



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112739713 A

(43) 申请公布日 2021. 04. 30

(21) 申请号 201980042036.7

(22) 申请日 2019.06.24

(30) 优先权数据

62/689,769 2018.06.25 US

62/768,733 2018.11.16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.12.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/038703 2019.06.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/005819 EN 2020.01.02

(71) 申请人 华盛顿大学

地址 美国华盛顿州

申请人 小利兰·斯坦福大学董事会

(72) 发明人 D·A·席尔瓦·曼扎诺 S·余

U·乌尔盖 D·贝克

K·C·加西亚 J·斯潘格勒

C·沃基 A·基亚诺·鲁比奥

K·裘德 B·魏茨纳 E·马科斯

J·卡斯特拉诺斯

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 岑晓东

(51) Int.Cl.

C07K 14/55 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 38/20 (2006.01)

C07K 14/715 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

G16B 5/00 (2006.01)

G16B 15/00 (2006.01)

G16B 50/00 (2006.01)

权利要求书15页 说明书80页

序列表163页 附图82页

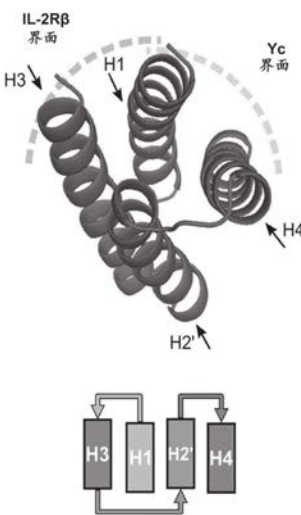
(54) 发明名称

有力的且选择性的白介素模拟物的从头设计

(57) 摘要

公开了结合IL-2受体 β γ_c 异二聚体(IL-2R β γ_c), IL-4受体 α γ_c 异二聚体(IL-4R α γ_c), 或IL-13受体 α 亚基(IL-13R α)的从头设计多肽, 以及用于使用和设计该多肽的方法。

Neo-2/15



1. 一种包含域X1, X2, X3, 和X4的非天然发生多肽, 其中:

(a) X1是包含与EHALYDAL (SEQ ID NO:1) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100%同一的氨基酸序列的肽;

(b) X2是长度为至少8个氨基酸的螺旋肽;

(c) X3是包含与YAFNFELI (SEQ ID NO:2) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100%同一的氨基酸序列的肽;

(d) X4是包含与ITILQSWIF (SEQ ID NO:3) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100%同一的氨基酸序列的肽;

其中X1, X2, X3, 和X4在该多肽中可以处于任何次序;

其中任何该域之间可以存在氨基酸接头; 且

其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体 (IL-2R $\beta\gamma_c$), IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体 (IL-4R $\alpha\gamma_c$), 或IL-13受体 α 亚基 (IL-13R α)。

2. 权利要求1的多肽, 其中:

(i) X1包括下述中一项或全部两项: 残基2处的H和残基5处的Y; 且/或

(ii) X3包括下述中1, 2, 3, 4, 或全部5项: 残基1处的Y, 残基3处的F, 残基4处的N, 残基7处的L, 和残基8处的I。

3. 权利要求1或2的多肽, 其中:

(iii) X4包括残基8处的I。

4. 权利要求1的多肽, 其中:

(i) X1包括残基2处的E和残基5处的K; 且

(ii) X3包括残基1处的F, 残基3处的K, 残基4处的R, 残基7处的R, 和残基8处的N。

5. 权利要求1或4的多肽, 其中

(iii) X4包括残基8处的F。

6. 权利要求1-5任一项的多肽, 其中:

X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO:4) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100%同一的氨基酸序列的肽;

X3是包含沿着它的长度与肽LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO:5) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100%同一的氨基酸序列的肽; 且

X4是包含沿着它的长度与肽EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO:6) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100%同一的氨基酸序列的肽。

7. 权利要求6的多肽, 其中:

(i) X1包括下述中1, 2, 3, 4, 或全部5项: 残基7处的L, 残基8处的H, 残基11处的H, 残基14处的Y; 残基18处的M; 且/或

(ii) X3包括下述中1,2,3,4,5,6,7,或全部8项:残基3处的D,残基4处的Y,残基6处的F,残基7处的N,残基10处的L,残基11处的I,残基13处的E,或残基14处的E。

8. 权利要求6或7的多肽,其中:

(iii) X4包括残基19处的I。

9. 权利要求6的多肽,其中:

X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQIMAEELKDALSLNI (SEQ ID NO:8) 至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;

X3是包含沿着它的长度与肽LERFAKRFRNLWGIARLFESG (SEQ ID NO:9) 至少37%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;且

X4是包含沿着它的长度与肽EDEQEEMANAIITILQSWFFS (SEQ ID NO:10) 至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽,

其中

(i) X1包括残基7处的I,残基8处的T或M,残基11处的E,残基14处的K和残基18处的S;且

(ii) X3包括残基3处的R,残基4处的F,残基6处的K,残基7处的R,残基10处的R,残基11处的N,残基13处的W,和残基14处的G。

10. 权利要求9的多肽,其中

(iii) X4包括残基19处的F。

11. 权利要求1-7任一项的多肽,其中在以粗体标记的AA残基处不存在相对于参照肽域的氨基酸替代。

12. 权利要求1-11任一项的多肽,其中相对于参照肽域的氨基酸替代是保守氨基酸替代。

13. 权利要求1-12任一项的多肽,其中该域以选自由X1-X2-X3-X4;X1-X3-X2-X4;X1-X4-X2-X3;X3-X2-X1-X4;X4-X3-X2-X1;X2-X3-X4-X1;和X2-X1-X4-X3组成的组的排列N端至C端排列。

14. 权利要求6-13任一项的多肽,其中相对于SEQ ID NO:4的氨基酸残基选自由下述组成的组:

位置01:A F I L M P Q R S W

位置02:A D E G V K

位置03:D E F W K

位置04:D E K N P R W

位置05:D E H I K L M S

位置06:A D E G L P S W Q

位置07:D E L Q Y I

位置08:A F H W Y M T

位置09:C F P A

位置10:C D E F K P

位置11:D F H E

位置12:A D E P S T V

位置13:H I L M P R V W

位置14:F R W Y K

位置15:D E N Y

位置16:A C L M S

位置17:F I L M P R

位置18:G M Q Y S

位置19:I L M P Q V

位置20:A K L M Q R S

位置21:G K N P R S W

位置22:D E I K M N W Y。

15. 权利要求14的多肽,其中位置7是I,位置8是M或T,位置11是E,位置14是K,且位置18是S。

16. 权利要求14的多肽,其中下述中1,2,3,4,或5项不是真的:位置7是I,位置8是M或T,位置11是E,位置14是K,且位置18是S。

17. 权利要求6-16任一项的多肽,其中相对于SEQ ID NO:5的氨基酸残基选自由下述组成的组:

位置01:A L

位置02:D E G K M T

位置03:D E N Y R

位置04:C D G T Y F

位置05:A F H S V W Y

位置06:A F I M T V Y K

位置07:D K N S T R

位置08:A C G L M S V F

位置09:C H K L R S T V E

位置10:F I L M Y R

位置11:I L N T Y

位置12:F K L M S V

位置13:A D F G I N P Q S T E W

位置14:A E F G H S V

位置15:C I L M V W

位置16:A D G S T V

位置17:H K L N R

位置18:C D G I L Q R T W

位置19:D F M N W

位置20:A C E F G M S Y

位置21:D E G H L M R S T V W

位置22:A D G K N S Y。

18. 权利要求6至17任一项的多肽,其相对于SEQ ID NO:5在位置17或20处包含半胱氨酸替代。

19. 权利要求17或18的多肽,其中位置3是R,位置4是F,位置6是K,位置7是R,位置10是R,位置11是N,位置13是W,且位置14是G。

20. 权利要求17或18的多肽,其中下述中1,2,3,4,5,6,7,或全部8项不是真的:位置3是R,位置4是F,位置6是K,位置7是R,位置10是R,位置11是N,位置13是W,且位置14是G。

21. 权利要求6-20任一项的多肽,其中相对于SEQ ID NO:6的氨基酸残基选自由下述组成的组:

位置01:D E G K V

位置02:D I M S

位置03:E G H K

位置04:E G I K Q R S

位置05:A D E G H S V

位置06:C D E G I M Q R T V

位置07:C E L M P R T

位置08:A F L M W

位置09:A G L N Q R T

位置10:A C D E F H I W

位置11:I M N S V W

位置12:I K L S V

位置13:C L M R S T

位置14:I L P T Y

位置15:F G I L M N V

位置16:H K Q R

位置17:C F K S W Y

位置18:K Q T W

位置19:C G N I

位置20:C F G L Y

位置21:A F G H S Y。

22. 权利要求6至21任一项的多肽,其相对于SEQ NO:6在位置3处包含半胱氨酸替代。

23. 权利要求21或22的多肽,其中位置19是I。

24. 权利要求21或22的多肽,其中位置19不是I。

25. 权利要求1-24任一项的多肽,其中X2是包含沿着它的长度与KDEAEKAKRMKEWMKRIKT (SEQ ID NO:7) 至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽。

26. 权利要求25的多肽,其中相对于SEQ ID NO:7的氨基酸残基选自由下述组成的组:

位置01:A H L M R S V K

位置02:A D E Q R S T V W Y

位置03:C E G K L N Q R W

位置04:A F G N S T V Y

位置05:A E G I M R V C

位置06:C E K L N R V

位置07:A C E I L S T V W

位置08:H K L M S T W Y

位置09:A I L M Q S R

位置10:A I M S W Y

位置11:C I K L S V

位置12:C E K L P Q R T

位置13:A D H N W

位置14:A C G I L S T V M

位置15:A E G I K L M R V

位置16:G H L R S T V C

位置17:A I L V

位置18:A C D E G H I K M S

位置19:D E G L N V T。

27. 权利要求25或26的多肽,其相对于SEQ NO:7在位置1,2,5,9,12,或16处包含半胱氨酸替代。

28. 权利要求26或27的多肽,其中位置11是I。

29. 权利要求26或27的多肽,其中位置11不是I。

30. 权利要求1-29任一项的多肽,其中该多肽包含与选自由SEQ ID NO:11-94,103-184,190-243,和245-247组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽。

31. 权利要求1-29任一项的多肽,其中该多肽包含与选自由SEQ ID NO:90和181组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽。

32. 权利要求1-31任一项的多肽,其中该多肽包含与SEQ ID NO:90的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽,且其中存在下述突变中一项,两项,或更多项:

R50C;

E53C;

E62C;

E69C;

R73C;和/或

E82C。

33. 权利要求1-31任一项的多肽,其中该多肽包含与SEQ ID NO:181的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽,且其中存在下述突变中一项,两项,或更多项:

D56C;
K58C;
D59C;
R66C;
T77C;
E85C;
R50C;
E53C;
E62C;
E69C;
R73C;和/或
E82C。

34. 权利要求32或33的多肽,其中该多肽包含与选自由SEQ ID NO:190-243组成的组的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽;或其中该多肽包含与选自由SEQ ID NO:195和222组成的组的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽;或其中该多肽包含与SEQ ID NO:195的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽。

35. 权利要求1-34任一项的多肽,其中该多肽连接至稳定化化合物,包括但不限于含有聚乙二醇(“PEG”)的模块。

36. 权利要求35的多肽,其中该稳定化化合物,包括但不限于含有PEG的模块,在该多肽中的半胱氨酸残基处连接。

37. 权利要求36的多肽,其中该半胱氨酸残基存在于X2中。

38. 权利要求35-37任一项的多肽,其中该稳定化化合物,包括但不限于含有PEG的模块,经由马来酰亚胺基团连接至该半胱氨酸残基,包括但不限于连接至存在于相对于SEQ ID NO:90的氨基酸残基62处的半胱氨酸残基。

39. 权利要求1-38任一项的多肽,其中该多肽包含与选自由SEQ ID NO:92,93,183,和184组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽。

40. 权利要求30-39任一项的多肽,其中位置7是I,位置8是T或M,位置11是E,位置14是K,位置18是S,位置33是Q,位置36是R,位置37是F,位置39是K,位置40是R,位置43是R,位置44是N,位置46是W,且位置47是G。

41. 权利要求40的多肽,其中位置68是I且位置98是F。

42. 权利要求30-39任一项的多肽,其中下述中1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,或全部14项不是真的:位置7是I,位置8是T或M,位置11是E,位置14是K,位置18是S,位置33是Q,位置36是R,位置37是F,位置39是K,位置40是R,位置43是R,位置44是N,位置46是W,和位置47是G。

43. 权利要求42的多肽,其中下述中一项或全部两项不是真的:位置68是I和位置98是F。

44. 权利要求1的多肽,其中该多肽包含与选自SEQ ID NO:11-94,103-184,190-243,和245-247组成的组的氨基酸序列至少80%同一的多肽。

45. 权利要求44的多肽,其中该多肽包含与选自SEQ ID NO:11-94,103-184,190-243,和245-247组成的组的氨基酸序列至少90%同一的多肽。

46. 权利要求44或45的多肽,其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)。

47. 权利要求1的多肽,其中:

(a) X1是包含与EHALYDAL (SEQ ID NO:1) 至少85%同一的氨基酸序列的肽;

(b) X2是长度为至少8个氨基酸的螺旋肽;

(c) X3是包含与YAFNFELI (SEQ ID NO:2) 至少85%同一的氨基酸序列的肽;

(d) X4是包含与ITILQSWIF (SEQ ID NO:3) 至少85%同一的氨基酸序列的肽;

其中X1,X2,X3,和X4在该多肽中可以处于任何次序;

其中任何该域之间可以存在氨基酸接头;且

其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)。

48. 权利要求1的多肽,其中:

X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO:4) 至少80%同一的氨基酸序列的肽;

X3是包含沿着它的长度与肽LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO:5) 至少80%同一的氨基酸序列的肽;且

X4是包含沿着它的长度与肽EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO:6) 至少80%同一的氨基酸序列的肽。

49. 权利要求48的多肽,其中:

X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO:4) 至少90%同一的氨基酸序列的肽;

X3是包含沿着它的长度与肽LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO:5) 至少90%同一的氨基酸序列的肽;且

X4是包含沿着它的长度与肽EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO:6) 至少90%同一的氨基酸序列的肽。

50. 权利要求47至49任一项的多肽,其中X2是包含沿着它的长度与KDEAEKAKRMKEWMKRIKT (SEQ ID NO:7) 至少90%同一的氨基酸序列的肽。

51. 权利要求44-50任一项的多肽,其中该多肽在该多肽的X2中的半胱氨酸残基处连接至含有聚乙二醇(“PEG”)的模块。

52. 权利要求51的多肽,其中该多肽包含与选自SEQ ID NO:195和222组成的组的氨基酸序列至少90%同一的多肽且其中该含有PEG的模块连接至相对于SEQ ID NO:195的氨基酸残基62处的半胱氨酸残基。

53. 权利要求44至52任一项的多肽,其中该域以选自X1-X3-X2-X4组成的组的排列N端至C端排列。

54. 权利要求2-3,6-8,11-14,16-17,20-21,24-26,29-38,42-43和47-53任一项的多

肽,其具有当重叠在天然IL-2的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标具有小于2.5埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

55.权利要求2-3,6-8,11-14,16-17,20-21,24-26,29-38,42-44和47-53任一项的多肽,其具有当重叠在具有表E2的结构坐标的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标具有小于2.5埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

56.权利要求2-3,6-8,11-14,16-17,20-21,24-26,29-38,42-45,和47-53任一项的多肽,其中当多肽在与小鼠IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 的三元复合物中时,该多肽具有当重叠在与小鼠IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 的三元复合物中的天然IL-2的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标具有小于2.5埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

57.权利要求54-56任一项的多肽,其中该均方根偏差小于1.5埃。

58.权利要求57的多肽,其中该均方根偏差是小于1埃。

59.权利要求4-6,9-15,17-19,21-23,25-28,30,和39-41任一项的多肽,其具有当重叠在天然IL-4的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标具有小于2.5埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

60.权利要求59的多肽,其中该均方根偏差小于1.5埃。

61.权利要求59或60的多肽,其中该均方根偏差小于1埃。

62.权利要求54-61任一项的多肽,其中该多肽的三维结构是使用计算建模确定的。

63.权利要求1-62任一项的多肽,其中X1,X2,X3,且X4是 α -螺旋域。

64.权利要求1-63任一项的多肽,其中X1,X2,X3和X4中每项的氨基酸长度是长度为至少约8个氨基酸。

65.权利要求1-64任一项的多肽,其中X1,X2,X3和X4中每项的氨基酸长度是长度为至少约19个氨基酸。

66.权利要求1-65任一项的多肽,其中X1,X2,X3和X4中每项的氨基酸长度不超过长度为1000个氨基酸,不超过长度为500个氨基酸,不超过长度为400个氨基酸,不超过长度为300个氨基酸,不超过长度为200个氨基酸,不超过长度为100个氨基酸,或长度为氨基酸长度为50个氨基酸。

67.权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-66任一项的多肽,其中X1结合人IL-2受体的 β 和 γ 亚基。

68.权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-67任一项的多肽,其中X2不结合人IL-2受体。

69.权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-68任一项的多肽,其中X3结合人IL-2受体的 β 亚基。

70.权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-69任一项的多肽,其中X4结合人IL-2受体的 γ 亚基。

71.权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-70任一项的多肽,其不结合人或鼠IL-2受体的 α 亚基。

72.权利要求67-71任一项的多肽,其中该结合是以生物学相关浓度通过表面等离子共振确定的特异性结合。

73.权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-72任一项的多

肽,其以200nm或更少,100nm或更少,50nm或更少,或25nm或更少的结合亲和力结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)。

74. 权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-73任一项的多肽,其中该多肽对人和小鼠IL-2受体的亲和力约等于或大于对天然IL-2的亲和力。

75. 权利要求4-6,9-15,17-19,21-23,25-28,30,35-37,39-41,和59-66任一项的多肽,其以200nm或更少,100nm或更少,50nm或更少,或25nm或更少的结合亲和力结合IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体(IL-4R $\alpha\gamma_c$)。

76. 权利要求4-6,9-15,17-19,21-23,25-28,30,35-37,39-41,59-66,和75任一项的多肽,其中该多肽对人和小鼠IL-4受体的亲和力约等于或大于对天然IL-4的亲和力。

77. 权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,和62-74任一项的多肽,其中该多肽以约等于或大于天然IL-2的效力在表达IL-2受体的细胞中刺激STAT5磷酸化。

78. 权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,62-74,和77任一项的多肽,其中该多肽以约等于或大于天然IL-2在表达IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体但缺乏IL-2受体 α 的细胞中的效力在表达IL-2受体的细胞中刺激STAT5磷酸化。

79. 权利要求2-3,6-8,11-14,16-18,20-22,24-27,29-38,42-55,62-74,和77-78任一项的多肽,其中该多肽展现约等于或大于天然IL-2的热稳定性的热稳定性。

80. 权利要求1-79任一项的多肽,其在热稳定性测试后维持或恢复至少70%的它的折叠结构。

81. 权利要求1-80任一项的多肽,其在热稳定性测试后维持或恢复至少80%的它的折叠结构。

82. 权利要求1-81任一项的多肽,其在热稳定性测试后维持或恢复至少90%的它的折叠结构。

83. 权利要求1-82任一项的多肽,其在热稳定性测试后维持或恢复至少80%的它的椭圆性谱。

84. 权利要求1-83任一项的多肽,其在热稳定性测试后维持或恢复至少70%活性。

85. 权利要求1-84任一项的多肽,其在热稳定性测试后维持或恢复至少80%活性。

86. 权利要求84或85任一项的多肽,其中活性是通过STAT5磷酸化测定法测定的。

87. 权利要求79-85任一项的多肽,其中热稳定性是通过222nm处的圆二色性(CD)光谱学测量的。

88. 权利要求87的多肽,其中该热稳定性测试包含在一小时时间帧中将该多肽自25摄氏度加热至95摄氏度,在5分钟时间帧中将该多肽冷却至25摄氏度并于222nm监测椭圆性。

89. 权利要求1的多肽,其中该多肽包含与SEQ ID NO:90,181,或247的氨基酸序列至少90%同一,至少95%同一或100%同一的多肽,其中该多肽(i)不结合人或鼠IL-2R α , (ii)以约11.2nM的亲和力结合人IL2R β , (iii)以约16.1nM的亲和力结合鼠IL2R β , (iv)以约18.8nM的亲和力结合人IL-2R $\beta\gamma_c$,和(v)以约3.4nM的亲和力结合鼠IL-2R $\beta\gamma_c$ 。

90. 权利要求1-89任一项的多肽,其中该多肽包括至少一个二硫键。

91. 权利要求90的多肽,其中该二硫键将X1,X2,X3,和X4域中两项连接到一起。

92. 权利要求90或91的多肽,其中该二硫键连接X1域至X4域。

93. 权利要求90-92的多肽,其中与没有将两个域连接到一起的二硫键的实质性相似的多肽相比该二硫化物连接改善该多肽的热稳定性。

94. 权利要求1-93任一项的多肽,其中该多肽进一步包含靶向域。

95. 权利要求94的多肽,其中该靶向域是与该多肽的翻译融合。

96. 权利要求94或95的多肽,其中该靶向域结合细胞表面蛋白质。

97. 权利要求96的多肽,其中该细胞表面蛋白质存在于选自由肿瘤细胞,血管成分,肿瘤微环境(例如成纤维细胞,浸润性免疫细胞,或基质元件),其它癌细胞和免疫细胞(包括但不限于CD8⁺T细胞,T-调节细胞,树突细胞,NK细胞,或巨噬细胞)组成的组的细胞的表面上,此类免疫细胞表面标志物包括但不限于CD3,CD4,CD8,CD19,CD20,CD21,CD25,CD37,CD30,CD33,CD40,CD68,CD123,CD254,PD-1,B7-H3,和CTLA-4。

98. 权利要求96的多肽,其中该靶向域结合肿瘤细胞,肿瘤血管成分细胞,或肿瘤微环境细胞表面标志物。

99. 权利要求98的多肽,其中该细胞表面标志物选自包括但不限于EGFR,EGFRvIII,Her2,HER3,EpCAM,MSLN,MUC16,PSMA,TROP2,ROR1,RON,PD-L1,CD47,CTLA-4,CD5,CD19,CD20,CD25,CD37,CD30,CD33,CD40,CD45,CAMPATH-1,BCMA,CS-1,PD-L1,B7-H3,B7-DC,HLD-DR,癌胚抗原(CEA),TAG-72,EpCAM,MUC1,叶酸结合蛋白,A33,G250,前列腺特异性膜抗原(PSMA),铁蛋白,GD2,GD3,GM2,Le^y,CA-125,CA19-9,表皮生长因子,p185HER2,IL-2受体,EGFRvIII(de2-7 EGFR),成纤维细胞激活蛋白,腱蛋白,金属蛋白酶,内皮唾液酸蛋白,血管内皮生长因子,avB3,WT1,LMP2,HPV E6,HPV E7,Her-2/neu,MAGE A3,p53非突变体,NY-ESO-1,MelanA/MART1,Ras突变体,gp100,p53突变体,PR1,bcr-abl,酪氨酸酶,存活素,PSA,hTERT,肉瘤易位断点蛋白,EphA2,PAP,ML-IAP,AFP,ERG,NA17,PAX3,ALK,雄激素受体,细胞周期蛋白B1,聚唾液酸,MYCN,RhoC,TRP-2,岩藻糖基GM1,间皮素(MSLN),PSCA,MAGE A1,sLe(动物),CYP1B1,PLAV1,GM3,BORIS,Tn,GloboH,ETV6-AML,NY-BR-1,RGS5,SART3,STn,碳酸酐酶IX,PAX5,OY-TESL精蛋白17,LCK,HMWMAA,AKAP-4,SSX2,XAGE 1,豆荚蛋白(Legumain),Tie 3,VEGFR2,MAD-CT-1,PDGFR-B,MAD-CT-2,ROR2,TRAIL1,MUC16,MAGE A4,MAGE C2,GAGE,EGFR,CMET,HER3,MUC15,CA6,NAPI2B,TROP2,CLDN6,CLDN16,CLDN18.2,CLorf186,RON,LY6E,FRA,DLL3,PTK7,STRA6,TMPRSS3,TMPRSS4,TMEM238,UPK1B,VTCN1,LIV1,ROR1,Fos相关抗原1,和下文列出的标志物的组:

(1) BMPRI1B(骨形态发生蛋白受体-IB型,Genbank登录号NM.sub.--001203);

(2) E16(LAT1,SLC7A5,Genbank登录号NM.sub.--003486);

(3) STEAP1(前列腺六次跨膜上皮抗原,Genbank登录号NM.sub.--012449);

(4) 0772P(CA125,MUC16,Genbank登录号AF361486);

(5) MPF(MPF,MSLN,SMR,巨核细胞强化因子,间皮素,Genbank登录号NM.sub.--005823);

(6) Napi3b(NAPI-3B,NPTI1b,SLC34A2,溶质载体家族34(磷酸钠),成员2,II型钠依赖性磷酸盐转运蛋白3b,Genbank登录号NM.sub.--006424);

(7) Sema 5b(FLJ10372,KIAA1445,Mm.42015,SEMA5B,SEMAG,信号素5b Hlog,sema域,七次血小板反应素重复(1型和1型样),跨膜域(TM)和短胞质域,(信号素)5B,Genbank登录号AB040878);

(8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12基因, Genbank登录号AY358628) ;

(9) ETBR (内皮缩血管肽B型受体, Genbank登录号AY275463) ;

(10) MSG783 (RNF124, 假设的蛋白质FLJ20315, Genbank登录号NM.sub.--017763) ;

(11) STEAP2 (HGNC.sub.--8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, 前列腺癌相关基因1, 前列腺癌相关蛋白1, 前列腺六次跨膜上皮抗原2, 六次跨膜前列腺蛋白, Genbank登录号AF455138) ;

(12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 瞬时受体潜在阳离子通道, 亚家族M, 成员4, Genbank登录号NM.sub.--017636) ;

(13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 畸胎癌衍生生长因子, Genbank登录号NP.sub.--003203或NM.sub.--003212) ;

(14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或C3DR (C3d/Epstein Barr病毒受体) 或Hs.73792, Genbank登录号M26004) ;

(15) CD79b (Ig β (免疫球蛋白相关 β), B29, Genbank登录号NM.sub.--000626) ;

(16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (含有SH2域的磷酸酶锚蛋白1a), SPAP1B, SPAP1C, Genbank登录号NM.sub.--030764) ;

(17) HER2 (Genbank登录号M11730) ;

(18) NCA (Genbank登录号M18728) ;

(19) MDP (Genbank登录号BC017023) ;

(20) IL20R α (Genbank登录号AF184971) ;

(21) Brevican (Genbank登录号AF229053) ;

(22) Ephb2R (Genbank登录号NM.sub.--004442) ;

(23) ASLG659 (Genbank登录号AX092328) ;

(24) PSCA (Genbank登录号AJ297436) ;

(25) GEDA (Genbank登录号AY260763) ;

(26) BAFF-R (Genbank登录号NP.sub.--443177.1) ;

(27) CD22 (Genbank登录号NP-001762.1) ;

(28) CD79a (CD79A, CD79 α , 免疫球蛋白相关 α , B细胞特异性蛋白, 与Ig β 共价相互作用 (CD79B) 并与Ig M分子在表面上形成复合物, 转导牵涉B-细胞分化的信号, Genbank登录号NP.sub.--001774.1) ;

(29) CXCR5 (伯基特氏淋巴瘤受体1, G蛋白偶联受体, 受到CXCL13趋化因子活化, 在淋巴细胞迁移和体液防御中发挥功能, 在HIV-2感染和可能AIDS, 淋巴瘤, 骨髓瘤, 和白血病的发生中发挥作用, Genbank登录号NP.sub.--001707.1) ;

(30) HLA-DOB (MHC II类分子的 β 亚基 (Ia抗原), 结合肽并将它们呈递给CD4+T淋巴细胞, Genbank登录号NP.sub.--002111.1) ;

(31) P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控离子通道5, 由胞外ATP控门的离子通道, 可能牵涉突触传递和神经发生, 缺陷可能促成特发性逼尿肌不稳定的病理生理学, Genbank登录号NP.sub.--002552.2) ;

(32) CD72 (B-细胞分化抗原CD72, Lyb-2, Genbank登录号NP.sub.--001773.1) ;

(33) LY64 (淋巴细胞抗原64 (RP105), 富含亮氨酸的重复 (LRR) 家族的I型膜蛋白, 调节B-细胞激活和凋亡, 功能丧失与具有系统性红斑狼疮的患者中升高的疾病活性有关, Genbank登录号NP.sub.--005573.1);

(34) FCRH1 (Fc受体样蛋白1, 含有C2型Ig样和ITAM域的免疫球蛋白Fc域的推定受体, 可能在B-淋巴细胞分化中具有作用, Genbank登录号NP.sub.--443170.1); 和

(35) IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体易位相关2, 在B细胞发育和淋巴瘤发生中可能有作用的推定免疫受体; 在一些B细胞恶性中发生易位所致基因失调, Genbank登录号NP.sub.--112571.1)。

100. 权利要求96的多肽, 其中该靶向域结合免疫细胞表面标志物 (包括但不限于CD8+T细胞, T-调节细胞, 树突细胞, NK细胞, 或巨噬细胞), 其中该免疫细胞表面标志物可以包括但不限于CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD21, CD25, CD37, CD30, CD33, CD40, CD68, CD123, CD254, PD-1, B7-H3, 和CTLA-4, 且/或其中该靶向域结合PD-1, PDL-1, CTLA-4, TROP2, B7-H3, CD33, CD22, 碳酸酐酶IX, CD123, 连接素-4, 组织因子抗原, CD154, B7-H3, B7-H4, FAP (成纤维细胞激活蛋白) 或MUC16。

101. 权利要求94-100任一项的多肽, 其中该靶向域可以包括但不限于结合该细胞表面的scFv, F(ab), F(ab')₂, B细胞受体 (BCR), DARPin, 亲和体 (affibody), 单抗体 (monobody), 纳米抗体 (nanobody), 双抗体 (diabody), 抗体 (包括单特异性或双特异性抗体); 细胞靶向性寡肽, 包括但不限于RGD整联蛋白结合肽, 从头设计结合物, 适体, 双环肽, 芋螺毒素, 小分子, 诸如叶酸, 和病毒。

102. 一种重组核酸, 其编码权利要求1-101任一项的多肽。

103. 一种表达载体, 其包含与启动子可操作连接的权利要求102的重组核酸。

104. 一种重组宿主细胞, 其包含权利要求102的核酸和/或权利要求103的表达载体。

105. 一种药学组合物, 其包含权利要求1-101任一项的多肽, 权利要求102的重组核酸, 权利要求103的表达载体, 或权利要求104的重组宿主细胞, 和药学可接受载剂。

106. 一种用于治疗癌症的方法, 其包含以有效治疗肿瘤的量对具有癌症的受试者施用权利要求1-101任一项的多肽, 权利要求102的重组核酸, 权利要求103的表达载体, 权利要求104的重组宿主细胞, 或权利要求105的药学组合物。

107. 权利要求106的方法, 其中该癌症选自由结肠癌, 黑素瘤, 肾细胞癌, 头颈部鳞状细胞癌, 胃癌, 膀胱上皮癌, 霍奇金淋巴瘤, 非小细胞肺癌, 小细胞肺癌, 肝细胞癌, 胰腺癌, 梅克尔细胞癌, 结肠直肠癌, 急性髓样白血病, 急性成淋巴细胞性白血病, 慢性淋巴细胞性白血病, 非霍奇金淋巴瘤, 多发性骨髓瘤, 卵巢癌, 宫颈癌, 和通过, 诸如微卫星不稳定性, 肿瘤突变负荷, PD-L1表达水平, 或免疫得分测定法 (如由the Society for Immunotherapy of Cancer开发的) 等诊断测试选择的任何肿瘤类型组成的组。

108. 权利要求1-101任一项的多肽, 权利要求102的重组核酸, 权利要求103的表达载体, 权利要求104的重组宿主细胞, 或权利要求105的药学组合物, 供作为在受试者中用于治疗癌症和/或用于调控免疫应答的药物使用。

109. 一种用于在受试者中调控免疫应答的方法, 其包含对该受试者施用权利要求1-101任一项的多肽, 权利要求102的重组核酸, 权利要求103的表达载体, 权利要求104的重组宿主细胞, 或权利要求105的药学组合物。

110. 权利要求109的方法,其中该免疫应答是抗癌症免疫应答,组织修补免疫应答或伤口愈合免疫应答。

111. 权利要求109或110的方法,其中作为生物材料的成分施用该多肽,重组核酸,表达载体,重组宿主细胞,或药学组合物。

112. 权利要求109-111任一项的方法,其进一步包含将第二治疗剂施用于该受试者。

113. 权利要求112的方法,其中该多肽增强该受试者对该第二治疗剂的免疫应答。

114. 权利要求112-113任一项的方法,其中该第二治疗剂包含化疗剂或抗原特异性免疫治疗剂,包括但不限于嵌合抗原受体T细胞。

115. 一种方法,其包含:

使用计算装置对蛋白质的多数残基确定结构,其中多数残基的结构提供特定受体结合界面;

使用由计算装置提供的模拟物设计方案确定多数设计残基,其中多数设计残基提供特定受体结合界面,且其中多数设计残基不同于多数残基;

使用计算装置确定连接多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构;

通过使用计算装置在多数组合上装配一个或多个连接螺旋结构和多数设计残基确定蛋白质的第一蛋白质主链;

使用计算装置基于第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计蛋白质的第二蛋白质主链;和

生成涉及至少第二蛋白质主链的输出。

116. 权利要求115的方法,其中使用模拟物设计方案确定多数设计残基包含使用理想化残基的数据库确定理想化残基,其中理想化残基涉及多数设计残基的设计残基。

117. 权利要求116的方法,其中使用理想化残基的数据库确定理想化残基包含:

自理想化残基的数据库检索涉及理想化残基的一个或多个理想化片段;和

通过使用一个或多个理想化片段重建所涉及的设计残基来确定理想化残基。

118. 权利要求117的方法,其中使用一个或多个理想化片段重建所涉及的设计残基包含:

通过使用成对的一个或多个理想化片段的组合片段装配来重连接成对的一个或多个理想化片段;和

使用Cartesian约束的主链最小化来确定成对的一个或多个理想化片段是否连接多数设计残基中的两个或更多个。

119. 权利要求118的方法,其中使用一个或多个理想化片段重建所涉及的设计残基包含:

使用理想化残基的数据库验证理想化残基的交叠片段是理想化片段;

验证理想化残基是否同与特定受体结合界面联合的靶受体不冲突;和

在验证理想化残基同与特定受体结合界面联合的靶受体不冲突后,使用理想化残基的数据库确定理想化残基的每个位置处的最可能氨基酸。

120. 权利要求118的方法,其中通过在多数组合上装配一个或多个连接螺旋结构和多数设计残基确定蛋白质的第一蛋白质主链包含:

通过组合式重组合成对的一个或多个理想化片段来重组合成对的一个或多个理想化

片段;和

使用重组合的成对的一个或多个理想化片段确定蛋白质的第一蛋白质主链。

121. 权利要求120的方法,其中组合式重组合成对的一个或多个理想化片段包含基于成对的一个或多个理想化片段的理想化片段之间的互联长度将成对的一个或多个理想化片段定级。

122. 权利要求115的方法,其中使用模拟物设计方案确定多数设计残基包含:

使用代表多数设计残基的设计残基的形状的一个或多个参数方程确定理想化残基;和
确定用多数设计残基的至少一个设计残基闭合理想化残基的单一片段。

123. 权利要求122的方法,其中设计残基包含螺旋结构,且其中一个或多个参数方程包含涉及螺旋结构的 Φ 和 ψ 角的方程。

124. 权利要求123的方法,其中涉及螺旋结构的 Φ 和 ψ 角的方程包括涉及螺旋结构的 Φ 和 ψ 角的角矩的一个或多个项。

125. 权利要求115的方法,其中生成涉及蛋白质的第二蛋白质主链的输出包含基于蛋白质的第二蛋白质主链设计一种或多种分子。

126. 权利要求115的方法,其中生成涉及蛋白质的第二蛋白质主链的输出包含:

生成基于蛋白质的第二蛋白质主链的蛋白质的合成基因;

使用合成基因在体内表达特定蛋白质;和

纯化特定蛋白质。

127. 权利要求126的方法,其中使用合成基因在体内表达特定蛋白质序列包含在包括合成基因的一个或多个大肠杆菌中表达特定蛋白质序列。

128. 权利要求115的方法,其中生成涉及蛋白质的第二蛋白质主链的输出包含生成包括蛋白质的第二蛋白质主链的至少部分的一个或多个图像。

129. 权利要求115的方法,其中计算装置包含蛋白质合成装置,且其中生成涉及蛋白质的至少第二蛋白质主链的输出包含使用蛋白质合成装置合成蛋白质的至少第二蛋白质主链。

130. 权利要求115至129任一项的方法,其中该方法用于设计蛋白质模拟物。

131. 一种非天然发生蛋白质模拟物,其是通过权利要求130的方法鉴定的。

132. 权利要求131的非天然蛋白质,其是细胞因子模拟物。

133. 权利要求122的非天然蛋白质,其是IL-2模拟物或IL-4模拟物。

134. 一种计算装置,其包含:

一个或多个处理器;和

数据存储,其配置成存储当执行时引起计算装置实施包含下述的功能的至少计算机可读指令:

为蛋白质中提供特定受体结合界面的多数残基确定结构;

使用模拟物设计方案确定多数设计残基,其中多数设计残基提供特定受体结合界面,且其中多数设计残基不同于多数残基;

确定连接多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构;

通过在多数组合上装配一个或多个连接螺旋结构和多数设计残基确定蛋白质的第一蛋白质主链;

基于第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计蛋白质的第二蛋白质主链；并生成涉及蛋白质的至少第二蛋白质主链的输出。

135. 权利要求134的计算装置, 其中使用模拟物设计方案确定多数设计残基包含使用理想化残基的数据库确定理想化残基, 其中理想化残基涉及多数设计残基的设计残基。

136. 权利要求134的计算装置, 其中使用模拟物设计方案确定多数设计残基包含: 使用代表多数设计残基的设计残基的形状的一个或多个参数方程确定理想化残基; 并确定用多数设计残基的至少一个设计残基闭合理想化残基的单一片段。

137. 权利要求135的计算装置, 其中该计算装置进一步包含蛋白质合成装置, 且其中生成涉及蛋白质的至少第二蛋白质主链的输出包含使用蛋白质合成装置合成蛋白质的至少第二蛋白质主链。

138. 一种非暂时性计算机可读介质, 其配置成存储当由计算装置的一个或多个处理器执行时引起计算装置实施包含下述的功能的至少计算机可读指令:

为蛋白质中提供特定受体结合界面的多数残基确定结构;

使用模拟物设计方案确定多数设计残基, 其中多数设计残基提供特定受体结合界面, 且其中多数设计残基不同于多数残基;

确定连接多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构;

通过在多数组合上装配一个或多个连接螺旋结构和多数设计残基确定蛋白质的第一蛋白质主链;

基于第一蛋白质主链为了柔性和低能量的结构设计蛋白质的第二蛋白质主链; 并生成涉及蛋白质的至少第二蛋白质主链的输出。

有力的且选择性的白介素模拟物的从头设计

[0001] 交叉援引

[0002] 此申请要求2018年6月25日提交的流水号62/689,769和2018年11月16日提交的流水号62/768,733的美国临时专利申请的优先权,通过援引以其整体将每一篇收入本文。

[0003] 发明背景中免疫细胞因子白介素(诸如IL-2和IL-4)对于癌症治疗的可观潜力已经鼓舞了众多努力,通过突变和/或化学修饰来改善它们的治疗特性。然而,因为这些办法受到天然IL-2或IL-4密切束缚,所以它们不能消除不想要的特性,诸如低稳定性和对IL-2受体 α 亚基(IL-2Ra), IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体(IL-4Ra γ_c),或IL-13受体 α 亚基(IL-13Ra)的结合。

