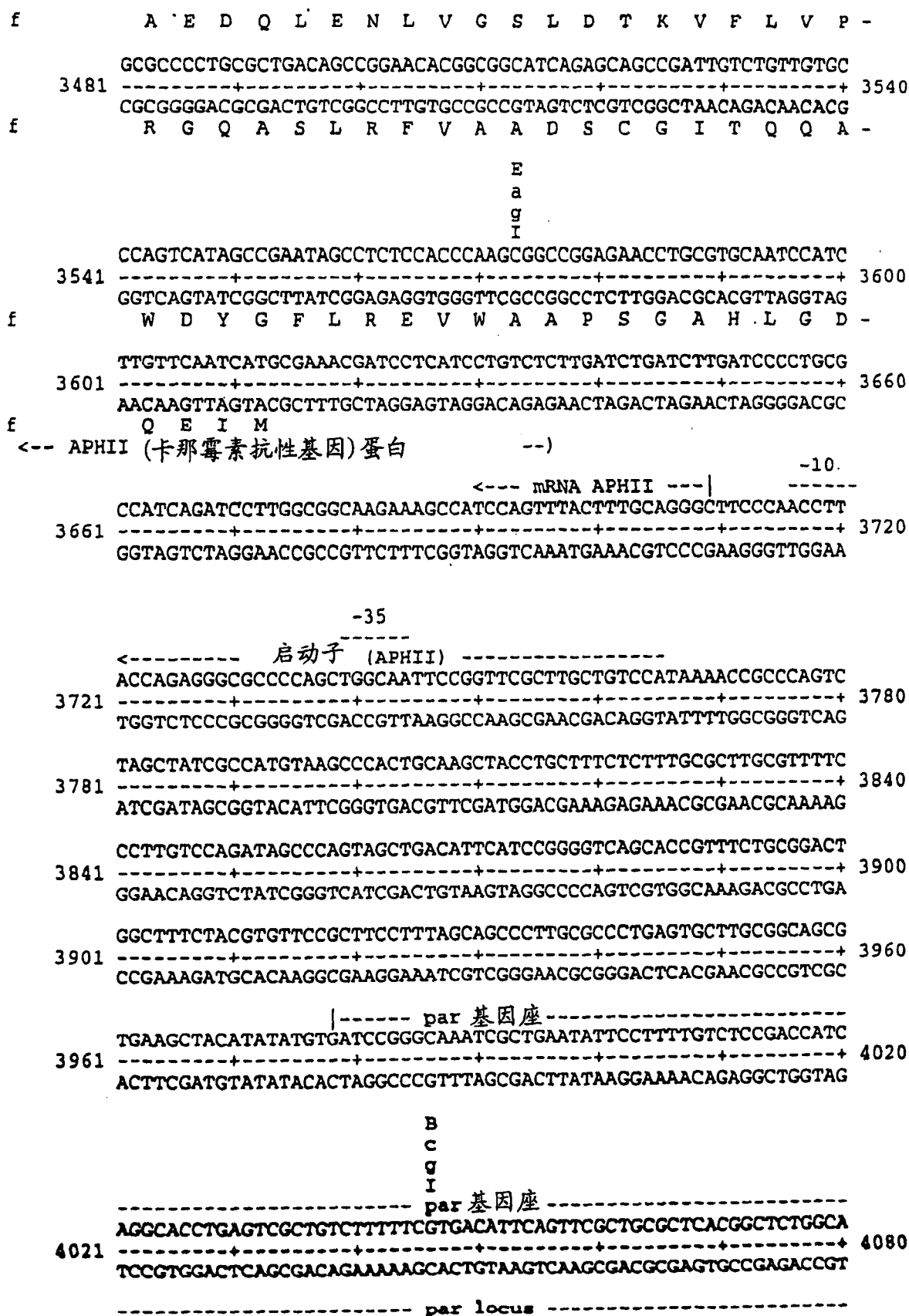


图 5G

```

4081 GTGAATGGGGGTAAATGGCACTACAGGCGCCTTTTATGGATTCATGCAAGGAAACTACCC 4140
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CACTTACCCCATTTACCGTGATGTCCGCGGAAAATACCTAAGTACGTTCCCTTTGATGGG

----- par 基因座 -----
4141 ATAATACAAGAAAAGCCCGTCACGGGCTTCTCAGGGCGTTTATGGCGGGTCTGCTATGT 4200
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
TATTATGTTCTTTTCGGGCAGTGCCCGAAGAGTCCCGCAAAATACCGCCAGACGATACA

----- par 基因座 -----
4201 GGTGCTATCTGACTTTTTGCTGTTTCAGCAGTTCCTGCCCTCTGATTTTCCAGTCTGACCA 4260
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCACGATAGACTGAAAAACGACAAGTCGTCAGGACGGGAGACTAAAAGGTCAGACTGGT

----- par 基因座 -----
4261 CTTCCGATTATCCCGTGACAGGTCATTTCAGACTGGCTAATGCACCCAGTAAGGCAGCGGT 4320
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GAAGCCTAATAGGGCACTGTCCAGTAAGTCTGACCGATTACGTGGGTCATTCCGTCGCCA

N      B
s      s
i      a
I      I
4321 ATCATCAACAGGCTTACCCGTCTTACTGTGCGAAGACGTGCGTAACGTATGCATGGTCTCC 4380
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
TAGTAGTTGTCCGAATGGGCAGAATGACAGCTTCTGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG

T1 发夹
----->-----<-----
4381 CCATGCGAGAGTAGGGAACGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT 4440
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGC'TTCCGAGTCAGCTTTCTGA

-----|-----
4441 GGGCCTTTCGTTTTATCTGTTGTTTGTCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC 4500
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCCGGAAAGCAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCCTGTTTAGGCG
-- T1 终止 -->|

P
s
P
1
4
0
6
I
4501 CGGGAGCGGATTTGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCCG 4560
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCCCTCCACCGCCCGTCTGCGGGCG

T2 发夹
----->-----<-----
4561 CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCTGACGGATGGCCTTTTTCGT 4620
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTCGTCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA
---- T2 终止 ---->|