[0004] 发明概述在一个方面,提供了一种方法。计算装置为蛋白质的多数残基确定结构,其中该多数残基的结构提供特定受体结合界面。该计算装置使用由该计算装置提供的模拟物设计方案确定多数设计残基,其中该多数设计残基提供该特定受体结合界面,且其中该多数设计残基不同于该多数残基。

[0005] 该计算装置确定连接该多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构。该计算装置通过在多数组合上装配该一个或多个连接螺旋结构和该多数设计残基确定该蛋白质的第一蛋白质主链。该计算装置基于该第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计该蛋白质的第二蛋白质主链。该计算装置生成涉及至少该第二蛋白质主链的输出。

[0006] 还包括的是通过本文中描述的方法制备的非天然发生蛋白质。该非天然发生蛋白质可以是细胞因子,例如非天然发生IL-2或IL-4(在本文中也称作IL-2, IL-2/15模拟物或IL-4模拟物)。

[0007] 在另一个方面,提供了一种计算装置。该计算装置包括一个或多个处理器;和数据存储器,其配置成存储当由该一个或多个处理器执行时引起该计算装置实施功能的至少计算机可读指令。该功能包括:为蛋白质中提供特定受体结合界面的多数残基确定结构;使用模拟物设计方案确定多数设计残基,其中该多数设计残基提供该特定受体结合界面,且其中该多数设计残基不同于该多数残基;确定连接该多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构;通过在多数组合上装配该一个或多个连接螺旋结构和该多数设计残基确定该蛋白质的第一蛋白质主链;基于该第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计该蛋白质的第二蛋白质主链;和生成涉及该蛋白质的至少该第二蛋白质主链的输出。

[0008] 在另一个方面,提供了一种非暂时性计算机可读介质。该非暂时性计算机可读介质是配置成存储当由计算装置的一个或多个处理器执行时引起该计算装置实施功能的至少计算机可读指令。该功能包括:为蛋白质中提供特定受体结合界面的多数残基确定结构;使用模拟物设计方案确定多数设计残基,其中该多数设计残基提供该特定受体结合界面,且其中该多数设计残基不同于该多数残基;确定连接该多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构;通过在多数组合上装配该一个或多个连接螺旋结构和该多数设计残基确定该蛋白质的第一蛋白质主链;基于该第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计该蛋白质的第二蛋白质主链;和生成涉及该蛋白质的至少该第二蛋白质主链的输出。

[0009] 在另一个方面,提供了一种装置。该装置包括:用于为蛋白质中提供特定受体结合

界面的多数残基确定结构的手段;用于使用模拟物设计方案确定多数设计残基的手段,其中该多数设计残基提供该特定受体结合界面,且其中该多数设计残基不同于该多数残基;用于确定连接该多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构的手段;用于通过在多数组合上装配该一个或多个连接螺旋结构和该多数设计残基确定该蛋白质的第一蛋白质主链的手段;用于基于该第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计该蛋白质的第二蛋白质主链的手段;和用于生成涉及该蛋白质的至少该第二蛋白质主链的输出的手段。

[0010] 在另一个方面,提供了包含域X1,X2,X3,和X4的非天然发生多肽,其中:

[0011] (a) X1是包含与EHALYDAL (SEQ ID NO:1) 至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;

[0012] (b) X2是长度为至少8个氨基酸的螺旋肽;

[0013] (c) X3是包含与YAFNFELI (SEQ ID NO:2) 至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;

[0014] (d) X4是包含与ITILQSWIF (SEQ ID NO:3) 至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;

[0015] 其中X1,X2,X3,和X4在该多肽中可以处于任何次序;

[0016] 其中任何该域之间可以存在氨基酸接头;且

[0017] 其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$),IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体(IL-4R $\alpha\gamma_c$),或IL-13受体 α 亚基(IL-13R α)。

[0018] 在其它方面,提供了包含本文中公开的一种或多种多肽和药学可接受载剂的药学组合物,编码本文中公开的多肽的重组核酸,包含本文中公开的重组核酸的表达载体,和包含本文中公开的一种或多种表达载体的重组宿主细胞。在又一个方面,提供了用于治疗癌症的方法,其包含以有效治疗肿瘤的量对具有癌症的受试者施用本文中公开的一种或多种多肽,重组核酸,包含该重组核酸的表达载体,和/或重组宿主细胞或其药学组合物。

[0019] 附图简述

[0020] 下面的图依照示例实施方案:

[0021] 图1A-1D。从头细胞因子模拟物的计算设计。图1A) 设计模拟物具有四个螺旋;三个模拟IL-2与hIL-2R $\beta\gamma_c$ 的相互作用,而第四个将前三个保持在位。顶部:在第一代设计中,使用来自一个聚簇理想片段数据库(大小:4个a.a.)的片段-装配将IL-2的每个核心元件(螺旋H1-H4)独立理想化;底部:在第二代设计中,改为使用重演每个非实体螺旋的形狀的参数方程构建核心元件,容许每个螺旋的长度变化 ± 8 个a.a.;图1B) 使用理想环片段(1代和2代的大小分别为:4个a.a.或7个a.a.,见方法)再连接成对的螺旋,显示了新构建的元件连接每对螺旋的代表例;图1C) 以所有可能组合装配图1B中生成的螺旋发夹以生成完全连接的蛋白质主链;图1D) 通过酵母展示对设计和实验成熟版本测试结合,并且重组表达(大肠杆菌)那些展现高亲和力结合的并测试结合(使用表面等离子共振)和IL-2样磷酸-STAT5(pSTAT5)信号传导。第一代的3种设计和第二代的10种设计的结果以实心符号在2D图中显示。空心星是Neoleukin-2/15,箭源自它的亲本(未优化)设计。

[0022] 图2A-2C。Neoleukin-2/15的表征。图2A) 自顶部至底部:在表面等离子共振实验中,Neoleukin-2/15不结合人或鼠IL-2R α ,但以相似的亲和力结合人和鼠IL-2R β 二者(对人和小鼠受体的K_d分别为 $\sim$ 11.2nM和16.1nM)。像天然IL-2,Neoleukin-2/15较差结合 γ_c 受体,而且展现对人和鼠IL-2R β γ_c 二者的合作结合(对人和小鼠异二聚体受体的K_d $\sim$ 18.8nM和38.4nM,而天然hIL-2和Super-2的K_d为 $\sim$ 193.6nM和300.9nM,见表E1)。图2B) 顶部:体外pSTAT5信号传导研究证明Neoleukin-2/15在人细胞中引发IL-2样信号传导(EC₅₀),并以 $\sim$ 相同的效力(在CD25+和CD25-细胞上的EC₅₀分别为 $\sim$ 73.0pM和49.2pM)激活有或无IL-2R α 表达(CD25)的人YT-1NK细胞;底部:类似地,鼠CD4+原代细胞中的离体实验证明Neoleukin-2/15还能在鼠细胞中引发有力的IL-2样信号传导,而且不依赖性于IL-2R α 表达(在CD25+和CD25-细胞上的EC₅₀分别为 $\sim$ 24pM和129pM);图2C) 顶部:结合实验(OCTET)显示Neoleukin-2/15能于80℃温育2小时而无任何可察觉的结合损失,而人和鼠IL-2快速失去活性;底部:在存活需要IL-2的培养的鼠脾细胞上的离体实验证明于95℃温育1小时的Neoleukin-2/15仍然有效驱动细胞存活($\sim$ 70%相对发光,以10ng/ml),而mIL2和Super-2实际上无活性(分别为 $\sim$ 10%和0.1%,以10ng/ml)。

[0023] 图3A-3E。Neoleukin-2/15 (Neo-2/15) 和它与mIL-2R β γ_c 的三元复合物的结构。图3A) 顶部:Neoleukin-2/15 (Neo-2/15) 链A与设计模型的结构比对(100个Ca原子的r.m.s.d. 1.11 Å);底部:界面螺旋H1,H3和H4的详情(编号依照hIL-2,见图1)。界面侧链以棍显示;图3B) Neo-2/15与mIL-2R β 和 γ_c 的三元复合物的结晶学结构(三元复合物中Neo-2/15的93个建模Ca原子的r.m.s.d.1.27 Å);图3C) 三元复合物中单体Neo-2/15(链A)与Neo-2/15的结构比对(三元复合物中93个建模Ca原子的r.m.s.d.1.71 Å)。与单体晶体结构相比,螺旋H4显示三元复合物结构中螺旋H4的大约4.0Å位移;图3D) 结晶学结构:hIL-2(卡通呈现)。标示了与IL-2R β 和 γ_c 相互作用的区域。来自hIL-2的与IL-2R α 相互作用的富含环的区域在从头模拟Neo-2/15中不存在。图3E) 来自“b)”中的三元复合物的Neoleukin-2/15的结晶学结构(卡通呈现)。标示了与IL-2R β 和 γ_c 相互作用的区域。来自hIL-2的与IL-2R α 相互作用的富含环的区域在从头模拟Neo-2/15中不存在。

[0024] 图4A-4G。Neoleukin-2/15的免疫原性,免疫刺激和治疗活性。图4A) 幼稚小鼠T细胞中Neoleukin-2/15 (Neo-2/15) 的剂量放大效果。每天以所示浓度用Neoleukin-2/15或mIL-2处理幼稚C57BL/6小鼠(n=2-3每组)。14天后,收获脾并使用所示标志物通过流式细胞术进行分析。条形图显示mIL-2以剂量依赖性方式增强CD4+ Treg扩充,而Neo-2/15在Treg细胞扩充方面具有很小的效果或无效果。Neoleukin-2/15驱动与mIL-2相比更高的CD8+:Treg比;图4B) Neo-2/15在小鼠中在气道炎症模型中的效果(20μg/天/小鼠,7天)。与幼稚小鼠相似,Neo-2/15并不提高淋巴样器官中抗原特异性CD4+Foxp3+ T_{regs}的频率,而且在提高肺驻留(Thy1.2-,通过血管内标记)CD8+ T细胞的频率方面与mIL-2相当有效;图4C) Neoleukin-2/15不具有可检测的免疫原性。通过皮下注射对C57BL/6小鼠接种5x10⁵个B16F10细胞。在第1天开始,每天通过腹膜内(i.p.)注射用Neoleukin-2/15(10μg)或等摩尔mIL-2处理小鼠(n=10每个组)。14天后,收集血清(抗血清)并在用胎牛血清(FBS 10%,阴性对照),Neoleukin-2/15,mIL-2,hIL-2,或卵清蛋白(OVA)(作为阴性对照)包被的板中通过ELISA检测IgG(点线显示阴性对照的平均值)。使用抗Neo-2/15多克隆抗体作为阳性对照(黑色,n=2),其不与mIL-2或hIL2交叉反应;图4D) 对C57BL/6小鼠免疫接种完全弗氏佐剂

中的500 μ g KO Neo-2/15并在第7和15天用不完全弗氏佐剂中的500 μ g KO Neo-2/15加强。如所示的,通过血清(在PBS中1:1,000稀释)与板结合的KO Neo-2/15,Neo-2/15或小鼠IL-2一起温育来测定针对KO Neo-2/15和天然Neo-2/15的反应性,以及与小鼠IL-2的交叉反应性。使用缀合HRP的抗小鼠二抗,继以与TMB一起温育来检测血清结合。作为450nm处的光密度报告数据。顶部,幼稚小鼠血清;底部,免疫小鼠血清。图4E-4G) Neoleukin-2/15的治疗功效:图4E) 对BALB/C小鼠接种CT26肿瘤。在第6天开始,每天用腹膜内注射mIL-2或Neoleukin-2/15(10 μ g)处理小鼠,或留置不处理(n=5每组)。肿瘤生长曲线(顶部,只显示存活小鼠的数据)。存活曲线(底部)。当重量损失超过初始重量的10%时或当肿瘤尺寸达到1,300mm³时对小鼠处以安乐死。图4F) 如“a)”中的,对C57BL/6小鼠接种B16肿瘤。在第1天开始,每天用腹膜内注射Neoleukin-2/15(10 μ g)或等摩尔mIL-2处理小鼠(n=10每组)。在第3天添加一周两次用TA99处理。当重量损失超过10%的初始重量时或当肿瘤尺寸达到2,000mm³时对小鼠处以安乐死。肿瘤生长曲线(顶部和底部左边)。存活曲线,插图显示平均重量变化(顶部右边)。死亡原因的量化(底部右边)。图4G) Neo-2/15引发比小鼠IL-2要高的CD8⁺:Treg比。如所示的,对C57BL/6小鼠接种B16肿瘤并通过每天腹膜内注射来处理。在第5天开始用TA99(底部图)处理并以一周两次继续。当它们达到2,000mm³时自小鼠收获肿瘤并通过流式细胞术进行分析。通过将CD8⁺的百分比CD45⁺CD3⁺细胞除以CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺的百分比来计算CD8:Treg细胞比。

[0025] 图5A-5D。Neoleukin-2/15对结肠癌的治疗效果。图5A) 对BALB/C小鼠接种CT26肿瘤。在第9天开始且在第14天结束,每天以规定浓度用腹膜内注射mIL-2或Neoleukin-2/15处理小鼠,或留置不处理(n=5每组)。肿瘤生长曲线(顶部,只显示存活小鼠的数据)。存活曲线(底部)。当重量损失超过初始重量的10%时或当肿瘤尺寸达到1,300mm³时对小鼠处以安乐死。图5B-5D) 条形图比较接种CT26肿瘤并自第6天开始通过每天腹膜内注射10 μ g Neolukin-2/15或10 μ g mIL-2来处理或不处理(无处理)的BALB/C小鼠(n=3每组)的T细胞群体。在第14天评估图5B) 肿瘤,图5C) 邻近腹股沟淋巴结(LN),和图5D) 脾中Treg细胞的百分比(CD4⁺CD45⁺FoxP3⁺,顶部图)和CD8:Treg细胞比((CD45⁺CD3⁺CD8⁺)/Treg,底部图)。

[0026] 图6A-6D。Neoleukin-2/15对黑素瘤的治疗效果。图6A-6E) 接种B16肿瘤并用低(1 μ g/小鼠/天,a-b)或高(10 μ g/小鼠/天,c-d)剂量的Neoleukin-2/15处理的C57BL/6小鼠的肿瘤生长曲线(底部)和存活曲线(顶部)。在第1天开始,每天用腹膜内注射图6A):单一药剂1 μ g/小鼠的Neoleukin-2/15或等摩尔mIL-2(n=5每组),或图6B):相同处理与一周两次用TA99处理(在第5天开始)的组合处理小鼠(n=5每组)。当肿瘤尺寸达到2,000mm³时对小鼠处以安乐死。如所示的,对C57BL/6小鼠接种B16肿瘤并通过每天腹膜内注射来处理。图6C-6D) 与“a-b)”相似,但在第4天开始,每天用腹膜内注射10 μ g/小鼠的Neoleukin-2/15,或等摩尔的mIL-2处理小鼠,或是单独的图6C)或是与自第4天开始的一周两次TA99组合图6D)。当肿瘤尺寸达到2,000mm³时对小鼠处以安乐死。Neoleukin-2/15的治疗效果是剂量依赖性的(剂量越高越好)且在抗体TA99存在下得到增强。实施实验一次。在所有生长曲线中,数据是均值 $\pm$ s.e.m.。通过单向ANOVA(95%置信区间)分析结果,使用Mantel-Cox检验(95%置信区间)评估的存活曲线除外。

[0027] 图7A-7C。Neoleukin-2/15变成人白介素-4(hIL-4)模拟(Neoleukin-4)的再改造。图7A) Neo-2/15在结构上对齐与IL-4R α 和 γ_c 的复合物(来自PDB代码3BPL)中IL-4的结构。

标记接触IL-4R α 并移植入Neo-2/15的14个IL-4残基。图7B) Neoleukin-4 (Neo-4), 与Neo-2/15相比具有16处氨基酸突变的一种新蛋白质。标记这些突变; 这些中的13个衍生自小图“a)”中描绘的介导与IL-4R α 接触的IL-4残基, 而且它们中的3个 (H8M, K68I和I98F, 在图中标有下划线) 是使用随机诱变并筛选高结合亲和力变体而通过定向进化引入的。图7C) 生物层干涉术数据显示像IL-4那样结合单独的IL-4R α 的Neo-4对单独的 γ_c 没有亲和力, 但是当溶液中存在IL-4R α 时结合 γ_c 。

[0028] 图8A-8B。Neoleukin-2/15对人CAR-T细胞的刺激效果。图8A) 在所示浓度的人IL2或Neoleukin-2/15中培养抗CD3/CD28刺激的或图8B) 未刺激的人原代CD4 (顶部) 或CD8 (底部) T细胞。作为相对于在没有IL2补充物的情况下培养的T细胞的倍数变化测量T细胞增殖。Neo-2/15在诱导经刺激的CAR-T细胞增殖方面像天然IL-2一样有效, 而且在诱导未刺激的CAR-T细胞, 特别是未刺激的CD8 CAR-T细胞增殖方面比天然IL-2更加有效。

[0029] 图9A-9D。四个常见螺旋每个的结合残基的总体序列保守性, 组合来自三种不同从头设计IL-2模拟物的信息。自G2_neo2_40_1F_seq27, G2_neo2_40_1F_seq29和G2_neo2_40_1F_seq36的三个独立SSM诱变文库使用来自结合实验 (使用异二聚体小鼠IL-2R $\beta \gamma_c$) 的组合数据生成序列徽标 (图11-13)。所有这些蛋白质是小鼠和人IL-2的功能性高亲和力从头模拟物, 一些具有与Neo-2/15不同的拓扑学, 但均含有四个螺旋, H1 (图9A; Neo-2/15 1-22是SEQ ID NO:248, IL-2 6-27是SEQ ID NO:249, IL-15 1-15是SEQ ID NO:250), H3 (图9B; Neo-2/15 34-55是SEQ ID NO:251, IL-2 82-103是SEQ ID NO:252, IL-15 59-80是SEQ ID NO:253), H2' (图9C; Neo-2/15 58-76是SEQ ID NO:254, IL-2 50-68是SEQ ID NO:255, IL-15 34-52是SEQ ID NO:256) 和H4 (图9D; Neo-2/15 80-100是SEQ ID NO:257, IL-2 111-131是SEQ ID NO:258, IL-15 93-113是SEQ ID NO:259)。徽标独立显示每个螺旋的组合信息。在每个徽标下面, 线图显示Neo-2/15序列中每个氨基酸的概率得分 (均值越高越保守)。实心水平线突显其中Neo-2/15氨基酸具有 $\geq 30\%$ 的概率得分的位置 (就是说, 这些氨基酸更加普遍地促进受体结合, 因为它们在测试的所有从头IL-2模拟物中在结合群体中总体富集)。Neo-2/15中的每个螺旋的拓扑学显示在每个徽标的左边。Neo-2/15螺旋的序列和人IL-2和IL-15中的对应螺旋 (在结构上对齐的) 的序列在图下面显示, 突显Neo-2/15螺旋和结合界面的独特型。

[0030] 图10A-10D。G1_neo2_40的实验优化。图10A-10C) G1_neo2_40单位点诱变文库的热图, 显示用图10A) 50nM, 图10B) 2nM, 和图10C) 0.1nM IL-2R $\beta \gamma_c$ 异二聚体进行的连续多轮递增选择后特异性位置处的富集。基于这些富集数据, 设计了核苷酸多样性 1.5×10^6 的组合文库。图10D) 描绘初始组合文库中可得的氨基酸残基, 指示预测有利 (显示在原始序列上面) 和有害 (显示在原始序列下面) 的残基; 在原始序列的描绘中, 黑色指示组合文库中代表的残基而灰色指示组合文库中不代表的残基。

[0031] 图11A-11E。G2_neo2_40_1F_seq27的实验优化。G2_neo2_40_1F_seq27单位点诱变文库的热图, 显示用图11A) 10nM, 图11B) 1nM, 图11C) 0.1nM, 和图11D) 0.1nM IL-2R $\beta \gamma_c$ 异二聚体进行的连续多轮递增选择后特定位置处的富集。基于这些富集数据, 设计了核苷酸多样性 5.3×10^6 的组合文库。图11E) 描绘了初始组合文库中可得的氨基酸残基, 指示预测有利的残基; 黑色指示组合文库中代表的起始序列中的残基。

[0032] 图12A-12E。G2_neo2_40_1F_seq29的实验优化。G2_neo2_40_1F_seq29单位点诱变

文库的热图,显示用图12A) 10nM,图12B) nM,图12C) 0.1nM,和图12D) 0.1nM IL-2R β γ_c 异二聚体进行的连续多轮递增选择后特定位置处的富集。基于这些富集数据,设计了核苷酸多样性 2.9×10^6 的组合文库。图12E) 描绘了初始组合文库中可得的氨基酸残基,指示预测有利的残基;黑色指示组合文库中代表的起始序列中的残基。

[0033] 图13A-13E。G2_neo2_40_1F_seq36的实验优化。G2_neo2_40_1F_seq36单位点诱变文库的热图,显示用图13A) 10nM,图13B) 1nM,图13C) 0.1nM,和图13D) 0.1nM IL-2R β γ_c 异二聚体进行的连续多轮递增选择后特定位置处的富集。基于这些富集数据,设计了核苷酸多样性 2.7×10^6 的组合文库。图13E) 描绘了初始组合文库中可得的氨基酸残基,指示预测有利的残基;黑色指示组合文库中代表的起始序列中的残基。

[0034] 图14A-14B。多种1代IL-2/IL-15从头设计模拟物的圆二色性(CD)热变性实验。图14A) 热变性曲线和图14B) 波长扫描。

[0035] 图15A-15B。多种1代实验优化IL-2/IL-15从头设计模拟物的圆二色性(CD)热变性实验。图15A) 热变性曲线和图15B) 波长扫描。

[0036] 图16A-16D。2代IL-2/IL-15模拟物设计的圆二色性热解链。图16A和图16C) 热变性曲线和图16B和图16D) 波长扫描。

[0037] 图17A-17C。Neoleukin-2/15的表达,纯化,和热变性表征。图17A) SDS Tris-Tricine凝胶电泳,显示表达和亲和柱上的纯化。图17B) 自25°C至95°C的热解链期间222nm处的圆二色性,显示强健的温度稳定性。图17C) 25°C,95°C和然后再次25°C的圆二色性波长扫描,显示Neoleukin-2/15在95°C并不完全解链且在冷却回到25°C后完全重折叠。

[0038] 图18A-18D。具有更高热稳定性的Neoleukin-2/15的单一二硫化物肘钉变体。显示Neoleukin-2/15的二硫化物稳定化变体的结构模型,其中标记突变残基的位置并显示二硫键。使用两种策略来生成二硫化物变体:图18A) 残基38和75处的内部放置和末端连接;图18B) 对于末端变体,将3个残基添加至每个末端以限制在其它情况下形成二硫键会需要的起始结构的任何畸变。在它们的结构模型下面显示了内部和末端二硫化物变体在冷却后25°C,95°C和25°C时的CD谱。两种变体均显示95°C时很小的信号损失和冷却后完全的重折叠;图18C) 通过监测在一系列温度上222.0nm处的CD信号来实施每种变体的热解链。每种二硫化物变体显示相对于天然改善的稳定性;图18D) 通过生物层干涉术测量每种变体对IL-2R β γ_c 的结合强度。与破坏结合相互作用相反,这些数据显示引入二硫键改善模拟物对IL-2R β γ_c 的结合。两种成二硫键变体均展现结合IL-2R β γ_c 改善(内部和外部二硫化物肘钉的Kd分别为 $\sim 1.3 \pm 0.49$ 和 1.8 ± 0.26 nM,与相同实验条件下Neo-2/15的 6.9 ± 0.61 nM比较),与二硫化物诱导的蛋白质的结合位点的稳定化的预期效果一致。

[0039] 图19A-19B。Neoleukin-2/15对非结合界面位置上的单点半胱氨酸突变体的强健性。图19A) 示意图,显示Neolukin-2/15中能个别突变成半胱氨酸而不干扰蛋白质表达或结合IL-2R β γ_c 的点突变体位置。选择位置以避免干扰受体结合。图19B) 使用生物层干涉术测量的Neolukin-2/15半胱氨酸突变体与IL-2R β γ_c 的结合动力学。所有变体与Neo-2/15大致相似地与受体联合。

[0040] 图20A-20C。Neoleukin-4的表达,纯化,和热变性表征。图20A) SDS Tris-Tricine凝胶电泳,显示表达和亲和柱上的纯化。图20B) 自25°C至95°C的热解链期间222nm处的圆二色性,显示强健的温度稳定性。图20C) 25°C,95°C和然后再次25°C的圆二色性波长扫描,显

示Neoleukin-4在95℃并不完全解链且在冷却回到25℃后完全重折叠。

[0041] 图21A-21D。非人灵长动物中的细胞因子水平响应Neo-2/15或Neo-2/15-PEG。将两只非人灵长动物(NHP) 每组(一只雄性和一只雌性每组) 指派至用媒介, Neo-2/15或Neo-2/15-PEG(包含具有单一半胱氨酸突变E62C的Neo-2/15, 缀合PEG40K) 的处理。通过静脉内推注对动物施用0(媒介), 0.1, 0.2或0.3mg/kg Neo-2/15, 或0.05, 0.10或0.15mg/kg Neo-2/15-PEG。通过静脉内推注给用Neo-2/15PEG处理的动物进行施用。给药后0, 4, 8和24小时取得细胞因子样品。制备细胞因子血清样品, 冷冻于<-70℃并运输以进行分析, 其中经由Luminex多路免疫测定系统分析样品。数种细胞因子(包括IL-10(图21A-21B) 和IL-15(FIG. 21C-21D)) 展现细胞因子生成的时间过程的明显差异, 与PEG化分子更加持久的药效学效果一致。

[0042] 图22: 示例计算网络的块状图。

[0043] 图23A: 示例计算装置的块状图。

[0044] 图23B: 作为云基服务器系统排列的计算装置的示例网络的块状图。

[0045] 图24: 方法的流程图。

[0046] 发明详述

[0047] 如本文中使用的和除非另外指明, 术语“一个”和“一种”用来表示“一个/种”, “至少一个/种”或“一或多个/种”。除非上下文另有要求, 本文中使用的单数术语应当包括复数且复数术语应当包括单数。

[0048] 除非上下文另外清楚要求, 贯穿说明书和权利要求书, 词语‘包含’等等要以包含性含义来解读, 而不是排他性或穷举性含义; 也就是说, “包括, 但不限于”的含义。使用单数或复数的词语也分别包括复数或单数。另外, 当在此申请中使用, 词语“本文”, “上文”和“下文”和相似意义的词语应当指作为整体的此申请而非此申请的任何特定部分。

[0049] 如本文中使用的, 氨基酸残基缩写如下: 丙氨酸(Ala; A), 天冬酰胺(Asn; N), 天冬氨酸(Asp; D), 精氨酸(Arg; R), 半胱氨酸(Cys; C), 谷氨酸(Glu; E), 谷氨酰胺(Gln; Q), 甘氨酸(Gly; G), 组氨酸(His; H), 异亮氨酸(Ile; I), 亮氨酸(Leu; L), 赖氨酸(Lys; K), 甲硫氨酸(Met; M), 苯丙氨酸(Phe; F), 脯氨酸(Pro; P), 丝氨酸(Ser; S), 苏氨酸(Thr; T), 色氨酸(Trp; W), 酪氨酸(Tyr; Y), 和缬氨酸(Val; V)。

[0050] 可以组合使用本发明的任何方面的所有实施方案, 除非上下文另外清楚规定。

[0051] 在一个方面, 本发明提供包含域X1, X2, X3, 和X4的非天然发生多肽, 其中:

[0052] (a) X1是包含与EHALYDAL (SEQ ID NO:1) 至少25%同一的氨基酸序列的肽;

[0053] (b) X2是长度为至少8个氨基酸的螺旋肽;

[0054] (c) X3是包含与YAFNFELI (SEQ ID NO:2) 至少25%同一的氨基酸序列的肽;

[0055] (d) X4是包含与ITILQSWIF (SEQ ID NO:3) 至少25%同一的氨基酸序列的肽;

[0056] 其中X1, X2, X3, 和X4在该多肽中可以处于任何次序;

[0057] 其中任何该域之间可以存在氨基酸接头; 且

[0058] 其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$), IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体(IL-4R $\alpha\gamma_c$), 或IL-13受体 α 亚基(IL-13R α)。在各种实施方案中, 该多肽以200nM或更少, 100nM或更少, 50nM或更少或25nM或更少的结合亲和力结合IL-2R $\beta\gamma_c$ 或IL-4R $\alpha\gamma_c$ 。

[0059] 在一个方面, 本发明提供包含域X1, X2, X3, 和X4的非天然发生多肽, 其中:

- [0060] (a) X1是包含与EHALYDAL (SEQ ID NO:1) 至少85%同一的氨基酸序列的肽;
- [0061] (b) X2是长度为至少8个氨基酸的螺旋肽;
- [0062] (c) X3是包含与YAFNFELI (SEQ ID NO:2) 至少85%同一的氨基酸序列的肽;
- [0063] (d) X4是包含与ITILQSWIF (SEQ ID NO:3) 至少85%同一的氨基酸序列的肽;
- [0064] 其中X1,X2,X3,和X4在该多肽中可以处于任何次序;
- [0065] 其中任何该域之间可以存在氨基酸接头;且
- [0066] 其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)。在各种实施方案中,该多肽以200nM或更少,100nM或更少,50nM或更少或25nM或更少的结合亲和力结合IL-2R $\beta\gamma_c$ 。
- [0067] 在一个方面,本发明提供包含域X1,X2,X3,和X4的非天然发生多肽,其中:
- [0068] (a) X1是包含氨基酸序列EHALYDAL (SEQ ID NO:1) 的肽;
- [0069] (b) X2是长度为至少8个氨基酸的螺旋肽;
- [0070] (c) X3是包含氨基酸序列YAFNFELI (SEQ ID NO:2) 的肽;
- [0071] (d) X4是包含氨基酸序列ITILQSWIF (SEQ ID NO:3) 的肽;
- [0072] 其中X1,X2,X3,和X4在该多肽中可以处于任何次序;
- [0073] 其中任何该域之间可以存在氨基酸接头;且
- [0074] 其中该多肽结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)。在各种实施方案中,该多肽以200nM或更少,100nM或更少,50nM或更少或25nM或更少的结合亲和力结合IL-2R $\beta\gamma_c$ 。
- [0075] 如下文的实施例中显示的,本公开的多肽是(a) IL-2和白介素-15(IL-15)的模拟物,其结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$),但没有IL-2R α 或IL-15R α 的结合位点,或(b) IL-4的模拟物,其结合IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体(IL-4R $\alpha\gamma_c$)或IL-13受体 α 亚基(IL-13R α) (天然IL-4和本文中描述的IL-4模拟物与IL-13受体交叉反应,形成IL-4R α /IL13R α 异二聚体)。设计是高度稳定的,以比天然细胞因子要高的亲和力结合人和小鼠IL-2R $\beta\gamma_c$ 或IL-4R $\alpha\gamma_c$,并不依赖于IL-2R α 和IL-15R α ,或不依赖于IL-13R α 而引发下游细胞信号传导。该多肽可用于例如治疗癌症。
- [0076] 如本文中使用的术语蛋白质模拟物指模仿另一种蛋白质的功能的某些方面的蛋白质。这两种蛋白质典型地具有不同的氨基酸序列和/或不同的结构。格外地,本文中提供的是IL-2和IL-15的从头模拟物。这些模拟物模仿的IL-2和IL-15的功能的方面是诱导IL-2R $\beta\gamma_c$ 异二聚化,其导致STAT5磷酸化。因为IL-2和IL-15均经由IL-2R $\beta\gamma_c$ 的异二聚化来发信号,所以这些模拟物模仿IL-2和IL-15二者的这种生物学功能。这些模拟物在本文中可称作IL-2的,IL-15的,或IL-2和IL-15二者的模拟物。
- [0077] 还提供的是IL-4的从头模拟物。这些模拟物能够模仿IL-4的某些功能。这些模拟物模仿的IL-4的功能是诱导IL-4R $\alpha\gamma_c$ 异二聚化(和/或IL-4R α /IL-13R α 异二聚化)。
- [0078] 天然hIL-2包含通过不规则长环连接的四个螺旋。N端螺旋(H1)与 β 和 γ 亚基二者相互作用,第三螺旋(H3)与 β 亚基相互作用,而C端螺旋(H4)与 γ 亚基相互作用; α 亚基相互作用表面是由不规则第二螺旋(H2)和两个长环形成的,一个连接H1与H2而另一个连接H3和H4。设计并生成理想化蛋白质,其中H1,H3和H4用理想化结构域,包括但不限于受到H1,H3和H4启发展示IL-2R $\beta\gamma_c$ 或IL-4R $\alpha\gamma_c$ 界面的螺旋和 β 链(分别称作域X1,X3和X4)替换,且其中H2用提供更好包装的理想化螺旋(称作域X2)替换。如实施例中显示的,已经进行广泛的突变研究,证明每个肽域的氨基酸序列均可以广泛修饰而不丧失对IL-2或IL-4受体的结合,

而且可以以任何次序替换域同时保留对IL-2或IL-4受体的结合。多肽可包含L-氨基酸和甘氨酸,D-氨基酸和甘氨酸,或其组合。

[0079] 如此,X1,X2,X3,和X4在多肽中可以处于任何次序;在非限制性实施方案中,该次序可以是X1-X2-X3-X4;X1-X3-X2-X4;X1-X4-X2-X3;X3-X2-X1-X4;X4-X3-X2-X1;X2-X3-X4-X1;X2-X1-X4-X3;等。

[0080] 域可以由任何长度的氨基酸组成的氨基酸接头分开。对接头没有要求;在一个实施方案中,任何域之间不存在接头。在其它实施方案中,在域X1,X2,X3,和X4之间的1,2,或全部3个接点之间可以存在氨基酸接头。接头可以是任何长度的,如对于预期用途认为适宜的。

[0081] 在各种实施方案中,X1是包含与SEQ ID NO:1至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的氨基酸序列的肽。在其它实施方案中,X3是包含与SEQ ID NO:2至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的氨基酸序列的肽。在又一些实施方案中,X4是包含与SEQ ID NO:3至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的氨基酸序列的肽。

[0082] 在一个实施方案中,多肽是IL-2/15模拟物且(i)X1包括下述中一项或全部两项:残基2处的H和残基5处的Y;且/或(ii)X3包括下述中1,2,3,4,或全部5项:残基1处的Y,残基3处的F,残基4处的N,残基7处的L,和残基8处的I。在又一个实施方案中,(iii)X4包括残基8处的I。

[0083] 在另一个实施方案中,多肽是IL-4模拟物,且(i)X1包括残基2处的E和残基5处的K;且(ii)X3包括残基1处的F,残基3处的K,残基4处的R,残基7处的R,和残基8处的N。在又一个实施方案中,(iii)X4包括残基8处的F。

[0084] 在所有这些实施方案中,X1,X3,和X4可以是任何合适长度,意味着每个域可分别含有除了SEQ ID NO:1,2,和3的肽以外的任何合适数目的另外的氨基酸。在一个实施方案中,X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO:4)至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;X3是包含沿着它的长度与肽LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO:5)至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽;且X4是包含沿着它的长度与肽EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO:6)至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的氨基酸序列的肽。

[0085] 在一个实施方案中,X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO:4)至少80%同一的氨基酸序列的肽;X3是包含沿着它的长度与肽LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO:5)至少80%同一的氨基酸序列的肽;且X4是包含沿着它的长度与肽EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO:6)至少80%同一的氨基酸序列的肽。

[0086] 在一个实施方案中,X1是包含沿着它的长度与肽PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ

ID NO: 4) 至少85% 同一的氨基酸序列的肽; X3是包含沿着它的长度与肽 LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO: 5) 至少85% 同一的氨基酸序列的肽; 且X4是包含沿着它的长度与肽 EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 6) 至少85% 同一的氨基酸序列的肽。

[0087] 在一个实施方案中, X1是包含沿着它的长度与肽 PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO: 4) 至少90% 同一的氨基酸序列的肽; X3是包含沿着它的长度与肽 LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO: 5) 至少90% 同一的氨基酸序列的肽; 且X4是包含沿着它的长度与肽 EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 6) 至少90% 同一的氨基酸序列的肽。

[0088] 在一个实施方案中, X1是包含沿着它的长度与肽 PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO: 4) 至少95% 同一的氨基酸序列的肽; X3是包含沿着它的长度与肽 LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO: 5) 至少95% 同一的氨基酸序列的肽; 且X4是包含沿着它的长度与肽 EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 6) 至少95% 同一的氨基酸序列的肽。

[0089] 在一个实施方案中, X1是包含沿着它的长度与肽 PKKKIQLHAEHALYDALMILNI (SEQ ID NO: 4) 100% 同一的氨基酸序列的肽; X3是包含沿着它的长度与肽 LEDYAFNFELILEEIARLFESG (SEQ ID NO: 5) 100% 同一的氨基酸序列的肽; 且X4是包含沿着它的长度与肽 EDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 6) 100% 同一的氨基酸序列的肽。

[0090] 在一个实施方案中, 多肽是IL-2/15模拟物且 (i) X1包括下述中1, 2, 3, 4, 或全部5项: 残基7处的L, 残基8处的H, 残基11处的H, 残基14处的Y; 残基18处的M; 且/或 (ii) X3包括下述中1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 或全部8项: 残基3处的D, 残基4处的Y, 残基6处的F, 残基7处的N, 残基10处的L, 残基11处的I, 残基13处的E, 或残基14处的E。在又一个实施方案中, (iii) X4包括残基19处的I。

[0091] 在IL-2模拟物的一个实施方案中, 相对于参照肽域 (即SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 或6) 的氨基酸替代不存在于以粗体标记的AA残基处。

[0092] 在另一个实施方案中, 多肽是IL-4/IL-13模拟物, 且

[0093] X1是包含沿着它的长度与肽 PKKKIQIMAE**EAL**KDALSILNI (SEQ ID NO: 8) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100% 同一的氨基酸序列的肽;

[0094] X3是包含沿着它的长度与肽 LER**FAKR**FERNLWGIARLFESG (SEQ ID NO: 9) 至少37%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100% 同一的氨基酸序列的肽; 且

[0095] X4是包含沿着它的长度与肽 EDEQEEMANAI**ITILQSWFFS** (SEQ ID NO: 10) 至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 或100% 同一的氨基酸序列的肽,

[0096] 其中

[0097] (i) X1包括残基7处的I, 残基8处的T或M, 残基11处的E, 残基14处的K和残基18处的S; 且

[0098] (ii) X3包括残基3处的R, 残基4处的F, 残基6处的K, 残基7处的R, 残基10处的R, 残基11处的N, 残基13处的W, 和残基14处的G。

[0099] 在又一个实施方案中, (iii) X4包括残基19处的F。

[0100] 在一个实施方案中,相对于参照肽域的氨基酸替代是保守氨基酸替代。如本文中使用的,“保守氨基酸替代”意味着给定氨基酸可以用具有相似的物理化学特征的残基替换,例如,用一种脂肪族残基替代另一种(诸如Ile,Val,Leu,或Ala彼此),或用一种极性残基替代另一种(诸如Lys和Arg;Glu和Asp;或Gln和Asn之间)。知道其它此类保守替代,例如具有相似疏水性特征的整个区域的替代。可以在本文中描述的任一种测定法中测试包含保守氨基酸替代的多肽以确认想要的活性,例如保留天然或参照多肽的抗原结合活性和特异性。氨基酸可以依照它们侧链特性的相似性分组(A.L.Lehninger,in Biochemistry, second ed.,pp.73-75,Worth Publishers,New York(1975)): (1) 非极性的:Ala(A),Val(V),Leu(L),Ile(I),Pro(P),Phe(F),Trp(W),Met(M); (2) 不带电荷的极性的:Gly(G),Ser(S),Thr(T),Cys(C),Tyr(Y),Asn(N),Gln(Q); (3) 酸性的:Asp(D),Glu(E); (4) 碱性的:Lys(K),Arg(R),His(H)。或者,天然发生残基可以基于共同的侧链特性分组: (1) 疏水性的:正亮氨酸,Met,Ala,Val,Leu,Ile; (2) 中性的亲水性的:Cys,Ser,Thr,Asn,Gln; (3) 酸性的:Asp,Glu; (4) 碱性的:His,Lys,Arg; (5) 影响链取向的残基:Gly,Pro; (6) 芳香族的:Trp,Tyr,Phe。非保守替代会需要用这些类之一的一个成员交换另一类的。例如,特定保守替代包括;Ala变成Gly或变成Ser;Arg变成Lys;Asn变成Gln或变成His;Asp变成Glu;Cys变成Ser;Gln变成Asn;Glu变成Asp;Gly变成Ala或变成Pro;His变成Asn或变成Gln;Ile变成Leu或变成Val;Leu变成Ile或变成Val;Lys变成Arg,变成Gln或变成Glu;Met变成Leu,变成Tyr或变成Ile;Phe变成Met,变成Leu或变成Tyr;Ser变成Thr;Thr变成Ser;Trp变成Tyr;Tyr变成Trp;和/或Phe变成Val,变成Ile或变成Leu。

[0101] 在一个实施方案中,相对于SEQ ID NO:4而言X1中的氨基酸残基选自下述组成的组:

	位置01:	A	F	I	L	M	P	Q	R	S	W
	位置02:	A	D	E	G	V	K				
	位置03:	D	E	F	W	K					
	位置04:	D	E	K	N	P	R	W			
	位置05:	D	E	H	I	K	L	M	S		
	位置06:	A	D	E	G	L	P	S	W	Q	
	位置07:	D	E	L	Q	Y	I				
	位置08:	A	F	H	W	Y	M	T			
[0102]	位置09:	C	F	P	A						
	位置10:	C	D	E	F	K	P				
	位置11:	D	F	H	E						
	位置12:	A	D	E	P	S	T	V			
	位置13:	H	I	L	M	P	R	V	W		
	位置14:	F	R	W	Y	K					
	位置15:	D	E	N	Y						
	位置16:	A	C	L	M	S					
	位置17:	F	I	L	M	P	R				

位置18: G M Q Y S
 位置19: I L M P Q V
 [0103] 位置20: A K L M Q R S
 位置21: G K N P R S W
 位置22: D E I K M N W Y

[0104] 在一个实施方案中,多肽是IL-4模拟物,且位置7是I,位置8是M或T,位置11是E,位置14是K,且位置18是S。

[0105] 在另一个实施方案中,多肽是IL-2模拟物,且下述中1,2,3,4,或5项不是真的:位置7是I,位置8是M或T,位置11是E,位置14是K,和位置18是S。

[0106] 在另一个实施方案中,相对于SEQ ID NO:5而言X3中的氨基酸残基选自由下述组成的组:

位置01: A L
 位置02: D E G K M T
 位置03: D E N Y R
 位置04: C D G T Y F
 位置05: A F H S V W Y
 位置06: A F I M T V Y K
 位置07: D K N S T R
 位置08: A C G L M S V F
 位置09: C H K L R S T V E
 位置10: F I L M Y R
 [0107] 位置11: I L N T Y
 位置12: F K L M S V
 位置13: A D F G I N P Q S T E W
 位置14: A E F G H S V
 位置15: C I L M V W
 位置16: A D G S T V
 位置17: H K L N R
 位置18: C D G I L Q R T W
 位置19: D F M N W
 位置20: A C E F G M S Y
 位置21: D E G H L M R S T V W
 位置22: A D G K N S Y

[0108] 在另一个实施方案中,多肽是IL-4/IL-13模拟物且位置3是R,位置4是F,位置6是K,位置7是R,位置10是R,位置11是N,位置13是W,且位置14是G。

[0109] 在另一个实施方案中,多肽是IL-2模拟物且下述中1,2,3,4,5,6,7,或全部8项不是真的:位置3是R,位置4是F,位置6是K,位置7是R,位置10是R,位置11是N,位置13是W,和位置14是G。

[0110] 在任何此类实施方案中,在H,K,L,N和R的氨基酸残基以外,多肽进一步容许相对于SEQ ID NO:5而言位置17处的半胱氨酸。因而,相对于SEQ ID NO:5而言X3中的氨基酸残基可以选自由下述组成的组:

[illegible]

[0112] 在另一个实施方案中,相对于SEQ ID NO:6而言X4中的氨基酸残基选自由下述组成的组:

	位置01:	D	E	G	K	V			
	位置02:	D	I	M	S				
	位置03:	E	G	H	K				
	位置04:	E	G	I	K	Q	R	S	
	位置05:	A	D	E	G	H	S	V	
	位置06:	C	D	E	G	I	M	Q	R T V
	位置07:	C	E	L	M	P	R	T	
[0113]	位置08:	A	F	L	M	W			
	位置09:	A	G	L	N	Q	R	T	
	位置10:	A	C	D	E	F	H	I	W
	位置11:	I	M	N	S	V	W		
	位置12:	I	K	L	S	V			
	位置13:	C	L	M	R	S	T		
	位置14:	I	L	P	T	Y			
	位置15:	F	G	I	L	M	N	V	
	位置16:	H	K	Q	R				
	位置17:	C	F	K	S	W	Y		
[0114]	位置18:	K	Q	T	W				
	位置19:	C	G	N	I				
	位置20:	C	F	G	L	Y			
	位置21:	A	F	G	H	S	Y		

[0115] 在另一个实施方案中,多肽是IL-4/IL-13模拟物且位置19是I。在另一个实施方案中,多肽是IL-2模拟物且位置19不是I。

[0116] 在任何此类实施方案中,在E,G,H和K的氨基酸残基以外,多肽进一步容许相对于SEQ ID NO:6而言位置3处的半胱氨酸。

[0117] 因而,相对于SEQ ID NO:6而言X4中的氨基酸残基可以选自由下述组成的组:

	位置01:	D	E	G	K	V			
	位置02:	D	I	M	S				
	位置03:	E	G	H	K	C			
	位置04:	E	G	I	K	Q	R	S	
	位置05:	A	D	E	G	H	S	V	
	位置06:	C	D	E	G	I	M	Q	R T V
	位置07:	C	E	L	M	P	R	T	
	位置08:	A	F	L	M	W			
	位置09:	A	G	L	N	Q	R	T	
	位置10:	A	C	D	E	F	H	I	W
[0118]	位置11:	I	M	N	S	V	W		
	位置12:	I	K	L	S	V			
	位置13:	C	L	M	R	S	T		
	位置14:	I	L	P	T	Y			
	位置15:	F	G	I	L	M	N	V	
	位置16:	H	K	Q	R				
	位置17:	C	F	K	S	W	Y		
	位置18:	K	Q	T	W				
	位置19:	C	G	N	I				
	位置20:	C	F	G	L	Y			
	位置21:	A	F	G	H	S	Y		

[0119] 如本文中记录的,域X2是结构域,而且如此可以使用连接相关其它域(取决于域次序)且容许它们折叠的任何氨基酸序列。要求的长度会取决于所生成的蛋白质的结构且可以是8个氨基酸或更长。在一个例示性且非限制性实施方案中,X2是包含沿着它的长度与 KDEAEKAKRMKEWMKRIKT (SEQ ID NO:7) 至少20%,27%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的氨基酸序列的肽。在又一个实施方案中,相对于SEQ ID NO:7而言X2中的氨基酸残基选自由下述组成的组:

[0120] 位置01: A H L M R S V K

	位置02:	A	D	E	Q	R	S	T	V	W	Y
	位置03:	C	E	G	K	L	N	Q	R	W	
	位置04:	A	F	G	N	S	T	V	Y		
	位置05:	A	E	G	I	M	R	V			
	位置06:	C	E	K	L	N	R	V			
	位置07:	A	C	E	I	L	S	T	V	W	
	位置08:	H	K	L	M	S	T	W	Y		
	位置09:	A	I	L	M	Q	S	R			
[0121]	位置10:	A	I	M	S	W	Y				
	位置11:	C	I	K	L	S	V				
	位置12:	C	E	K	L	P	Q	R	T		
	位置13:	A	D	H	N	W					
	位置14:	A	C	G	I	L	S	T	V	M	
	位置15:	A	E	G	I	K	L	M	R	V	
	位置16:	G	H	L	R	S	T	V			
	位置17:	A	I	L	V						
	位置18:	A	C	D	E	G	H	I	K	M	S
	位置19:	D	E	G	L	N	V	T			

[0122] 在另一个实施方案中,多肽是IL-4/IL-13模拟物且位置11是I。在另一个实施方案中,多肽是IL-2模拟物且位置11不是I。

[0123] 在任何此类实施方案中,多肽进一步容许相对于SEQ ID NO:7而言位置5或16处的半胱氨酸。

[0124] 或者,在任何此类实施方案中,多肽进一步容许相对于SEQ ID NO:7而言位置1,2,5,9或16处的半胱氨酸。

[0125] 因而,相对于SEQ ID NO:7而言X2中的氨基酸残基可以选自由下述组成的组:

	位置01:	A	H	L	M	R	S	V	K	C		
	位置02:	A	D	E	Q	R	S	T	V	W	Y	C
	位置03:	C	E	G	K	L	N	Q	R	W		
	位置04:	A	F	G	N	S	T	V	Y			
	位置05:	A	E	G	I	M	R	V	C			
	位置06:	C	E	K	L	N	R	V				
	位置07:	A	C	E	I	L	S	T	V	W		
[0126]	位置08:	H	K	L	M	S	T	W	Y			
	位置09:	A	I	L	M	Q	S	R	C			
	位置10:	A	I	M	S	W	Y					
	位置11:	C	I	K	L	S	V					
	位置12:	C	E	K	L	P	Q	R	T			
	位置13:	A	D	H	N	W						
	位置14:	A	C	G	I	L	S	T	V	M		
	位置15:	A	E	G	I	K	L	M	R	V		
	位置16:	G	H	L	R	S	T	V	C			
	位置17:	A	I	L	V							
[0127]	位置18:	A	C	D	E	G	H	I	K	M	S	
	位置19:	D	E	G	L	N	V	T				

[0128] 在另一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由下面的多肽(即SEQ ID NO:11-94,103-184,190-243,和245-247)组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。标有下划线的残基是接头且是任选的,而且,当存在时,接头的每个残基可包含任何氨基酸。对于下文每一种变体,提供了两种SEQ ID NO:包括任选且可变的接头位置的第一种SEQ ID NO:和列出如下文显示的序列的第二种SEQ ID NO:。

[0129]

G1_neo2 _33	H1->H4-> H2'->H3	STKKWQLQAEHALLDWQMALNK <u>SPEPNENLNRAITAAQSWIST</u> <u>GKIDLDKAEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAR</u> (SEQ ID NO: 11) STKKWQLQAEHALLDWQMALNK <u>SPEPNENLNRAITAAQSWIST</u> <u>GKIDLDKAEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAR</u> (SEQ ID NO: 103)
G1_neo2 _34	H1->H4-> H2'->H3	STKKWQLQAEHALLDWQMALNK <u>SPEPNENLNRAITAAQSCIST</u> <u>GKCDLDKAEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAR</u> (SEQ ID NO: 12) STKKWQLQAEHALLDWQMALNK <u>SPEPNENLNRAITAAQSCIST</u> <u>GKCDLDKAEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAR</u> (SEQ ID NO: 104)
G1_neo2 _35	H1->H4-> H2'->H3	STKKWQLQAEHALLDWQMALNK <u>SPEPNENLNRAITAAQSWIST</u> <u>GKIDCDKAEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAC</u> (SEQ ID NO: 13) STKKWQLQAEHALLDWQMALNK <u>SPEPNENLNRAITAAQSWIST</u> <u>GKIDCDKAEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAC</u> (SEQ ID NO: 105)
G1_neo2 _36	H1->H4-> H2'->H3	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSWISTGK <u>IDLDRAEELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNK VIALELK</u> (SEQ ID NO: 14) STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSWISTGK <u>IDLDRAEELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNK VIALELK</u> (SEQ ID NO: 106)
G1_neo2 _37	H1->H4-> H2'->H3	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRCITDAQSWISTGK <u>IDLDRAEELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNK VIALELK</u> (SEQ ID NO: 15) STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRCITDAQSWISTGK <u>IDLDRAEELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNK VIALELK</u> (SEQ ID NO: 107)
G1_neo2 _38	H1->H4-> H2'->H3	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSCISTGK <u>CDLDRAEELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNK VIALELK</u> (SEQ ID NO: 16) STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSCISTGK <u>CDLDRAEELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNK VIALELK</u> (SEQ ID NO: 108)
G1_neo2	H1->H4->	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSWISTGK

[0130]

_39	H2'->H3	<u>IDLDRAEELCRNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNACVIALELK</u> (SEQ ID NO: 17) STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSWISTGK <u>IDLDRAEELCRNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNACVIALELK</u> (SEQ ID NO: 109)
G1_neo2_40	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKLQLQAEHALLDAQMMLNRSPEPNEKLNRIITTMQSWISTG</u> <u>KIDLDGAKELAKEVEELRQEAEKRGIDVRDLASNLKVILLELA</u> (SEQ ID NO: 18) STKKLQLQAEHALLDAQMMLNRSPEPNEKLNRIITTMQSWISTG KIDLDGAKELAKEVEELRQEAEKRGIDVRDLASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 110)
G1_neo2_41	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKLQLQAEHALLDAQMMLNRSPEPNEKLNRIITTMQSCISTG</u> <u>KCDLDGAKELAKEVEELRQEAEKRGIDVRDLASNLKVILLELA</u> (SEQ ID NO: 19) STKKLQLQAEHALLDAQMMLNRSPEPNEKLNRIITTMQSCISTG KCDLDGAKELAKEVEELRQEAEKRGIDVRDLASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 111)
G1_neo2_42	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSWISTG</u> <u>KIDLDNAQEMAKEAEKIRKEMEKRIGIDVRDLISNIIVILLELS</u> (SEQ ID NO: 20) STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSWISTG KIDLDNAQEMAKEAEKIRKEMEKRIGIDVRDLISNIIVILLELS (SEQ ID NO: 112)
G1_neo2_43	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSCISTG</u> <u>KCDLDNAQEMAKEAEKIRKEMEKRIGIDVRDLISNIIVILLELS</u> (SEQ ID NO: 21) STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSCISTG KCDLDNAQEMAKEAEKIRKEMEKRIGIDVRDLISNIIVILLELS (SEQ ID NO: 113)
G1_neo2_44	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSWISTG</u> <u>KIDLDNAQEMCKEAEKIRKEMEKRIGIDVRDLISNICVILLELS</u> (SEQ ID NO: 22) STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSWISTG KIDLDNAQEMCKEAEKIRKEMEKRIGIDVRDLISNICVILLELS (SEQ ID NO: 114)
G1_neo2_40_1A	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKTQLLAEHALLDAFMMLNVVPEPNEKLNRIITTMQSWIYTG</u> <u>KIDADGAKELAKEVEELEQEYEKRGIDVEDDASNLKVILLELA</u> (SEQ ID NO: 23) STKKTQLLAEHALLDAFMMLNVVPEPNEKLNRIITTMQSWIYTG KIDADGAKELAKEVEELEQEYEKRGIDVEDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 115)
G1_neo2_40_1B	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKTQLLAEHALLDAHMMMLNMLPEPNEKLNRIITTMQSWIHTG</u> <u>KIDGDGAQELAKEVEELEQEYEKRGIDVEDEASNLKVILLELA</u> (SEQ ID NO: 24) STKKTQLLAEHALLDAHMMMLNMLPEPNEKLNRIITTMQSWIHTG KIDGDGAQELAKEVEELEQEYEKRGIDVEDEASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 116)
G1_neo2_40_1C	H1->H4->H2'->H3	<u>STKKTQLLAEHALLDAFMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG</u> <u>KIDGDGAKELAKEVEELEQEFKRGIDVEDEASNLKVILLELA</u> (SEQ ID NO: 25)

[0131]

		STKKTQLLAEHALLDAFMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDGAKELAKEVEEELEQEFEKRGIDVEDEASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 117)
G1_neo2_ 40_1D	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLLAEHALLDALMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDGAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVEDYASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 26) STKKTQLLAEHALLDALMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDGAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVEDYASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 118)
G1_neo2_ 40_1E	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLLAEHALLDAHMMMLNVVPEPNEKLNRIITTMQSWIYT <u>G</u> KIDRDGAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 27) STKKTQLLAEHALLDAHMMMLNVVPEPNEKLNRIITTMQSWIYT <u>G</u> KIDRDGAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 119)
G1_neo2_ 40_1F	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLLAEHALLDALMMLNLLPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG <u>K</u> IDGDGAQELAKEVEEELEQEHEKRGIDVEDYASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 28) STKKTQLLAEHALLDALMMLNLLPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG <u>K</u> IDGDGAQELAKEVEEELEQEHEKRGIDVEDYASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 120)
G1_neo2_ 40_1G	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLLAEHALLDAYMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWILT <u>G</u> KIDSDGAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 29) STKKTQLLAEHALLDAYMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWILT <u>G</u> KIDSDGAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 121)
G1_neo2_ 40_1H	H1->H4-> H2'->H3	STKKTHLLAEHALLDAYMMLNVMPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDGAKELAKEVEEELEQEFEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 30) STKKTHLLAEHALLDAYMMLNVMPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDGAKELAKEVEEELEQEFEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 122)
G1_neo2_ 40_1I	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLLAEHALLDAYMMLNLVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDADGAQELAIEVEEELEQEYEKRGIDVDDYASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 31) STKKTQLLAEHALLDAYMMLNLVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDADGAQELAIEVEEELEQEYEKRGIDVDDYASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 123)
G1_neo2_ 40_1J	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLMAEHALLDAFMMLNLVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDDAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 32) STKKTQLMAEHALLDAFMMLNLVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTG KIDGDDAQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDDDASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 124)
G1_neo2_ 40_1F_H1	H1->H4-> H2'->H3	STKKTQLLIEHALLDALDMSRNLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTG <u>KI</u> DGDGAQQLAKEVEEELEQEHEKRGEDVEDEASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 33) STKKTQLLIEHALLDALDMSRNLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTG <u>KI</u> DGDGAQQLAKEVEEELEQEHEKRGEDVEDEASNKVVILLELA (SEQ ID NO: 125)

[0132]

G1_neo2_40_1F_H2	H1->H4->H2'->H3	STKKTQLLLEHALLDALHMRRNLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKI DGDGAQELAKEVEELEEHEKRGGRDVEDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 34) STKKTQLLLEHALLDALHMRRNLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKI DGDGAQELAKEVEELEEHEKRGGRDVEDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 126)
G1_neo2_40_1F_H3	H1->H4->H2'->H3	STKKTQLLIEHALLDALNMRKKLPEPNEKLSRIITDMQSWIFTGKI DGDGAQQLAKEVEELEEHEKRGGDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 35) STKKTQLLIEHALLDALNMRKKLPEPNEKLSRIITDMQSWIFTGKI DGDGAQQLAKEVEELEEHEKRGGDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 127)
G1_neo2_40_1F_H4	H1->H4->H2'->H3	STKKTQLLLEHALLDALHMSRELPEPNEKLNRIITDMQSWIFTGKI DGDGAQDLAKEVEELEEHEKRGGDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 36) STKKTQLLLEHALLDALHMSRELPEPNEKLNRIITDMQSWIFTGKI DGDGAQDLAKEVEELEEHEKRGGDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 128)
G1_neo2_40_1F_H5	H1->H4->H2'->H3	STKKTQLLIEHALLDALHMSRKLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKI DGDGAQHlakeVEELEEHEKRGGEVEDEASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 37) STKKTQLLIEHALLDALHMSRKLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKI DGDGAQHlakeVEELEEHEKRGGEVEDEASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 129)
G1_neo2_40_1F_H6	H1->H4->H2'->H3	STKKTQLLIEHALLDALHMKRKLPEPNEKLNRIITNMQSWIFTEKI DGDGAQDLAKEVEELEEHEKRGQDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 38) STKKTQLLIEHALLDALHMKRKLPEPNEKLNRIITNMQSWIFTEKI DGDGAQDLAKEVEELEEHEKRGQDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 130)
G1_neo2_40_1F_M1	H1->H4->H2'->H3	STEKTQLAAEHALRDALMLKHLLNEPNEKLARIITTMQSWQFTG KIDGDGAQELAKEVEELQQEHEVRGIDVEDYASNLKVILLHLA (SEQ ID NO: 39) STEKTQLAAEHALRDALMLKHLLNEPNEKLARIITTMQSWQFTG KIDGDGAQELAKEVEELQQEHEVRGIDVEDYASNLKVILLHLA (SEQ ID NO: 131)
G1_neo2_40_1F_M2	H1->H4->H2'->H3	STKNTQLAAEDALLDALMLRNLLNEPNEKLARIITTMQSWQFTE KIDGDGAQELAKEVEELQQEHEERGIDVEDYASNLKVILLQLA (SEQ ID NO: 40) STKNTQLAAEDALLDALMLRNLLNEPNEKLARIITTMQSWQFTE KIDGDGAQELAKEVEELQQEHEERGIDVEDYASNLKVILLQLA (SEQ ID NO: 132)
G1_neo2_40_1F_M3	H1->H4->H2'->H3	STEKTQHAAEDALRDALMLRNLLNEPNEKLARIITTMQSWQFTE KIDGDGAQELAKEVEELQQEHEVRGIDVEDYASNLKVILLQLA (SEQ ID NO: 41) STEKTQHAAEDALRDALMLRNLLNEPNEKLARIITTMQSWQFTE KIDGDGAQELAKEVEELQQEHEVRGIDVEDYASNLKVILLQLA (SEQ ID NO: 133)
G2_neo2_40_1F_seq02	H1->H4->H2'->H3	TQKKQQLLAEHALLDALMILNMLKTSSEAVNRMITIAQSWIFTG TSNPEEAKEMIKMAEQAEERREGVDTEYVSNLKVILKEIA

[0133]

		(SEQ ID NO: 42) TQKKQQLLAEHALLDALMILNMLKTSSEAVNRMITIAQSWIFTG TSNP EEAKEMIKMAEQAE EEARREGVD TEDYVSNLKVILKEIA (SEQ ID NO: 134)
G2_neo2_40_1F_seq03	H1->H4->H2'->H3	TTKKYQLLVEHALLDALMMLNLSSSENEKMNRITTMQSWIFTG TFDPDQAEELAKLVEELREEFRKR <u>GIDTEDY</u> ASNLKVILKELS (SEQ ID NO: 43) TTKKYQLLVEHALLDALMMLNLSSSENEKMNRITTMQSWIFTG TFDPDQAEELAKLVEELREEFRKR <u>GIDTEDY</u> ASNLKVILKELS (SEQ ID NO: 135)
G2_neo2_40_1F_seq04	H1->H4->H2'->H3	TTKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSENEKLNRIITTLQSWIFRGEI DPDRARELAKLLEEIREEMRK <u>RGIDTEDY</u> VSNMIVIRELA (SEQ ID NO: 44) TTKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSENEKLNRIITTLQSWIFRGEI DPDRARELAKLLEEIREEMRK <u>RGIDTEDY</u> VSNMIVIRELA (SEQ ID NO: 136)
G2_neo2_40_1F_seq05	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLAEHVLLDLLMMLNLSSSENEKMNRITIVQSWIFTGT IDPDQAEEMAKWVEELREEFRKR <u>GIDTEDY</u> ASNVKVILKELS (SEQ ID NO: 45) TKKKIQLLAEHVLLDLLMMLNLSSSENEKMNRITIVQSWIFTGT IDPDQAEEMAKWVEELREEFRKR <u>GIDTEDY</u> ASNVKVILKELS (SEQ ID NO: 137)
G2_neo2_40_1F_seq06	H1->H4->H2'->H3	TKKKYQLLIEHLLLDALMVLNMSSENEKLNRIITILQSWIFTGT WDPDLAEEMEKLMEIEEELRR <u>RGIDTEDY</u> MSNM RVIIKELS (SEQ ID NO: 46) TKKKYQLLIEHLLLDALMVLNMSSENEKLNRIITILQSWIFTGT WDPDLAEEMEKLMEIEEELRR <u>RGIDTEDY</u> MSNM RVIIKELS (SEQ ID NO: 138)
G2_neo2_40_1F_seq07	H1->H4->H2'->H3	TKKKLQLLVEHLLLDMLMILNMSSENEKLNRLITELQSWIFRGEI EIDPDKAEEMWKIMEEIEKELRER <u>RGIDTEDY</u> MSNAKVIIKELS (SEQ ID NO: 47) TKKKLQLLVEHLLLDMLMILNMSSENEKLNRLITELQSWIFRGEI EIDPDKAEEMWKIMEEIEKELRER <u>RGIDTEDY</u> MSNAKVIIKELS (SEQ ID NO: 139)
G2_neo2_40_1F_seq08	H1->H4->H2'->H3	TSKKQQLLAEHALLDALMILNISSESEAVNRAITWLQSWIFKGT VNP DQAEEMRKLAEQIREEMRK <u>RGIDTEDY</u> VSNLEVIKELS (SEQ ID NO: 48) TSKKQQLLAEHALLDALMILNISSESEAVNRAITWLQSWIFKGT VNP DQAEEMRKLAEQIREEMRK <u>RGIDTEDY</u> VSNLEVIKELS (SEQ ID NO: 140)
G2_neo2_40_1F_seq09	H1->H4->H2'->H3	TKKKYQLLIEHLLLDLLMVLNMSSENEKINRLITWLQSWIFTGT YDPDLAEEMYKILEELREEMRER <u>RGIDTEDY</u> MSNM RVIVKELS (SEQ ID NO: 49) TKKKYQLLIEHLLLDLLMVLNMSSENEKINRLITWLQSWIFTGT YDPDLAEEMYKILEELREEMRER <u>RGIDTEDY</u> MSNM RVIVKELS (SEQ ID NO: 141)
G2_neo2_40_1F_seq10	H1->H4->H2'->H3	TKKKWQLLIEHLLLDLLMILNLSSSENEKLNRLITWLQSWIFTGT YDPDLAEEMKKMMDEIEDELRR <u>RGIDTEDY</u> MSNAKVIIKELS (SEQ ID NO: 50) TKKKWQLLIEHLLLDLLMILNLSSSENEKLNRLITWLQSWIFTGT YDPDLAEEMKKMMDEIEDELRR <u>RGIDTEDY</u> MSNAKVIIKELS

[0134]

		(SEQ ID NO: 142)
G2_neo2_40_1F_seq11	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGTI DPDQAEELSKLVEEIREEMRKRGIDTEDYVSNLKVILDELS (SEQ ID NO: 51) TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGTI DPDQAEELSKLVEEIREEMRKRGIDTEDYVSNLKVILDELS (SEQ ID NO: 143)
G2_neo2_40_1F_seq12	H1->H4->H2'->H3	TEKKLQLLVEHALLDALMILNLWSESNEKLNRIITTMQSWIFTGR IDPDKAEELAKLVEELREEARERGDIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 52) TEKKLQLLVEHALLDALMILNLWSESNEKLNRIITTMQSWIFTGR IDPDKAEELAKLVEELREEARERGDIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 144)
G2_neo2_40_1F_seq13	H1->H4->H2'->H3	TKKKYQLLMEHLLLDLLMVLNMSSESNEKLNRLITIIQSWIFTGT WDPDKAEEMAKMLKEIEDELRRGDIDTEDYMSNMIVIMKELS (SEQ ID NO: 53) TKKKYQLLMEHLLLDLLMVLNMSSESNEKLNRLITIIQSWIFTGT WDPDKAEEMAKMLKEIEDELRRGDIDTEDYMSNMIVIMKELS (SEQ ID NO: 145)
G2_neo2_40_1F_seq14	H1->H4->H2'->H3	TTKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKMNRIITTMQSWIFEGR IDPDQAQELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYVSNLKVILEELS (SEQ ID NO: 54) TTKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKMNRIITTMQSWIFEGR IDPDQAQELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYVSNLKVILEELS (SEQ ID NO: 146)
G2_neo2_40_1F_seq15	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT IDPDQAEELAKLVELREEFRKRGIDTEDYASNLEVILRELS (SEQ ID NO: 55) TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT IDPDQAEELAKLVELREEFRKRGIDTEDYASNLEVILRELS (SEQ ID NO: 147)
G2_neo2_40_1F_seq16	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSKSNEKLNRIITTMQSWIFNGTI DPDRARELAKLVEEIRDEMEKNGIDTEDYVSNLKVILEELA (SEQ ID NO: 56) TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSKSNEKLNRIITTMQSWIFNGTI DPDRARELAKLVEEIRDEMEKNGIDTEDYVSNLKVILEELA (SEQ ID NO: 148)
G2_neo2_40_1F_seq17	H1->H4->H2'->H3	TKKKYQLLIEHVLLDLLMMLNLSSESNEKMNRLITILQSWIFTGT YDPDKAEEMAKLLKELREEFRERGDIDTEDYISNAIVILKELS (SEQ ID NO: 57) TKKKYQLLIEHVLLDLLMMLNLSSESNEKMNRLITILQSWIFTGT YDPDKAEEMAKLLKELREEFRERGDIDTEDYISNAIVILKELS (SEQ ID NO: 149)
G2_neo2_40_1F_seq18	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT IDPDRAEELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYASNLKVILKELS (SEQ ID NO: 58) TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT IDPDRAEELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYASNLKVILKELS (SEQ ID NO: 150)
G2_neo2_40_1F_seq19	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSESNEKLNRIITTMQSWIFNG TIDPDQARELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYASNLKVILEELA

[0135]

		(SEQ ID NO: 59) TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFNG TIDPDQARELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYASNKLVILELA (SEQ ID NO: 151)
G2_neo2_40_1F_seq20	H1->H4->H2'->H3	TKKKLQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT VDPDQAEELAKLVEEIREELRKRGIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 60) TKKKLQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT VDPDQAEELAKLVEEIREELRKRGIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 152)
G2_neo2_40_1F_seq21	H1->H4->H2'->H3	TTKKYQLLVEHALLDALMILNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT FDPDQAEELAKLVREIREEMRKRGIDTEDYVSNLEVILRELS (SEQ ID NO: 61) TTKKYQLLVEHALLDALMILNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT FDPDQAEELAKLVREIREEMRKRGIDTEDYVSNLEVILRELS (SEQ ID NO: 153)
G2_neo2_40_1F_seq22	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT DPDRAEELAKLVREIREEMRKRGIDTEDYVSNLEVILRELS (SEQ ID NO: 62) TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT DPDRAEELAKLVREIREEMRKRGIDTEDYVSNLEVILRELS (SEQ ID NO: 154)
G2_neo2_40_1F_seq23	H1->H4->H2'->H3	TKKKYQLLIEHLLLDLLMILNLSSSESNEKLNRLITWLQSWIFRGE WDPDKAEWAKILKEIREELRERGIDTEDYMSNAIVIMKELS (SEQ ID NO: 63) TKKKYQLLIEHLLLDLLMILNLSSSESNEKLNRLITWLQSWIFRGE WDPDKAEWAKILKEIREELRERGIDTEDYMSNAIVIMKELS (SEQ ID NO: 155)
G2_neo2_40_1F_seq24	H1->H4->H2'->H3	TDKKLQLLVEHLLLDLLMMLNLSSKSNEKMNRLITIAQSWIFTG KVDPDLAREMIKLEETEDENRKNRGIDTEDYVSNARVIAKELE (SEQ ID NO: 64) TDKKLQLLVEHLLLDLLMMLNLSSKSNEKMNRLITIAQSWIFTG KVDPDLAREMIKLEETEDENRKNRGIDTEDYVSNARVIAKELE (SEQ ID NO: 156)
G2_neo2_40_1F_seq25	H1->H4->H2'->H3	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKMNRIITTMQSWIFTGT IDPDQAEELAKLVEELKEEFKRGIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 65) TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKMNRIITTMQSWIFTGT IDPDQAEELAKLVEELKEEFKRGIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 157)
G2_neo2_40_1F_seq26	H1->H4->H2'->H3	TKKKYQLLIEHALLDALMILNLWSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT YDPDKAELEKLAKIEDEARERERGIDTEDYMSNLRVILKELS (SEQ ID NO: 66) TKKKYQLLIEHALLDALMILNLWSESNEKLNRIITTMQSWIFTGT YDPDKAELEKLAKIEDEARERERGIDTEDYMSNLRVILKELS (SEQ ID NO: 158)
G2_neo2_40_1F_seq27	H1->H4->H2'->H3	TKKKAQLLAEHALLDALMMLNLSSSESNERLNRIITWLQSIIFTGT YDPDMVKEAVKLADEIEDEMRRKRGIDTEDYVSNLRVILQELA (SEQ ID NO: 67) TKKKAQLLAEHALLDALMMLNLSSSESNERLNRIITWLQSIIFTGT YDPDMVKEAVKLADEIEDEMRRKRGIDTEDYVSNLRVILQELA

[0136]

		(SEQ ID NO: 159)
G2_neo2_40_1F_seq28	H1->H4->H2'->H3	TQKKNQLLAEHLLLDALMVLNQSSSESSEVANRIITWAQSWIFEG RVDPNKAEEAKKLAKKLEEEEMRKRGIDMEDYISNMKVIAEEMS (SEQ ID NO: 68) TQKKNQLLAEHLLLDALMVLNQSSSESSEVANRIITWAQSWIFEG RVDPNKAEEAKKLAKKLEEEEMRKRGIDMEDYISNMKVIAEEMS (SEQ ID NO: 160)
G2_neo2_40_1F_seq29	H3->H2'->H4->H1	EDYYSNLKVILEELAREMERNGLSDKAEEWRQWKKIVERIRQIR SNNSDLNEAKELLNRLITYIQSQIFEISERIRETDQEKKEESWKKW QLLLEHALLDVLMMLND (SEQ ID NO: 69) EDYYSNLKVILEELAREMERNGLSDKAEEWRQWKKIVERIRQIR SNNSDLNEAKELLNRLITYIQSQIFEISERIRETDQEKKEESWKKW QLLLEHALLDVLMMLND (SEQ ID NO: 161)
G2_neo2_40_1F_seq30	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLLEHILLDALMMLNLXXXXXXNTESKFEDYISNAEVI AEELAKLMESXXLSDEAEKFKKIKQWLREVWRIWXXXXWSTL EDKARELLNRIITTIQSQIFY (SEQ ID NO: 70) PEKKRQLLLEHILLDALMMLNLLETNPQNTESKFEDYISNAEVIA EELAKLMESLGLSDEAEKFKKIKQWLREVWRIWSSTNWTLED KARELLNRIITTIQSQIFY (SEQ ID NO: 162)
G2_neo2_40_1F_seq31	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLLEHILLDMLMILNMXXXXXXNTESMEDYWSNVRV ILRELARLMEEXXXKELSELMERMKIVEKIRQIVTXXXXLDTA REWLNRLITWIQSLIFR (SEQ ID NO: 71) PEKKRQLLLEHILLDMLMILNMIETNRENTESMEDYWSNVRVIL RELARLMEELNYKELSELMERMKIVEKIRQIVTNNSSLDTARE WLNRLITWIQSLIFR (SEQ ID NO: 163)
G2_neo2_40_1F_seq32	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHALLDALMMLNIIETNSKNTESKMEDYVSNLEVIL TEFKKLAEKLNFSSEEAEARMKRWARKAYQMMTLDLSLSDKA KEMLNRIITILQSIIFN (SEQ ID NO: 72) PEKKRQLLAEHALLDALMMLNIIETNSKNTESKMEDYVSNLEVIL TEFKKLAEKLNFSSEEAEARMKRWARKAYQMMTLDLSLSDKA KEMLNRIITILQSIIFN (SEQ ID NO: 164)
G2_neo2_40_1F_seq33	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHLLLDVLMMLNNGNASLKDYASNAQVIADEFREL ARELGLTDEAKKAEEKIIEALERAREWLLNNKDKEKAKEALNRAI TIAQSWIFN (SEQ ID NO: 73) PEKKRQLLAEHLLLDVLMMLNNGNASLKDYASNAQVIADEFREL ARELGLTDEAKKAEEKIIEALERAREWLLNNKDKEKAKEALNRAI TIAQSWIFN (SEQ ID NO: 165)
G2_neo2_40_1F_seq34	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLLEHLLLDLLMILNMLRTNPKNIESDWEDYMSNIEVII EELRKIMESLGRSEKAKEWKRMKQWVRRILEIVKNNSDLEEAK EVLNRLITIVQSEIFE (SEQ ID NO: 74) PEKKRQLLLEHLLLDLLMILNMLRTNPKNIESDWEDYMSNIEVII EELRKIMESLGRSEKAKEWKRMKQWVRRILEIVKNNSDLEEAK EVLNRLITIVQSEIFE (SEQ ID NO: 166)
G2_neo2_40_1F_seq35	H1->H3->H2'->H4	WEKKRQLLLEHLLLDLLMILNMWRTNPQNTESLMEDYMSNAK VIVEELARMMRSQGLEDKAREWEEMKKRIIEIRQIIQNNSKER AKEELNRLITYVQSEIFR (SEQ ID NO: 75) WEKKRQLLLEHLLLDLLMILNMWRTNPQNTESLMEDYMSNAK VIVEELARMMRSQGLEDKAREWEEMKKRIIEIRQIIQNNSKER AKEELNRLITYVQSEIFR (SEQ ID NO: 167)

[0137]

G2_neo2_40_1F_seq36	H1->H3->H2'->H4	PKKKIQLLAEHALLDALMILNIVKTNSQNAEEKLEDYASNVEVIL EEIARLMESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKT <u>TASE</u> DEQEEMA NRIITLLQSWIFS (SEQ ID NO: 76) PKKKIQLLAEHALLDALMILNIVKTNSQNAEEKLEDYASNVEVIL EEIARLMESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKT <u>TASE</u> DEQEEMA NRIITLLQSWIFS (SEQ ID NO: 168)
G2_neo2_40_1F_seq37	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHALLDALMILNXXXXXXQNAEEKLEDYMSNVE VIMEEFARMMRXXXXSEEAENAERIKKWVRKASSXXXSEEQRE MMNRAITLMQSWIFE (SEQ ID NO: 77) PEKKRQLLAEHALLDALMILNLTNPQNAEEKLEDYMSNVEVI MEEFARMMRNGDRSEEAENAERIKKWVRKASSTASSEEQREM MNRAITLMQSWIFE (SEQ ID NO: 169)
G2_neo2_40_1F_seq38	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHLLLDALMVLNMXXXXXXNTEEKLEDYISNMK VIKEMIELMRSLXXXEEAEKWKEALKAVEKIXXXXDSETAREL ANRIITLAQSAIFY (SEQ ID NO: 78) PEKKRQLLAEHLLLDALMVLNMLTTNSKNTEEKLEDYISNMKVI IKEMIELMRSLGRLEEAEKWKEALKAVEKIGSRMDSETARELAN RIITLAQSAIFY (SEQ ID NO: 170)
G2_neo2_40_1F_seq39	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHALLDALMFLNLXXXXXXQAEKIEDYASNLRV IAEELARLFENLXXXDEAQKAKDIKELAERARSXXSSEKRKEAM NRAITILQSMIFR (SEQ ID NO: 79) PEKKRQLLAEHALLDALMFLNLVETNPDQAEKIEDYASNLRVI AEELARLFENLGRLEDEAQKAKDIKELAERARSVSSEKRKEAM NRAITILQSMIFR (SEQ ID NO: 171)
G2_neo2_40_1F_seq40	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHALLDALMILNIIRTNSDNTESKLEDYISNLKVILE EIARLMESLGLSDEAEKAKEAMRLADKAGSTASEEEKKEAMNR VITWAQSWIFN (SEQ ID NO: 80) PEKKRQLLAEHALLDALMILNIIRTNSDNTESKLEDYISNLKVILE EIARLMESLGLSDEAEKAKEAMRLADKAGSTASEEEKKEAMNR VITWAQSWIFN (SEQ ID NO: 172)
G2_neo2_40_1F_seq41	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHALLDALMMLNILRTNPDNAEEKLEDYWSNLIVI LREIAKLMEISLGLTDEAEKAKEAARWAEARTTASKDQRRELA NRIITLLQSWIFS (SEQ ID NO: 81) PEKKRQLLAEHALLDALMMLNILRTNPDNAEEKLEDYWSNLIVI LREIAKLMEISLGLTDEAEKAKEAARWAEARTTASKDQRRELA NRIITLLQSWIFS (SEQ ID NO: 173)
G2_neo2_40_1F_seq42	H1->H3->H2'->H4	PEKKRQLLAEHLLLDALMILNIIETNEQNAESKLEDYISNAKVIL DEFREMARDLGLLDEAKKAEMKRWLEKMRSNASSDERREWA NRMITTAQSWIFN (SEQ ID NO: 82) PEKKRQLLAEHLLLDALMILNIIETNEQNAESKLEDYISNAKVIL DEFREMARDLGLLDEAKKAEMKRWLEKMRSNASSDERREWA NRMITTAQSWIFN (SEQ ID NO: 174)
G2_neo2_40_1F_seq27_S3	H1->H4->H2'->H3	TNKKAQLHAEFALHDALMLLNLSSESNERLNRIITWLQSIIFY GTYPDPMVKEAVKDADEIEDEMRRKRGIDT <u>EDY</u> VSNLRLILQ ELA (SEQ ID NO: 83) TNKKAQLHAEFALHDALMLLNLSSESNERLNRIITWLQSIIFY GTYPDPMVKEAVKDADEIEDEMRRKRGIDT <u>EDY</u> VSNLRLILQ