```

图 5H

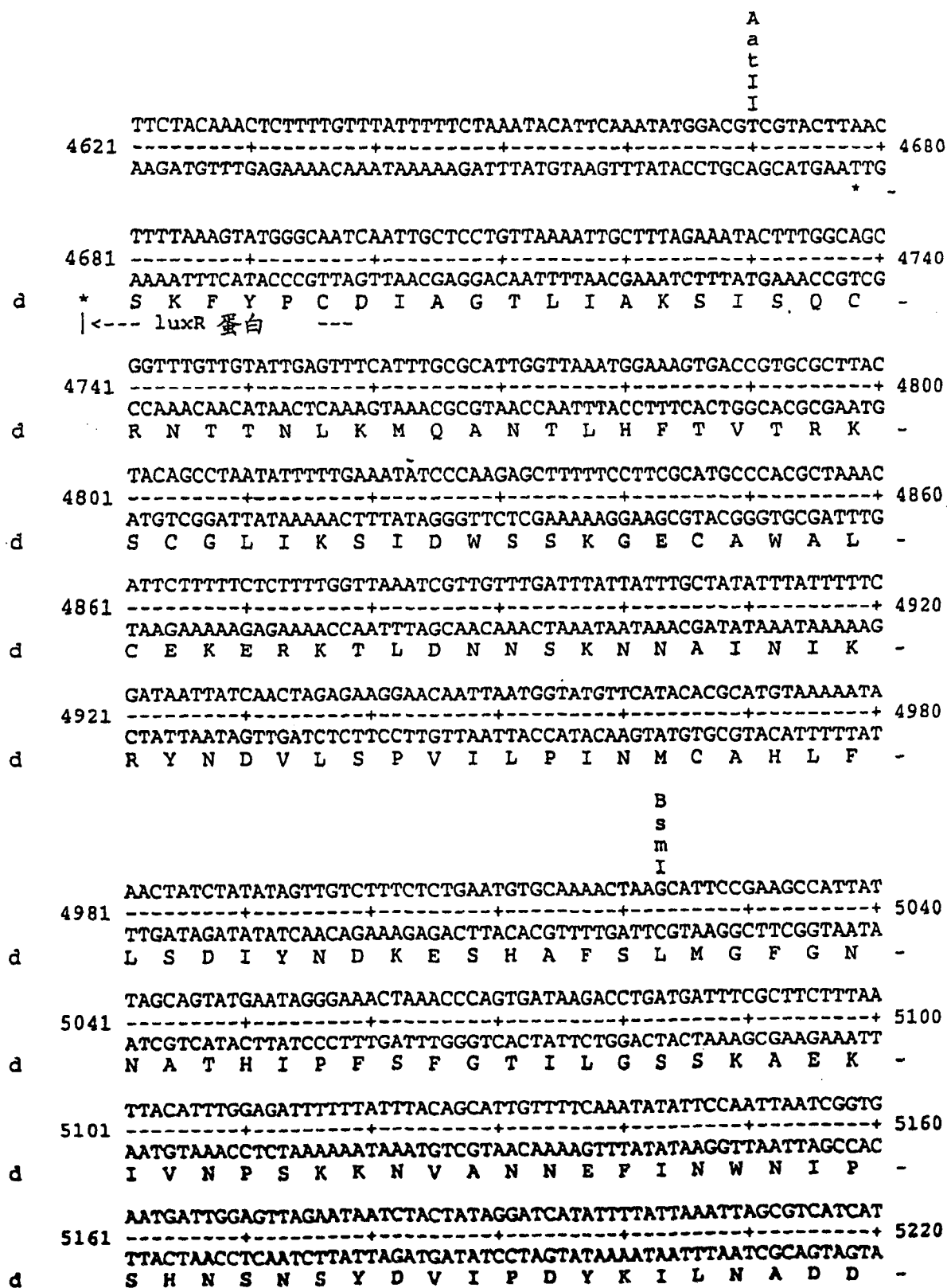


图 51

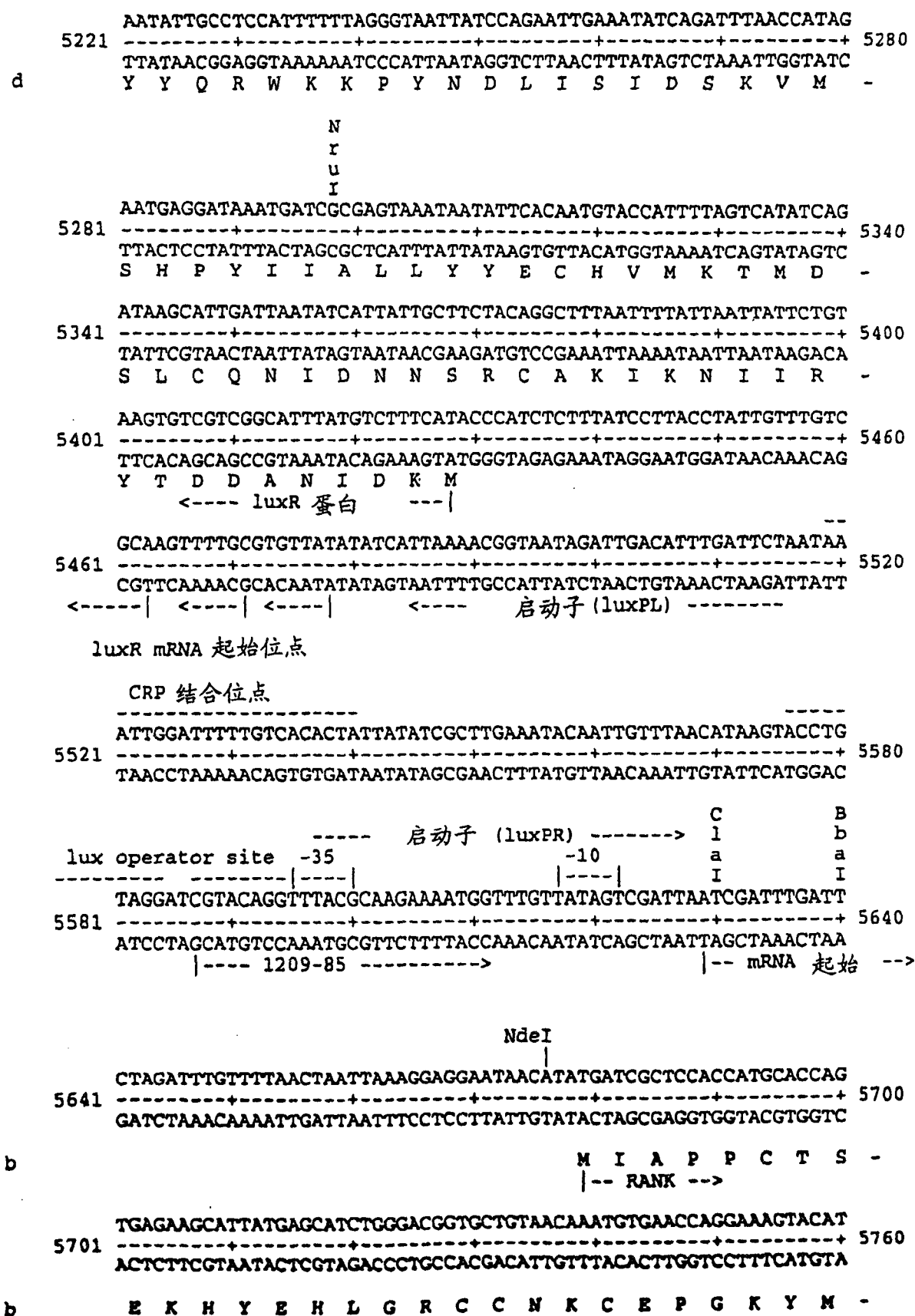


图 5J

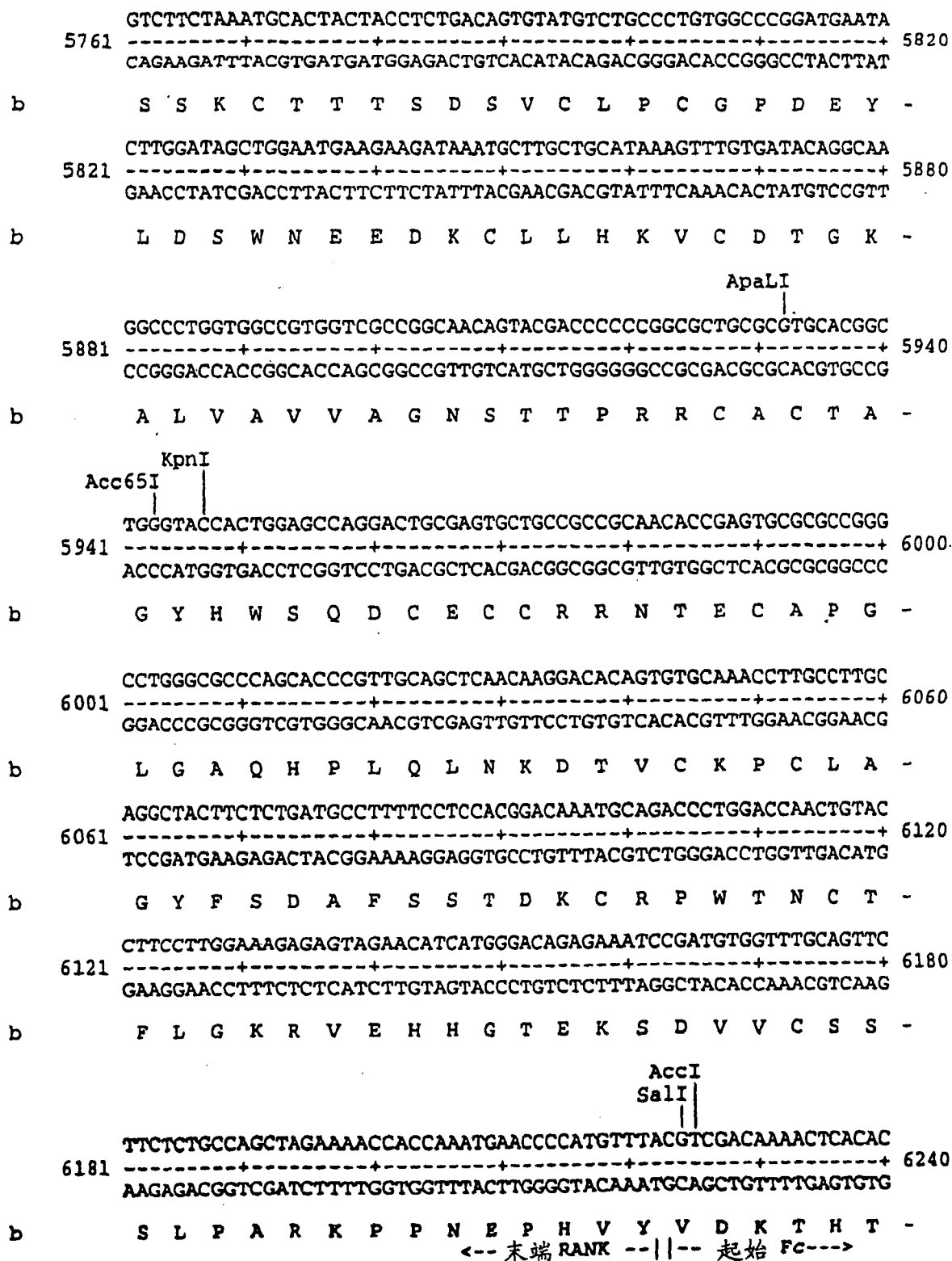


图 5K

图 5L

Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F -

6781 CCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG
-----+-----+-----+-----+-----+ 6840
GGAGATGTCGTTTCGAGTGGCACCTGTTCTCGTCCACCGTCGTCCCCCTTGCAGAAGAGTAC

b L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C -

6841 CTCCTGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC
-----+-----+-----+-----+-----+ 6900
GAGGCACCTACGTACTCCGAGACGTGTTGGTGATGTGCGTCTTCTCGGAGAGGGACAGAGG

b S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P -

BamHI
|
6901 GGGTAAATAATGGATCCGCGGAAAGAAGAAGAAGAAGAAAGCCCCGAAAGGAAGCTGA
-----+-----+-----+-----+-----+ 6960
CCCATTATTACCTAGGCGCCTTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTCGGGCTTCTCTCGACT

b G K * BlpI
|

T7 发夹
-----> <-----
6961 GTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGT
-----+-----+-----+-----+-----+ 7020
CAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTATTGATCGTATTGGGGAACCCCGAGATTGCCCCA
----->

<-----
7021 CTTGAGGGGTTTTTTTGCTGAAAGGAGGAACCGCTCTTCACGCTCTTCACGCGGATAAATA
-----+-----+-----+-----+-----+ 7080
GAACTCCCCAAAAACGACTTTCCTCCTTGGCGAGAAGTGCAGAGAAGTGCAGCTATTAT
-T7 终止 ---->|

toop hairpin
----->
7081 AGTAACGATCCGGTCCAGTAATGACCTCAGAACTCCATCTGGATTGTTCAGAACGCTCG
-----+-----+-----+-----+-----+ 7140
TCATTGCTAGGCCAGGTCATTACTGGAGTCTTGAGGTAGACCTAAACAAGTCTTGCGAGC

toop 发夹
<-----
7141 GTTGCCGCCGGGCGTTTTTTTATTGGTGAGAATCGCAGCAACTTGTCGCGCCAATCGAGCC
-----+-----+-----+-----+-----+ 7200
CAACGGCGGCCCGCAAAAAATAACCACTCTTAGCGTCGTTGAACAGCGCGGTTAGCTCGG
-- toop 终止 -->|

7201 ATGTCGTCGTCAACGACCCCCCATTCAGAAGACAGCAAGCAGCATTGAGAAGTTTGAATC
-----+-----+-----+-----+-----+ 7260
TACAGCAGCAGTTGCTGGGGGGTAAGTCTTGTCGTCGTCGTAACCTCTTGAACCTTAG

7261 CAGTCCCTCTTCCACCTGCTGACCG 7285
GTCAGGGGAGAAGGTGGACGACTGGC

图 5M

[*Δat*II 粘性末端] 5' CCGTAACGATGCATGGTCTCC-
(position #4358 in pAMG21) 3' TGCACGATTGCATACGTACCAGAGG-

-CCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT-
-GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGCTTTCCGAGTCAGCTTTCTGA-

-GGGCCTTTTCGTTTTATCTGTTGTTTGTGCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC-
-CCCGGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCTGTTTAGGCG-