[0138]

		ELA (SEQ ID NO: 245)
G2_neo2_40_1F_seq27_S18	H1->H4->H2'->H3	TNKEAQLHAEFALYDALMLLNLSSSESNERLNRIITWLQSIIFY ETYDPDMVKEAVKLADEIEDEMRRK <u>KIDT</u> EDYVVNLRLILQ ELA (SEQ ID NO: 84) TNKEAQLHAEFALYDALMLLNLSSSESNERLNRIITWLQSIIFY ETYDPDMVKEAVKLADEIEDEMRRKIDT <u>EDYVVNLRLILQ</u> ELA (SEQ ID NO: 175)
G2_neo2_40_1F_seq27_S22	H1->H4->H2'->H3	TKKDAELLAFAEFALYDALMLLNLSSSESNERLNEIITWLQSIIFY GTYPDPMVKEAVKLADEIEDEMRRK <u>RGIDT</u> EDYVSNLRLILQE LA (SEQ ID NO: 85) TKKDAELLAFAEFALYDALMLLNLSSSESNERLNEIITWLQSIIFY GTYPDPMVKEAVKLADEIEDEMRRKRGIDT <u>EDYVSNLRLILQE</u> LA (SEQ ID NO: 176)
G2_neo2_40_1F_seq27_S24	H1->H4->H2'->H3	TNKK AQLHAEFALYDALMLLNLSSSESNERLNDIITWLQSIIFT GTYPDPMVKEAVKLADEIEDEMRRK <u>KIDT</u> EDYVVNLRYILQ ELA (SEQ ID NO: 86) TNKK AQLHAEFALYDALMLLNLSSSESNERLNDIITWLQSIIFT GTYPDPMVKEAVKLADEIEDEMRRKIDT <u>EDYVVNLRYILQ</u> ELA (SEQ ID NO: 177)
G2_neo2_40_1F_seq29_S6	H3->H2'->H4->H1	EDYYSNLKLILEELAREMERN <u>GLSD</u> KAEWRQWKKIVERIR QIRSN <u>NSDL</u> NEAKELNLRLITYIQSQIFEV LHGVGETDQEKKE ESWKKWDLLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 87) EDYYSNLKLILEELAREMERNGLSDKAEWRQWKKIVERIR QIRSNNSDLNEAKELNLRLITYIQSQIFEV LHGVGETDQEKKE ESWKKWDLLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 178)
G2_neo2_40_1F_seq29_S7	H3->H2'->H4->H1	EDYYSNLKVILEELAREMERN <u>GLSD</u> KAEWRQWKKIVERIR QIRSN <u>NSDL</u> NEAKELNELITYIQSQIFEVIEREGEDTQEKKEE SWKKWELHLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 88) EDYYSNLKVILEELAREMERNGLSDKAEWRQWKKIVERIR QIRSNNSDLNEAKELNELITYIQSQIFEVIEREGEDTQEKKEE SWKKWELHLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 179)
G2_neo2_40_1F_seq29_S8	H3->H2'->H4->H1	EDYYSNLKLILEELAREMERN <u>GLSD</u> KAEWRQWKKIVERIR QIRSN <u>NSDL</u> NEAKELNLRLITYIQSQIFEVLEGVGETDQEKKE ESWKKWELHLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 89) EDYYSNLKLILEELAREMERNGLSDKAEWRQWKKIVERIR QIRSNNSDLNEAKELNLRLITYIQSQIFEVLEGVGETDQEKKE ESWKKWELHLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 180)
Neoleukin-2/15 (β G2_neo2_40_1F_seq36_S11)	H1->H3->H2'->H4	PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFE LILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQE EMANAIIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 90) PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFE LILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQE EMANAIIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 181)
G2_neo2_40_1F_seq36_S12	H1->H3->H2'->H4	PKKKIQLLAEHALFDLLMILNIVKTNSQNAEEKLEDYAYNAG VILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKDTASEDEQ EEMANEIITILQSWNFS (SEQ ID NO: 91) PKKKIQLLAEHALFDLLMILNIVKTNSQNAEEKLEDYAYNAG VILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKDTASEDEQ EEMANEIITILQSWNFS (SEQ ID NO: 182)
Neoleukin-2/15 -H8Y-K33E	H1->H3->H2'->H4	PKKKIQLYAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEELEDYAFNFEL ILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEE

		MANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 94)
		PKKKIQLYAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEELEDYAFNFEL ILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEE MANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 246)
Neoleukin-2/15 (K32认为是这 种描绘的序列 中的任选接头的 残基)	H1->H3-> H2'->H4	PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFE LILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQE EMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 247)

[0139]

IL4_G2_neo2_40_ 1F_seq36_S11	PKKKIQITAEELKDALSIILNIVKTNSPPAEEQLERFAKRFRNL WGIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEM ANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 92)
	PKKKIQITAEELKDALSIILNIVKTNSPPAEEQLERFAKRFRNL WGIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEM ANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 183)
Neoleukin-4 (即IL4_G2_neo2_40_ 1F_seq36_S11_MIF)	PKKKIQIMAEELKDALSIILNIVKTNSPPAEEQLERFAKRFRNL LWGIARLFESGDQKDEAEKAKRMIEWMKRIKTTASEDEQEEM ANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 93)
	PKKKIQIMAEELKDALSIILNIVKTNSPPAEEQLERFAKRFRNL LWGIARLFESGDQKDEAEKAKRMIEWMKRIKTTASEDEQEEM ANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 184)

[0140] 对于下文每一种变体,提供了两种SEQ ID NO:列出如下文显示的序列的第一种SEQ ID NO:和包括任选且可变的接头位置的第二种SEQ ID NO:。

[0141] >Neoleukin-2/15_R50C (SEQ ID NO:190)

[0142] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIACLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0143] >Neoleukin-2/15_R50C (SEQ ID NO:217)

[0144] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIACLFESGXXKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTXXEEDQEEMANAIITILQSWIFS*

[0145] >Neoleukin-2/15_E53C (SEQ ID NO:191)

[0146] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFCSGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0147] >Neoleukin-2/15_E53C (SEQ ID NO:218)

[0148] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFCSGXXKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTXXEEDQEEMANAIITILQSWIFS*

[0149] >Neoleukin-2/15_D56C (SEQ ID NO:192)

[0150] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGCQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0151] >Neoleukin-2/15_D56C (SEQ ID NO:219)

[0152] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGCQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTXXEEDQEEMANAIITILQSWIFS*

[0153] >Neoleukin-2/15_K58C (SEQ ID NO:193)

[0154] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQCDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

EWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0155] >Neoleukin-2/15_K58C (SEQ ID NO:220)

[0156] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXCDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0157] >Neoleukin-2/15_D59C (SEQ ID NO:194)

[0158] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKCEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0159] >Neoleukin-2/15_D59C (SEQ ID NO:221)

[0160] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKCEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0161] >Neoleukin-2/15_E62C (SEQ ID NO:195)

[0162] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEACKAKRMK

EWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0163] >Neoleukin-2/15_E62C (SEQ ID NO:222)

[0164] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEACKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0165] >Neoleukin-2/15_R66C (SEQ ID NO:196)

[0166] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKCMK

EWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0167] >Neoleukin-2/15_R66C (SEQ ID NO:223)

[0168] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKCMK

EWMKRIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0169] >Neoleukin-2/15_E69C (SEQ ID NO:197)

[0170] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMK

CWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0171] >Neoleukin-2/15_E69C (SEQ ID NO:224)

[0172] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKRMK

CWMKRIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0173] >Neoleukin-2/15_R73C (SEQ ID NO:198)

[0174] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0175] >Neoleukin-2/15_R73C (SEQ ID NO:225)

[0176] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0177] >Neoleukin-2/15_T77C (SEQ ID NO:199)

[0178] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTCASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0179] >Neoleukin-2/15_T77C (SEQ ID NO:226)

[0180] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTCASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0181] >Neoleukin-2/15_E82C (SEQ ID NO:200)

[0182] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0183] >Neoleukin-2/15_E82C (SEQ ID NO:227)

[0184] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0185] >Neoleukin-2/15_E85C (SEQ ID NO:201)

[0186] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0187] >Neoleukin-2/15_E85C (SEQ ID NO:228)

[0188] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0189] >Neoleukin-2/15_R50C_R73C (SEQ ID NO:202)

[0190] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIACLFESGDQKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0191] >Neoleukin-2/15_R50C_R73C (SEQ ID NO:229)

[0192] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIACLFESGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0193] >Neoleukin-2/15_E53C_R73C (SEQ ID NO:203)

[0194] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFCSGDQKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0195] >Neoleukin-2/15_E53C_R73C (SEQ ID NO:230)

[0196] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFCSGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0197] >Neoleukin-2/15_D56C_R73C (SEQ ID NO:204)

[0198] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGCQKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0199] >Neoleukin-2/15_D56C_R73C (SEQ ID NO:231)

[0200] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGCQKDEAEKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0201] >Neoleukin-2/15_K58C_R73C (SEQ ID NO:205)

[0202] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQCDEAEKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0203] >Neoleukin-2/15_K58C_R73C (SEQ ID NO:232)

[0204] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXCDEAEKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0205] >Neoleukin-2/15_D59C_R73C (SEQ ID NO:206)

[0206] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKCEAEKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0207] >Neoleukin-2/15_D59C_R73C (SEQ ID NO:233)

[0208] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXCEAEKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0209] >Neoleukin-2/15_E62C_R73C (SEQ ID NO:207)

[0210] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEACKAKRMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0211] >Neoleukin-2/15_E62C_R73C (SEQ ID NO:234)

[0212] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEACKAKRMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0213] >Neoleukin-2/15_R66C_R73C (SEQ ID NO:208)

[0214] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKCMK

EWMKCIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0215] >Neoleukin-2/15_R66C_R73C (SEQ ID NO:235)

[0216] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKCMK

EWMKCIKTXXXEDEQEEMANAIITILQSWIFS*

[0217] >Neoleukin-2/15_R50C_E82C (SEQ ID NO:209)

[0218] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIACLFESGDQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0219] >Neoleukin-2/15_R50C_E82C (SEQ ID NO:236)

[0220] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIACLFESGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0221] >Neoleukin-2/15_E53C_E82C (SEQ ID NO:210)

[0222] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFCSGDQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0223] >Neoleukin-2/15_E53C_E82C (SEQ ID NO:237)

[0224] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFCSGXXXKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0225] >Neoleukin-2/15_D56C_E82C (SEQ ID NO:211)

[0226] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGCQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0227] >Neoleukin-2/15_D56C_E82C (SEQ ID NO:238)

[0228] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGCQKDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0229] >Neoleukin-2/15_K58C_E82C (SEQ ID NO:212)

[0230] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQCDEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0231] >Neoleukin-2/15_K58C_E82C (SEQ ID NO:239)

[0232] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXCDEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0233] >Neoleukin-2/15_D59C_E82C (SEQ ID NO:213)

[0234] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKCEAEKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0235] >Neoleukin-2/15_D59C_E82C (SEQ ID NO:240)

[0236] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKCEAEKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0237] >Neoleukin-2/15_E62C_E82C (SEQ ID NO:214)

[0238] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEACKAKRMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0239] >Neoleukin-2/15_E62C_E82C (SEQ ID NO:241)

[0240] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEACKAKRMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0241] >Neoleukin-2/15_R66C_E82C (SEQ ID NO:215)

[0242] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKCMK

EWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0243] >Neoleukin-2/15_R66C_E82C (SEQ ID NO:242)

[0244] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKCMK

EWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0245] >Neoleukin-2/15_E69C_E82C (SEQ ID NO:216)

[0246] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMK

CWMKRIKTTASEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0247] >Neoleukin-2/15_E69C_E82C (SEQ ID NO:243)

[0248] PKKKIQLHAEHALYDALMILNIXXXXXXXXXXXLEDYAFNFELILEEIARLFESGXXXKDEAEKAKRMK

CWMKRIKTXXXEDCQEEMANAIITILQSWIFS*

[0249] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:90,181,和247组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。

[0250] 在另一个实施方案中,多肽包含与SEQ ID NO:90,181,或247的氨基酸序列同一的多肽,其中该多肽(i)不结合人或鼠IL-2R α , (ii)以约11.2nM的亲和力结合人IL2R β , (iii)以约16.1nm的亲和力结合鼠IL2R β , (iv)以约18.8nM的亲和力结合人IL-2R β γ_c , 且(v)以约3.4nM的亲和力结合鼠IL-2R β γ_c 。

[0251] 在全长多肽的任何这些实施方案中,多肽可以是IL-4/IL-13模拟物,其中位置7是I,位置8是T或M,位置11是E,位置14是K,位置18是S,位置33是Q,位置36是R,位置37是F,位置39是K,位置40是R,位置43是R,位置44是N,位置46是W,且位置47是G。在又一个实施方案中,位置68是I且位置98是F。

[0252] 在全长多肽的任何这些实施方案中,多肽可以是IL-2模拟物,其中下述中1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,或全部14项不是真的:位置7是I,位置8是T或M,位置11是E,位

置14是K,位置18是S,位置33是Q,位置36是R,位置37是F,位置39是K,位置40是R,位置43是R,位置44是N,位置46是W,和位置47是G。在又一个实施方案中,下述中一项或全部两项不是真的:位置68是I和位置98是F。

[0253] 在一个实施方案中,本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽具有当重叠在天然IL-2的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标具有小于2.5埃,小于1.5埃,或小于1埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

[0254] 在另一个实施方案中,本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽具有当重叠在具有表E2的结构坐标的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标具有小于2.5埃,小于1.5埃,或小于1埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

[0255] 在又一个实施方案中,本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽在与小鼠IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 的三元复合物中时具有如下三维结构,其中当重叠在与小鼠IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 的三元复合物中的天然IL-2的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时共同残基主链原子或 α 碳原子的结构坐标具有小于2.5埃,小于1.5埃,或小于1埃的均方根偏差。

[0256] 在另一个实施方案中,本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-4模拟多肽具有当重叠在天然IL-4的三维结构的主链原子或 α 碳原子上时结构坐标包含小于2.5埃,小于1.5埃,或小于1埃的共同残基主链原子或 α 碳原子的均方根偏差的三维结构。

[0257] 在每个这些实施方案中,可以使用计算建模确定多肽的三维结构,或者,使用结晶学测定的结构数据确定多肽的三维结构。

[0258] 在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的一个实施方案中,X1,X2,X3,和X4是 α -螺旋域。在另一个实施方案中,X1,X2,X3且X4中每项的氨基酸长度独立是长度为至少约8,10,12,14,16,19,或更多个氨基酸。在其它实施方案中,X1,X2,X3且X4中每项的氨基酸长度独立是长度为不超过1000,500,400,300,200,100,或50个氨基酸。在各种又一些实施方案中,X1,X2,X3且X4中每项的氨基酸长度独立是长度为约8-1000,8-500,8-400,8-300,8-200,8-100,8-50,10-1000,10-500,10-400,10-300,10-200,10-100,10-50,12-1000,12-500,12-400,12-300,12-200,12-100,12-50,14-1000,14-500,14-400,14-300,14-200,14-100,14-50,16-1000,16-500,16-400,16-300,16-200,16-100,16-50,19-1000,19-500,19-400,19-300,19-200,19-100,或约19-50个氨基酸之间。

[0259] 在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的另一个实施方案中,X1结合人IL-2受体的 β 和 γ 亚基。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的另一个实施方案中,X2不结合人IL-2受体。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的另一个实施方案中,X3结合人IL-2受体的 β 亚基。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的又一个实施方案中,X4结合人IL-2受体的 γ 亚基。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的另一个实施方案中,多肽不结合人或鼠IL-2受体的 α 亚基。在一个实施方案中,对受体的结合是特异性结合,如以生物学相关浓度通过表面等离子共振测定的。在另一个实施方案中,本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)的IL-2模拟多肽以200nm或更少,100nm或更少,50nm或更少,或25nm或更少的结合亲和力这样做。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的又一个实施方案中,多肽

对人和小鼠IL-2受体的亲和力约等于或大于天然IL-2的亲和力。

[0260] 在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的一个实施方案中,结合IL-4受体 $\alpha\gamma_c$ 异二聚体(IL-4R $\alpha\gamma_c$)的IL-4模拟多肽以200nm或更少,100nm或更少,50nM或更少,或25nM或更少的结合亲和力这样做。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-4模拟多肽的另一个实施方案中,多肽对人和小鼠IL-4受体的亲和力约等于或大于天然IL-4的亲和力。

[0261] 在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的一个实施方案中,多肽在表达IL-2受体的细胞中以约等于或大于天然IL-2的效力刺激STAT5磷酸化。在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽的另一个实施方案中,多肽在表达IL-2受体的细胞中以约等于或大于天然IL-2在表达IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体但缺乏IL-2受体 α 的细胞中的效力刺激STAT5磷酸化。

[0262] 在另一个实施方案中,本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的IL-2模拟多肽展现约等于或大于天然IL-2的热稳定性的热稳定性。

[0263] 在本文中公开的任何实施方案或实施方案组合的多肽的又一个实施方案中,多肽在热稳定性测试后维持或恢复至少70%,80%,或90%的它们的折叠结构,和/或在热稳定性测试后维持或恢复至少80%的它们的椭圆性谱,和/或在热稳定性测试后维持或恢复至少70%或80%的它们的活性。在一个实施方案中,通过STAT5磷酸化测定法测定此类活性。在另一个实施方案中,通过222nm处的圆二色性(CD)光谱学测量热稳定性。在又一个实施方案中,热稳定性测试包含在一小时时间帧中将多肽自25摄氏度加热至95摄氏度,在5分钟时间帧中将多肽冷却至25摄氏度并于222nm监测椭圆性。

[0264] 可以化学合成或重组表达本文中描述的多肽(当多肽是可遗传编码的时)。可以将多肽连接至其它化合物,诸如稳定化化合物以促进延长的体内半衰期,包括但不限于清蛋白,PEG化(附着一条或多条聚乙二醇链),HES化,PAS化,糖基化,或可以作为Fc融合物或以去免疫变体生成多肽。此类连接可以是共价的或非共价的。例如,添加含有聚乙二醇(“PEG”)的模块可包含将连接至马来酰亚胺基团的PEG基团(“PEG-MAL”)附着至多肽的半胱氨酸残基。PEG-MAL的合适例子是甲氧基PEG-MAL 5kD;甲氧基PEG-MAL 20kD;甲氧基(PEG)2-MAL 40kD;甲氧基PEG(MAL)2 5kD;甲氧基PEG(MAL)2 20kD;甲氧基PEG(MAL)2 40kD;或其任何组合。还见美国专利No.8,148,109。在其它实施方案中,PEG可包含支链PEG和/或多条PEG链。

[0265] 在一个实施方案中,稳定化化合物(包括但不限于含有PEG的模块)连接于多肽中的半胱氨酸残基。在另一个实施方案中,半胱氨酸残基存在于X2域中。在一些实施方案中,半胱氨酸残基存在于例如X2域中的多个位置中任一中。在一些此类实施方案中,X2域长度为至少19个氨基酸且半胱氨酸残基在相对于那19个氨基酸的位置1,2,5,9或16处。在又一个实施方案中,稳定化化合物(包括但不限于含有PEG的模块)经由马来酰亚胺基团连接至半胱氨酸残基,包括但不限于连接至存在于相对于SEQ ID NO:90的氨基酸残基62处的半胱氨酸残基。

[0266] 在一些方面,多肽是Neo-2/15多肽且Neo-2/15的氨基酸突变成半胱氨酸残基,用于对其附着稳定化模块(例如含有PEG的模块)。在一些方面,多肽是Neo-2/15多肽且相对于SEQ ID NO:90,181,或247的位置50,53,62,69,73,82,56,58,59,66,77,或85或其组合处的

氨基酸突变成半胱氨酸残基,用于对其附着稳定化模块(例如含有PEG的模块)。因而,在又一个实施方案中,多肽包含与SEQ ID NO:90,181,或247的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽[Neo-2/15],且其中存在下述突变中1,2,3,4,5或全部6项:

[0267] R50C;

[0268] E53C;

[0269] E62C;

[0270] E69C;

[0271] R73C;和/或

[0272] E82C。

[0273] 在又一个实施方案中,多肽包含与SEQ ID NO:90,181,或247的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽,且其中存在下述突变中1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,或全部12项:

[0274] D56C;

[0275] K58C;

[0276] D59C;

[0277] R66C;

[0278] T77C;

[0279] E85C;

[0280] R50C;

[0281] E53C;

[0282] E62C;

[0283] E69C;

[0284] R73C;和/或

[0285] E82C。

[0286] 在又一个实施方案中,多肽包含与选自SEQ ID NO:190-243组成的组的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽。

[0287] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自SEQ ID NO:190和217组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:190的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。

[0288] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自SEQ ID NO:191和218组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:191的氨基酸序列至少25%,

27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0289] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:192和219组成的组的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:192的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0290] 在一个实施方案中,该多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:193和220组成的组的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。在一个方面,该多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:193的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0291] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:194和221组成的组的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:194的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0292] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:195和222组成的组的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:195的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0293] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:196和223组成的组的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:196的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0294] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:197和224组成的组的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:197的氨基酸序列至少25%, 27%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%同一的多肽。

[0295] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:198和225组成的

组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:198的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。

[0296] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:199和226组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:199的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。

[0297] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:200和227组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:200的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。

[0298] 在一个实施方案中,多肽包含沿着它的长度与选自由SEQ ID NO:201和228组成的组的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。在一个方面,多肽包含沿着它的长度与SEQ ID NO:201的氨基酸序列至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%同一的多肽。

[0299] 在另一个实施方案中,多肽包含与选自由SEQ ID NO:195,207,214,222,234,和241组成的组的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽;或多肽包含与选自由SEQ ID NO:195,207,和214组成的组的氨基酸序列的全长至少25%,27%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,98%,或100%同一的多肽。

[0300] 在又一个实施方案中,多肽进一步包含靶向域。在这个实施方案中,多肽可以针对感兴趣的靶物。靶向域可以共价或非共价结合至多肽。在其中靶向域非共价结合至多肽的实施方案中,可使用对于此类非共价结合合适的任何手段,包括但不限于链霉亲和素-生物素接头。

[0301] 在另一个实施方案中,当存在时,靶向域是与多肽翻译融合的。在这个实施方案中,多肽和靶向域可以在翻译融合物中彼此直接毗连,或者可以通过对于预期目的合适的多肽接头而连接。例示性的此类接头包括但不限于W02016178905, W02018153865 (特别是在第13页), 和W0 2018170179 (特别是在第[0316]-[0317]段) 中公开的那些。在其它实施方案中,合适的接头包括但不限于肽接头,诸如GGGGG (SEQ ID NO:95), GSGGG (SEQ ID NO:96), GGGGGG (SEQ ID NO:97), GSGGG (SEQ ID NO:98), GSGGSGGGSGSGSG (SEQ ID NO:99),

GGSGSGGGSGSGSG (SEQ ID NO:100), GGSGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:101), 和[GGGGX]_n (SEQ ID NO:102), 其中X是Q,E或S且n是2-5。

[0302] 靶向域是结合感兴趣靶物的多肽域或小分子。在一个非限制性实施方案中, 靶向域结合细胞表面蛋白; 在这个实施方案中, 细胞可以是包括能受到合适靶向域结合的表面蛋白的感兴趣的任何细胞类型。在一个实施方案中, 细胞表面蛋白存在于选自肿瘤细胞, 肿瘤血管成分细胞, 肿瘤微环境细胞 (例如成纤维细胞, 浸润性免疫细胞, 或基质元件), 其它癌细胞和免疫细胞 (包括但不限于CD8⁺ T细胞, T-调节细胞, 树突细胞, NK细胞, 或巨噬细胞) 组成的组的细胞的表面。当细胞表面蛋白在肿瘤细胞, 血管成分细胞, 或肿瘤微环境细胞 (例如成纤维细胞, 浸润性免疫细胞, 或基质元件) 的表面上时, 可以靶向任何合适的肿瘤细胞, 血管成分细胞, 或肿瘤微环境细胞表面标志物, 包括但不限于EGFR, EGFRvIII, Her2, HER3, EpCAM, MSLN, MUC16, PSMA, TROP2, ROR1, RON, PD-L1, CD47, CTLA-4, CD5, CD19, CD20, CD25, CD37, CD30, CD33, CD40, CD45, CAMPATH-1, BCMA, CS-1, PD-L1, B7-H3, B7-DC, HLA-DR, 癌胚抗原 (CEA), TAG-72, MUC1, 叶酸结合蛋白, A33, G250, 前列腺特异性膜抗原 (PSMA), 铁蛋白, GD2, GD3, GM2, Le^y, CA-125, CA19-9, 表皮生长因子, p185HER2, IL-2受体, EGFRvIII (de2-7 EGFR), 成纤维细胞激活蛋白, 腱蛋白, 金属蛋白酶, 内皮唾液酸蛋白, 血管内皮生长因子, avB3, WT1, LMP2, HPV E6, HPV E7, Her-2/neu, MAGE A3, p53非突变体, NY-ESO-1, MelanA/MART1, Ras突变体, gp100, p53突变体, PR1, bcr-abl, 酪氨酸酶, 存活素, PSA, hTERT, 肉瘤易位断点蛋白, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, ERG, NA17, PAX3, ALK, 雄激素受体, 细胞周期蛋白B1, 聚唾液酸, MYCN, RhoC, TRP-2, 岩藻糖基GM1, 间皮素 (MSLN), PSCA, MAGE A1, sLe (动物), CYP1B1, PLAV1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, 碳酸酐酶IX, PAX5, OY-TESL精蛋白17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, 豆荚蛋白, Tie 3, VEGFR2, MAD-CT-1, PDGFR-B, MAD-CT-2, ROR2, TRAIL1, MUC16, MAGE A4, MAGE C2, GAGE, EGFR, CMET, HER3, MUC15, CA6, NAPI2B, TROP2, CLDN6, CLDN16, CLDN18.2, CLorf186, RON, LY6E, FRA, DLL3, PTK7, STRA6, TMPRSS3, TMPRSS4, TMEM238, UPK1B, VTCN1, LIV1, ROR1, 和Fos相关抗原1。

[0303] 在其它实施方案中, 当细胞表面蛋白在肿瘤细胞, 血管成分细胞, 或肿瘤微环境细胞 (例如成纤维细胞, 浸润性免疫细胞, 或基质元件) 的表面上时, 可以靶向任何合适的肿瘤细胞, 血管成分细胞, 或肿瘤微环境细胞表面标志物, 包括但不限于下面的列表中的靶物:

[0304] (1) BMPR1B (骨形态发生蛋白受体-IB型, Genbank登录号NM.sub.--001203);

[0305] (2) E16 (LAT1, SLC7A5, Genbank登录号NM.sub.--003486);

[0306] (3) STEAP1 (前列腺六次跨膜上皮抗原, Genbank登录号NM.sub.--012449);

[0307] (4) 0772P (CA125, MUC16, Genbank登录号AF361486);

[0308] (5) MPF (MPF, MSLN, SMR, 巨核细胞强化因子, 间皮素, Genbank登录号NM.sub.--005823);

[0309] (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 溶质载体家族34 (磷酸钠), 成员2, II型钠依赖性磷酸盐转运蛋白3b, Genbank登录号NM.sub.--006424);

[0310] (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, 信号素5b Hlog, sema域, 七次血小板反应素重复 (I型和I型样), 跨膜域 (TM) 和短胞质域, (信号素) 5B, Genbank登录号AB040878);

[0311] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN

cDNA2700050C12基因,Genbank登录号AY358628) ;

[0312] (9) ETBR (内皮缩血管肽B型受体,Genbank登录号AY275463) ;

[0313] (10) MSG783 (RNF124,假设的蛋白质FLJ20315,Genbank登录号NM.sub.--017763) ;

[0314] (11) STEAP2 (HGNC.sub.--8639,IPCA-1,PCANAP1,STAMP1,STEAP2,STMP,前列腺癌相关基因1,前列腺癌相关蛋白1,前列腺六次跨膜上皮抗原2,六次跨膜前列腺蛋白,Genbank登录号AF455138) ;

[0315] (12) TrpM4 (BR22450,FLJ20041,TRPM4,TRPM4B,瞬时受体潜在阳离子通道,亚家族M,成员4,Genbank登录号NM.sub.--017636) ;

[0316] (13) CRIPTO (CR,CR1,CRGF,CRIPTO,TDGF1,畸胎瘤衍生生长因子,Genbank登录号NP.sub.--003203或NM.sub.--003212) ;

[0317] (14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或C3DR (C3d/Epstein Barr病毒受体) 或Hs.73792,Genbank登录号M26004) ;

[0318] (15) CD79b (Ig β (免疫球蛋白相关 β),B29,Genbank登录号NM.sub.--000626) ;

[0319] (16) FcRH2 (IFGP4,IRTA4,SPAP1A (含有SH2域的磷酸酶锚蛋白1a),SPAP1B,SPAP1C,Genbank登录号NM_--030764) ;

[0320] (17) HER2 (Genbank登录号M11730) ;

[0321] (18) NCA (Genbank登录号M18728) ;

[0322] (19) MDP (Genbank登录号BC017023) ;

[0323] (20) IL20R α (Genbank登录号AF184971) ;

[0324] (21) Brevican (Genbank登录号AF229053) ;

[0325] (22) Ephb2R (Genbank登录号NM_--004442) ;

[0326] (23) ASLG659 (Genbank登录号AX092328) ;

[0327] (24) PSCA (Genbank登录号AJ297436) ;

[0328] (25) GEDA (Genbank登录号AY260763) ;

[0329] (26) BAFF-R (Genbank登录号NP_--443177.1) ;

[0330] (27) CD22 (Genbank登录号NP-001762.1) ;

[0331] (28) CD79a (CD79A,CD79 α ,免疫球蛋白相关 α ,B细胞特异性蛋白,与Ig β (CD79B) 共价相互作用并与Ig M分子在表面上形成复合物,转导牵涉B-细胞分化的信号,Genbank登录号NP_--001774.1) ;

[0332] (29) CXCR5 (伯基特氏淋巴瘤受体1,G蛋白偶联受体,受到CXCL13趋化因子活化,在淋巴细胞迁移和体液防御中发挥功能,在HIV-2感染和可能AIDS,淋巴瘤,骨髓瘤,和白血病的发生中发挥作用,Genbank登录号NP_--001707.1) ;

[0333] (30) HLA-DOB (MHC II类分子的 β 亚基 (Ia抗原),结合肽并将它们呈递给CD4 $^{+}$ T淋巴细胞,Genbank登录号NP_--002111.1) ;

[0334] (31) P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控离子通道5,由胞外ATP控门的离子通道,可能牵涉突触传递和神经发生,缺陷可能促成特发性逼尿肌不稳定的病理生理学,Genbank登录号NP_--002552.2) ;

[0335] (32) CD72 (B-细胞分化抗原CD72,Lyb-2,Genbank登录号NP_--001773.1) ;

[0336] (33) LY64 (淋巴细胞抗原64 (RP105),富含亮氨酸的重复 (LRR) 家族的I型膜蛋白,

调节B-细胞激活和凋亡,功能丧失与具有系统性红斑狼疮的患者中升高的疾病活性有关,Genbank登录号NP_--005573.1);

[0337] (34) FCRH1 (Fc受体样蛋白1,含有C2型Ig样和ITAM域的免疫球蛋白Fc域的推定受体,可能在B-淋巴细胞分化中具有作用,Genbank登录号NP_--443170.1);或

[0338] (35) IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体易位相关2,在B细胞发育和淋巴瘤发生中可能有作用的推定免疫受体;在一些B细胞恶性中发生易位所致基因失调,Genbank登录号NP_--112571.1)。

[0339] 在另一个实施方案中,靶向域结合免疫细胞表面标志物。在这个实施方案中,靶物可以是任何合适的免疫细胞的细胞表面蛋白,包括但不限于CD8⁺ T细胞,T-调节细胞,树突细胞,NK细胞或巨噬细胞。靶向域可以靶向任何合适的免疫细胞表面标志物(无论内源的或是改造的免疫细胞,包括但不限于改造的CAR-T细胞),包括但不限于CD3,CD4,CD8,CD19,CD20,CD21,CD25,CD37,CD30,CD33,CD40,CD68,CD123,CD254,PD-1,B7-H3,和CTLA-4。在另一个实施方案中,靶向域结合PD-1,PDL-1,CTLA-4,TR0P2,B7-H3,CD33,CD22,碳酸酐酶IX,CD123,连接素-4,组织因子抗原,CD154,B7-H3,B7-H4,FAP (成纤维细胞激活蛋白)或MUC16,和/或其中靶向域结合PD-1,PDL-1,CTLA-4,TR0P2,B7-H3,CD33,CD22,碳酸酐酶IX,CD123,连接素-4,组织因子抗原,CD154,B7-H3,B7-H4,FAP (成纤维细胞激活蛋白)或MUC16。

[0340] 在所有这些实施方案中,靶向域可以是结合感兴趣靶物且能掺入本公开的多肽中的任何合适多肽。在非限制性实施方案中,靶向域可包括但不限于结合细胞表面的scFv,F(ab),F(ab')₂,B细胞受体(BCR),DARPin,亲和体(affibody),单抗体(monobody),纳米抗体(nanobody),双抗体(diabody),抗体(包括单特异性或双特异性抗体);细胞靶向性寡肽,包括但不限于RGD整联蛋白结合肽,从头设计结合物,适体,双环肽,芋螺毒素,小分子,诸如叶酸,和病毒。

[0341] 在另一个实施方案中,多肽包括至少一个二硫键(即1,2,3,4,或更多个二硫键)。可以使用任何合适的二硫键,诸如连接两个不同螺旋的二硫键。在一个实施方案中,二硫键包括连接螺旋1(X1)和螺旋4(X4)的二硫键。例如,与没有将两个域连接到一起的二硫键的实质性相似的多肽相比,二硫键可改善多肽的热稳定性。

[0342] 本发明的多肽和肽域可以在N端,C端,或二者包括在本公开的多肽或肽域中不存的另外的残基;在确定本公开的多肽或肽域相对于参照多肽的百分比同一性时不包括这些另外的残基。此类残基可以是对于预期用途合适的任何残基,包括但不限于检测标签(即荧光蛋白,抗体表位标签,等),衔接头,对于纯化目的合适的配体(His标签,等),对多肽增加功能性的其它肽域,等。对于附着此类基团合适的残基可以包括半胱氨酸,赖氨酸或对乙酰基苯丙氨酸残基,或者可以是标签,诸如对于与转谷氨酰胺酶反应合适的氨基酸标签,如美国专利No.9,676,871和9,777,070中公开的。

[0343] 在又一个方面,本发明提供编码能遗传编码的本发明的多肽的核酸,包括分离的核酸。分离的核酸序列可包含RNA或DNA。此类分离的核酸序列可包含对于促进所编码的蛋白质的表达和/或纯化有用的另外的序列,包括但不限于polyA序列,改良Kozak序列,和编码表位标签,输出信号,和分泌信号,核定位信号,和质膜定位信号的序列。基于本文中的教导,哪些核酸序列会编码本发明的多肽对本领域技术人员会是显而易见的。

[0344] 在另一个方面,本发明提供重组表达载体,其包含与合适的控制序列可操作连接

的本发明的任何方面的分离的核酸。“重组表达载体”包括可操作连接核酸编码区或基因与能够实现基因产物表达的任何控制序列的载体。与本发明的核酸序列可操作连接的“控制序列”是能够实现核酸分子表达的核酸序列。控制序列不必与核酸序列邻接,只要它们发挥指导其表达的功能。如此,例如,启动子序列和核酸序列之间可以存在不翻译但转录的居间序列,而且启动子序列仍然可以认为是与编码序列“可操作连接”的。其它此类控制序列包括但不限于聚腺苷酸化信号,终止信号,和核糖体结合位点。此类表达载体包括但不限于质粒和病毒基表达载体。用于在哺乳动物系统中驱动所公开的核酸序列表达的控制序列可以是组成性的(由多种启动子任一驱动,包括但不限于CMV,SV40,RSV,肌动蛋白,EF)或诱导型的(由多种诱导型启动子任一驱动,包括但不限于四环素,蜕皮激素,类固醇响应性的)。表达载体必须是在宿主生物体中可复制的,或是作为附加体或是通过整合入宿主染色体DNA中。在各种实施方案中,表达载体可包含质粒,病毒基载体(包括但不限于逆转录病毒载体或溶瘤病毒),或任何其它合适表达载体。在一些实施方案中,可以为了治疗益处在本公开的方法中施用表达载体以在体内表达多肽。在非限制性实施方案中,可使用表达载体转染或转导细胞治疗靶(包括但不限于CAR-T细胞或肿瘤细胞)以实现本文中公开的治疗方法。

[0345] 在又一个方面,本公开提供包含本文中公开的重组表达载体的宿主细胞,其中该宿主细胞可以是原核的或真核的。可以使用包括但不限于细菌转化,磷酸钙共沉淀,电穿孔,或脂质体,DEAE右旋糖苷,聚阳离子,或病毒介导的转染的技术瞬时或稳定改造细胞以掺入本发明的表达载体(见例如Molecular Cloning:A Laboratory Manual (Sambrook, et al., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press); Culture of Animal Cells:A Manual of Basic Technique, 2nd Ed. (R.I. Freshney, 1987, Liss, Inc. New York, NY))。生成依照本发明的多肽的方法是本发明的另一个部分。该方法包含下述步骤:(a)在有助于多肽表达的条件下培养依照本发明的这个方面的宿主,和(b)任选地回收表达的多肽。可以自无细胞提取物回收表达的多肽,但是优选自培养培养基回收它们。

[0346] 在又一个方面,本公开提供选择性结合本公开的多肽的抗体。抗体可以是多克隆,单克隆抗体,人源化抗体,和其片段,而且可以使用本领域技术人员知道的技术来生成。如本文中使用的,“选择性结合”意味着相对于一种或多种其它生物学分子,结构,细胞,组织,等,抗体优先结合本公开的多肽,正如本领域技术人员普遍理解的。

[0347] 在另一个方面,本公开提供药学组合物,其包含本公开的一种或多种多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞和药学可接受载剂。可以例如在下文描述的公开的方法中使用本公开的药学组合物。在本公开的多肽以外,药学组合物可包含(a)冷冻保护剂;(b)表面活性剂;(c)填充剂;(d)张力调节剂;(e)稳定剂;(f)防腐剂;和/或(g)缓冲剂。

[0348] 在一些实施方案中,药学组合物中的缓冲剂是Tris缓冲剂,组氨酸缓冲剂,磷酸盐缓冲剂,柠檬酸盐缓冲剂或乙酸盐缓冲剂。药学组合物还可以包括冷冻保护剂,例如蔗糖,山梨糖醇或海藻糖。在某些实施方案中,药学组合物包括防腐剂,例如苯扎氯铵,苄索氯铵,氯己定,酚,间甲酚,苄醇,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯,氯丁醇,邻甲酚,对甲酚,氯甲醇,硝酸苯汞,硫柳汞,苯甲酸,和其各种混合物。在其它实施方案中,药学组合物包括填充剂,像甘氨酸。在还有其它实施方案中,药学组合物包括表面活性剂,例如聚山梨酸酯-20,聚山梨酸酯-40,聚山梨酸酯-60,聚山梨酸酯-65,聚山梨酸酯-80,聚山梨酸酯-85,泊洛沙姆-188,山梨聚糖单月桂酸酯,山梨聚糖单棕榈酸酯,山梨聚糖单硬脂酸酯,山梨聚糖单

油酸酯,山梨聚糖三月桂酸酯,山梨聚糖三硬脂酸酯,山梨聚糖三油酸酯,或其组合。药学组合物还可以包括张力调节剂,例如使得配制剂与人血实质性等张或等渗的化合物。例示性的张力调节剂包括蔗糖,山梨糖醇,甘氨酸,甲硫氨酸,甘露醇,右旋糖,肌醇,氯化钠,精氨酸和精氨酸盐酸盐。在其它实施方案中,药学组合物另外包括稳定剂,例如在与感兴趣蛋白质组合时实质性防止或减轻冻干或液体形式的感兴趣蛋白质的化学和/或物理不稳定性的分子。例示性的稳定剂包括蔗糖,山梨糖醇,甘氨酸,肌醇,氯化钠,甲硫氨酸,精氨酸,和精氨酸盐酸盐。

[0349] 多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞可以是药学组合物中的唯一活性剂,或者组合物可以进一步包含对于预期用途合适的一种或多种其它活性剂。

[0350] 在又一个方面,本公开提供用于治疗 and/或限制癌症的方法,其包含对有需要的受试者施用治疗有效量的本公开的一种或多种多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞,其盐,其缀合物,或其药学组合物以治疗 and/或限制癌症。当该方法包含治疗癌症时,将一种或多种多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞施用于早已诊断为具有癌症的受试者。如本文中使用的,“治疗”或“处理”意味着实现下述一项或多项:(a)减小受试者中肿瘤和/或转移的尺寸或体积;(b)限制受试者中肿瘤和/或转移的尺寸或体积的任何变大;(c)延长存活;(d)降低与癌症有关的症状的严重程度;(e)限制或防止与癌症有关的症状的发生;和(f)抑制与癌症有关的症状的恶化。

[0351] 当该方法包含限制癌症的发生时,将一种或多种多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞预防性施用于不知道具有癌症但可能有癌症风险的受试者。如本文中使用的,“限制”意味着限制有癌症风险的受试者中癌症的发生,包括但不限于具有癌症的家族史的受试者,在遗传上易患癌症的受试者,有癌症症状的受试者,等。

[0352] 可使用该方法治疗或限制任何合适癌症的发生,包括但不限于结肠癌,黑素瘤,肾细胞癌,头颈部鳞状细胞癌,胃癌,膀胱上皮癌,霍奇金淋巴瘤,非小细胞肺癌,小细胞肺癌,肝细胞癌,胰腺癌,梅克尔细胞癌,结肠直肠癌,急性髓样白血病,急性成淋巴细胞性白血病,慢性淋巴细胞性白血病,非霍奇金淋巴瘤,多发性骨髓瘤,卵巢癌,宫颈癌,和通过诸如微卫星不稳定性,肿瘤突变负荷,PD-L1表达水平,或免疫得分测定法(如由The Society for Immunotherapy of Cancer开发的)等诊断测试选择的任何肿瘤类型。

[0353] 受试者可以是具有或有风险发生癌症的任何受试者。在一个实施方案中,受试者是哺乳动物,包括但不限于人,犬,猫,马,牛,等。

[0354] 在又一个方面,本公开提供用于在受试者中调控免疫应答的方法,其通过对受试者施用本公开的多肽,重组核酸,表达载体,重组宿主细胞,或药学组合物。

[0355] 如本文中使用的,所调控的“免疫应答”指免疫系统的细胞,诸如B细胞,T细胞(CD4或CD8),调节T细胞,抗原呈递细胞,树突细胞,单核细胞,巨噬细胞,NKT细胞,NK细胞,嗜碱性细胞,嗜曙红细胞,或嗜中性细胞对刺激的应答。在一些实施方案中,应答是对特定抗原特异性的(“抗原特异性应答”),而且指CD4 T细胞,CD8 T细胞,或B细胞经由它们的抗原特异性受体的应答。在一些实施方案中,免疫应答是T细胞应答,诸如CD4+应答或CD8+应答。这些细胞的此类应答可以包括例如细胞毒性,增殖,细胞因子或趋化因子生成,运输,或吞噬,而且可以取决于经历应答的免疫细胞的性质。在本文中描述的组合物和方法的一些实施方案中,调控的免疫应答是T-细胞介导的。

[0356] 在一些方面,免疫应答是抗癌免疫应答。在一些此类方面,将本文中描述的IL-2模拟物施用于具有癌症的受试者以调控该受试者中的抗癌免疫应答。

[0357] 在一些方面,免疫应答是组织修补免疫应答。在一些此类方面,将本文中描述的IL-4模拟物施用于有需要的受试者以调控该受试者中的组织修补免疫应答。

[0358] 在一些方面,免疫应答是伤口愈合免疫应答。在一些此类方面,将本文中描述的IL-4模拟物施用于有需要的受试者以调控该受试者中的伤口愈合免疫应答。

[0359] 在一些方面,提供了用于调控受试者中针对第二治疗剂的免疫应答的方法。在一些此类方面,该方法包含将本公开的多肽与有效量第二治疗剂组合施用于受试者。第二治疗剂可以是例如化疗剂或抗原特异性免疫治疗剂。在一些方面,抗原特异性免疫治疗剂包含嵌合抗原受体T细胞(CAR-T细胞)。在一些方面,本公开的多肽增强受试者对治疗剂的免疫应答。可以增强免疫应答,例如通过改善T细胞应答(包括CAR-T细胞应答),提升先天性T细胞免疫应答,降低炎症,抑制T调节细胞活性,或其组合。

[0360] 在一些方面,会将本发明的细胞因子模拟物,例如如本文中描述的IL-4模拟物浸渗或以其它方式联合生物材料,而且会将生物材料引入受试者中。在一些方面,生物材料会是可植入医疗装置的成分,而且该装置会例如涂覆生物材料。此类医疗装置包括例如血管和动脉移植物。可以使用IL-4和/或IL-4相关生物材料来例如促进伤口愈合和/或组织修复和再生。

[0361] 如本文中使用的,“治疗有效量”指多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞有效治疗和/或限制癌症的量。多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞典型地配制成药学组合物,诸如上文公开的那些,而且可以以含有常规药学可接受载剂,佐剂,和媒介的剂量单位配制剂经由任何合适路径来施用,包括但不限于口服,通过吸入喷雾,经眼,静脉内,皮下,腹膜内,和囊内。在一个特定实施方案中,粘膜施用多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞,包括但不限于眼内,吸入,或鼻内施用。在另一个特定实施方案中,口服施用多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞。此类特定实施方案可以经由小滴,雾化器,喷雾剂,或其它合适配制剂来施用。

[0362] 可以使用由主治医务人员确定的任何合适剂量范围。可以调节剂量方案以提供最佳的想要的应答(例如治疗或预防应答)。多肽的一种合适剂量范围可以是例如0.1 μ g/kg-100mg/kg体重;或者,它可以是0.5 μ g/kg至50mg/kg;1 μ g/kg至25mg/kg,或5 μ g/kg至10mg/kg体重。在一些实施方案中,推荐剂量可以低于0.1mcg/kg,尤其是如果局部施用的话。在其它实施方案中,推荐剂量可以基于重量/ m^2 (即体表面积),和/或它可以以固定剂量施用(例如.05-100mg)。多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞可以以单一推注投递,或者可以施用超过一次(例如2,3,4,5,或更多次),如由主治医生确定的。

[0363] 多肽,核酸,表达载体,和/或宿主细胞可以作为唯一的预防或治疗剂施用,或者可以与一种或多种其它预防或治疗剂一起(即组合或分开)施用,包括但不限于肿瘤切除,化学疗法,放射疗法,免疫疗法,等。

[0364] 示例计算环境

[0365] 图22是一种示例计算网络的块状图。一些或全部上文提到的本文中公开的技术,诸如但不限于作为软件的一部分和/或由软件实施而公开的技术,Rosetta软件套件,RosettaScripts,PyRosetta,Rosetta应用,和/或其它本文中描述的计算机软件和计算机硬件,可以是计算装置的一部分和/或由计算装置实施。例如,图X1显示蛋白质设计系统

102,配置成经由网络106与客户装置104a,104b,和104c和蛋白质数据库108通讯。在一些实施方案中,蛋白质设计系统102和/或蛋白质数据库108可以是计算装置,配置成实施一些或全部本文中描述的方法和技术,诸如但不限于方法300和作为Rosetta的一部分或涉及Rosetta而描述的功能。在一些实施方案中,蛋白质数据库108可以存储涉及Rosetta和/或由Rosetta使用的信息。

[0366] 网络106可以对应于LAN,广域网(WAN),公司内部网,公共互联网,或任何其它类型的网络,配置成提供联网计算装置之间的通讯路径。网络106还可以对应于一个或多个LAN,WAN,公司内部网,和/或公共互联网的组。

[0367] 尽管图22仅仅显示三个客户装置104a,104b,104c,然而分布式应用体系结构可以服务数十,数百,或数千个客户装置。而且,客户装置104a,104b,104c(或任何另外的客户装置)可以是任何类型的计算装置,诸如普通的膝上型计算机,台式计算机,网络终端,无线通讯装置(例如蜂窝电话或智能电话),等等。在一些实施方案中,客户装置104a,104b,104c可以专用于解决问题/使用Rosetta软件套件。在其它实施方案中,客户装置104a,104b,104c可以用作通用计算机,配置成实施一些任务且不需要专用于解决问题/使用Rosetta软件套件。在仍有其它实施方案中,可以将蛋白质设计系统102和/或蛋白质数据库108的部分或全部功能并入客户装置,诸如客户装置104a,104b,和/或104c。

[0368] 计算环境体系结构

[0369] 图23A是一种示例计算装置(例如系统)的块状图。特别是,图23A中显示的计算装置200可以配置成:包括一些或全部本文中描述方法和技术的成分和/或实施一些或全部本文中描述方法和技术的一种或多种功能,诸如但不限于方法300和作为Rosetta的一部分或涉及Rosetta描述的功能。计算装置200可以包括用户接口模块201,网络通讯接口模块202,一个或多个处理器203,数据存储器204,和蛋白质合成装置220,所有这些可以经由系统总线,网络,或其它连接机制205连接到一起。

[0370] 用户接口模块201可以是可操作的,用于向/自外部用户输入/输出装置发送数据和/或接收数据。例如,用户接口模块201可以配置成向和/或自用户输入装置,诸如键盘,小键盘,触摸屏,计算机鼠标,跟踪球,操纵杆,照相机,语音识别模块,和/或其它类似的装置发送和/或接收数据。用户接口模块201还可以配置成向现在知道的或以后开发的用户展示装置,诸如一个或多个阴极射线管(CRT),液晶显示器(LCD),发光二极管(LED),使用数字光处理(DLP)技术的显示器,打印机,灯泡,和/或其它类似的装置提供输出。用户接口模块201还可以配置成生成可听输出,诸如扬声器,扬声器插孔,音频输出端口,音频输出装置,耳机,和/或其它类似的装置。

[0371] 网络通讯接口模块202可以包括一个或多个无线接口207和/或一个或多个有线接口208,可配置成经由网络,诸如图22中显示的网络106通讯。无线接口207可以包括一个或多个无线发射器,接收器,和/或收发器,诸如蓝牙收发器,Zigbee收发器,Wi-Fi收发器,WiMAX收发器,和/或可配置成经由无线网络通讯的其它类似类型的无线收发器。有线接口208可以包括一个或多个有线发射器,接收器,和/或收发器,诸如以太网收发器,通用串行总线(USB)收发器,或可配置成经由双绞线,一根或多根线,同轴电缆,光纤连接,或类似的与有线网络的物理连接通讯的类似的收发器。

[0372] 在一些实施方案中,网络通讯接口模块202可以配置成提供可靠,安全,和/或认证

的通讯。对于本文中描述的每一种通讯,可以提供用于确保可靠通讯(即保证报文投递)的信息,可能作为报文头标和/或脚注(例如,包/报文排序信息,封装头标和/或脚注,大小/时间信息,和传输验证信息,诸如CRC和/或奇偶校验值)的一部分。通讯可以使用一种或多种加密协议和/或算法,诸如但不限于DES,AES,RSA,Diffie-Hellman,和/或DSA变成安全的(例如编码或加密)和/或解密/解码。可以使用其它加密协议和/或算法代替或补充本文中列出的那些以保证通讯安全(然后解密/解码)。

[0373] 处理器203可以包括一个或多个通用处理器和/或一个或多个专用处理器(例如数字信号处理器,专用集成电路,等)。处理器203可以配置成执行数据存储器204中包含的计算机可读程序指令206和/或本文中描述的其它指令。数据存储器204可以包括可以由处理器203中的至少一个读取和/或访问的一个或多个计算机可读存储介质。一个或多个计算机可读存储介质可以包括易失性和/或非易失性存储组件,诸如光学,磁性,有机或其它存储器或磁盘存储器,其可以与处理器203中的至少一个全部或部分集成。在一些实施方案中,数据存储器204可以使用单一物理装置(例如一个光学,磁性,有机或其它存储器或磁盘存储器单元)来实现,而在其它实施方案中,数据存储器204可以使用两个或更多个物理装置来实现。

[0374] 数据存储器204可以包括计算机可读程序指令206和可能的另外的数据。例如,在一些实施方案中,数据存储器204可以存储由蛋白质设计系统和/或蛋白质数据库,例如蛋白质设计系统102,蛋白质数据库108利用的部分或全部数据。在一些实施方案中,数据存储器204可以另外包括实施至少部分本文中描述的方法和技术和/或本文中描述的装置和网络的至少部分功能需要的存储器。

[0375] 在一些例子中,计算装置200包括蛋白质合成装置220。蛋白质合成装置可以使用由处理器203和/或数据存储器204提供的命令和/或数据基于提供给蛋白质合成装置220的输入数据合成(或生成)多肽。例如,可以由半自动化或自动化肽合成仪实施蛋白质合成装置220的部分或全部功能。

[0376] 图23B描绘依照一种示例实施方案作为云基服务器系统排列的计算集群209a, 209b, 209c的网络106。用于蛋白质设计系统102的数据和/或软件可以存储在存储云基应用和/或服务的程序逻辑和/或数据的一个或多个云基装置上。在一些例子中,蛋白质设计系统102可以是驻留在单一计算中心中的单一计算装置。在其它例子中,蛋白质设计系统102可以包括单一计算中心中的多个计算装置,或甚至位于多个计算中心(位于不同地理位置的)的多个计算装置。

[0377] 在一些例子中,用于蛋白质设计系统102的数据和/或软件可以作为存储在有形计算机可读介质(或计算机可读存储介质)中的计算机可读信息编码且由客户装置104a, 104b, 和104c, 和/或其它计算装置可访问。在一些例子中,用于蛋白质设计系统102的数据和/或软件可以存储在单一磁盘驱动器或其它有形存储介质上,或者可以在位于一个或多个不同地理位置的多个磁盘驱动器或其它有形存储介质上实施。

[0378] 图23B描绘依照一种示例实施方案的一种云基服务器系统。在图23B中,可以在三个计算集群209a, 209b, 和209c之间分配蛋白质设计系统102的功能。计算集群209a可以包括通过本地集群网络212a连接的一个或多个计算装置200a, 集群存储阵列210a, 和集群路由器211a。类似地,计算集群209b可以包括通过本地集群网络212b连接的一个或多个计算

装置200b,集群存储阵列210b,和集群路由器211b。同样地,计算集群209c可以包括通过本地集群网络212c连接的一个或多个计算装置200c,集群存储阵列210c,和集群路由器211c。

[0379] 在一些例子中,每个计算集群209a,209b,和209c可以具有相等数目的计算装置,相等数目的集群存储阵列,和相等数目的集群路由器。然而,在其它例子中,每个计算集群可以具有不同数目的计算装置,不同数目的集群存储阵列,和不同数目的集群路由器。每个计算集群中计算装置,集群存储阵列,和集群路由器的数目可以取决于指派给每个计算集群的一个或多个计算任务。

[0380] 例如,在计算集群209a中,计算装置200a可以配置成实施蛋白质设计系统102的各种计算任务。在一个例子中,可以在一个或多个计算装置200a,200b,和200c之间分配蛋白质设计系统102的各种功能。计算集群209b和209c中的计算装置200b和200c可以与计算集群209a中的计算装置200a类似的配置。另一方面,在一些例子中,计算装置200a,200b,和200c可以配置成实施不同的功能。

[0381] 在一些例子中,可以至少部分基于蛋白质设计系统102的处理要求,计算装置200a,200b,和200c的处理能力,每个计算集群中的计算装置之间和计算集群它们自身之间的网络连接的延迟,和/或可能影响总体系统体系结构的成本,速度,容错性,弹性,效率,和/或其它设计目标的其它因素在计算装置200a,200b,和200c之间分配与蛋白质设计系统102有关的计算任务和存储的数据。

[0382] 计算集群209a,209b,和209c的集群存储阵列210a,210b,和210c可以是数据存储阵列,其包括磁盘阵列控制器,配置成管理对硬盘驱动器组的读写访问。磁盘阵列控制器单独或与它们各自的计算装置结合还可以配置成管理集群存储阵列中存储的数据的备份或冗余拷贝以针对磁盘驱动器或其它集群存储阵列故障和/或阻止一个或多个计算装置访问一个或多个集群存储阵列的网络故障提供保护。

[0383] 与可以在计算集群209a,209b,和209c的计算装置200a,200b,和200c之间分配蛋白质设计系统102的功能的方式类似,可以在集群存储阵列210a,210b,和210c之间分配这些组件的各种活动部分和/或备份部分。例如,一些集群存储阵列可以配置成存储蛋白质设计系统102的数据和/或软件的一部分,而其它集群存储阵列可以存储蛋白质设计系统102的数据和/或软件的另一方面。另外,一些集群存储阵列可以配置成存储在其它集群存储阵列中存储的数据的备份版本。

[0384] 计算集群209a,209b,和209c中的集群路由器211a,211b,和211c可以包括联网设备,配置成为计算集群提供内部和外部通讯。例如,计算集群209a中的集群路由器211a可以包括一个或多个因特网交换和路由装置,配置成提供(i)经由本地集群网络212a的计算装置200a和集群存储阵列210a之间的局域网通讯,和(ii)经由到网络106的广域网连接213a的计算集群209a和计算集群209b和209c之间的广域网通讯。集群路由器211b和211c可以包括与集群路由器211a类似的网络设备,而且集群路由器211b和211c可以为计算集群209b和209c实施与集群路由器211a为计算集群209a实施的联网功能类似的联网功能。

[0385] 在一些例子中,集群路由器211a,211b,和211c的配置可以至少部分基于计算装置和集群存储阵列的数据通讯要求,集群路由器211a,211b,和211c中的网络设备的数据通讯能力,本地网络212a,212b,212c的延迟和通量,广域网连接213a,213b,和213c的延迟,通量,和成本,和/或可能影响调控(moderation)系统体系结构的成本,速率,容错率,弹性,效

率和/或其它设计目标的其它因素。

[0386] 示例操作方法

[0387] 图24是示例方法300的流程图。方法300可以通过计算装置进行,诸如至少图2A的语境中描述的计算装置200。至少上文讨论了下文提到的方法300的例子。

[0388] 方法300可以始于块310,其中计算装置可以使用计算装置确定蛋白质的多数残基的结构,其中多数残基的结构提供特定的受体结合界面。正如熟练从业人员会理解的,确定蛋白质的多数残基的结构(其中多数残基的结构提供特定的受体结合界面)典型地是鉴定天然蛋白质中结合特定受体结合界面的原始残基,而多数设计残基是鉴定能结合相同受体结合界面的残基。

[0389] 在块320处,计算装置可以使用模拟物设计方案确定多数设计残基,其中多数设计残基提供特定的受体结合界面,且其中多数设计残基不同于多数残基。

[0390] 在一些例子中,使用模拟物设计方案确定多数设计残基可以包括使用理想化残基的数据库确定理想化残基,其中理想化残基涉及多数设计残基的设计残基。在这些例子中的一些中,使用理想化残基的数据库确定理想化残基可以包括:自理想化残基的数据库检索涉及理想化残基的一个或多个理想化片段;和通过使用一个或多个理想化片段重建涉及的设计残基来确定理想化残基。在这些例子中的一些中,使用一个或多个理想化片段重建涉及的设计残基可以包括:通过使用成对的一个或多个理想化片段的组合片段装配;和使用Cartesian约束的主链最小化以确定成对的一个或多个理想化片段是否连接两个或更多个多数设计残基来重连接成对的一个或多个理想化片段。在这些例子中的一些中,使用一个或多个理想化片段重建涉及的设计残基可以包括:使用理想化残基的数据库验证理想化残基的交叠片段是理想化片段;验证理想化残基是否同与特定受体结合界面联合的靶受体不冲突;和在验证理想化残基同与特定受体结合界面联合的靶受体不冲突后,使用理想化残基的数据库确定理想化残基的每个位置处的最可能氨基酸。在这些例子中的一些中,通过在多数组合上装配一个或多个连接螺旋结构和多数设计残基确定蛋白质的第一蛋白质主链可以包括:通过组合式重组合成对的一个或多个理想化片段来重组合成对的一个或多个理想化片段;和使用重组合的成对的一个或多个理想化片段确定蛋白质的第一蛋白质主链。在这些例子中的一些中,组合式重组合成对的一个或多个理想化片段可以包括基于成对的一个或多个理想化片段的理想化片段之间的互联长度将成对的一个或多个理想化片段定级。

[0391] 在其它例子中,使用模拟物设计方案确定多数设计残基可以包括:使用代表多数设计残基的设计残基的形状的一个或多个参数方程确定理想化残基;和确定用多数设计残基的至少一个设计残基闭合理想化残基的单一片段。在这些例子中的一些中,设计残基可以包括螺旋结构,而且一个或多个参数方程可以包括涉及螺旋结构的 Φ 和 ϕ 角的方程。在这些例子中的一些中,涉及螺旋结构的 Φ 和 ϕ 角的方程可以包括涉及螺旋结构的 Φ 和 ϕ 角的角矩的一个或多个项。

[0392] 在块330处,计算装置可以确定连接多数设计残基的一个或多个连接螺旋结构。

[0393] 在块340处,计算装置可以通过在多数组合上装配一个或多个连接螺旋结构和多数设计残基而确定蛋白质的第一蛋白质主链。

[0394] 在块350处,计算装置可以基于第一蛋白质主链为了柔性和低能量结构设计蛋白

质的第二蛋白质主链。

[0395] 在块360处,计算装置可以生成涉及至少第二蛋白质主链的输出。在一些例子中,生成涉及蛋白质的第二蛋白质主链的输出可以包括基于蛋白质的第二蛋白质主链设计一种或多种分子。

[0396] 在其它例子中,生成涉及蛋白质的第二蛋白质主链的输出可以包括:生成基于蛋白质的第二蛋白质主链的蛋白质的合成基因;使用合成基因在体内表达特定蛋白质;和纯化特定蛋白质。在这些例子中的一些中,使用合成基因在体内表达特定蛋白质序列可以包括在包括合成基因的一个或多个大肠杆菌中表达特定蛋白质序列。

[0397] 在其它例子中,生成涉及蛋白质的第二蛋白质主链的输出可以包括生成包括蛋白质的第二蛋白质主链的至少部分的一个或多个图像。

[0398] 在其它例子中,计算装置可以包括蛋白质合成装置;然后,生成涉及至少蛋白质的第二蛋白质主链的输出可以包括使用蛋白质合成装置合成至少蛋白质的第二蛋白质主链。

[0399] 在一个实施方案中,该方法用于设计蛋白质模拟物,如本文中例示的。

[0400] 还包括的是通过本文中描述的计算方法制备的非天然发生蛋白质。非天然发生蛋白质可以是细胞因子,例如非天然发生IL-2或IL-4模拟物。

[0401] 本文中显示的细节仅仅是举例且用于本发明的实施方案的说明性讨论的目的且以提供认为是本发明的各个实施方案的原理和概念方面的最有用且容易理解的描述的原因呈现。在这点上,并不试图以比基本理解本发明必需更多的细节显示本发明的结构细节,说明书连同附图和/或实施例使得如何在实践中体现数种形式的本发明对于本领域技术人员而言是显而易见的。

[0402] 除非下面的实施例中有清楚和明确的修改或当意思的应用使得任何构建无意义或本质上无意义时,上文定义和解释意图和旨在任何将来的构建中为准。在术语的构建会使得它无意义或本质上无意义的情况中,定义应当取自第三版Webster's Dictionary或本领域技术人员知道的词典,诸如Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology (Ed.Anthony Smith,Oxford University Press,Oxford,2004)。

[0403] 上文的描述为彻底理解和充分描述本公开的实施方案提供具体细节。然而,本领域技术人员会理解可以在没有这些细节的情况下实施本公开。在其它情况中,没有详细显示或描述公知的结构和功能以避免不必要地蒙蔽本公开的实施方案的描述。本公开的实施方案的描述并非旨在是穷举性的或将本公开限制为所公开的精确形式。虽然本文中出于说明目的描述了本公开的具体实施方案和实施例,但是本公开的范围内可能有各种等同修改,正如相关领域技术人员会认识到的。

[0404] 通过援引收录本文中引用的所有参考文献。如果需要,可以修改本公开的各方面以采用上述参考文献的系统,功能和概念并应用以提供本公开的还有别的实施方案。可以根据详细描述对本公开进行这些和其它改变。

[0405] 可以组合任何前述实施方案的具体元件或替代其它实施方案中的元件。而且,虽然已经在这些实施方案的语境中描述了与本公开的某些实施方案有关的优点,但是其它实施方案也可能展现此类优点,而且并非所有实施方案都需要必然展现此类优点以落在本公开的范围内。

[0406] 上文的详细描述参照附图描述所公开的系统,装置,和方法的各种特征和功能。在

图中,相似的符号典型地标识相似的成分,除非上下文另有规定。详细描述,图,和权利要求书中描述的说明性实施方案并不意味着是限制性的。可以利用其它实施方案,而且可以进行其它变化而不偏离本文中呈现的主题的精神或范围。会容易理解的是如本文中一般性描述和图中图示的本公开的各方面可以以广泛不同配置排列,替代,组合,分离,和设计,本文中明确涵盖所有这些。

[0407] 关于图中的任何或全部梯形图,场景,和流程图和如本文中讨论的,每个块和/或通讯可以代表依照示例实施方案的信息处理和/或信息传输。备选实施方案包括在这些示例实施方案的范围内。在这些备选实施方案中,例如,描述为块,传输,通讯,请求,响应,和/或讯息的功能可以相对于显示或讨论的次序而言无序执行,包括实质性并行或逆序,取决于所涉及的功能。而且,可以与本文中讨论的任何梯形图,场景,和流程图一起使用或多或少的块和/或功能,而且这些梯形图,场景,和流程图可以部分或全部彼此组合。

[0408] 代表信息处理的块可以对应于可以配置成实施本文中描述的方法或技术的特定逻辑功能的电路。或者或另外,代表信息处理的块可以对应于程序代码(包括相关数据)的模块,区段,或部分。程序代码可以包括由处理器执行的一个或多个指令,用于执行该方法或技术中的特定逻辑功能或动作。程序代码和/或相关数据可以存储在任何类型的计算机可读介质上,诸如存储装置,包括磁盘或硬盘驱动器或其它存储介质。

[0409] 计算机可读介质还可以包括非暂时性计算机可读介质,诸如将数据存储短时间段的计算机可读介质,像寄存器式存储器,处理器高速缓存,和随机存取存储器(RAM)。计算机可读介质还可以包括将程序代码和/或数据存储较长时间段的非暂时性计算机可读介质,诸如二级或永久性长期存储器,像只读存储器(ROM),光盘或磁盘,例如压缩盘只读存储器(CD-ROM)。计算机可读介质还可以是任何其它易失性或非易失性存储系统。计算机可读介质可以认为是例如计算机可读存储介质或有形存储装置。而且,代表一个或多个信息传输的块可以对应于同一物理装置中的软件和/或硬件模块之间的信息传输。然而,其它信息传输可以是不同物理装置的软件模块和/或硬件模块之间的。

[0410] 根据上文的教导,本公开的众多修改和变化是可能的。

实施例

[0411] 描述了一种用于设计重演天然细胞因子的功能位点但在其它方面在拓扑学或氨基酸序列方面无关的从头细胞因子模拟物的计算办法。使用这种策略来设计结合IL-2受体 $\beta\gamma_c$ 异二聚体(IL-2R $\beta\gamma_c$)^{16,17}的IL-2和白介素-15(IL-15)¹⁵但没有IL-2R α 或IL-15R α 的结合位点的从头模拟物。设计是高度稳定的,以比天然细胞因子要高的亲和力结合人和小鼠IL-2R $\beta\gamma_c$,并不依赖于IL-2R α 和IL-15R α 而引发下游细胞信号传导。经过实验优化的模拟物Neoleukin-2/15的晶体结构非常接近设计模型并提供鼠IL-2R $\beta\gamma_c$ 复合物的第一结构信息。Neoleukin-2/15在黑素瘤和结肠癌的鼠模型中具有与IL-2相比高度有效的治疗活性,具有降低的毒性且没有免疫原性的迹象。这种用于建立高度稳定的从头模拟物的策略可以容易地应用于多种天然细胞因子和其它信号传导蛋白,从而能够创建具有增强的临床概况的卓越治疗候选物。

[0412] 由于天然蛋白质激素和细胞因子有力的生物学活性,因此已经付出广泛的努力经由蛋白质工程改善它们的潜在治疗功效。此类努力试图简化制造,延长半衰期,和调控受体

相互作用¹⁸⁻²⁰。然而,当以天然发生生物活性蛋白质开始时开发新的治疗剂有内在的挑战。首先,大多数天然蛋白质仅仅是边缘性稳定的²¹⁻²⁵,因而旨在提高功效的氨基酸替代可能降低表达或引起聚集,使得难以制造和存储。更加实质性的变化,诸如删除或融合功能或靶向域,常常不可行且能显著改变药动学特性和组织渗透¹⁹。其次,任何针对改造变体的免疫应答可能与内源分子交叉反应²⁶⁻³⁵,具有潜在的灾难性后果。开发了一种计算设计方法来生成天然蛋白质的类似物,其具有规避这些挑战的改善的治疗特性,将努力聚焦于改造展示对于治疗疾病最佳的受体结合界面的特定子集的从头细胞因子模拟物。

[0413] 许多细胞因子与多种不同受体亚基相互作用^{15,16,36-39},而且就像大多数天然发生蛋白质,含有非理想的结构特征,损害稳定性但对于功能是重要的。开发了一种计算方案,其中在空间中固定与期望的受体亚基相互作用的结构元件,并构建理想化球状蛋白质结构以支持这些元件。如下延伸先前的努力,即使用组合片段装配来支持线性短表位,无实体螺旋的参数构造偶联基于知识的环闭合(图1a-b)。通过尝试从头设计具有模拟人IL-2(hIL-2)和人IL-15(hIL-15)与人IL-2R $\beta\gamma_c$ (hIL-2R $\beta\gamma_c$)的相互作用表面但完全缺乏IL-2受体 α (IL-2R α)相互作用表面的相互作用表面的稳定的理想化蛋白质来测试该办法。通过突变^{9,44,45}(例如Super-2,也称作H9的F42A突变⁹)或PEG化(例如NKTR-214^{9,13})来去除hIL-2中的 α 相互作用区的先前努力导致细胞因子在hIL-2R $\beta\gamma_c$ 受体上的稳定性,结合和/或效力显著降低同时未能完全消除 α 相互作用。

[0414] 结合并活化IL-2R $\beta\gamma_c$ 的IL-2/IL-15模拟物的计算设计:天然hIL-2包含通过不规则长环连接的四个螺旋。N端螺旋(H1)与IL-2受体的 β 和 γ 亚基二者相互作用,第三螺旋(H3)与 β 亚基相互作用,而C端螺旋(H4)与 γ 亚基相互作用; α 亚基相互作用表面是由不规则的第二螺旋(H2)和两个长环形成的,一个连接H1与H2而另一个连接H3和H4。设计重演由H1,H3和H4形成的与 β 和 γ 的界面的理想化蛋白质,并用提供更好包装的规则螺旋替换H2。使用螺旋H1,H3和H4(见图1a)作为结合位点的模板,同时使用高度代表的聚簇片段的数据库重建螺旋H2(H2') (见方法)。用自相同数据库提取的环连接成对的螺旋(见图1b),将所得螺旋发夹组合入完全连接的主链中(见图1c),并在hIL-2R $\beta\gamma_c$ 存在下进行Rosetta⁴⁶⁻⁴⁸组合柔性主链序列设计计算(见方法)。选择前四种计算设计和八种单一二硫化物分级(stapled)变异(见表S1)用于通过酵母展示的实验表征(见方法)。发现八种设计以低纳摩尔浓度结合带荧光标签的 β - γ 嵌合IL-2受体。将最佳非二硫化物设计(G1_neo2_40)提交位点饱和诱变,继以选择和组合针对鼠IL-2R $\beta\gamma_c$ (mIL-2R $\beta\gamma_c$)的亲合力提高性替代(见图10)。在大肠杆菌中重组表达经过优化的设计,发现它们在体外以低纳摩尔或甚至皮摩尔浓度在IL-2响应性鼠细胞上引发pSTAT5信号传导(见表E1),但是具有相对较低的热稳定性($T_m \sim <45^\circ\text{C}$,见图14和15)。为了改善稳定性,重复计算设计方案,其始于最高亲合力第一轮设计的主链(G1_neo2_40_1F,拓扑学:H1->H4->H2'->H3),偶联环构建过程,螺旋长度有参数变化(+/-8个氨基酸,见图1a底部小图)。这第二种办法通过实现探索实质性更多的连接每对螺旋的环的组合改善了模型的质量。实验表征第二代的14种最佳设计,连同G1_neo2_40_1F的27种Rosetta序列再设计(见表S3),发现除了一种以外的所有设计以低纳摩尔浓度结合IL-2受体(图1d,表E1,和图16)。将三种最高亲合力和稳定性设计(一种序列再设计和两种新模拟物)提交针对mIL-2R $\beta\gamma_c$ 结合的位点饱和诱变(图11-13),继以选择和组合针对人和小鼠IL-2R $\beta\gamma_c$ 二者的亲合力提高性替代。成熟的设计(见表S4)显示增强的结合同时保留高度

稳定性(见表E1)。顶级设计,neoleukin-2/15(在本文中也称作Neo-2/15),是100个残基的一种蛋白质,具有与人或鼠IL-2相当不同的新的拓扑学和序列(在结构拓扑学-不可知论基比对中,在89个残基上与hIL-2的29%序列同一性,和在76个比对残基上与mIL-2的16%序列同一性,见表E1)。

[0415] Neoleukin-2/15的功能表征:Neoleukin-2/15以高亲和力结合人和小鼠IL-2R β γ_c (Kd分别为 ~ 38 nM和 ~ 19 nM),但不与IL-2R α 相互作用(图2a)。Neoleukin-2/15对人和小鼠IL-2受体(IL-2R β 和IL-2R β γ_c)的亲和力显著高于相应的天然IL-2细胞因子的亲和力。与天然IL-2形成对比,Neoleukin-2/15在人和鼠IL-2响应性细胞二者中(图2b,顶部),和在鼠原代T细胞中(图2b,底部)引发IL-2R α 不依赖性信号传导。Neoleukin-2/15比天然人或鼠IL-2更加有力地激活IL-2R α -细胞,与它更高的结合亲和力一致。在原代细胞中,Neoleukin-2/15与Super-2相比对IL-2R α -细胞活性较高且对IL-2R α +活性较低,大概是由于它完全缺乏IL-2R α 结合。Neoleukin-2/15是高度稳定的(见图17)且在于80℃温育2小时后不丧失针对hIL-2R β γ_c 的结合亲和力,而hIL-2和Super-2在10分钟后完全灭活(半灭活时间分别为 ~ 4.2 分钟和 ~ 2.6 分钟,图2c)。类似地,在离体原代细胞培养物中,Neoleukin-2/15在于95℃煮沸60分钟后有效驱动T细胞存活,而这些条件灭活IL-2和Super-2二者(图2c,底部)。对许多其它设计模拟物进行了热变性研究,同样证明了它们的热稳定性(见图14-16)。除了消除对冷链存储的要求以外,细胞因子样分子的这种空前稳定性提示对突变(见图13和18-19),遗传融合和化学修饰的强健性,大大超过天然IL-2,这可能有助于开发改善的或新的治疗特性(见图7)。

[0416] 单体Neoleukin-2/15和与mIL-2R β γ_c 的三元复合物的结构:测定了Neoleukin-2/15的X射线晶体结构,发现它非常接近计算设计模型(不对称单元中的6个拷贝的r.m.s.d._{Ca} = 1.1-1.3 Å,图3a)。解析了与鼠IL-2R β γ_c 的三元复合物中的Neoleukin-2/15的晶体结构(图3b,表E2);这可能是从头设计蛋白质能够实现先前未解析的天然受体复合物的结构测定的第一个例子。Neoleukin-2/15设计模型和晶体结构分别以1.27和1.29 Å的r.m.s.d._{Ca}对齐小鼠三元复合物结构(图3c)。Neoleukin-2/15中螺旋的次序(以IL-2编号)是H1- $\rightarrow$ H3- $\rightarrow$ H2'- $\rightarrow$ H4(见图1a和3a,d)。H1-H3环在三元复合物中是乱序的,但是螺旋H3与预测结构密切一致;螺旋H4和H2'-H4环与单体结构相比还有向外移动(图3c)。Neoleukin-2/15经由螺旋H1和H3与mIL-2R β 相互作用,并经由H1和H4螺旋与 γ_c 相互作用(图3c),而且这些区域与计算设计模型(图3a)和单体晶体结构(图3c)二者密切对齐。与hIL-2受体复合物的先前报告的晶体结构⁴⁹的结构比对揭示结合位点中Neoleukin-2/15和hIL-2的螺旋主链之间的密切一致,尽管两种蛋白质的拓扑学不同(图3d-e)。Neoleukin-2/15和mIL-2R β γ_c 之间的一些侧链相互作用存在于hIL-2-hIL-2R β γ 复合物中,而其它(诸如L19Y)是在计算设计过程期间出现的。