-CGGGAGCGGATTGTAACGTTGCGAAGCAACGGCCCCGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCGC-
-GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCTCCACC GCCCGCTCTGCGGGCG-

-CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCTGACGGATGGCCTTTTTCGCT-
-GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTGCTCTTCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA-

*Δat*II

-TTCTACAACTCTTTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTAAC-
-AAGATGTTTGAGAAAACAAATAAAAAGATTATGTAAGTTTATACCTGCAGCATGAATTG-

-TTTTAAAGTATGGGCAATCAATTGCTCCTGTTAAATTTGCTTTAGAAATACTTTGGCAGC-
-AAAATTTACATACCGTTAGTTAACGAGGACAATTTAACGAAATCTTTATGAAACCGTCG-

-GGTTTGTTGTATTGAGTTTCATTTGCGCATTGGTTAAATGGAAAGTGACCGTGCGCTTAC-
-CCAAACAACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTTACCTTTCCTGCGACGCGAATG-

-TACAGCCTAATATTTTTGAAATATCCCAAGAGCTTTTTCTTCGCGATGCCACGCTAAAC-
-ATGTCGGATTATAAAAACCTTTATAGGGTTCGCAAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTTG-

-ATTCTTTTTCTCTTTTGTTTAAATCGTTGTTTGATTTATTATTGCTATATTTATTTTC-
-TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTTAGCAACAACTAAATAATAAACGATATAATAAAAAAG-

-GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAATGGTATGTTTCATACGCATGTAAAAATA-
-CTATTAATAGTTGATCTCTTCCTTGTTAATTACCATACAAGTATGTGCGTACATTTTTAT-

-AACTATCTATATAGTTGTCTTTCTCTGAATGTGCAAACTAAGCATTCCGAAGCCATTAT-
-TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTTACACGTTTTGATTGCGTAAGGCTTCGGTAATA-

-TAGCAGTATGAATAGGGAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTTTCGCTCTTTAA-
-ATCGTCATACTTATCCCTTTGATTTGGGTCACTATTCTGGACTACTAAAGCGAAGAAATT-

-TTACATTTGGAGATTTTTTATTTACAGCATTGTTTCAAATATATTCCAATTAATCGGGT-
-AATGTAAACCTCTAAAAAATAATGTGCGTAACAAAAGTTTATATAAGGTTAATTAGCCAC-

-AATGATTGGAGTTAGAAATAATCTACTATAGGATCATATTTTATTAAATTAGCGTCATCAT-
-TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATATCCTAGTATAAAATAATTTAATCGCAGTAGTA-

-AATATTGCCTCCATTTTTTAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG-
-TTATAACGGAGGTAAAAAATCCCATTAATAGGTCTTAACCTTATAGTCTAAATTGGTATC-

-AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG-
-TTACTCCTATTTACTAGCGCTCATTTATTATAAGTGTTACATGGTAAAAATCAGTATAGTC-

-ATAAGCATTGATTAATATCATTATTGCTTCTACAGGCTTTAATTTTATTAATTATTCTGT-
-TATTCGTAACATAATTATAGTAATAACGAAGATGCCGAAATAAAAATAATTAAGACA-

-AAGTGTCGTCGGCATTTATGCTTTTCATACCATCTCTTTATCCTTACCTATTGTTTGTC-
-TTCACAGCAGCCGTAATAACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG-