[0417] Neoleukin-2/15的治疗应用:IL-2的临床使用主要受到毒性限制⁵⁰⁻⁵²。虽然尚未完全了解负责人中IL-2毒性的相互作用,但是在鼠模型中毒性是T细胞不依赖性的且在IL-2R α 链(CD25+)缺陷动物中改善。如此,许多努力针对再改造IL-2以减弱与IL-2R α 的相互作用,但是CD25结合位点中的突变可能是高度去稳定化的⁶。IL-2的内在低稳定性和它对CD25的紧密进化依赖性一直是再改造的IL-2化合物翻译的障碍。其它努力聚焦于IL-15^{53,54},因为它通过二聚化IL-2R β γ_c 引发与IL-2相似的信号传导但没有对CD25的亲和力。然而,IL-15

依赖于主要在抗原呈递细胞和天然杀伤细胞上展示的IL-15 α (CD215) 受体的反式呈递。天然IL-15的低稳定性和它对反式呈递的依赖性也成为再改造努力的实质性障碍⁵³⁻⁵⁵。

[0418] 在幼稚小鼠上的剂量放大研究显示mIL-2优先扩充调节T细胞,与优先结合CD25⁺细胞一致^{41,56,57},而Neoleukin-2/15主要驱动CD8⁺T细胞扩充(图4a)且不诱导或仅在测试的最高剂量最低限度诱导调节T细胞扩充。类似地,在通常诱导小百分比的组织驻留CD8⁺T细胞的气道炎症的一种鼠模型中,Neoleukin-2/15产生Thy1.2⁻CD44⁺CD8⁺T细胞的增多而不增加淋巴样器官中的CD4⁺Foxp3⁺抗原特异性Treg(图4b)。

[0419] 从头蛋白质设计容许规避天然细胞因子的结构限制,但是有可能引发抗药物抗体。为了测试Neoleukin-2/15是否引发抗药物应答,在2周时段上每天用Neoleukin-2/15处理荷瘤小鼠,而且在任何处理的动物中没有观察到抗药物抗体的证据(图4c,左边小图;对其它从头设计治疗候选物观察到相似的免疫应答缺乏⁴¹)。通过在完全弗氏佐剂中对小鼠疫苗接种无活性Neoleukin-2/15突变体(K.O.neoleukin)生成了针对Neoleukin-2/15的多克隆抗体。这些多克隆抗Neoleukin-2/15抗体并不与人或小鼠IL-2交叉反应(图4c)。对天然IL-2的结合的缺失提示即使有针对Neoleukin-2/15的免疫应答,这种应答也不太可能与内源IL-2交叉反应。而且,由于Neoleukin-2/15和hIL-2之间的序列同一性较低(<30%,见表E1),因此与内源IL-2相差仅仅少数突变的先前的再改造的hIL-2变体(例如Super-2,见表E1)的针对宿主IL-2的自身免疫应答的可能性高得多。

[0420] 在免疫原性较差的B16F10黑素瘤和免疫原性较高的CT26结肠癌小鼠模型中测试Neoleukin-2/15的治疗功效。Neoleukin-2/15的单一药剂处理在这两种癌症模型中均导致肿瘤生长的剂量依赖性延迟。在CT26结肠癌中,单一药剂处理显示与对重组mIL-2观察到的相比改善的功效(图4d和图5)。在B16F10黑素瘤中,抗黑素瘤抗体TA99(抗TRP1)的共处理导致显著的肿瘤生长延迟,而单独的TA99处理具有很小的效果(图4e和图6)。在长期存活实验(8周)中,Neoleukin-2/15与TA99组合显示与mIL-2相比实质性降低的毒性和总体卓越的治疗效果(图4e)。用mIL-2和TA99的组合处理的小鼠稳定损失重量,而且它们的总体健康下降至需要安乐死的点,而对Neoleukin-2/15和TA99的组合观察到很少的下降(图4e)。与治疗益处一致,Neoleukin-2/15处理导致肿瘤内CD8:T_{reg}比的显著升高(见图4f和图5),先前将这有效的抗肿瘤免疫应答关联起来⁵⁸。Neoleukin-2/15的CD8:T_{reg}比的升高是剂量和抗原依赖性的(图4f);在较高剂量和与其它免疫疗法组合获得最佳治疗效果(见图6)。总之,这些数据显示Neoleukin-2/15展现自它的IL-2样免疫强化剂活性衍生的预测稳态益处,但是没有与CD25⁺优先结合有关的不利效果。这些增强的特性和低的毒性可能容许将Neoleukin-2/15例行用于其中没有广泛使用重组IL-2的其它免疫疗法。作为此类用途的一个例子,调查Neoleukin-2/15增强CAR-T细胞疗法的潜在应用(见图8)。将接种0.5x10⁶个RAJI肿瘤细胞的NSG小鼠不予处理,用0.8x10⁶个抗CD19 CAR-T细胞处理(在接种肿瘤细胞后7天输注),或在肿瘤接种后第8-14天用抗CD19 CAR-T细胞加20 μ g/天人IL-2或Neoleukin-2/15任一类似处理。正如预期的,Neoleukin-2/15在这种模型中显著增强CAR-T细胞疗法的抗肿瘤效果,减缓肿瘤的生长并延长小鼠的存活(数据未显示)。

[0421] 从头设计蛋白质模拟物有转化蛋白质基疗法领域的潜力,从而能够开发具有增强的治疗特性和降低的副作用的生物卓越分子,不仅是细胞因子,还有实际上具有已知的或可精确预测的结构任何生物学活性分子。由于当前传统工程化办法(例如1-3处氨基酸替

代,单一位点处的化学修饰)的增量性质,亲本分子的大多数缺点不可避免地传递给所得改造的变体,常常是加剧的形式。通过从头构建模拟物,能完全避免这些缺点:与重组IL-2和hIL-2的改造变体不同,Neoleukin-2/15能在大肠杆菌中可溶性表达(见图17),在较高温度保留活性,不与IL-2R α 相互作用且对容许改造新功能的实质性序列变化是强健的(图7)。可能是由于从头设计蛋白质尺寸小且稳定性高,免疫原性看来较低,而且与hIL-2的增量变体形成对比,针对模拟物的任何抗体应答不太可能与天然亲本细胞因子交叉反应。由于它们较高的稳定性和强健性,和它们经过剪裁的相互作用表面,设计模拟物很可能在组合不同蛋白质功能性的下一代治疗剂中特别强大,例如靶向型式的Neoleukin-2/15。

[0422] Neoleukin-2/15的强健模块性。二硫化物肘钉和再改造成IL-4模拟物:Neoleukin-2/15是高度模块化的,容许容易地调制它的特性,诸如提高它的稳定性或修饰它的结合偏好。通过计算设计,通过引入保留Neoleukin-2/15的功能的稳定性增强性单一二硫化物肘钉利用这种模块性和强健性⁵⁹。为此,使用两种正交策略。第一种,通过搜索具有有利的几何排列的成对的位置,继以柔性主链最小化来进入二硫桥。最终的设计引入残基38和75之间的单一二硫化物,其稳定化螺旋H3和H2。在第二种办法中,对Neoleukin-2/15的N和C端再建模以容许引入涵盖整个蛋白质的单一二硫化物肘钉(去除末端P和S残基后分别对N和C端添加的序列CNSN(SEQ ID NO:260)和NFQC(SEQ ID NO:261),见图18)。这两种二硫化物肘钉策略均提高Neoleukin-2/15的稳定性($T_m > 95^\circ\text{C}$),同时保留它的序列和功能大部分不受影响(见图18)。使用Neoleukin-2/15的模块性特性来修饰它的结合偏好。白介素-2家族中的所有细胞因子与 γ_c 相互作用且分享共同的构造。因此,假设通过仅仅改变与IL-2R β 相互作用的结合位点一半(螺旋H1和H3)中的氨基酸能将Neoleukin-2/15转化成IL-2家族的另一种细胞因子模拟物。作为概念的证据,选择人白介素-4(hIL-4)作为靶物,因为它与IL-2分享广泛结构同源性和具有再生医学中的潜在应用^{60,61}。如下修饰Neo-2/15以结合人IL-4受体(包含IL-4R α 和 γ_c)且不结合人IL-2受体(包含IL-2R β 和 γ_c),即通过比对Neo-2/15模型与结合至它的IL-4受体的人IL-4的结构,并突变Neo-2/15中的14个残基以匹配IL-4中在那些结构位置处介导IL-4和IL4R之间相互作用的氨基酸(图7)。通过定向进化进一步优化结合,即使用随机诱变和筛选高结合亲和力变体,这引入另外两处氨基酸替代和修饰自IL-4蛋白移植的14个原始残基之一,由此创建新的蛋白质Neoleukin-4,其相对于Neoleukin-2/15具有总共16处突变。所得优化设计,neoleukin-4(见表S5),在大肠杆菌中重组表达,纯化,并测试结合。Neoleukin-4以高亲和力结合IL-4R α 受体,合作结合IL-4R α γ_c (见图7),而且不以任何亲和力结合IL-2受体(数据未显示)。Neoleukin-4保留Neoleukin-2/15的卓越热稳定特性(见图20b,c),而且结合IL-13受体,正如鉴于IL-4与IL-13受体的天然交叉反应性而预期的(数据未显示)。总之,这显示了Neoleukin-2/15足够强健以作为模块支架起作用,其中可以以高度可预测的方式引入显著的合理序列变化以修饰它的功能或物理特性。

[0423] 方法

[0424] 从头细胞因子模拟物的计算设计:从头细胞因子模拟物的设计始于定义与IL-2R β γ_c 受体的四元复合物中的hIL-2的结构作为设计的模板。检查后,使用Rosetta的元数据(PDBInfoLabels)将构成结合位点的残基定义为热点。将结构输入新模拟物设计方案,其在PyRosetta中编程,且能自动检测构成靶物-模板的核心-二级结构元件并生成具有完整

RosettaScripts兼容信息的所得从头模拟主链供设计用。简言之,模拟物构建算法如下工作。对于第一代设计,通过使用来自高度理想片段(片段大小4个氨基酸)的一个聚簇数据库的环的重构建将每个核心-元件理想化。理想化后,模拟物构建方案旨在以所有可能组合成对重连接理想化元件。为了这样做,它使用来自数据库的序列-不可知论片段的组合片段装配,继以Cartesian约束主链最小化以获得潜在解决方案(即其中构建片段的N和C末端足够接近以连接两个二级结构)。最小化后,验证解决方案含有高度理想片段(即构成两个连接元件的每一个交叠片段也包含在数据库内)且主链与靶物(上下文)受体没有冲突。然后使用相同的片段数据库对通过的主链解决方案进行概况分析以确定每个位置处的最可能氨基酸(此信息在设计上的元数据中编码)。接着,通过使用图论连接组件组合重组成对连接二级结构的解决方案以生成完全连接主链。由于解决方案的数目随每对元件指数式增长,在每个片段组合步骤,我们对设计排序,偏爱那些具有成对核心元件之间的较短互连的,并仅仅保留顶级解决方案前行至下一步。然后按照层(界面,核心,非核心-表面,表面)对完全连接解决方案进行概况分析以约束可能的氨基酸的身份是层兼容的。最后,组合热点,兼容构建-片段氨基酸和层上的所有信息(热点优先于氨基酸概率,而氨基酸概率优先于层)。然后将这些完整概况分析主链传递至RosettaScripts供柔性主链设计和过滤用(见附件A中的rosetta-script)。对于第二代设计,遵循两种办法。在第一种办法中,执行最佳第一代优化设计的序列再设计(G1_neo2_40_1F,见附件B)。在第二种办法中使用G1_neo2_40_1F作为靶物模板改造新的模拟物。这第二代中的模拟物设计方案与关于第一代描述的相似,但是有两处关键差异。首先,不再自片段构建核心-片段,而是改为通过发现导致尽可能接近地重演每个目标螺旋的重复二级结构的重复 Φ 和 Ψ 角(ω 固定为 180°)的参数方程,每个X-氨基酸容许 Φ 和 Ψ 角上的“螺距”以容许螺旋有可能具有曲率(最终的参数:H1:,H2:,H3,H4),这些参数方程的使用容许随意改变目标结构中每个核心-元件的尺寸(或是增大或是缩小尺寸),这偶联(最大/最小8.a.a.)环构建过程,而且不容许核心元件的尺寸缩小以自结合位点去除热点。第二代设计中的第二处差异是代替重连接二级结构核心-元件,我们使用7个氨基酸的片段尺寸,而且不容许超过一个片段的组合装配(即,单一片段必须能够闭合一对二级结构)。设计算法的其余部分本质上与第一代中遵循的相似(见附件C)。第一代和第二代设计中使用的Rosetta能量函数分别是“talaris2013”和“talaris2014”。

[0425] 用于为从头模拟物设计主链的高度理想片段的数据库是用新的Rosetta应用“kcenters_clustering_of_fragments”使用来自RCSB蛋白质数据库的非冗余公众可得蛋白质结构的一个广泛数据库构建的,用于第一代设计的4聚物数据库包含16767条PDB,而用于第二代设计的7聚物数据库包含7062条PDB。

[0426] 酵母展示:与线性化pETcon3载体一起用编码要展示的蛋白质的基因转化酵母。通过NdeI和XhoI(New England Biolabs)的100倍过度消化来线性化载体,然后通过凝胶提取(Qiagen)来纯化。基因在5'和3'端均包括50碱基的与载体的交叠,使得同源重组会将基因同框置于载体上的AGA2基因和myc标签之间。酵母在C-Trp-Ura培养基中生长,之后在SGCAA培养基中诱导,如先前描述的。诱导后12-18小时,在冷却的展示缓冲液(50mM NaPO_4 pH 8, 20mM NaCl, 0.5%BSA)中清洗细胞并与不同浓度的生物素化受体(人或鼠IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ , 或人IL-4R α)一起在摇动中于4℃温育。大约30分钟后,再次在冷却的缓冲液中清洗细胞,然后与FITC缀合的抗c-Myc抗体(1 μL 每 3×10^6 个细胞)和链霉亲和素-藻红蛋白(1 μL

每100 μ L体积的酵母)一起在冰上温育5分钟。然后清洗酵母并通过流式细胞术(Accuri C6)计数或通过FACS(Sony SH800)分选。对于其中与生物素化IL-2R γ 和非生物素化IL-4R α 的组合一起进行初始受体温育的实验,以摩尔过量提供非生物素化受体。

[0427] 诱变和亲和力成熟:对于基于易错PCR的诱变,使用MutaGene II诱变试剂盒(Invitrogen)遵照制造商的说明书将要突变的设计克隆入pETcon3载体并扩增以产生大约1%每个核苷酸的突变频率。与1 μ g线性化pETcon3载体一起将1 μ g此突变基因电穿孔入EBY100酵母,转化效率的数量级为 10^8 。将酵母诱导和分选连续多次,受体浓度逐渐降低,直至群体趋同。在每次分选之间酵母在C-Trp-Ura培养基中再生长。

[0428] 自来自Genscript的合成DNA构建位点饱和诱变(SSM)文库。对于每种设计模板上的每个氨基酸,设计正向引物和反向引物,使得PCR扩增会分别产生具有简并NNK密码子的5' PCR产物和3' PCR产物。由COF和COR引物扩增“左边”和“右边”产物产生一系列模板产物,每种由一个不同残基位置处的简并NNK密码子组成。对于每种设计,合并这些产物以产生SSM文库。使用先前由Benatuil等人描述的方案连同线性化pETcON3载体通过电穿孔入条件化酿酒酵母株EBY100细胞来转化SSM文库。

[0429] 自来自Genscript的含有分歧核苷酸的合成DNA构建组合文库并类似地转化入线性化pETcON3载体。

[0430] 蛋白质表达:合成编码设计蛋白质序列的基因并克隆入pET-28b(+)大肠杆菌质粒表达载体(GenScript,N端6xHis标签和凝血酶切割位点)。然后将质粒转化入化学感受态大肠杆菌Lemo21细胞(NEB)。使用Terrific培养基和M盐实施蛋白质表达,培养物于37 $^{\circ}$ C生长直至OD 600 达到大约0.8,然后用1mM异丙基 β -D-硫代半乳糖吡喃糖苷(IPTG)诱导表达,并将温度降低至18 $^{\circ}$ C。表达大约18小时后,收获细胞并用Microfluidics M110P微流化仪以18,000psi裂解,然后通过以24,000g离心20分钟来澄清可溶性级分。通过固定化金属亲和层析(Qiagen),继以FPLC大小排阻层析(Superdex 75 10/300GL,GE Healthcare)来纯化可溶性级分。通过质谱(MS)(验证溶液中的种类的分子量(Thermo Scientific)),大小排阻-多角度激光散射(SEC-MALLS)(验证单体状态和分子量(Agilent,Wyatt)),SDS-PAGE,和内毒素水平(Charles River)表征纯化的Neoleukin-2/15。

[0431] 如先前描述的^{17,49},使用杆状病毒表达系统分泌并纯化人和小鼠IL-2复合物成分包括hIL-2(a.a.1-133),hIL-2R α (a.a.1-217),hIL-2R β (a.a.1-214)hIL-2R γ (a.a.1-232),mIL-2(a.a.1-149),mIL-2R α 外域(a.a.1-213),mIL-2R β 外域(a.a.1-215),和m γ_c 外域(a.a.1-233)。用在HBS中平衡的Superdex 200大小柱(GE Healthcare)将所有蛋白质纯化至>98%同质。通过SDS-PAGE分析来验证纯度。对于生物素化人IL-2和小鼠IL-2受体亚基的表达,表达含有C端生物素受体肽(BAP)-LNDIFEAQKIEWHE(SEQ ID NO:262)的蛋白质并如描述的经由Ni-NTA亲和层析纯化,然后在0.5mM Bicine pH 8.3,100mM ATP,100mM乙酸镁,和500mM生物素(Sigma)中用可溶性BirA连接酶生物素化。在HBS中平衡的Superdex 200柱上通过大小排阻层析去除过量的生物素。

[0432] Neoleukin-2晶体和共晶体结构:如先前描述的使用杆状病毒系统在Hi-five细胞中分开表达带C端6xHis标签的内切糖苷酶H(endoH)和鼠IL-2R β 和IL-2R γ 。IL-2R γ 在5 μ M几夫碱存在下生长。大约72小时后,自培养液纯化分泌的蛋白质,即通过Ni-NTA琼脂糖柱并用HBS缓冲液(150mM NaCl,10mM HEPES pH 7.3)中的200mM咪唑洗脱。通过透析将EndoH交

换入HBS缓冲液。通过与1:75 (w/w) endoH一起温育过夜将mIL-2R γ 去糖基化。使用S200柱 (GE Life Sciences) 通过FPLC进一步纯化mIL-2R β 和mIL-2R γ 并交换缓冲液。

[0433] 将单体Neoleukin-2/15浓缩至12mg/ml,通过蒸气扩散自2.4M丙二酸钠pH 7.0结晶,收获晶体并在没有进一步冷冻保护的情况下闪冻。晶体在斯坦福同步辐射实验室光束线12-2衍射至2.0 Å分辨率并使用XDS (Kabsch, 2010) 编索引和积分。用Pointless (Evans, 2006) 指派空间群,并用来自CCP4套件 (Winn et al., 2013) 的Aimless (Evans和Murshudov, 2013) 实施定标 (scaling)。在Phaser (McCoy et al., 2007) 中使用我们的预测模型作为搜索集合通过分子置换来解析结构,六个原聚体位于不对称单元中。用Autobuild (Terwilliger et al., 2008) 进行初始重建后,使用Coot (Emsley et al., 2010) 和Phenix (Adams et al., 2010) 实施手动重建和细化的迭代循环。

[0434] 为了使三元Neoleukin:mIL-2R β :mIL-2R γ 复合物结晶,以等摩尔比组合三种蛋白质,用1:100 (w/w) 羧肽酶A和B消化过夜以去除纯化标签,并使用S200柱通过FPLC来纯化;合并含有所有三种蛋白质的级分并浓缩至20mg/ml。通过蒸气扩散自0.1M咪唑pH 8.0, 1M柠檬酸钠形成初始针样微晶体并用于制备微种子储液,供随后微种子基质筛选 (MMS, (D'Arcy et al., 2014)) 中使用。MMS的一次迭代后,用30%乙二醇对在相同沉淀中生长的晶体进行冷冻保护,收获并在高级光子源光束线23ID-B各向异性衍射至3.4 Å x 3.8 Å x 4.1 Å分辨率。在Phaser中通过分子置换解析结构,使用人IL-2R β 和IL-2R γ 结构 (pdb ID 2B5I) 作为搜索集合。这产生电子密度图,其中可以手动构建两个聚丙氨酸 α 螺旋。Phenix中的刚性体细化后,这两个未建模 α 螺旋,连同BC环和一些芳香族侧链的电子密度变得可见,容许单体Neoleukin入坞。MMS的两次进一步迭代和叠加筛选 (Hampton Research) 的使用生成通过蒸气扩散使用150nl蛋白质,125nl含有0.1M Tris pH 7.5, 5%硫酸右旋糖酐, 2.1M硫酸铵和25nl微种子储液 (含有1.3M硫酸铵, 50mM Tris pH 7.5, 50mM咪唑pH 8.0, 300mM柠檬酸钠) 的孔溶液生长的晶体。将用3M丙二酸钠冷冻保护的晶体闪冻并在高级光源光束线5.0.1各向异性衍射至2.5 Å x 3.7 Å x 3.8 Å。用XDS加工数据后,使用该STARANISO服务器 (Bruhn et al., 2017) 应用椭圆分辨率限制。如下获得模型的快速收敛,即在Buster (Smart et al., 2012; Bricogne et al., 2016) 中对更高分辨率人受体 (PDB id 2B5I) 和Neoleukin-2/15结构使用TLS和目标约束的针对这些反射的细化,有Coot中的手动重建,继以Phenix中没有目标约束的最后一轮细化。用PyMol (Schrodinger, LLC. 2010. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.1.0) 制备结构图。这个项目中使用的软件是由SBGrid (Morin et al., 2013) 安装和配置的。

[0435] 细胞系:在RPMI完全培养基 (补充有10%胎牛血清, 2mM L-谷氨酰胺, 极限非必需氨基酸, 丙酮酸钠, 25mM HEPES, 和青霉素-链霉素的RPMI 1640培养基 [Gibco]) 中培养未修饰的YT-1⁶⁴和IL-2R α ⁺YT-1人天然杀伤细胞⁶⁵。在有含ConA的10%T-STIM培养物补充物的RPMI完全 (Corning) 中培养购自ATCC的CTLL-2细胞。在含5%CO₂的增湿气氛中于37°C维持所有细胞。如先前描述的¹⁷经由磁选择纯化表达IL-2R α 的YT-1细胞的子群体。在Accuri C6流式细胞仪 (BD Biosciences) 上通过PE缀合的抗人IL-2R α (Biolegend) 抗体结合的分析来监测IL-2R α 表达的富集和持久性。

[0436] 圆二色性 (CD): 以~0.20mg/ml的蛋白质浓度在1mm径长比色杯中在PBS缓冲液 (pH7.4) 中用AVIV光谱仪420型进行远紫外CD测量 (除非文中另有提到)。温度解链为自25至

95℃并监测222nm处的吸收信号(2℃/min的步长,逐步平衡30s)。于25℃和95℃收集波长扫描(195-260nm),并在快速重折叠(~5分钟)后再次于25℃收集。

[0437] 结合研究:表面等离子共振(SPR):对于IL-2受体亲和力滴定研究,将生物素化人或小鼠IL-2R α , IL-2R β , 和IL-2R γ 受体固定化至链霉亲和素包被的芯片,供Biacore T100仪器(GE Healthcare)上的分析用。在参照通道中固定化无关生物素化蛋白质以减去非特异性结合。固定化小于100个响应单位(RU)的每种配体以最小化质量传递效应。使hIL-2, mIL-2, Super-2, 或工程化IL-2模拟物的三倍连续稀释流过固定化配体达60秒,并测量解离达240秒。对于IL-2R β γ 结合研究,分别将饱和浓度的hIL-2R β (3 μ M) 或mIL-2R β (5 μ M)添加至所示浓度的hIL-2或mIL-2。对于所有相互作用使用15秒暴露于含1M MgCl₂的10mM乙酸钠pH 5.5进行表面再生。于25℃在补充有0.2%牛血清清蛋白(BSA)的HBS-P+缓冲液(GE Healthcare)中进行SPR实验并以50L/min的流速实施所有结合研究以防止分析物再结合。使用Biacore T100评估软件2.0版(GE Healthcare)显现和加工数据。使用GraphPad Prism执行平衡滴定曲线拟合和平衡结合解离(KD)值测定,假设所有结合相互作用是一级的。生物层干涉术:在Octet RED96(ForteBio, Menlo Park, CA)中收集结合数据并使用仪器的集成软件使用1:1结合模型进行加工。在结合缓冲液(10mM HEPES[pH 7.4], 150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05%表面活性剂P20, 0.5%脱脂奶粉)中以1 μ g/ml将生物素化靶受体(人或鼠IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ , 或人IL-4R α)官能化至链霉亲和素包被的生物传感器(SA ForteBio)达300秒。将分析物蛋白质自浓缩的储液稀释入结合缓冲液。单独的结合缓冲液中的基线测量后,通过将生物传感器浸入含有100nM设计蛋白质的孔(结合),然后将传感器浸回基线孔(解离)来监测结合动力学。对于其中在溶液中补充IL-2R β 或IL-4R α 同时将IL-2R γ 结合至传感器的结合实验,以2.5倍摩尔过量提供补充的蛋白质。

[0438] STAT5磷酸化研究:体外研究:在96孔板的每个孔中分配大约2x10⁵个YT-1, IL-2R α ⁺YT-1, 或CTLL-2细胞并在含有hIL-2, mIL-2, Super-2, 或工程化IL-2模拟物的连续稀释液的RPMI完全培养基中重悬浮。将细胞于37℃刺激15分钟并立即通过添加甲醛至1.5%和于室温温育10分钟来固定。通过于4℃在冰冷的100%甲醇中重悬浮30分钟来实现细胞的透化。将固定和透化的细胞用FACS缓冲液(含有0.1%牛血清清蛋白的磷酸盐缓冲盐水[PBS]pH 7.2)清洗两次并与在FACS缓冲液中稀释的Alexa Fluor® 647缀合的抗STAT5 pY694(BD Biosciences)一起于室温温育2小时。然后将细胞在FACS缓冲液中清洗两次并在CytoFLEX流式细胞仪(Beckman-Coulter)上测定MFI。减去未刺激的细胞的均值荧光强度(MFI)并针对最大信号强度标准化后,将剂量-应答曲线拟合至对数模型并使用GraphPad Prism数据分析软件计算半最大有效浓度(EC₅₀值)。一式三份进行实验并实施三次,结果相似。离体研究:自购自The Jackson Laboratory的野生型C57BL/6J或B6;129S4-I12ra^{tm1Dw}(CD25K0)小鼠收获脾和淋巴结并在分选缓冲液(含2%胎牛血清的pH 7.2磷酸盐缓冲盐水)中制成单细胞悬浮液。通过在冰上以1:100用生物素缀合的抗B220, CD8, NK1.1, CD11b, CD11c, Ter119, 和CD19抗体将细胞悬浮液染色30分钟经由负选择富集CD4⁺ T细胞。用分选缓冲液清洗后,以20 μ L每10⁷个总细胞将抗生物素微珠(Miltenyi Biotec)添加至细胞悬浮液并在冰上温育20分钟。清洗细胞,重悬浮,然后使用EasySep Magnets(STEMCELL Technologies)实施负选择。与mIL-2, Super-2, 或Neoleukin-2/15的10倍连续稀释液一起在有5%FCS的RPMI完全培养基中将大约1x10⁵个富集的细胞添加至96孔板的每个孔。将细胞于37℃在5%CO₂中刺激

20分钟,用4%PFA固定并于4℃温育30分钟。固定后,收获细胞,用分选缓冲液清洗两次,并再次在冰上在500μL含90%冰冷的甲醇的dH₂O中固定30分钟进行透化。将细胞用透化/清洗缓冲液(BD Biosciences)清洗两次并用含抗CD4-PerCP的透化/清洗缓冲液(1:300),抗CD44-Alexa Fluor 700(1:200),抗CD25-PE-Cy7(1:200),和5μL每份样品的抗pSTAT5-PE pY694在黑暗中于室温染色45分钟。用透化/清洗缓冲液清洗细胞并在分选缓冲液中重悬浮,供BD LSR II流式细胞仪(BD Biosciences)上的分析用。

[0439] 体内鼠气道炎症实验:C57BL/6J购自The Jackson Laboratory。对小鼠鼻内接种20μL在PBS中重悬浮全屋尘螨抗原(Greer),总共23μg Derp1每只小鼠。第1-7天,对小鼠给予每天腹膜内注射无菌PBS(pH 7.2)中的20μg mIL-2,无菌PBS中的摩尔当量的Neoleukin-2/15,或无注射。在第8天,如先前描述的(Hondowicz, Immunity, 2016)血管内标记循环T细胞并自淋巴结和脾或肺富集四聚体阳性细胞。保留柱流过和结合级分二者供流式细胞术分析用。用抗体对细胞进行表面染色并在BD LSR II流式细胞仪(BD Biosciences)上进行分析。动物模型:C57BL/6小鼠购自The Jackson Laboratory或自行繁殖。BALB/c小鼠购自Charles River。依照Dana-Farber癌症研究所(DFCI)科研动物护理和使用委员会, Direção Geral de Veterinária和iMM Lisboa伦理委员会批准的方案维持动物。

[0440] 结肠直肠癌体内小鼠实验:CT26细胞源自葡萄牙IGC(Instituto Gulbenkian de Ciência)的Jocelyne Demengeot的研究组。在第0天,用50μL Dulbecco氏改良Eagle培养基(Gibco)与Matrigel(Corning)的1:1混合物将5x10⁵个细胞皮下(s.c.)注射入BALB/c小鼠的体侧。在第6天开始,当肿瘤体积达到100mm³左右时,在50μL PBS(Gibco)中通过腹膜内(i.p.)注射每天施用Neoleukin-2/15和mIL-2(Peprotech)。通过在PBS中腹膜内注射200μg每只小鼠一周两次实施抗PD-1抗体(Bio X Cell)处理。当肿瘤体积达到1,300mm³时处死小鼠。

[0441] 黑素瘤体内实验:B16F10细胞购自ATCC。在第0天,在500μL Hank氏平衡盐溶液(Gibco)中通过皮下注射接种5x10⁵个细胞。在第1天开始,在200μL无LPS的PBS(Teknova)中通过腹膜内(i.p.)注射每天施用Neoleukin-2/15和mIL-2(Peprotech)。如所示的,数天后添加150μg/小鼠的TA99(由Noor Momin和Dane Wittrup, Massachusetts Institute of Technology馈赠)的处理。当肿瘤体积达到2,000mm³时处死小鼠。

[0442] 流式细胞术:将切下的肿瘤切碎,酶促消化(Miltenyi Biotec),并通过40μm滤器。使用1mL注射器柱塞的背部经由40μm细胞过滤器将来自脾和肿瘤引流淋巴结的细胞分散入PBS。将所有细胞悬浮液用PBS清洗一次,并在含有荧光团缀合的抗体的2%灭活胎牛血清中重悬浮细胞团粒。将细胞于4℃温育15分钟,然后固定,透化,并使用BioLegend FoxP3染色试剂盒染色。在BD Fortessa流式细胞仪上分析样品。黑素瘤实验中使用的抗体(BioLegend)是:CD45-BV711(克隆30-F11),CD8-BV650(53-6.7),CD4-BV421(GK1.5),TCRβ-BV510(H57-597),CD25-AF488(PC61),FoxP3-PE(MF-14)。结肠癌实验中使用的抗体(eBioscience)是:CD45-BV510(30-F11),CD3-BV711(17A2),CD49b-FITC(DX5),CD4-BV605(GK1.5),CD8-PECy7(53-6.7),Foxp3-APC(FJK-16s)。使用可固定存活力染料eFluor 780(eBioscience)来排除死细胞。

[0443] 抗Neoleukin-2/15多克隆抗体的生成:在200μLPBS和完全弗氏佐剂的1:1乳状液中对小鼠腹膜内注射500μg K.O.Neoleukin。在第7和15天在200μL PBS和不完全弗氏佐剂

的1:1乳状液中用500 μ g K.O.Neoleukin对小鼠进行加强。在第20天,收集血清并通过ELISA确认Neoleukin-2/15的识别。

[0444] 酶联免疫吸附测定法 (ELISA):将高结合96孔板 (Corning) 在碳酸盐缓冲液中使用100ng/mL Neoleukin-2/15,mIL-2 (Peprotech),hIL-2 (Peprotech),或卵清蛋白 (Sigma-Aldrich) 于4 $^{\circ}$ C包被过夜。以75ng/mL使用HRP缀合的绵羊抗小鼠IgG (GE Healthcare) 检测抗体对靶蛋白的结合。用四甲基联苯胺和HCl对板显色。用EnVision多模式读板仪 (PerkinElmer) 于450nm测量吸光度。

[0445] T细胞增殖测定法:使用EasySep T细胞分离试剂盒 (Stemcell Technologies) 自小鼠脾分离细胞。以10,000个细胞/孔的密度在96孔培养板中在RPMI中分配它们。对培养基补充常规的或热处理的Neoleukin-2/15,rmIL-2,或Super-2。于37 $^{\circ}$ C温育5天后,通过CellTiter-Glo发光细胞存活力测定法 (Promega) 测量细胞存活和增殖。

[0446] 统计和效力分析:体内鼠气道炎症实验:MIKEL。体内鼠结肠癌实验:CARLOS。体内鼠黑素瘤实验:使用对数秩 (Mantel-Cox) 检验实施荷瘤小鼠的存活的比较。使用双尾t检验实施荷瘤小鼠中重量损失的比较。小于0.05的P值认为是显著的。对于预期较大效果大小,使用G*Power确定最小组大小 (Cohen氏d=1.75)。

[0447] 小鼠血清清蛋白 (MSA) 与Neoleukin-2/15的融合物的生物层干涉术分析。

[0448] Neoleukin-2/15与MSA的遗传融合物延长半衰期且保留细胞因子模拟物对鼠IL-2R β 和IL-2R γ 的完整结合亲和力 (33.5 $\pm$ 0.2nM) (数据未显示)。这项研究中利用的构建物如下:任选的: (His标签TEV切割位点在括弧中)

[0449] 小鼠血清清蛋白 (斜体)

[0450] 接头

[0451] Neo2/15 (粗体)

(GSDGGSHHHHHHSGSGSENLYFQSGS)EAHKSEIAHRYNDLGEQHFKGLVLIAFSQYLQK
CSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRENYGELADCCTKQ
EPERNECFLQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPYFYAPELL
YYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERAFAKAWAV
ARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSKLQT
CCDKPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRH
[0452] PDYSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCDLYEKLGE
YGFQNAILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGRVGTKCCTLPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCL
LHEKTPVSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALTVEITYVPKEFKAETFTFHSIDICTLPEKEKQIKK
QTALAEVLKHKPKATAEQKTVMDFAQFLDTCCAADKDTCFSTEGPNLVTRCKDALAG
GGSGSGGGSGSGSGSGPKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEKLEDYAFN
FELILEEIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANAHTILQS
WIFS (SEQ ID NO: 244)

[0453] 在链霉亲和素生物传感器上固定化生物素-mIL2 γ ,在饱和浓度的mIL2 β 存在下自729至1nM滴定MSA-Neo2浓度。如上进行生物层干涉术:在Octet RED96 (ForteBio, Menlo Park, CA) 中收集结合数据并使用仪器的集成软件使用1:1结合模型进行加工。在结合缓冲液 (10mM HEPES [pH 7.4], 150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05% 表面活性剂P20, 0.5% 脱脂奶粉) 中以1 μ g/ml将生物素化靶受体 (人或鼠IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ , 或人IL-4R α) 官能化至链霉亲和素包被的生物传感器 (SA ForteBio) 达300秒。将分析物蛋白质自浓缩的储液稀释入结合缓冲液。单独的结合缓冲液中的基线测量后,通过将生物传感器浸入含有100nM设计蛋白质的孔 (结合),然后将传感器浸回基线孔 (解离) 来监测结合动力学。

[0454] CAR-T细胞体内实验:体外T细胞增殖测定法。原代人T细胞得自健康供体。通过在Ficoll-Hypaque (Sigma) 上离心来分离外周血单个核细胞(PBMC)。使用EasySep™ CD8或CD4负分离试剂盒(STEMCELL Technologies)分离T细胞。为了刺激T细胞,融化T细胞并在补充有50IU/ml (3.1ng/ml) IL2的培养基中以1:1比率与抗CD3/CD28 Dynabeads (Gibco) 一起温育。温育4天后去除珠。以96孔格式分别以30000或50000个细胞/孔分配经过刺激的或新鲜融化的未经刺激的T细胞并一式三份在所示浓度的IL2或Neoleukin-2/15中培养。3天后,使用CellTiter-Glo 2.0 (Promega) 测量增殖。

[0455] 体内RAJI实验:6至8周龄NSG小鼠得自The Jackson Laboratory。将 0.5×10^6 个经ffluc/eGFP转导的RAJI肿瘤细胞尾静脉注射入NSG小鼠。肿瘤注射后7天,将如(Liu et al, 2016)中所述制备的慢病毒转导的抗CD19 CAR T细胞(0.4×10^6 个CD4, 0.4×10^6 个CD8) 静脉内灌注入小鼠。肿瘤注射后第8至16天以20 μ g/小鼠腹膜内给予hIL2或Neoleukin-2/15。

[0456] PEG化多肽的制备:将具有单一或双重半胱氨酸突变的Neo-2/15储液透析入磷酸盐缓冲液,pH7.0并调节至1.0-2.0mg/ml。以10:1的摩尔比对蛋白质添加TCEP并于室温温育10分钟以还原二硫化物。以10:1的PEG:半胱氨酸摩尔比将马来酰亚胺修饰的PEG40k (PEG40k-MA) 或PEG30k (PEG30k-MA) 粉末直接添加至还原的蛋白质溶液并在搅动中温育2小时。自反应混合物直接取出SDS-PAGE的等分试样。这些数据展现以预期的化学计量PEG40k-MA或PEG30k-MA和Neo-2/15半胱氨酸突变体之间的共价连接的快速,自发,且接近定量的形成。

[0457] 用Neo-2/15和PEG化Neo-2/15-E62C (Neo-2/15-PEG) 处理展现多种炎症标志物水平的变化:将每组两只非人灵长动物(NHP) (一只雄性,一只雌性) 指派至媒介(组1),Neo-2/15(无PEG) (组2-4) 或Neo-2/15PEG (组5-7;E62C的单一半胱氨酸突变和PEG40K) 的处理。在研究第1,2,3,4,5,6和7天(一天一次,一周) 以0(媒介) 或0.07,0.21或0.14mg/kg/天Neo 2/15(无PEG) 的剂量调整值(分别为组2,3和4) 的剂量水平通过静脉内(IV) 推注对用媒介或Neo-2/15(无PEG) 处理的动物给药。在研究第1和7天以0.05,0.15或0.10mg/kg/天Neo-2/15PEG(分别为组5,6和7) 的剂量水平通过静脉内推注对用Neo-2/15PEG处理的动物给药。在第1和7天在给药后0,4,8和24小时的时间点取得细胞因子样品。制备细胞因子血清样品,冷冻于<-70℃,并运输以进行分析,其中经由Luminex多路免疫测定系统分析样品。数种细胞因子(包括IL-15和IL-10) 展现细胞因子生成的时间过程中的明显差异,与PEG化分子更加持久的药效学效果一致。

[0458] 靶向Neo-2/15融合物保留它们的IL-2R结合亲和力并展现抗肿瘤效果。将选定的靶向域经由肽接头融合至Neo-2/15的N或C端并在体外通过生物层干涉术测试以表征它们对人和小鼠IL-2R的结合亲和力。结果确认了在N或C端对Neo-2/15的融合并不阻碍它结合IL-2R的能力。随后的体外流式细胞术研究确认了融合蛋白能够结合细胞表面上的靶受体。在体内小鼠实验中评估靶向构建物的功效,其中证明了针对肿瘤细胞或免疫细胞的靶向Neo-2/15模块具有胜过非靶向对照的有益的抗肿瘤效果(数据未显示)。