-GCAAGTTTTGCGTGTTATATATCATTTAAACCGTAATAGATTGACATTTGATTCTAATAA-
-CGTTCAAAACGCACAATATATAGTAATTTTGCCATTATCTAACTGTAAACTAAGATTATT-

图 6A

-ATTGGATTTTGTCACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAACATAAGTACCTG-
-TAACCTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACTTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC-
-TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGGTTTGTATAGTCGATTAATCGATTTGATT-
-ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTTCCTTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA-
-CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGA-
-GATCTAAACAAAATTGATTAATTTCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGCT-
SacII.
-GCTCACTAGTGTGACCTGCAGGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCGGAAAGAA-
-CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGGTACCTTCGAATGAGCTCCTAGGCGCCTTTCTT-
-GAAGAAGAAGAAGAAAGCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
-CTTCTTCTTCTTCTTTCGGGCTTTCCTTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-
-ACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTTGCTGAAAGGAGG-
-TGATCGTATTGGGGAACCCCGGAGATTTGCCCAGAACTCCCCAAAAAACGACTTTCCTCC-
-AACCGCTCTTCACGCTCTTCACGC 3' [SacII 粘性末端]
-TTGGCGAGAAGTGCAGAGAAGTG 5' (position #5904 in pAMG21)

图 6B

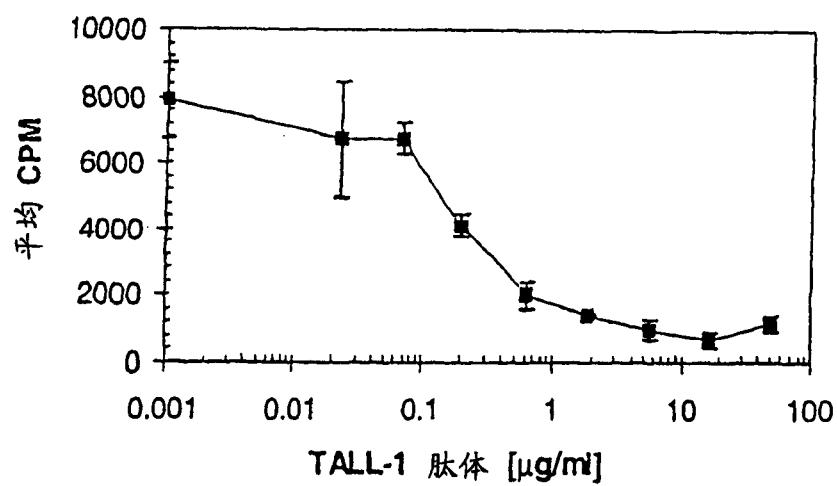


图 7

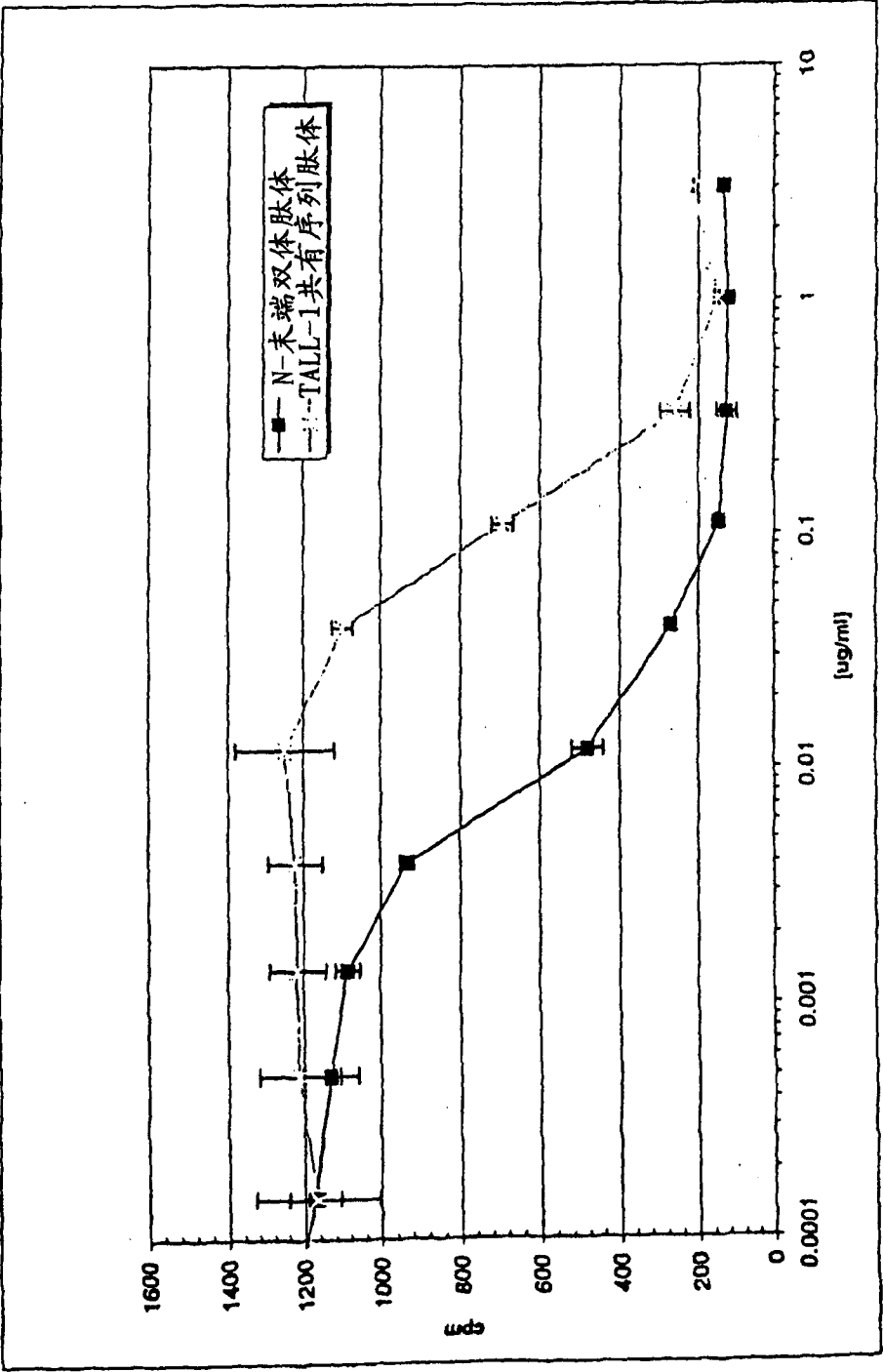


图 8

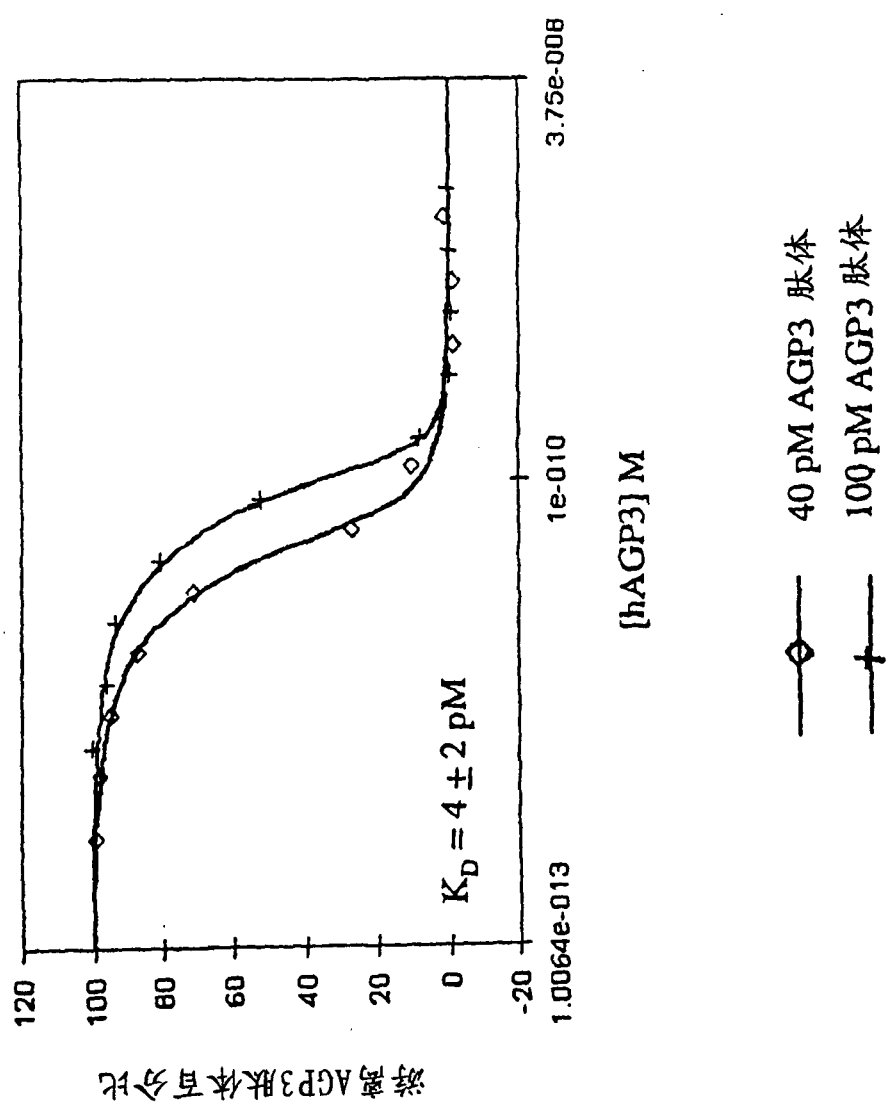


图 9

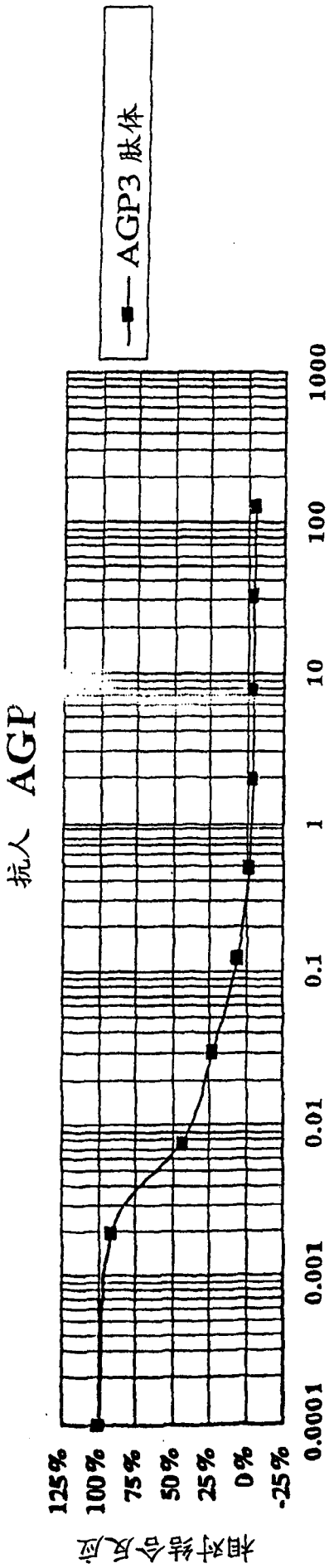


图 10A

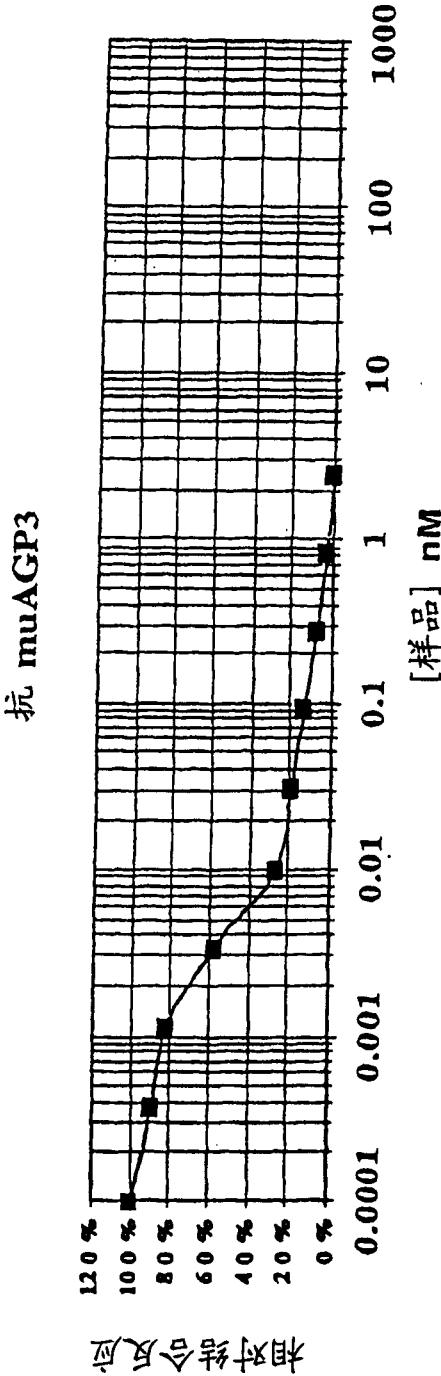


图 10B

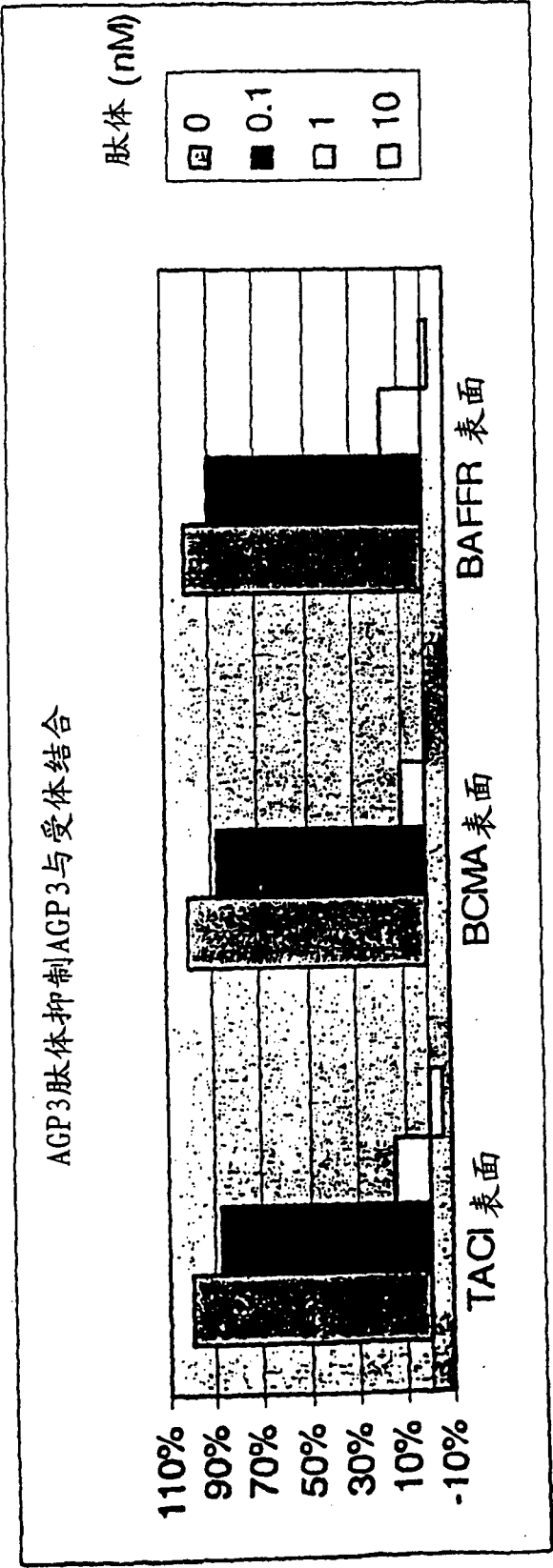


图 11A

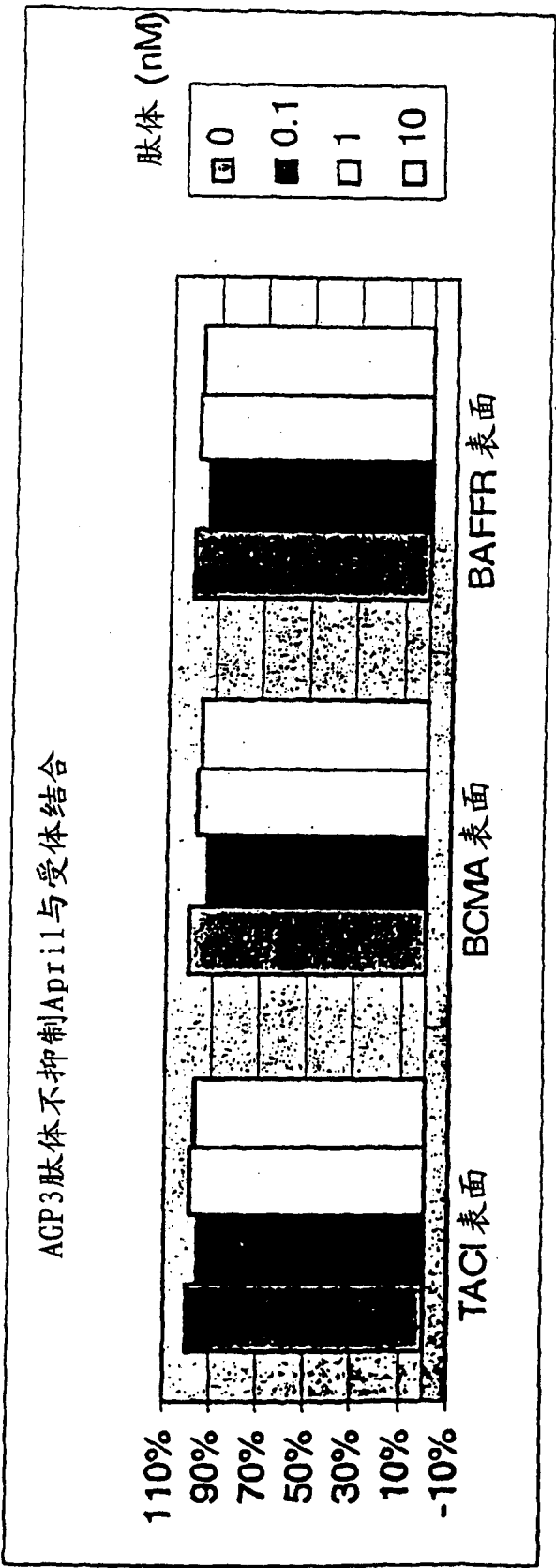


图 11B

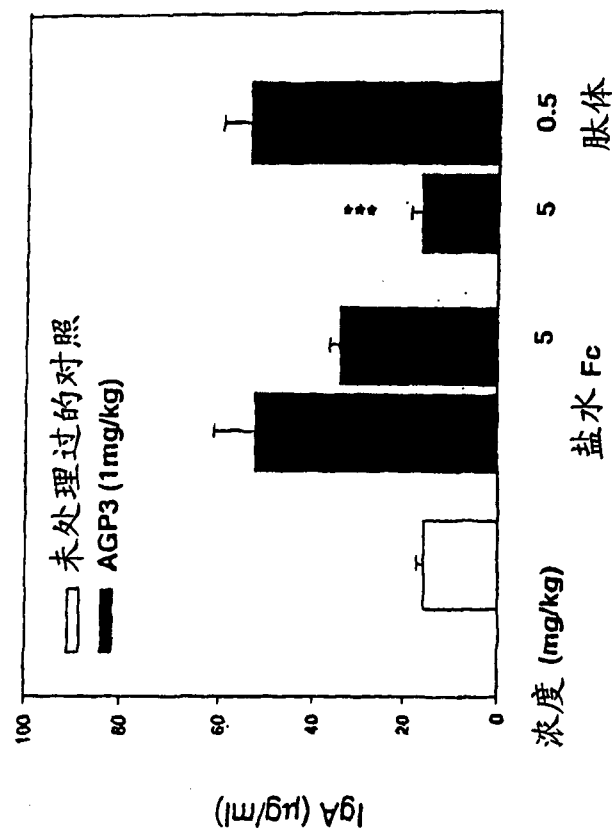


图 12B

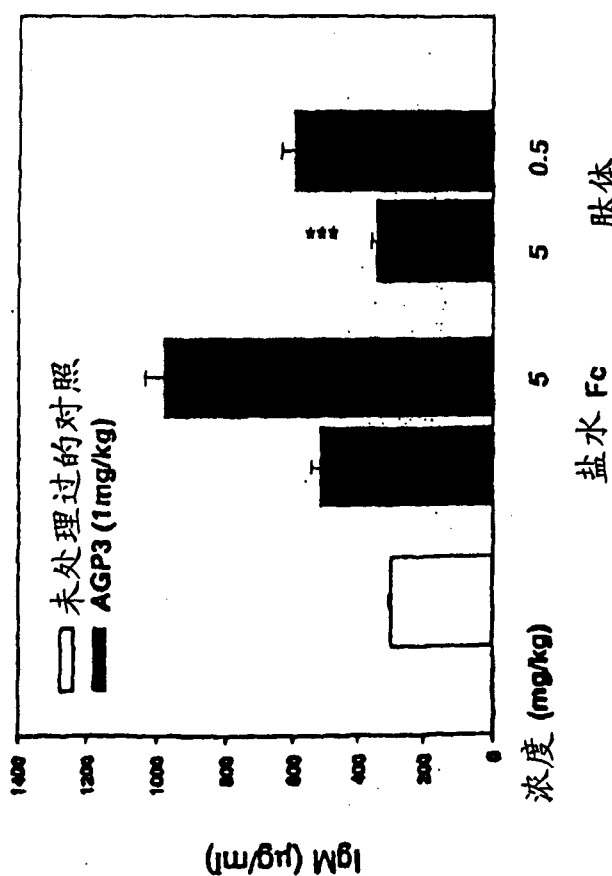
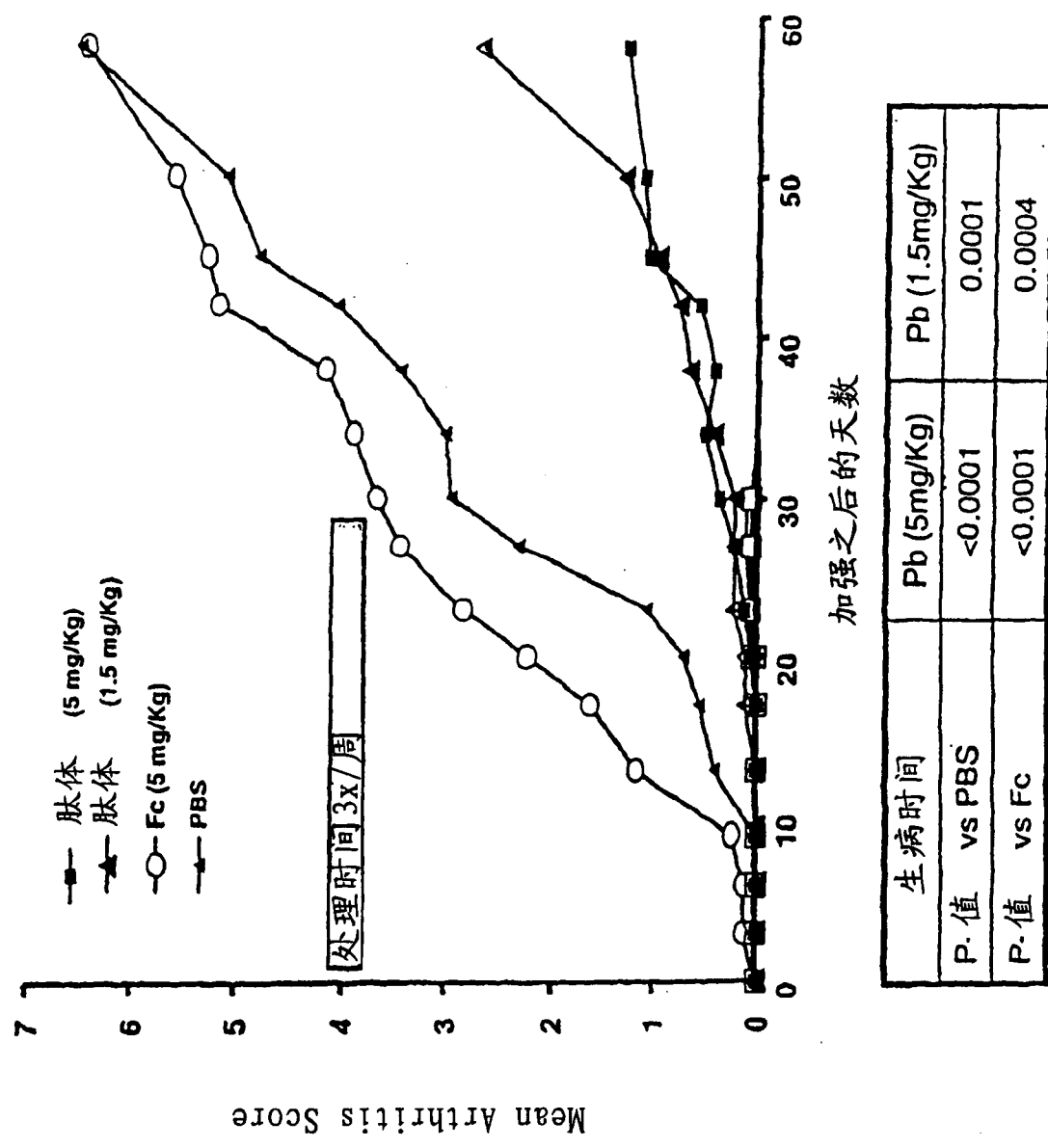


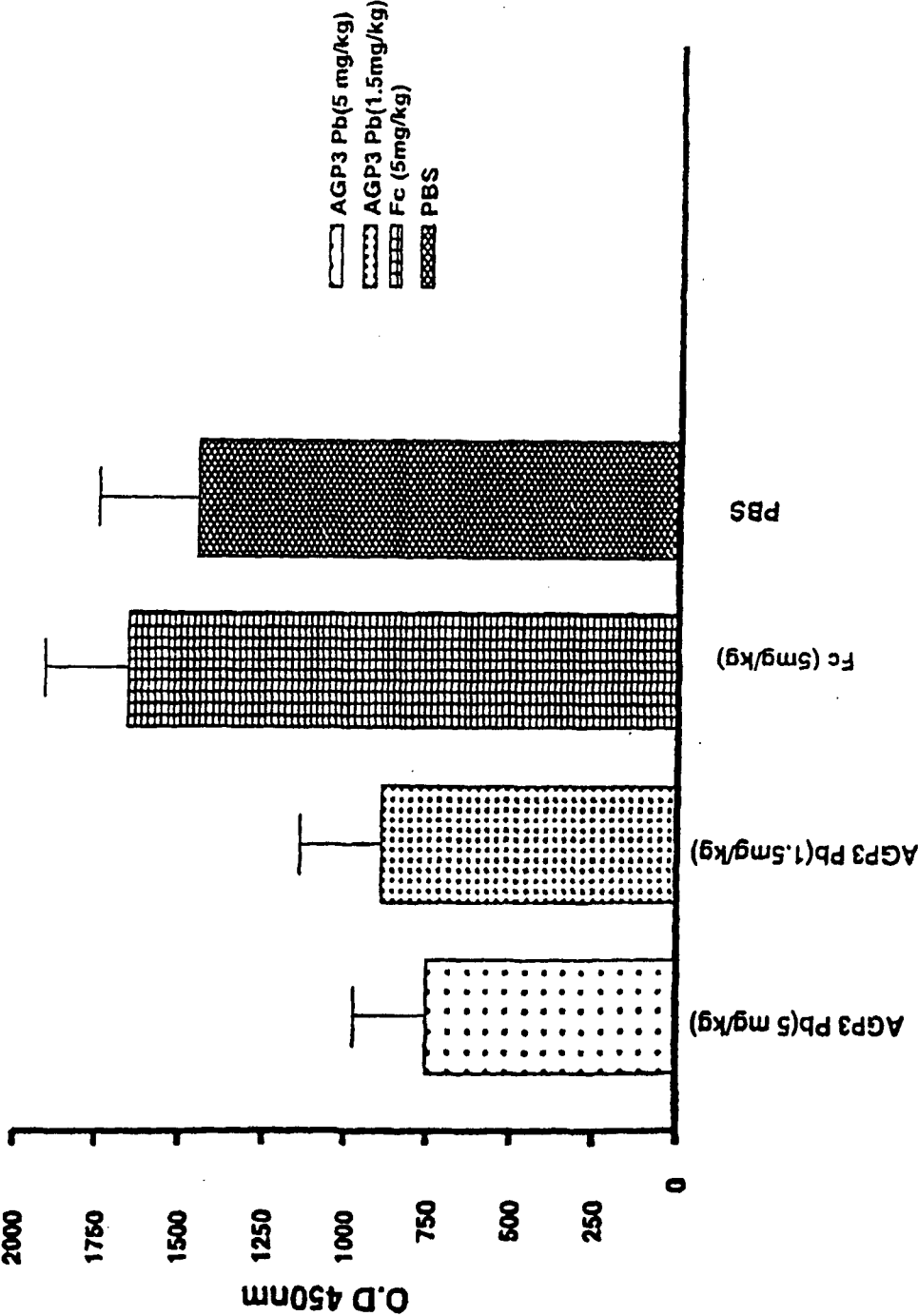
图 12A



注: 基于对数取秩试验的P-值

图 13

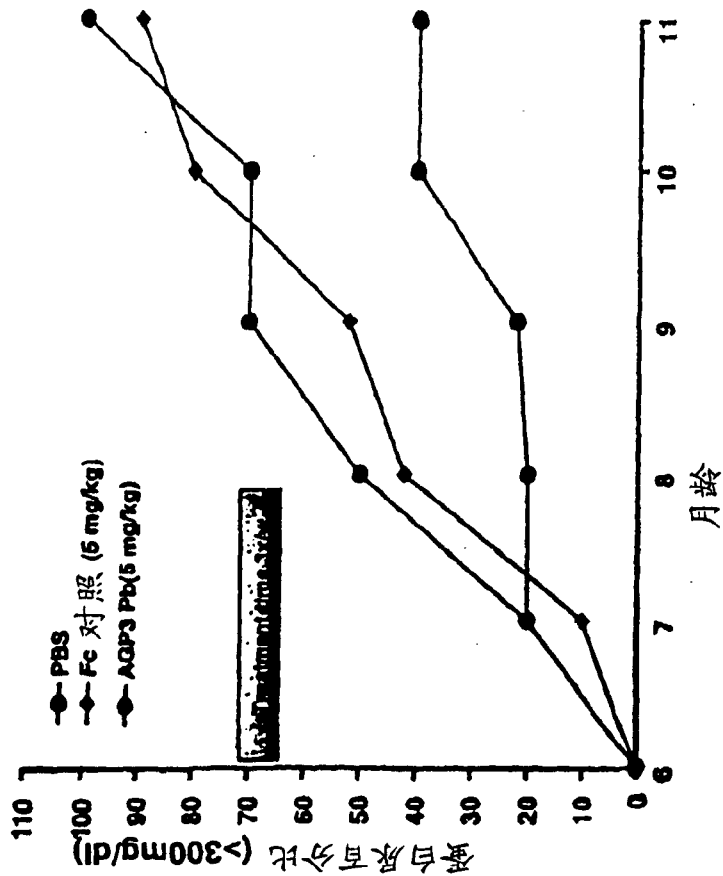
在用AGP3肽体处理时减少的抗-胶原IgG2b



在最后一次试剂处理之后1周采集血清样品(35天)
上图表示IgG1、IgG3、和IgG2a同种型

图 14

用ACP3抑制剂推迟了蛋白尿发作

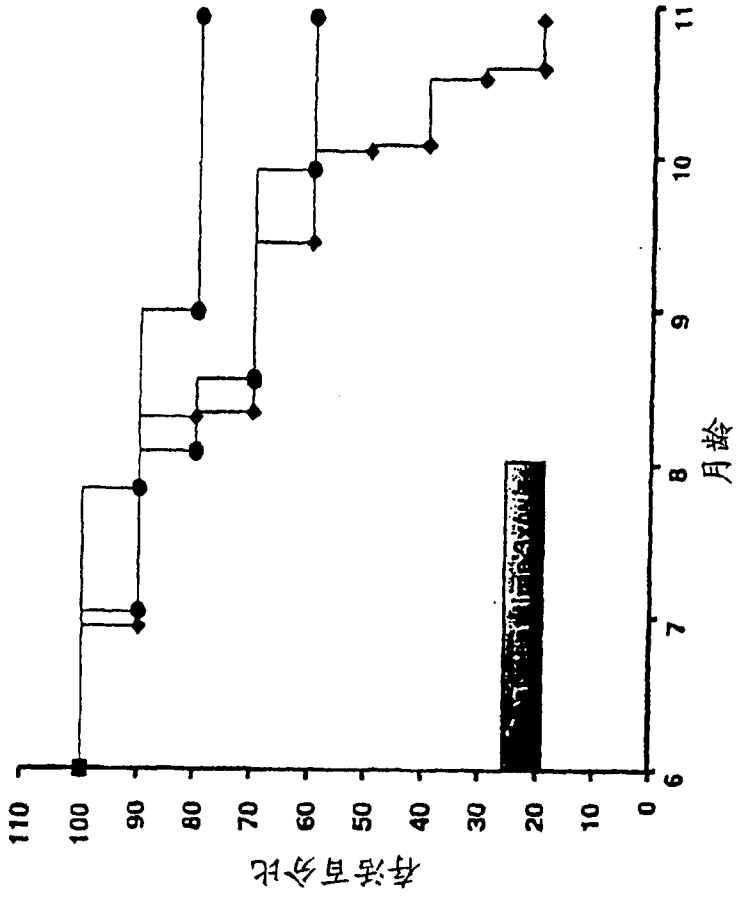


蛋白尿发病率	Pb
p- 值 vs PBS	0.0108
P-vs Fc	0.0573

基于Fisher's Exact试验的P-值

图 15A

用ACP3抑制剂延长的存活时间



死亡时间	Pb
p- 值 vs PBS	0.3685
p- 值 vs Fc	0.0159

基于对数取秩试验的P-值

图 15B

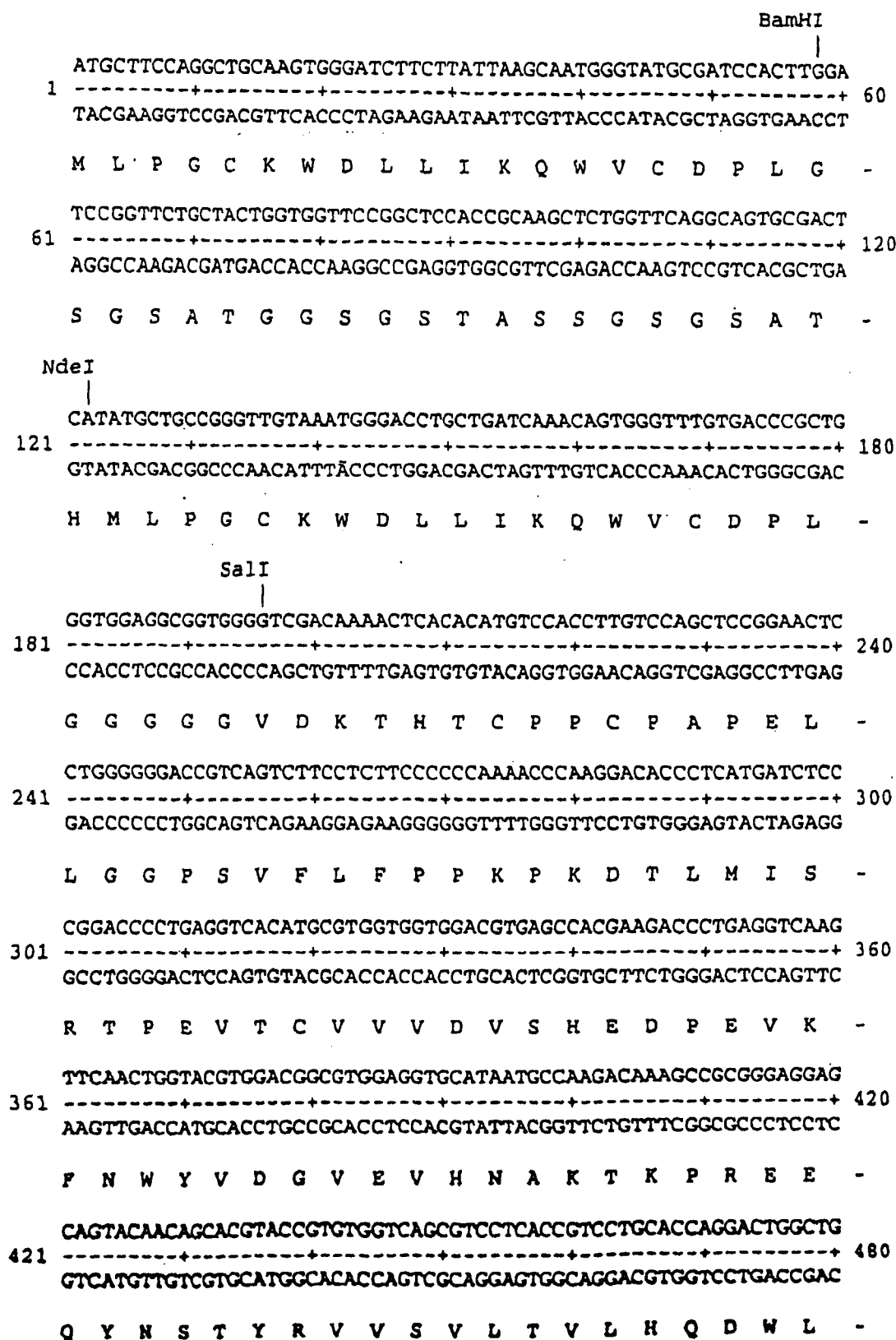


图 16A

```

AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA
481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
TTACCGTTCCTCATGTTACGTTCCAGAGGTTGTTTCGGGAGGGTCGGGGGTAGCTCTTT

N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K -

ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC
541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
TGGTAGAGGTTTCGGTTTCCCGTCGGGGCTCTTGGTGTCCACATGTGGGACGGGGGTAGG

T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S -

CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
GCCCTACTCGACTGCTTCTTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACCAGTTTCCGAAGATAGGG.

R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P -

AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG
661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 720
TCGCTGTAGCGGCACCTCACCTCTCGTTACCCGTCGGCCTCTTGTGATGTTCTGGTGC

S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T -

CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG
721 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 780
GGAGGGCACGACCTGAGGCTGCCGAGGAAGAAGGAGATGTCGTTCCAGTGGCACCTGTTC

P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K -

AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC
781 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 840
TCGTCCACCGTCGTCCCCCTTG CAGAAGAGTACGAGGCACTACGTACTCCGAGACGTGTTG

S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N -

CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAA
841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 882
GTGATGTGCGTCTTCTCGGAGAGGGACAGAGGCCCATTTATT

H Y T Q K S L S L S P G K * -

```

图 16B