[0459] 测试的融合物包括但不限于:(i) 抗CD47纳米抗体经由SEQ ID NO:100的接头对Neo2/15的C端的融合物;(b) 抗CD47纳米抗体经由SEQ ID NO:100的接头对Neo 2/15的N端的融合物;(c) 抗CTLA4纳米抗体经由SEQ ID NO:100的接头对Neo 2/15的C端的融合物;(d) 抗CTLA4纳米抗体经由SEQ ID NO:100的接头对Neo 2/15的N端的融合物;(e) 抗PDL-1纳米

抗体经由SEQ ID NO:100的接头对Neo 2/15的C端的融合物;和(f)抗PDL-1纳米抗体经由SEQ ID NO:100的接头对Neo 2/15的N端的融合物。

[0460] 清蛋白对Neo-2/15的融合物维持IL-2R结合亲和力。将小鼠血清清蛋白(MSA)经由肽接头融合至Neo 2/15的N端并在体外通过生物层干涉术测试以表征它对小鼠IL-2R的结合亲和力。在链霉亲和素生物传感器上固定化生物素-mIL2 γ ,在饱和浓度的mIL2 β 存在下自729至1nM滴定MSA-Neo2浓度。融合物维持IL-2R结合能力(数据未显示)。

[0461] PEG化和非PEG化Neo-2/15在非人灵长动物(NHP)中不引发有意义的抗药物抗体(ADA)应答。在非人灵长动物中测试PEG化和非PEG化Neo-2/15(对于PEG化Neo-2/15:E62C的单一半胱氨酸突变和PEG40K)引发ADA的潜力。对动物静脉内施用任一化合物达1周:PEG化Neo-2/15在第1和7天;野生型Neo-2/15在第1-7天。在其后多个时间取血并分析对施用的化合物特异性的抗体的存在。每个剂量组由1只雄性和1只雌性猕猴组成。以0.1mg/kg,0.2mg/kg,或0.3mg/kg连续7天经由每天静脉内推注注射施用非PEG化Neo-2/15。在第1和7天以0.015mg/kg,0.050mg/kg,和0.10mg/kg经由静脉内推注注射施用PEG化Neo-2/15。连续7天对媒介对照组每天施用相等体积的盐水。在研究第1(给药前),22,29,和43天经由头或隐静脉自每只动物收集大约750 μ l血液用于ADA分析。在湿冰上使用血清分离管自血液提取血清,随后保存于-80 $^{\circ}$ C直至分析。所有接受媒介或PEG化Neo-2/15的食蟹猴在第22,29,和43天测试呈ADA阴性,证明PEG化Neo-2/15并不引发可检测的免疫应答,甚至在重复给药后,尽管它是一种对于猕猴免疫系统而言完全外来的计算设计蛋白质。接受媒介对照的两只(1只雄性;1只雌性)猕猴均在第1,15,22,和28天测试呈针对野生型Neo-2/15的ADA阴性。接受非PEG化Neo-2/15的组中的所有动物(3只雄性;2只雌性)在第1天(给药前)测试呈ADA阴性。其中,5只中的3只(60%)在第22,29,和43天保持ADA阴性。剩余两只动物随后在第22,29,或43天测试呈ADA阳性。一名受试者在第22和29天测试呈阳性,但是到第43天返回阴性。对于该受试者,ADA应答较低且是瞬时的,提示最低限度临床意义。另一名受试者在第22,29,和43天测试呈阳性。对于该受试者,测量到的ADA浓度远低于100ng/ml,因而临床相关性不明。

[0462] 数据表

[0463] 表E1. IL-2/IL-15的数种从头设计模拟物的表征。该表显示从头IL-2/IL-15模拟物和参照细胞因子对下述各项的Kd:mIL-2R β ,mIL-2R β γ c,EC₅₀,通过结构比对(MICAN⁶³)针对hIL-2(PDB:2B5I)和mIL-2(PDB:)的序列相似性,每种分子的亲本,它的氨基酸长度,和从头IL-2模拟物的序列。“N/S”代表不显著,“N/A”代表不可得。

[0464] 表E1

[0465]

对HsIL-2RβYc的结合亲和力(Kd), 和人NK (YT, CD25-)细胞中的细胞信号传导								
名称	Kd HsIL- 2RβYc (nM)	Kd HsIL- 2Rβ (nM)	EC50 (CD25-) pSTAT5p (nM) / (exp i.d.)	与HsIL-2 的序列 同一性 (% / (比对 a.a.数目))	与MmIL-2 的序列 同一性 (% / (比对 a.a.数目))	实验 优化	亲本分子	a.a. 长度
HsIL-2	193.6	326.9	0.41 / (a)	100.0 / (120)	54.5 / (112)	-	-	133
MmIL-2	8034.0	4950.0	39.05 / (a)	54.5 / (112)	100 / (122)	-	-	130
Super-2 / Superkine (PDB: 3QAZ)	300.9	2.0	0.07 / (a)	94.9 / (117)	50.9 / (114)	Y	HsIL-2	133
G1_neo2_40	260.0	1457.0	0.14 / (b)	47.7 / (86)	30.4 / (79)	N	-	87
G1_neo2_41	187.0	720.6	0.07 / (b)	47.7 / (86)	30.4 / (79)	N	-	87
G1_neo2_43	533.4	2861.0	0.21 / (b)	50.0 / (86)	32.9 / (79)	N	-	87
G1_neo2_40_1F	2.3	2.6	0.09 / (c)	44.2 / (86)	26.6 / (79)	Y	G1_neo2_40	87
G2_neo2_40_1F _dsn36	113.9	27.6	0.12 / (a)	33.7 / (89)	17.6 / (85)	N	从头模拟物设计, 灵感来自模板: G1_neo2_40_1F	100
Neoleukin-2/15 (G2_neo2_40_1F _dsn36_opt)	18.8	11.2	0.05 / (a)	29.2 / (89)	15.7 / (83)	Y	G2_neo2_40_1F _dsn36	100

[0466]

对MmIL-2Rβγc的结合亲和力(Kd), 和鼠T (CTLL-2, CD25+)细胞中的细胞信号传导(EC50)								
名称	Kd MmIL- 2Rβγc (nM)	Kd MmIL- 2Rβ (nM)	EC50 (CD25+) pSTAT5 (nM) / (exp i.d.)	与HsIL-2 的序列 同一性 (% / (比对 a.a.数目))	与MmIL-2 的序列 同一性 (% / (比对 a.a.数目))	实验 优化	亲本分子	a.a. 长度
HsIL-2	492.2	8106.0	0.002 / (d)	*见上表				
MmIL-2	126.2	1496.0	0.003 / (e)	*见上表				
Super-2 / Superkine (PDB: 3QAZ)	312.2	214.0	N/A	*见上表				
G1_neo2_40_1F	7.9	485.5	0.2 / (e)	*见上表				
G1_neo2_40_1F_H1	2654.0	6799.0	37.38 / (d)	39.5 / (86)	25.0 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_H2	963.7	68300.0	9.38 / (d)	40.7 / (86)	26.2 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_H3	3828.0	N/S	35.2 / (d)	39.5 / (86)	25.0 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_H4	391.8	10070.0	0.93 / (d)	41.9 / (86)	26.2 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_H5	5123.0	45300.0	84.69 / (d)	39.5 / (86)	23.8 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_M1	4.3	213.9	0.007 / (d)	36.0 / (86)	25.0 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_M2	886.3	2599.0	3.11 / (d)	37.2 / (86)	25.0 / (80)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G1_neo2_40_1F_M3	64.8	402.3	0.08 / (d)	34.9 / (86)	25.3 / (79)	Y	G1_neo2_40_1F	87
G2_neo2_40_1F_seq04	80.0	N/A	1.95 / (f)	38.4 / (86)	23.8 / (80)	N	G1_neo2_40_1F 的序列再设计	87
G2_neo2_40_1F_seq12	39.1	N/A	1.74 / (f)	38.4 / (86)	25.3 / (79)	N	G1_neo2_40_1F 的序列再设计	87
G2_neo2_40_1F_seq16	71.5	N/A	2.20 / (f)	34.9 / (86)	22.5 / (80)	N	G1_neo2_40_1F 的序列再设计	87
G2_neo2_40_1F_seq26	27.8	N/A	1.06 / (f)	39.5 / (86)	25.3 / (79)	N	G1_neo2_40_1F 的序列再设计	87
G2_neo2_40_1F_seq27	13.6	N/A	0.24 / (f)	36.0 / (86)	25.0 / (80)	N	G1_neo2_40_1F 的序列再设计	87
G2_neo2_40_1F_dsn29	38.2	N/A	0.48 / (f)	36.6 / (82)	8.9 / (90)	N	从头模拟物设计, 使用模板: G1_neo2_40_1F	107
G2_neo2_40_1F_dsn30	925.0	N/A	7.61 / (f)	33.0 / (97)	23.4 / (94)	N	从头模拟物设计, 使用模板: G1_neo2_40_1F	107
G2_neo2_40_1F_dsn36	568.5	2432.0	1.36 / (e)	*见上表				
G2_neo2_40_1F_dsn40	69.2	N/A	0.50 / (f)	33.7 / (89)	17.9 / (84)	N	从头模拟物设计, 灵感来自模板: G1_neo2_40_1F	100
Neoleukin-2/15 (G2_neo2_40_1F_dsn36_opt)	38.4	16.1	0.07 / (e)	*见上表				

[0467] 表E2。Neoleukin-2/15和Neoleukin-2/15与mIL-2Rβγ_c的四元复合物的结晶学数据表。

	Neoleukin-2/15 (6DG6)	与IL-2R的Neoleukin-2/15三元复合物 (6DG5)
波长		
分辨率范围	39.28 - 1.999 (2.07 - 1.999)	47.005 - 2.516 (2.828 - 2.516)
	-	3.687 (0.065 a* + 0.998 c*)
椭圆分辨率限度(Å) (方向)	-	3.756 (0.884 a* + 0.468 c*)
	-	2.516 (0.132 a* + 0.859 b* + 0.495 c*)
空间群	P 21 21 21	P 21 2 21
晶胞(Å, °)	73.73, 86.8, 92.31, 90, 90, 90	65.125, 67.914, 172.084, 90, 90, 90
总反射	351741 (32344)	132356 (7834)
独特反射	40650 (3977)	13961 (698)
多样性	8.7 (8.1)	9.5 (11.2)
完全性(球体) (%)	92.58 (77.83)	52.3 (9.0)
完全性(椭球体) (%)		93.2 (77.2)
均值I / σ(I)	12.19 (1.25)	6.8 (1.3)
Wilson B因子	34.54	39.86
R-合并	0.1027 (1.709)	0.359(2.516)
R-meas	0.1094 (1.824)	0.380 (2.636)
R-pim	0.0369 (0.6252)	0.122 (0.780)
CC1/2	0.999 (0.557)	0.987 (0.445)
CC*	1 (0.846)	0.993 (0.328)
细化中使用的分辨率范围	39.28 - 1.999 (2.07 - 1.999)	43.82 - 2.516 (2.606 - 2.516)
细化中使用的反射	37747 (3125)	13923 (136)
用于R _{merge} 的反射	1840 (143)	1366 (14)
R _{工作}	0.2037 (0.3137)	0.2211 (0.3271)
R _{合并}	0.2260 (0.3377)	0.2658 (0.4429)
非氢原子的数目	4791	4100
高分子	4735	3949
配体	-	138
溶剂	56	13
蛋白质残基	597	492
RMS (键)	0.005	0.004
RMS (角)	0.88	0.94
Ramachandran有利的(%)	97.41	97.1
Ramachandran容许的(%)	2.59	2.9
Ramachandran离群的(%)	0	0
旋转异构体离群的(%)	1.26	4.5
冲突得分	2.14	4.55
平均B因子	52.56	47.05
高分子	52.54	46.39
配体	-	67.79
溶剂	54.21	27.31
TLS组的数目	20	3

[0468]

*最高分辨率壳的统计量在括弧中显示。

[0470] 表S1:最好的12种第一轮设计的氨基酸序列。通过酵母展示实验表征10种设计(G1_neo2_35-44),经由设计的第一轮蛋白质结合物的流式细胞术筛选发现除了2种(G1_neo2_35和G1_neo2_44)以外均以低纳摩尔浓度结合荧光标记的嵌合ILRβγ_c。所示设计在酵母上表达并与2nM hIL-2Rβγ_c或0nM IL-2Rβγ_c一起温育(数据未显示)。

[0471]

设计	序列
G1_neo2_33	STKKWQLQAEHALLDWQMALNKSPEPNENLNRAITAAQSWISTGKIDLDK AEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAR (SEQ ID NO: 103)
G1_neo2_34	STKKWQLQAEHALLDWQMALNKSPEPNENLNRAITAAQSCISTGKCDLDK AEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAR (SEQ ID NO: 104)

[0472]

G1_neo2_35	STKKWQLQAEHALLDWQMALNKSPEPNENLNRAITAAQSWISTGKIDCDK AEDIRNSDQARREAEKRGIDVRDLISNAQVILLEAC (SEQ ID NO: 105)
G1_neo2_36	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSWISTGKIDLDRAE ELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNKAVIALELK (SEQ ID NO: 106)
G1_neo2_37	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRCITDAQSWISTGKIDLDRAE ECARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNKAVIALELK (SEQ ID NO: 107)
G1_neo2_38	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSCISTGKCDLDRAE ELARNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNKAVIALELK (SEQ ID NO: 108)
G1_neo2_39	STKKLQLQAEHFLLDVQMILNESPEPNEELNRAITDAQSWISTGKIDLDRAE ELCRNLEKVRDEALKRGIDVRDLVSNACVIALELK (SEQ ID NO: 109)
G1_neo2_40	STKKLQLQAEHALLDAQMMLNRSPEPNEKLNRIITTMQSWISTGKIDLDGA KELAKEVEELRQEAEEKRGIDVRDLASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 110)
G1_neo2_41	STKKLQLQAEHALLDAQMMLNRSPEPNEKLNRIITTMQSCISTGKCDLDGA KELAKEVEELRQEAEEKRGIDVRDLASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 111)
G1_neo2_42	STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSWISTGKIDLDNA QEMAKEAEKIRKEMEKGIDVRDLISNIIVILLELS (SEQ ID NO: 112)
G1_neo2_43	STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSCISTGKCDLDNA QEMAKEAEKIRKEMEKGIDVRDLISNIIVILLELS (SEQ ID NO: 113)
G1_neo2_44	STKKIQLQLEHALLDVQMALNRSPEPNESLNRMITWLQSWISTGKIDLDNA QEMCKEAEKIRKEMEKGIDVRDLISNICVILLELS (SEQ ID NO: 114)

[0473] 表S2。实验优化的第一轮设计的氨基酸序列。

[0474]

设计	序列
G1_neo2_40_1A	STKKTQLLAEHALLDAFMMLNVVPEPNEKLNRIITTMQSWIYTGKIDADG AKELAKEVEEELEQEYKRGIDVEDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 115)
G1_neo2_40_1B	STKKTQLLAEHALLDAHMMMLNMLPEPNEKLNRIITTMQSWIHTGKIDGDG AQELAKEVEEELEQEYKRGIDVEDEASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 116)
G1_neo2_40_1C	STKKTQLLAEHALLDAFMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTGKIDGDG AKELAKEVEEELEQEFKRGIDVEDEASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 117)
G1_neo2_40_1D	STKKTQLLAEHALLDALMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTGKIDGDG AQELAKEVEEELEQELEKRGIDVEDYASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 118)
G1_neo2_40_1E	STKKTQLLAEHALLDAHMMMLNVVPEPNEKLNRIITTMQSWIYTGKIDRDG AQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 119)
G1_neo2_40_1F	STKKTQLLAEHALLDALMMLNLLPEPNEKLNRIITTMQSWIFTGKIDGDGA QELAKEVEEELEQEHEKRGIDVEDYASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 120)
G1_neo2_40_1G	STKKTQLLAEHALLDAYMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWILTGKIDSDG AQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 121)
G1_neo2_40_1H	STKKTQLLAEHALLDAYMMLNMVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTGKIDGDG AKELAKEVEEELEQEFKRGIDVDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 122)
G1_neo2_40_1I	STKKTQLLAEHALLDAYMMLNLVPEPNEKLNRIITTMQSWIFTGKIDADGA QELAIEVEEELEQEYKRGIDVDDYASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 123)
G1_neo2_40_1J	STKKTQLMAEHALLDAFMMLNVLPPEPNEKLNRIITTMQSWIFTGKIDGDD AQELAKEVEEELEQELEKRGIDVDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 124)
G1_neo2_40_1F_H1	STKKTQLLIEHALLDALDMSRNLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKIDGDGAQ QLAKEVEEELEQEHEKRGEDVEDEASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 125)
G1_neo2_40_1F_H2	STKKTQLLLEHALLDALHMRRNLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKIDGDGA QELAKEVEEELEQEHEKRGEDVEDDASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 126)
G1_neo2_40_1F_H3	STKKTQLLIEHALLDALNMRKKLPEPNEKLSRIITDMQSWIFTGKIDGDGAQ QLAKEVEEELEQEHEKRGEDVEDYASNKLVILLELA (SEQ ID NO: 127)
G1_neo2_40_1F_H4	STKKTQLLLEHALLDALHMSRELPEPNEKLNRIITDMQSWIFTGKIDGDGA

[0475]	G1_neo2_40_1F_H4	QDLAKEVEELEEQEHEKRGGDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 128)
	G1_neo2_40_1F_H5	STKKTQLLIEHALLDALHMSRKLPEPNEKLSRIITTMQSWIFTGKIDGDGAQHLAKEVEELEEQEHEKRGGEVEDEASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 129)
	G1_neo2_40_1F_H6	STKKTQLLIEHALLDALHMKRKLPEPNEKLNRIITNMQSWIFTEKIDGDGAQDLAKEVEELEEQEHEKRGQDVEDYASNLKVILLELA (SEQ ID NO: 130)
	G1_neo2_40_1F_M1	STEKTQLAAEHALRDALMLKHLNPNNEKLARIITTMQSWQFTGKIDGDGAQELAKEVEELQQEHEVRGIDVEDYASNLKVILLHLA (SEQ ID NO: 131)
	G1_neo2_40_1F_M2	STKNTQLAAEDALLDALMLRNLLNPNNEKLARIITTMQSWQFTEKIDGDGAQELAKEVEELQQEHEERGIDVEDYASNLKVILLQLA (SEQ ID NO: 132)
	G1_neo2_40_1F_M3	STEKTQHAAEDALRDALMLRNLLNPNNEKLARIITTMQSWQFTEKIDGDGAQELAKEVEELQQEHEVRGIDVEDYASNLKVILLQLA (SEQ ID NO: 133)

[0476] 表S3: 第二轮设计的氨基酸序列。G2_neo2_40_1F_seq02至G2_neo2_40_1F_seq28对应于G1_neo2_40_1F的27种Rosetta序列再设计; G2_neo2_40_1F_seq29至G2_neo2_40_1F_seq42代表14种新的从头模拟物设计。

设计	序列
G2_neo2_40_1F_seq02	TQKKQQLLAEHALLDALMILNMLKTSSEAVNRMITIAQSWIFTGTSNPPEEAKEMIKMAEQAEERREGVDTEYVSNLKVILKEIA (SEQ ID NO: 134)
G2_neo2_40_1F_seq03	TTKKYQLLVEHALLDALMMLNLSSSENEKMNRITTMQSWIFTGTDPDQAEELAKLVEELREEFRKRGIDTEYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 135)
G2_neo2_40_1F_seq04	TTKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSENEKLNRIITTLQSWIFRGEIDPDRARELAKLLEEIREEMRKRIGIDTEYVSNMIVIIRELA (SEQ ID NO: 136)
G2_neo2_40_1F_seq05	TKKKIQLLAEHVLLDLLMMLNLSSSENEKMNRILITVQSWIFTGTIDPDQAEEMAKWVEELREEFRKRGIDTEYASNVKVILKELS (SEQ ID NO: 137)
G2_neo2_40_1F_seq06	TKKKYQLLIEHLLLDALMVLNMSSSENEKLNRIITILQSWIFTGTWDPDLAEEMKLMQEIEEELRRRGIDTEYMSNMVRVILKELS (SEQ ID NO: 138)
G2_neo2_40_1F_seq07	TKKKLQLLVEHLLLDMLMILNMSSSENEKLNRLITELQSWIFRGEIDPDKAEEEMWKIMEEIEKELRERIGIDTEYMSNAKVILKELS (SEQ ID NO: 139)
G2_neo2_40_1F_seq08	TSKKQQLLAEHALLDALMILNISSESEAVNRAITWLQSWIFKGTVPDQAEEMRKLAEQIREEMRKRIGIDTEYVSNLEVIKELS (SEQ ID NO: 140)
G2_neo2_40_1F_seq09	TKKKYQLLIEHLLLDLLMVLNMSSSENEKLNRLITWLQSWIFTGTYPDLAEEMYKILEELREEMRERIGIDTEYMSNMVRVILKELS (SEQ ID NO: 141)
G2_neo2_40_1F_seq10	TKKKWQLLIEHLLLDLLMILNLSSSENEKLNRLITWLQSWIFTGTYPDLAEEMKKMMDEIEDELREERIGIDTEYMSNAKVILKELS (SEQ ID NO: 142)
G2_neo2_40_1F_seq11	TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSENEKLNRIITTMQSWIFTGTIDPDQAEELSKLVEEIREEMRKRIGIDTEYVSNLKVILDELS (SEQ ID NO: 143)
G2_neo2_40_1F_seq12	TEKKLQLLVEHALLDALMILNLWSESNEKLNRIITTMQSWIFTGRIDPDKAEEELAKLVEELREEARERIGIDTEYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 144)
G2_neo2_40_1F_seq13	TKKKYQLLMEHLLLDLLMVLNMSSSENEKLNRLITILQSWIFTGTWDPDKAEEMAKMLKEIEDELREERIGIDTEYMSNMIVIMKELS (SEQ ID NO: 145)
G2_neo2_40_1F_seq14	TTKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSENEKMNRITTMQSWIFEGRIDPDQAEELAKLVEELREEFRKRGIDTEYVSNLKVILEELS (SEQ ID NO: 146)
G2_neo2_40_1F_seq15	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSENEKLNRIITTMQSWIFTGTIDPDQAEELAKLVRELREEFRKRGIDTEYASNLEVILRELS (SEQ ID NO: 147)
G2_neo2_40_1F_seq16	TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSKSNEKLNRIITTMQSWIFNGTIDPDRAELAKLVEEIRDEMEKNGIDTEYVSNLKVILEELA (SEQ ID NO: 148)
G2_neo2_40_1F_seq17	TKKKYQLLIEHVLLDLLMMLNLSSSENEKMNRILITILQSWIFTGTYPDKAEEMAKLLKELREEFRERIGIDTEYISNAIVILKELS (SEQ ID NO: 149)
G2_neo2_40	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSENEKLNRIITTMQSWIFTGTIDPDRA

[0478]

1F_seq18	EELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYASNLKVILKELS (SEQ ID NO: 150)
G2_neo2_40 1F_seq19	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFNGTIDPDQA RELAKLVEELREEFRKRGIDTEDYASNLKVILEELA (SEQ ID NO: 151)
G2_neo2_40 1F_seq20	TKKKLQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGTVDPDQ AEELAKLVEEIREELRKRGIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 152)
G2_neo2_40 1F_seq21	TTKKYQLLVEHALLDALMILNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGTDFDPDQA EELAKLVREIREEMRKRGIDTEDYVSNLEVILRELS (SEQ ID NO: 153)
G2_neo2_40 1F_seq22	TKKKIQLLVEHALLDALMILNLSSSESNEKLNRIITTMQSWIFTGTIDPDRAE ELAKLVREIREEMRKRGIDTEDYVSNLEVILRELS (SEQ ID NO: 154)
G2_neo2_40 1F_seq23	TKKKYQLLIEHLLLDLLMILNLSSSESNEKLNRLITWLQSWIFRGEWDPDK AEEWAKILKEIREELRERGIDTEDYMSNAIVIMKELS (SEQ ID NO: 155)
G2_neo2_40 1F_seq24	TDKKLQLLVEHLLLDLLMMLNLSSKSNEKMNRLITIAQSWIFTGKVDPL AREMIKLEETEDENRKNIGIDTEDYVSNARVIAKELE (SEQ ID NO: 156)
G2_neo2_40 1F_seq25	TKKKIQLLVEHALLDALMMLNLSSSESNEKMNRIITTMQSWIFTGTIDPDQA EELAKLVEELKEEFKKRGIDTEDYVSNLKVILKELS (SEQ ID NO: 157)
G2_neo2_40 1F_seq26	TKKKYQLLIEHALLDALMILNLWSESNEKLNRIITTMQSWIFTGTYPDK AEELEKLAKIEDEARERGIDTEDYMSNLRVILKELS (SEQ ID NO: 158)
G2_neo2_40 1F_seq27	TKKKAQLLAEHALLDALMMLNLSSSESNERLNRIITWLQSIIFTGTYPDMV KEAVKLADEIEDEMRRKRGIDTEDYVSNLRVILQELA (SEQ ID NO: 159)
G2_neo2_40 1F_seq28	TQKKNQLLAEHLLLDALMVLNQSSSESEVANRIITWAQSWIFGRVDPNK AEEAKKLAKKLEEMRRKRGIDMEDYISNMKVIAEEMS (SEQ ID NO: 160)
G2_neo2_40 1F_seq29	EDYYSNLKVILEELAREMERNGLSDKAEWRQWKKIVERIRQIRSNNSDL NEAKELNRLITYIQSQIFEISERIRETDQEKKEESWKKWQLLLEHALLDV LMLLND (SEQ ID NO: 161)
G2_neo2_40 1F_seq30	PEKKRQLLLEHILLDALMMLNLLETNPQNTESKFEDYISNAEVIAEELAKL MESLGLSDEAEKFKIKQWLREVWRIWSSTNWTLEDKARELLNRIITTIQ SQIFY (SEQ ID NO: 162)
G2_neo2_40 1F_seq31	PEKKRQLLLEHILLDLLMILNMIETNRENTSEMEDYWSNVRVILRELARL MEELNYKELSELMERMKIVEKIRQIVTNNSSLDTAREWLNRLITWISLI FR (SEQ ID NO: 163)
G2_neo2_40 1F_seq32	PEKKRQLLAEHALLDALMMLNIIETNSKNTESKMEDYVSNLEVILTEFKKL AEKLNFSSEAERAERMKRWARKAYQMMTLDSLSDKAKEMLNRIITILQSI IFN (SEQ ID NO: 164)
G2_neo2_40 1F_seq33	PEKKRQLLAEHLLLDVLMMLNGNASLKDYASNAQVIADEFRELARELGL TDEAKKAEKIIEALERAREWLLNNKDKEKAKEALNRAITIAQSWIFN (SEQ ID NO: 165)
G2_neo2_40 1F_seq34	PEKKRQLLLEHLLLDLLMILNMLRTNPKNIESDWEDYMSNIEVIEELRKI MESLGRSEKAKEWKRMKQWVRRIEIVKNNSDLEEAKEWLNRLITIVQS EIFE (SEQ ID NO: 166)
G2_neo2_40 1F_seq35	WEKKRQLLLEHLLLDLLMILNMWRTNPQNTESLMEDYMSNAKVIVEEL ARMMRSGLEDKAREWEEMKKRIIEIRQIIQNNSSKERAKEELNRLITYV QSEIFR (SEQ ID NO: 167)
G2_neo2_40 1F_seq36	PKKKIQLLAEHALLDALMILNIVKTNSQNAEEKLEDYASNVEVILEEIALR MESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANRIITLLQSWIFS (SEQ ID NO: 168)
G2_neo2_40 1F_seq37	PEKKRQLLAEHALLDALMILNILQTNPQNAEEKLEDYMSNVEVIMEEFAR MMRNGDRSEEAENAERIKKWVRKASSTASSEEQREMMNRAITLMQSWIF E (SEQ ID NO: 169)
G2_neo2_40	PEKKRQLLAEHLLLDALMVLNMLTTNSKNTEEKLEDYISNMKVIKEMIE

[0479]	G2_neo2_40_1F_seq38	LMRSLGRLEEAEKWKEALKAVEKIGSRMDSETARELANRIITLAQSAIFY (SEQ ID NO: 170)
	G2_neo2_40_1F_seq39	PEKKRQLLAEHALLDALMFLNLVETNPDQAEKIEDYASNLRVIAEELAR LFENLGRLEDAQKAKDIKELAEARARSVSSEKRKEAMNRAITILQSMIFR (SEQ ID NO: 171)
	G2_neo2_40_1F_seq40	PEKKRQLLAEHALLDALMILNIIRTNSDNTESKLEDYISNLKVILEEIIARLM ESLGLSDEAEKAKEAMRLADKAGSTASEEEKKEAMNRVITWAQSWIFN (SEQ ID NO: 172)
	G2_neo2_40_1F_seq41	PEKKRQLLAEHALLDALMMLNILRTNPDNAEEKLEDYWSNLVILREIAK LMESLGLTDEAEKAKEAARWAEERTTASKDQRRELANRIITLLQSWIFS (SEQ ID NO: 173)
	G2_neo2_40_1F_seq42	PEKKRQLLAEHLLLDALMILNIETNEQNAESKLEDYISNAKVILDEFREM ARDLGLLDEAKKA EKMKRWLEKMRSNASSDERREWANRMITTAQSWIF N (SEQ ID NO: 174)

[0480] 表S4.实验优化的第二轮设计的氨基酸序列。

设计	序列
G2_neo2_40_1F_seq27_S18	TNKEAQLHAEFALYDALMMLNLSSSESNERLNRIITWLQSIIFYETYD PDMVKEAVKLADEIEDEMRRKRKIDTEDYVVLRLILQELA (SEQ ID NO: 175)
G2_neo2_40_1F_seq27_S22	TKKDAELLAEFALYDALMMLNLSSSESNERLNEIITWLQSIIFYGTID PDMVKEAVKLADEIEDEMRRKRIGIDTEDYVSNLRLILQELA (SEQ ID NO: 176)
G2_neo2_40_1F_seq27_S24	TNKK AQLHAEFALYDALMMLNLSSSESNERLNDIITWLQSIIFTGT DPDMVKEAVKLADEIEDEMRRKRKIDTEDYVVLRLYILQELA (SEQ ID NO: 177)
G2_neo2_40_1F_seq29_S6	EDYYSNLKLILEELAREMERNGLSDKAEEWRQWKKIVERIRQIRSN NSDLNEAKELNLRLITYIQSQIFEV LHGVGETDQEKKEESWKKWD LLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 178)
G2_neo2_40_1F_seq29_S7	EDYYSNLKVILEELAREMERNGLSDKAEEWRQWKKIVERIRQIRS NNSDLNEAKELNLRLITYIQSQIFEVIEREGETDQEKKEESWKKWE LHLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 179)
G2_neo2_40_1F_seq29_S8	EDYYSNLKLILEELAREMERNGLSDKAEEWRQWKKIVERIRQIRSN NSDLNEAKELNLRLITYIQSQIFEVLEGVGETDQEKKEESWKKWEL HLEHALLDVLMLLND (SEQ ID NO: 180)
Neolukin-2/15 (即G2_neo2_40_1F_seq36_S11)	PKKKIQLHAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEKLEDYAFNFELILEE IARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTASEDEQEEMANAIITI LQSWIFS (SEQ ID NO: 181)
G2_neo2_40_1F_seq36_S12	PKKKIQLLAEHALFDLLMILNIVKTNSQNAEEKLEDYAYNAGVILE EIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKDTASEDEQEEMANEII TILQSWNFS (SEQ ID NO: 182)

[0482] Neoleukin-2/15-H8Y-K33E:H1->H3->H2'->H4

[0483] PKKKIQLYAEHALYDALMILNIVKTNSPPAEKLEDYAFNFELILEE IARLFESGDQKDEAEKAKRMK
EWMKRIKTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 94)

[0484] 通过生物层干涉术测量Neoleukin-2/15-H8Y-K33E对IL2受体的结合,而且发现具有比Neoleukin-2要高的对IL2-R β 的结合亲和力,针对单独的IL2R β 测试时和针对IL2R β - γ 复合物测试时均如此。这种升高的亲和力大多可归于改善的自IL2-R β 的解离速率。

[0485] 表S5.基于Neolukin-2/15的再改造的白介素-4模拟物设计的氨基酸序列。

[0486]	设计	序列
--------	----	----

[0487]

IL4_G2_neo2_40_1F seq36_S11	PKKKIQITAEELKDALSLNIVKTNSPPAEELERFAKRFRN LWGIARLFESGDQKDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEE MANAIITILQSWIFS (SEQ ID NO: 183)
Neoleukin-4 (即IL4_G2_neo2_40_1F seq36_S11_MIF)	PKKKIQIMAEELKDALSLNIVKTNSPPAEELERFAKRFR NLWGIARLFESGDQKDEAEKAKRMIEWMKRIKTTASEDEQE EMANAIITILQSWFFS (SEQ ID NO: 184)

[0488] 附件A.1代模拟物的序列设计的RosettaScripts XML方案。

[0489]

```

<ROSETTASCRIPITS>
  <SCOREFXNS>
    <SFXN6 weights=talaris2013.wts />
    <SFXN6dA weights=talaris2013_downAla.wts />
  </SCOREFXNS>

  <FILTERS>
    <SSPrediction name="sspred"
cmd="/work/dadriano/PROGRAMS/psipred/runpsipred_single"
use_probability="0" use_svm="0" threshold=0.80 confidence="1"/>
    <ScoreType name="rama" scorefxn="SFXN6" score_type="rama"
threshold=0.0 confidence="0" />
    <PackStat name=pack threshold=0.63 confidence=1/>
    <Holes name=holes threshold=1.2 confidence=0/>
    <ScoreType name="score" scorefxn="SFXN6" score_type="total_score"
threshold=0.0 confidence="0" />
    <ResidueCount name="nres" confidence="0" />
    <CalculatorFilter name="score_res" equation="SCORE/NRES"
threshold="-1.7" confidence="1">
      <SCORE name="SCORE" filter_name="score" />
      <NRES name="NRES" filter_name="nres" />
    </CalculatorFilter>
    <CompoundStatement name=filt >
      <AND filter_name=sspred />
      <AND filter_name=rama />
      <AND filter_name=score_res />
      <AND filter_name=pack />
    </CompoundStatement>
  </FILTERS>

  <TASKOPERATIONS>
    <InitializeFromCommandline name="init"/>
    <IncludeCurrent name="inclcur"/>
    <LimitAromaChi2 name=limitchi2 />
    <DisallowIfNonnative name="not_aa_H" disallow_aas="H"/>
    <ReadResfile name="resfile" filename="./input.resfile" />
  </TASKOPERATIONS>

  <MOVERS>
    <Dssp name=dssp/>
    <FastDesign name="fdesign"
task_operations="init,resfile,limitchi2" scorefxn="SFXN6dA"
allow_design="1" only_design_worst_region="0" design_by_psipred="0"
design_by_frag_qual="0" repeats="2" clear_designable_residues="0"
max_redesigns="2000" />
    <FastRelax name=relax />
    <ParsedProtocol name="complexDesign" >
      <Add mover_name="fdesign" />
      <Add mover_name="relax" />
      <Add mover_name="dssp" />
    </ParsedProtocol>

```

```

    <LoopOver name="fastDesignProtein" mover_name="complexDesign"
filter_name=filt drift=0 iterations="10" ms_whenfail=FAIL_DO_NOT_RETRY/>
  </MOVERS>

```

```

  <APPLY_TO_POSE>
</APPLY_TO_POSE>

```

[0490]

```

  <PROTOCOLS>
    <Add mover_name=fastDesignProtein />
    <Add filter_name=sspred />
    <Add filter_name=pack />
    <Add filter_name=score />
    <Add filter_name=score_res />
    <Add filter_name=holes />
    <Add filter_name=rama />
  </PROTOCOLS>
</ROSETTASCRIPTS>

```

[0491] 附件B.G1_Neo2_40_1F (即2代) 的序列再设计的RosettaScripts XML方案。

```

<ROSETTASCRIPTS>
  <SCOREFXNS>
    <SFXN6_vanilla weights="./talaris2014_cart.wts" symmetric=0 />
    <SFXN6dA_vanilla weights="./talaris2014_cart_downAla.wts"
symmetric=0 />
    <SFXN6dA_norep_elect weights="./talaris2014_cart_downAla.wts"
symmetric=0 >
      <Reweight scoretype=fa_rep weight=0.05 />
      <Reweight scoretype=fa_elec weight=1.0 />
    </SFXN6dA_norep_elect >
    <SFXN6dA_elect weights="./talaris2014_cart_downAla.wts"
symmetric=0 >
      <Reweight scoretype=fa_elec weight=2.0 />
    </SFXN6dA_elect >
  </SCOREFXNS>

  <MOVERS>
    <SwitchChainOrder name="keep_only_chain_A" chain_order="1"/>
  </MOVERS>

```

[0492]

```

  <FILTERS>
    <!--Not Enabled-->
    <Holes name="holes_disabled" threshold="1.2" confidence="0"/>
    <ScoreType name="score_disabled" scorefxn="SFXN6_vanilla"
score_type="total_score" threshold=0.0 confidence="0" />
    <ResidueCount name="nres_disabled" confidence="0" />
    <PackStat name="packstat_disabled" threshold="0.65" repeats="3"
confidence="0" />
    <SSPrediction name="sspred_disabled"
cmd="/work/dadriano/PROGRAMS/psipred/runpsipred_single"
use_probability="0" use_svm="0" threshold=0.85 confidence="0"/>
    <BuriedUnsatHbonds name="unsat_core_disabled" cutoff=0
task_operations="only_core_residues" jump_number=0 confidence="0"/>
    <RmsdSimple name="rmsd1_chainA_disabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="0"/>
    <RmsdSimple name="rmsd2_chainA_disabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="0"/>
    <RmsdSimple name="rmsd3_chainA_disabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"

```

```

threshold="1.0" confidence="0"/>
  <CalculatorFilter name="score_res_disabled" equation="SCORE/NRES"
threshold="-1.8" confidence="0">
    <SCORE name="SCORE" filter_name="score_disabled" />
    <NRES name="NRES" filter_name="nres_disabled" />
  </CalculatorFilter>

  <!--Enabled-->
  <PackStat name="packstat_enabled" threshold="0.65" repeats="3"
confidence="1" />
  <SSPrediction name="sspred_enabled"
cmd="/work/dadriano/PROGRAMS/psipred/runpsipred_single"
use_probability="0" use_svm="0" threshold=0.85 confidence="1"/>
  <CalculatorFilter name="score_res_enabled" equation="SCORE/NRES"
threshold="-1.8" confidence="1">
    <SCORE name="SCORE" filter_name="score_disabled" />
    <NRES name="NRES" filter_name="nres_disabled" />
  </CalculatorFilter>
  <CavityVolume name="cav_vol_disabled" />
  <BuriedUnsatHbonds name="unsat_core_enabled" cutoff=0
task_operations="only_core_residues" jump_number=0 confidence="1"/>
  <RmsdSimple name="rmsd1_chainA_enabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="1"/>
  <RmsdSimple name="rmsd2_chainA_enabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="1"/>
  <RmsdSimple name="rmsd3_chainA_enabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="1"/>
  <CompoundStatement name=all_enabled_filters >
    <AND filter_name=sspred_enabled />
    <AND filter_name=score_res_enabled />
    <AND filter_name=packstat_enabled />
    <AND filter_name=unsat_core_enabled />
  </CompoundStatement>
</FILTERS>

<FILTERS>
  <!--Chain A Filters-->
  <!--Not Enabled-->
  <MoveBeforeFilter name="packstat_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=packstat_disabled confidence="0"/>
  <MoveBeforeFilter name="sspred_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=sspred_disabled confidence="0"/>
  <MoveBeforeFilter name="score_res_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=score_res_disabled confidence="0"/>
  <MoveBeforeFilter name="cav_vol_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=cav_vol_disabled confidence="0"/>
  <MoveBeforeFilter name="unsat_core_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=unsat_core_disabled confidence="0"/>
  <!--Enabled-->
  <MoveBeforeFilter name="packstat_chainA_enabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=packstat_enabled confidence="1"/>
  <MoveBeforeFilter name="sspred_chainA_enabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=sspred_enabled confidence="1"/>
  <MoveBeforeFilter name="score_res_chainA_enabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=score_res_enabled confidence="1"/>
  <MoveBeforeFilter name="all_enabled_filters_chainA"
mover="keep_only_chain_A" filter=all_enabled_filters confidence="1"/>
  <MoveBeforeFilter name="unsat_core_chainA_enabled"

```

[0493]

```

mover="keep_only_chain_A" filter=unsat_core_enabled confidence="1"/>
</FILTERS>

<RESIDUE_SELECTORS>
  <ResiduePDBInfoHasLabel name="hotspots" property="HOTSPOTB" />
</RESIDUE_SELECTORS>

<TASKOPERATIONS>
  <InitializeFromCommandline name="init"/>
  <IncludeCurrent name="inclcur"/>
  <LimitAromaChi2 name=limitchi2 />
  <DisallowIfNonnative name="only_native_H" disallow_aas="H"/>
  <ReadResfile name="resfile" filename="./input.resfile" />
  <PreventChainFromRepacking name="not_chain_B" chain="2" />
  <PreventChainFromRepacking name="not_chain_C" chain="3" />
  <PreventChainFromRepacking name="not_chain_D" chain="4" />
  <!--Select designable residues by sasa and packable by flag-->
  <SelectBySASA name="only_core_residues" mode="mc" probe_radius=2.0
core_asa=20.0 surface_asa=30.0 core=1 boundary=0 surface=0 verbose=1 />
  <!--Restrict Hotspots to Repacking-->
  <OperateOnResidueSubset name="hotspot_onlyrepack"
selector="hotspots" >
    <RestrictToRepackingRLT/>
  </OperateOnResidueSubset>
  <!--Layer Design as Tom Helped to set omit operations. Thanks Tom
L. :)-->
  <LayerDesign name="layer_all" layer="all"
use_sidechain_neighbors="True" pore_radius="2.0" verbose="true" >
    <NoRepackDisulfides name="disulf" >
      <all aa="c" specification="fixed" operation="omit" />
    </NoRepackDisulfides>
    <OperateOnResidueSubset
name="hotspot_onlyrepack_layerdesignOmit" selector="hotspots" >
      <PreventRepackingRLT/>
      <all specification="fixed" operation="omit" />
    </OperateOnResidueSubset>
    <ReadResfile name="resfile_layerdesignOmit"
filename="./input_fix.resfile" >
      <all specification="fixed" operation="omit" />
    </ReadResfile>
    <core>
      <all append="M" />
    </core>
    <boundary>
      <all append="M" />
    </boundary>
  </LayerDesign>
  <LayerDesign name="layer_boundary_surface"
layer="boundary_surface" use_sidechain_neighbors="True" pore_radius="2.0"
verbose="true" >
    <NoRepackDisulfides name="disulf" >
      <all aa="c" specification="fixed" operation="omit" />
    </NoRepackDisulfides>
    <OperateOnResidueSubset
name="hotspot_onlyrepack_layerdesignOmit" selector="hotspots" >
      <PreventRepackingRLT/>
      <all specification="fixed" operation="omit" />
    </OperateOnResidueSubset>
    <ReadResfile name="resfile_layerdesignOmit"
filename="./input_fix.resfile" >
      <all specification="fixed" operation="omit" />

```

[0494]

[0495]

```

        </ReadResfile>
        <core>
            <all append="M" />
        </core>
        <boundary>
            <all append="M" />
        </boundary>
    </LayerDesign>
</TASKOPERATIONS>

<MOVERS>
    <SavePoseMover name="save_RMSDreference_conformation"
reference_name="reference_conformation"/>
    <AddConstraintsToCurrentConformationMover name=constrainCA
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" CA_only=1 />
    <ClearConstraintsMover name=clearAllConstraints />
    <PackRotamersMover name="design_all_norep"
scorefxn="SFXN6dA_norep_elect"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" />
    <PackRotamersMover name="design_onlyCore_norep"
scorefxn="SFXN6dA_norep_elect"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,only_core_residues,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_
D" />
    <TaskAwareMinMover name="min_vanilla_SC"
scorefxn="SFXN6_vanilla" bb="0" chi="1" jump="1"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" />
    <TaskAwareMinMover name="min_vanilla_BBSC"
scorefxn="SFXN6_vanilla" bb="1" chi="1" jump="1"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" />
    <FastDesign name="fdesign_all_elec" scorefxn="SFXN6dA_vanilla"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D"
only_design_worst_region="0" design_by_psiPred="0"
design_by_frag_qual="0" repeats="3" clear_designable_residues="0"
max_redesigns="2000" >
    <FastRelax name=fast_relax_vanilla scorefxn="SFXN6dA_vanilla">
        <MoveMap name="mappyfr">
            <Chain number=1 chi=1 bb=1/>
            <Chain number=2 chi=0 bb=0/>
            <Chain number=3 chi=0 bb=0/>
            <Chain number=4 chi=0 bb=0/>
            <Jump number=1 setting=0/>
        </MoveMap>
    </FastRelax>
    <ParsedProtocol name="design_all_w_minimize_vanilla" >
        <Add mover_name="constrainCA" /> <!-- START CA-contraints -->
        <Add mover_name="design_all_norep" />
        <Add mover_name="min_vanilla_SC" />
        <Add mover_name="min_vanilla_BBSC" />
        Add filter_name="rmsd_chainA_enabled" /> <!-- Check RMSD -->
        <Add mover_name="clearAllConstraints" /> <!-- END CA-contraints
-->

    </ParsedProtocol>
    <GenericSimulatedAnnealer name="SA_DesignProtein"
mover_name="design_onlyCore_norep" trials="100"
periodic_mover="design_all_w_minimize_vanilla"

```

```

eval_period="20" history="10"
    bolz_rank="1" recover_low="1" preapply="0" drift="1"
    checkpoint_file="mc" keep_checkpoint_file="0"
    filter_name="cav_vol_chainA_disabled" temperature="1.5"
sample_type="low"
    stopping_condition="all_enabled_filters_chainA" >
    <Filters>
        <AND filter_name=unsat_core_chainA_disabled
sample_type="low" temperature=0.05 />
        <AND filter_name="score_res_chainA_disabled"
sample_type="low" temperature=0.05 />
    </Filters>
    </GenericSimulatedAnnealer>
    <GenericMonteCarlo name="MC_FastDesignProtein"
        mover_name="fdesign_all_elec"
        filter_name="cav_vol_chainA_disabled"
        sample_type="low"
        trials="3" preapply="0"
        stopping_condition="all_enabled_filters_chainA" >
        <Filters>
            <AND filter_name="unsat_core_chainA_disabled"
sample_type="low" />
            <AND filter_name="score_res_chainA_disabled"
sample_type="low" />
        </Filters>
    </GenericMonteCarlo>
</MOVERS>

<APPLY_TO_POSE>
</APPLY_TO_POSE>

<PROTOCOLS>
    <Add mover_name=save_RMSDreference_conformation />
    <Add mover_name=SA_DesignProtein />
    <Add filter_name=rmsd1_chainA_enabled />
    <Add mover_name=MC_FastDesignProtein />
    <Add filter_name=rmsd2_chainA_enabled />
    <Add mover_name=fast_relax_vanilla />
    <Add filter_name=rmsd3_chainA_enabled />
    <Add filter_name=unsat_core_chainA_enabled />
    <Add filter_name=score_res_chainA_enabled />
    <Add filter_name=sspred_chainA_enabled />
    <Add filter_name=packstat_chainA_disabled />
    <Add filter_name=cav_vol_chainA_disabled />
</PROTOCOLS>
</ROSETTASCRIPTS>

```

[0497] 附件C。新的2代模拟物(即基于G1_Neo2_40_1F作为模板的模拟物)的序列设计的RosettaScripts XML方案。

```
<ROSETTASCRIPTS>
  <SCOREFXNS>
    <SFXN6_vanilla weights="./talaris2014_cart.wts" symmetric=0 />
    <SFXN6dA_vanilla weights="./talaris2014_cart_downAla.wts"
symmetric=0 />
[0498]    <SFXN6dA_norep_elect weights="./talaris2014_cart_downAla.wts"
symmetric=0 >
          <Reweight scoretype=fa_rep weight=0.05 />
          <Reweight scoretype=fa_elec weight=1.0 />
    </SFXN6dA_norep_elect >
    <SFXN6dA_elect weights="./talaris2014_cart_downAla.wts"
```

```

symmetric=0 >
    <Reweight scoretype=fa_elec weight=2.0 />
    </SFXN6dA_elect >
</SCOREFXNS>

<MOVERS>
    <SwitchChainOrder name="keep_only_chain_A" chain_order="1"/>
</MOVERS>

<FILTERS>
<!--Not Enabled-->
    <Holes name="holes_disabled" threshold="1.2" confidence="0"/>
    <ScoreType name="score_disabled" scorefxn="SFXN6_vanilla"
score_type="total_score" threshold=0.0 confidence="0" />
    <ResidueCount name="nres_disabled" confidence="0" />
    <PackStat name="packstat_disabled" threshold="0.65" repeats="3"
confidence="0" />
    <SSPrediction name="sspred_disabled"
cmd="/work/dadriano/PROGRAMS/psipred/runpsipred_single"
use_probability="0" use_svm="0" threshold=0.85 confidence="0"/>
    <BuriedUnsatHbonds name="unsat_core_disabled" cutoff=0
task_operations="only_core_residues" jump_number=0 confidence="0"/>
    <RmsdSimple name="rmsd1_chainA_disabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="0"/>
    <RmsdSimple name="rmsd2_chainA_disabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="0"/>
    <RmsdSimple name="rmsd3_chainA_disabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="0"/>
    <CalculatorFilter name="score_res_disabled" equation="SCORE/NRES"
threshold="-1.8" confidence="0">
        <SCORE name="SCORE" filter_name="score_disabled" />
        <NRES name="NRES" filter_name="nres_disabled" />
    </CalculatorFilter>

<!--Enabled-->
    <PackStat name="packstat_enabled" threshold="0.65" repeats="3"
confidence="1" />
    <SSPrediction name="sspred_enabled"
cmd="/work/dadriano/PROGRAMS/psipred/runpsipred_single"
use_probability="0" use_svm="0" threshold=0.85 confidence="1"/>
    <CalculatorFilter name="score_res_enabled" equation="SCORE/NRES"
threshold="-1.8" confidence="1">
        <SCORE name="SCORE" filter_name="score_disabled" />
        <NRES name="NRES" filter_name="nres_disabled" />
    </CalculatorFilter>
    <CavityVolume name="cav_vol_disabled" />
    <BuriedUnsatHbonds name="unsat_core_enabled" cutoff=0
task_operations="only_core_residues" jump_number=0 confidence="1"/>
    <RmsdSimple name="rmsd1_chainA_enabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="1"/>
    <RmsdSimple name="rmsd2_chainA_enabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="1"/>
    <RmsdSimple name="rmsd3_chainA_enabled"
reference_name="reference_conformation" chain="1" align="1"
threshold="1.0" confidence="1"/>
    <CompoundStatement name=all_enabled_filters >

```

[0499]

```

        <AND filter_name=sspred_enabled />
        <AND filter_name=score_res_enabled />
        <AND filter_name=packstat_enabled />
        <AND filter_name=unsat_core_enabled />
    </CompoundStatement>
</FILTERS>

<FILTERS>
    <!--Chain A Filters-->
    <!--Not Enabled-->
    <MoveBeforeFilter name="packstat_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=packstat_disabled confidence="0"/>
    <MoveBeforeFilter name="sspred_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=sspred_disabled confidence="0"/>
    <MoveBeforeFilter name="score_res_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=score_res_disabled confidence="0"/>
    <MoveBeforeFilter name="cav_vol_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=cav_vol_disabled confidence="0"/>
    <MoveBeforeFilter name="unsat_core_chainA_disabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=unsat_core_disabled confidence="0"/>
    <!--Enabled-->
    <MoveBeforeFilter name="packstat_chainA_enabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=packstat_enabled confidence="1"/>
    <MoveBeforeFilter name="sspred_chainA_enabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=sspred_enabled confidence="1"/>
    <MoveBeforeFilter name="score_res_chainA_enabled"
mover="keep_only_chain_A" filter=score_res_enabled confidence="1"/>
    <MoveBeforeFilter name="all_enabled_filters_chainA"
mover="keep_only_chain_A" filter=all_enabled_filters confidence="1"/>
    <MoveBeforeFilter name="unsat_core_chainA_enabled"
[0500] mover="keep_only_chain_A" filter=unsat_core_enabled confidence="1"/>
</FILTERS>

<RESIDUE_SELECTORS>
    <ResiduePDBInfoHasLabel name="hotspots" property="HOTSPOTB" />
</RESIDUE_SELECTORS>

<TASKOPERATIONS>
    <InitializeFromCommandline name="init"/>
    <IncludeCurrent name="inclcur"/>
    <LimitAromaChi2 name=limitchi2 />
    <DisallowIfNonnative name="only_native_H" disallow_aas="H"/>
    <ReadResfile name="resfile" filename="./input.resfile" />
    <PreventChainFromRepacking name="not_chain_B" chain="2" />
    <PreventChainFromRepacking name="not_chain_C" chain="3" />
    <PreventChainFromRepacking name="not_chain_D" chain="4" />
    <!--Select designable residues by sasa and packable by flag-->
    <SelectBySASA name="only_core_residues" mode="mc" probe_radius=2.0
core_asa=20.0 surface_asa=30.0 core=1 boundary=0 surface=0 verbose=1 />
    <!--Restrict Hotspots to Repacking-->
    <OperateOnResidueSubset name="hotspot_onlyrepack"
selector="hotspots" >
        <RestrictToRepackingRLT/>
    </OperateOnResidueSubset>
    <!--Layer Design as Tom Helped to set omit operations. Thanks Tom
L. :)-->
    <LayerDesign name="layer_all" layer="all"
use_sidechain_neighbors="True" pore_radius="2.0" verbose="true" >
        <NoRepackDisulfides name="disulf" >
            <all aa="c" specification="fixed" operation="omit" />
        </NoRepackDisulfides>

```

[0501]

```

        <OperateOnResidueSubset
name="hotspot_onlyrepack_layerdesignOmit" selector="hotspots" >
        <PreventRepackingRLT/>
        <all specification="fixed" operation="omit" />
    </OperateOnResidueSubset>
    <ReadResfile name="resfile_layerdesignOmit"
filename="./input_fix.resfile" >
        <all specification="fixed" operation="omit" />
    </ReadResfile>
    <core>
        <all append="M" />
    </core>
    <boundary>
        <all append="M" />
    </boundary>
</LayerDesign>
<LayerDesign name="layer_boundary_surface"
layer="boundary_surface" use_sidechain_neighbors="True" pore_radius="2.0"
verbose="true" >
    <NoRepackDisulfides name="disulf" >
        <all aa="c" specification="fixed" operation="omit" />
    </NoRepackDisulfides>
    <OperateOnResidueSubset
name="hotspot_onlyrepack_layerdesignOmit" selector="hotspots" >
        <PreventRepackingRLT/>
        <all specification="fixed" operation="omit" />
    </OperateOnResidueSubset>
    <ReadResfile name="resfile_layerdesignOmit"
filename="./input_fix.resfile" >
        <all specification="fixed" operation="omit" />
    </ReadResfile>
    <core>
        <all append="M" />
    </core>
    <boundary>
        <all append="M" />
    </boundary>
</LayerDesign>
</TASKOPERATIONS>

<MOVERS>
    <SavePoseMover name="save_RMSDreference_conformation"
reference_name="reference_conformation"/>
    <AddConstraintsToCurrentConformationMover name=constrainCA
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" CA_only=1 />
    <ClearConstraintsMover name=clearAllConstraints />
    <PackRotamersMover name="design_all_norep"
scorefxn="SFXN6dA_norep_elect"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" />
    <PackRotamersMover name="design_onlyCore_norep"
scorefxn="SFXN6dA_norep_elect"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,only_core_residues,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_
D" />
    <TaskAwareMinMover name="min_vanilla_SC"
scorefxn="SFXN6_vanilla" bb="0" chi="1" jump="1"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" />
    <TaskAwareMinMover name="min_vanilla_BBSC"

```

```

scorefxn="SFXN6_vanilla" bb="1" chi="1" jump="1"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D" />
  <FastDesign name="fdesign_all_elec" scorefxn="SFXN6dA_vanilla"
task_operations="init,resfile,inclcur,limitchi2,only_native_H,layer_all,
hotspot_onlyrepack,not_chain_B,not_chain_C,not_chain_D"
only_design_worst_region="0" design_by_psisred="0"
design_by_frag_qual="0" repeats="3" clear_designable_residues="0"
max_redesigns="2000" >
    <FastRelax name=fast_relax_vanilla scorefxn="SFXN6dA_vanilla">
      <MoveMap name="mappyfr">
        <Chain number=1 chi=1 bb=1/>
        <Chain number=2 chi=0 bb=0/>
        <Chain number=3 chi=0 bb=0/>
        <Chain number=4 chi=0 bb=0/>
        <Jump number=1 setting=0/>
      </MoveMap>
    </FastRelax>
    <ParsedProtocol name="design_all_w_minimize_vanilla" >
      <Add mover_name="constrainCA" /> <!-- START CA-constraints -->
      <Add mover_name="design_all_norep" />
      <Add mover_name="min_vanilla_SC" />
      <Add mover_name="min_vanilla_BBSC" />
      Add filter_name="rmsd_chainA_enabled" /> <!-- Check RMSD -->
      <Add mover_name="clearAllConstraints" /> <!-- END CA-constraints
-->
    </ParsedProtocol>
    <GenericSimulatedAnnealer name="SA_DesignProtein"
      mover_name="design_onlyCore_norep" trials="100"
      periodic_mover="design_all_w_minimize_vanilla"
[0502] eval_period="20" history="10"
      bolz_rank="1" recover_low="1" preapply="0" drift="1"
      checkpoint_file="mc" keep_checkpoint_file="0"
      filter_name="cav_vol_chainA_disabled" temperature="1.5"
      sample_type="low"
      stopping_condition="all_enabled_filters_chainA" >
      <Filters>
        <AND filter_name=unsat_core_chainA_disabled
sample_type="low" temperature=0.05 />
        <AND filter_name="score_res_chainA_disabled"
sample_type="low" temperature=0.05 />
      </Filters>
    </GenericSimulatedAnnealer>
    <GenericMonteCarlo name="MC_FastDesignProtein"
      mover_name="fdesign_all_elec"
      filter_name="cav_vol_chainA_disabled"
      sample_type="low"
      trials="3" preapply="0"
      stopping_condition="all_enabled_filters_chainA" >
      <Filters>
        <AND filter_name="unsat_core_chainA_disabled"
sample_type="low" />
        <AND filter_name="score_res_chainA_disabled"
sample_type="low" />
      </Filters>
    </GenericMonteCarlo>
  </MOVERS>

  <APPLY_TO_POSE>
  </APPLY_TO_POSE>

```

```
[0503] <PROTOCOLS>
      <Add mover_name=save_RMSDreference_conformation />
      <Add mover_name=SA_DesignProtein />
      <Add filter_name=rmsd1_chainA_enabled />
      <Add mover_name=MC_FastDesignProtein />
      <Add filter_name=rmsd2_chainA_enabled />
      <Add mover_name=fast_relax_vanilla />
      <Add filter_name=rmsd3_chainA_enabled />
      <Add filter_name=unsat_core_chainA_enabled />
      <Add filter_name=score_res_chainA_enabled />
      <Add filter_name=sspred_chainA_enabled />
      <Add filter_name=packstat_chainA_disabled />
      <Add filter_name=cav_vol_chainA_disabled />
    </PROTOCOLS>
  </ROSETTASCRIPTS>
```

序列表

<110> 华盛顿大学(University of Washington)

D·A·席尔瓦·曼扎诺(Silva Manzano, Daniel A.)

S·余(Yu, Shawn)

U·乌尔盖(Ulge, Umut)

D·贝克(Baker, David)

K·C·加西亚(Garcia, Kenan C.)

J·斯潘格勒(Spangler, Jamie)

C·沃基(Walkey, Carl)

K·裘德(Jude, Kevin)

A·Q·鲁比奥(Rubio, Alfredo Q.)

<120> 有力的且选择性的白介素模拟物的从头设计

<130> 18-789-PCT

<150> 62/689,769

<151> 2018-06-25

<150> 62/768,733

<151> 2018-11-16

<160> 262

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 1

Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala Leu

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 2

Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 3

Ile Thr Ile Leu Gln Ser Trp Ile Phe

1 5

<210> 4

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 4

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Ile

20

<210> 5

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 5

Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile Ala

1 5 10 15

Arg Leu Phe Glu Ser Gly

20

<210> 6

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 6

Glu Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln

1 5 10 15

Ser Trp Ile Phe Ser

20

<210> 7

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 7

Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg

1

5

10

15

Ile Lys Thr

<210> 8

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 8

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Ile Met Ala Glu Glu Ala Leu Lys Asp Ala

1

5

10

15

Leu Ser Ile Leu Asn Ile

20

<210> 9

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 9

Leu Glu Arg Phe Ala Lys Arg Phe Glu Arg Asn Leu Trp Gly Ile Ala

1

5

10

15

Arg Leu Phe Glu Ser Gly

20

<210> 10

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 10

Glu Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln

1 5 10 15

Ser Trp Phe Phe Ser

20

<210> 11

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 11

Ser Thr Lys Lys Trp Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Trp

1 5 10 15

Gln Met Ala Leu Asn Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asn Leu Asn Arg

20 25 30

Ala Ile Thr Ala Ala Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu

35 40 45

Asp Lys Ala Glu Asp Ile Arg Arg Asn Ser Asp Gln Ala Arg Arg Glu

50 55 60

Ala Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ala Gln

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Ala Arg

85

<210> 12

<211> 87

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (27)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (43) .. (47)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (68) .. (72)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 12
 Ser Thr Lys Lys Trp Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Trp
 1 5 10 15
 Gln Met Ala Leu Asn Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asn Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ala Ile Thr Ala Ala Gln Ser Cys Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
 35 40 45
 Asp Lys Ala Glu Asp Ile Arg Arg Asn Ser Asp Gln Ala Arg Arg Glu
 50 55 60
 Ala Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ala Gln
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Ala Arg
 85
 <210> 13
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (27)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 13

Ser Thr Lys Lys Trp Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Trp

1 5 10 15

Gln Met Ala Leu Asn Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asn Leu Asn Arg

20 25 30

Ala Ile Thr Ala Ala Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys

35 40 45

Asp Lys Ala Glu Asp Ile Arg Arg Asn Ser Asp Gln Ala Arg Arg Glu

50 55 60

Ala Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ala Gln

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Ala Cys

85

<210> 14

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 14

```
Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Phe Leu Leu Asp Val
1          5          10          15
Gln Met Ile Leu Asn Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Glu Leu Asn Arg
          20          25          30
Ala Ile Thr Asp Ala Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
          35          40          45
Asp Arg Ala Glu Glu Leu Ala Arg Asn Leu Glu Lys Val Arg Asp Glu
          50          55          60
Ala Leu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Val Ser Asn Ala Lys
65          70          75          80
Val Ile Ala Leu Glu Leu Lys
          85
```

<210> 15

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 15

```
Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Phe Leu Leu Asp Val
1          5          10          15
Gln Met Ile Leu Asn Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Glu Leu Asn Arg
          20          25          30
Cys Ile Thr Asp Ala Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
          35          40          45
Asp Arg Ala Glu Glu Cys Ala Arg Asn Leu Glu Lys Val Arg Asp Glu
```


〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle \quad (23) \dots (27)$

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

$\langle 222 \rangle$ (43) . . (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle$ (68) . . (72)

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 17

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Phe Leu Leu Asp Val

1 5 10 15

Gln Met Ile Leu Asn Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Glu Leu Asn Arg

20 25 30

Ala Ile Thr Asp Ala Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu

35 40 45

Asp Arg Ala Glu Glu Leu Cys Arg Asn Leu Glu Lys Val Arg Asp Glu

50 55 60

Ala Leu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Val Ser Asn Ala Cys

65 70 75 80

Val Ile Ala Leu Glu Leu Lys

85

 $\langle 210 \rangle$ 18

<211> 87

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle \quad (23) \dots (27)$

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 18

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Gln Met Met Leu Asn Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu

35 40 45

Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Arg Gln Glu

50 55 60

Ala Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Ala Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 19

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 19

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Gln Met Met Leu Asn Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Cys Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
 35 40 45
 Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Arg Gln Glu
 50 55 60
 Ala Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 20

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 20

Ser Thr Lys Lys Ile Gln Leu Gln Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Val
 1 5 10 15
 Gln Met Ala Leu Asn Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Ser Leu Asn Arg
 20 25 30
 Met Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
 35 40 45
 Asp Asn Ala Gln Glu Met Ala Lys Glu Ala Glu Lys Ile Arg Lys Glu
 50 55 60

〈213〉 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 22

Ser Thr Lys Lys Ile Gln Leu Gln Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Val

1 5 10 15

Gln Met Ala Leu Asn Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Ser Leu Asn Arg

20 25 30

Met Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu

35 40 45

Asp Asn Ala Gln Glu Met Cys Lys Glu Ala Glu Lys Ile Arg Lys Glu

50 55 60

Met Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Cys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ser

85

<210> 23

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 23

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Phe Met Met Leu Asn Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala

35 40 45

Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu

50 55 60

Tyr Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 24

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 24

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1	5	10	15
His Met Met Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg			
	20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly			
	35	40	45
Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu			
	50	55	60
Tyr Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Glu Ala Ser Asn Leu Lys			
65	70	75	80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala			

85

<210> 25

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (37)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失t

<400> 25

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15
Phe Met Met Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg			
	20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly			
	35	40	45
Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu			
	50	55	60
Phe Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Glu Ala Ser Asn Leu Lys			

65	70	75	80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala			
	85		
<210> 26			
<211> 87			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<220>			
<221> 混杂特征			
<222> (23) .. (27)			
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失			
<220>			
<221> 混杂特征			
<222> (43) .. (47)			
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失			
<220>			
<221> 混杂特征			
<222> (68) .. (72)			
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失			
<400> 26			
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15
Leu Met Met Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg			
	20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly			
	35	40	45
Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu			
	50	55	60
Leu Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys			
65	70	75	80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala			
	85		
<210> 27			
<211> 87			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			

〈223〉 合成的

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle \quad (23) \dots (27)$

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle$ (43) . . (47)

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle$ (68) . . (72)

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 27

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

His Met Met Leu Asn Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

35 40 45

Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu

50 55 60

Leu Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

⟨210⟩ 28

<211> 87

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle \quad (23) \dots (27)$

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

$\langle 222 \rangle$ (43) . . (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 28

```
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg
           20           25           30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
           35           40           45
Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
           50           55           60
His Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
65           70           75           80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
           85
```

<210> 29

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 29

```
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
```

Tyr Met Met Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
 35 40 45
 Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 Leu Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 30

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 30

Ser Thr Lys Lys Thr His Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Tyr Met Met Leu Asn Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
 35 40 45
 Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 Phe Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 31

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 31

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Tyr Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Ala

35 40 45

Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Ile Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu

50 55 60

Tyr Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 32

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 32

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Met Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Phe Met Met Leu Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly

35 40 45

Asp Asp Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu

50 55 60

Leu Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 33

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 33

```
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ile Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1          5          10          15
Leu Asp Met Ser Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Ser Arg
          20          25          30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
          35          40          45
Asp Gly Ala Gln Gln Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
          50          55          60
His Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Glu Ala Ser Asn Leu Lys
65          70          75          80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
          85
```

<210> 34

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 34

```
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1          5          10          15
Leu His Met Arg Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Ser Arg
```

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 36
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (22) .. (27)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (43) .. (47)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (68) .. (72)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 36
 Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu His Met Ser Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Asp Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
 35 40 45
 Asp Gly Ala Gln Asp Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 His Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 37
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 37

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ile Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Leu His Met Ser Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Ser Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly

35 40 45

Asp Gly Ala Gln His Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu

50 55 60

His Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Glu Ala Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 38

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 38

```
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ile Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu His Met Lys Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Asn Arg
           20           25           30
Ile Ile Thr Asn Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
           35           40           45
Asp Gly Ala Gln Asp Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
           50           55           60
His Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
65           70           75           80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
           85
```

<210> 39

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 39

```
Ser Thr Glu Lys Thr Gln Leu Ala Ala Glu His Ala Leu Arg Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Leu Lys His Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Ala Arg
           20           25           30
```

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Gln Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
 35 40 45
 Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Gln Gln Glu
 50 55 60
 His Glu Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu His Leu Ala
 85

<210> 40

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (47)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 40

Ser Thr Lys Asn Thr Gln Leu Ala Ala Glu Asp Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Arg Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Lys Leu Ala Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Gln Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly
 35 40 45
 Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Gln Gln Glu
 50 55 60
 His Glu Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Gln Leu Ala
 85

<210> 41
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (27)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (43) .. (47)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (68) .. (72)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 41

Ser	Thr	Glu	Lys	Thr	Gln	His	Ala	Ala	Glu	Asp	Ala	Leu	Arg	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Leu	Arg	Asn	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Glu	Lys	Leu	Ala	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Thr	Met	Gln	Ser	Trp	Gln	Phe	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Gly
		35				40						45			
Asp	Gly	Ala	Gln	Glu	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Gln	Gln	Glu
	50					55					60				
His	Glu	Val	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70					75				80	
Val	Ile	Leu	Leu	Gln	Leu	Ala									
					85										

<210> 42
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征

<222> (23) .. (30)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (45) .. (49)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (69) .. (72)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 42

Thr Gln Lys Lys Gln Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Arg

20 25 30

Met Ile Thr Ile Ala Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Xaa Glu Ala Lys Glu Met Ile Lys Met Ala Glu Gln Ala Glu Glu Glu

50 55 60

Ala Arg Arg Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Lys Glu Ile Ala

85

<210> 43

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 43

```

Thr Thr Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Met Asn Arg
           20           25           30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
           35           40           45
Asp Gln Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
           50           55           60
Phe Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
65           70           75           80
Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser
           85

```

<210> 44

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 44

```

Thr Thr Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
           20           25           30
Ile Ile Thr Thr Leu Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

```

35	40	45
Asp Arg Ala Arg Glu Leu	Ala Lys Leu Leu Glu Glu	Ile Arg Glu Glu
50	55	60
Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa	Xaa Xaa Asp Tyr Val	Ser Asn Met Ile
65	70	75
Val Ile Ile Arg Glu Leu	Ala	

85

<210> 45

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 45

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu	Ala Glu His Val Leu Leu	Asp Leu
1	5	10
15		

Leu Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa	Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Met Asn Arg
20	25
30	

Leu Ile Thr Ile Val Gln Ser Trp Ile	Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35	40
45	

Asp Gln Ala Glu Glu Met Ala Lys Trp	Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
50	55
60	

Phe Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa	Xaa Asp Tyr Ala Ser Asn Val Lys
65	70
75	80

Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser

85

<210> 46

<211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (28)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (43) .. (48)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (68) .. (73)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 46

Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ile	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Val	Leu	Asn	Met	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Lys	Leu	Asn	Arg
			20					25						30	
Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
		35					40						45		
Asp	Leu	Ala	Glu	Glu	Met	Glu	Lys	Leu	Met	Gln	Glu	Ile	Glu	Glu	Glu
	50					55				60					
Leu	Arg	Arg	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Met	Arg
65					70					75					80
Val	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Ser									
				85											

<210> 47
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 47

Thr	Lys	Lys	Lys	Leu	Gln	Leu	Leu	Val	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Met
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Met	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Lys	Leu	Asn	Arg
			20					25						30	
Leu	Ile	Thr	Glu	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			35				40						45		
Asp	Lys	Ala	Glu	Glu	Met	Trp	Lys	Ile	Met	Glu	Glu	Ile	Glu	Lys	Glu
			50				55					60			
Leu	Arg	Glu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Ala	Lys
65					70					75					80
Val	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Ser									
					85										

<210> 48

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 48

Thr Ser Lys Lys Gln Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Val Asn Arg

20 25 30

Ala Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Gln Ala Glu Glu Met Arg Lys Leu Ala Glu Gln Ile Arg Glu Glu

50 55 60

Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Glu

65 70 75 80

Val Ile Ala Lys Glu Leu Ser

85

<210> 49

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 49

Thr Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Ile Glu His Leu Leu Leu Asp Leu

1 5 10 15

Leu Met Val Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Ile Asn Arg

20 25 30

Leu Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Leu Ala Glu Glu Met Tyr Lys Ile Leu Glu Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60
 Met Arg Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Met Ser Asn Met Arg
 65 70 75 80
 Val Ile Val Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 50

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 50

Thr Lys Lys Lys Trp Gln Leu Leu Ile Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Leu Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Asp Leu Ala Glu Glu Met Lys Lys Met Met Asp Glu Ile Glu Asp Glu
 50 55 60
 Leu Arg Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Met Ser Asn Ala Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Ile Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 51

<211> 87

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<220>
<221> 混杂特征
<222> (23) .. (28)
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
<220>
<221> 混杂特征
<222> (43) .. (48)
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
<220>
<221> 混杂特征
<222> (68) .. (73)
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
<400> 51

[illegible]

<210> 52
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (24) .. (28)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 52

```
Thr Glu Lys Lys Leu Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1              5              10              15
Leu Met Ile Leu Asn Leu Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
              20              25              30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
              35              40              45
Asp Lys Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
              50              55              60
Ala Arg Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys
65              70              75              80
Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser
              85
```

<210> 53

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 53

```

Thr Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Met Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
1           5           10           15
Leu Met Val Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
           20           25           30
Leu Ile Thr Ile Ile Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
           35           40           45
Asp Lys Ala Glu Glu Met Ala Lys Met Leu Lys Glu Ile Glu Asp Glu
           50           55           60
Leu Arg Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Met Ser Asn Met Ile
65           70           75           80
Val Ile Met Lys Glu Leu Ser
           85

```

<210> 54

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 54

```

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

```


<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 56

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Arg Ala Arg Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Ile Arg Asp Glu

50 55 60

Met Glu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys

65 70 75 80

Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala

85

<210> 57

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 57

Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ile	Glu	His	Val	Leu	Leu	Asp	Leu
1				5					10					15	
Leu	Met	Leu	Leu	Asn	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Lys	Met	Asn	Arg
				20				25						30	
Leu	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
				35				40						45	
Asp	Lys	Ala	Glu	Glu	Met	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Leu	Arg	Glu	Glu
				50				55						60	
Phe	Arg	Glu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr	Ile	Ser	Asn	Ala	Ile
65								70						75	80
Val	Ile	Leu	Lys	Glu	Leu	Ser									
															85

<210> 58

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 58

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Asp Arg Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60
 Phe Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 59

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 59

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Asp Gln Ala Arg Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60

Phe Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala
 85

<210> 60

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> vnt

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 60

Thr Lys Lys Lys Leu Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Asp Gln Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Ile Arg Glu Glu
 50 55 60
 Leu Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 61

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 61

Thr Thr Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Gln Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Arg Glu Ile Arg Glu Glu

50 55 60

Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Glu

65 70 75 80

Val Ile Leu Arg Glu Leu Ser

85

<210> 62

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 62

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Arg Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Arg Glu Ile Arg Glu Glu

50 55 60

Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Glu

65 70 75 80

Val Ile Leu Arg Glu Leu Ser

85

<210> 63

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 63

Thr Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Ile Glu His Leu Leu Leu Asp Leu

1	5	10	15
Leu Met Ile Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Leu Asn Arg			
20	25	30	
Leu Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Phe Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa			
35	40	45	
Asp Lys Ala Glu Glu Trp Ala Lys Ile Leu Lys Glu Ile Arg Glu Glu			
50	55	60	
Leu Arg Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Met Ser Asn Ala Ile			
65	70	75	80
Val Ile Met Lys Glu Leu Ser			

85

<210> 64

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 64

Thr Asp Lys Lys Leu Gln Leu Leu Val Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
1 5 10 15
Leu Met Met Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Met Asn Arg
20 25 30
Leu Ile Thr Ile Ala Gln Ser Trp Ile Phe Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45
Asp Leu Ala Arg Glu Met Ile Lys Leu Leu Glu Glu Thr Glu Asp Glu
50 55 60
Asn Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Ala Arg

143

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 66

Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ile	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Lys	Leu	Asn	Arg
				20				25						30	
Ile	Ile	Thr	Thr	Met	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
				35				40						45	
Asp	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Glu	Lys	Leu	Ala	Lys	Glu	Ile	Glu	Asp	Glu
				50				55						60	
Ala	Arg	Glu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Leu	Arg
65						70				75					80
Val	Ile	Leu	Lys	Glu	Leu	Ser									
															85

<210> 67

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 67

Thr	Lys	Lys	Lys	Ala	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Leu	Leu	Asn	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Arg	Leu	Asn	Arg
				20				25						30	
Ile	Ile	Thr	Trp	Leu	Gln	Ser	Ile	Ile	Phe	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
				35				40						45	
Asp	Met	Val	Lys	Glu	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Asp	Glu	Ile	Glu	Asp	Glu
				50				55						60	
Met	Arg	Lys	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Leu	Arg
65						70				75					80
Val	Ile	Leu	Gln	Glu	Leu	Ala									
															85

<210> 68

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (43) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 68

Thr	Gln	Lys	Lys	Asn	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	

Leu Met Val Leu Asn Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Ala Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Trp Ala Gln Ser Trp Ile Phe Glu Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Asn Lys Ala Glu Glu Ala Lys Lys Leu Ala Lys Lys Leu Glu Glu Glu
 50 55 60
 Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Ile Ser Asn Met Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Ala Glu Glu Met Ser
 85

<210> 69

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (21) .. (29)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (46) .. (50)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (80)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 69

Glu Asp Tyr Tyr Ser Asn Leu Lys Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala Arg
 1 5 10 15
 Glu Met Glu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Arg Gln
 20 25 30
 Trp Lys Lys Ile Val Glu Arg Ile Arg Gln Ile Arg Ser Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Xaa Xaa Asn Glu Ala Lys Glu Leu Leu Asn Arg Leu Ile Thr Tyr Ile
 50 55 60
 Gln Ser Gln Ile Phe Glu Ile Ser Glu Arg Ile Arg Xaa Xaa Xaa Xaa
 65 70 75 80

Glu Lys Lys Glu Glu Ser Trp Lys Lys Trp Gln Leu Leu Leu Glu His
 85 90 95

Ala Leu Leu Asp Val Leu Met Leu Leu Asn Asp
 100 105

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (55) .. (56)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (79) .. (82)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 70

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Ile Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15

Leu Met Leu Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Thr Glu Ser
 20 25 30

Lys Phe Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Ala Glu Val Ile Ala Glu Glu Leu
 35 40 45

Ala Lys Leu Met Glu Ser Xaa Xaa Leu Ser Asp Glu Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

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

Xaa Xaa Trp Ser Thr Leu Glu Asp Lys Ala Arg Glu Leu Leu Asn Arg
 85 90 95

Ile Ile Thr Thr Ile Gln Ser Gln Ile Phe Tyr
 100 105

<210> 71

<211> 104

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (25) .. (31)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (55) .. (57)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (80) .. (83)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 71
 Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Ile Leu Leu Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Met Ile Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
 20 25 30
 Glu Met Glu Asp Tyr Trp Ser Asn Val Arg Val Ile Leu Arg Glu Leu
 35 40 45
 Ala Arg Leu Met Glu Glu Xaa Xaa Xaa Lys Glu Leu Ser Glu Leu Met
 50 55 60
 Glu Arg Met Arg Lys Ile Val Glu Lys Ile Arg Gln Ile Val Thr Xaa
 65 70 75 80
 Xaa Xaa Xaa Leu Asp Thr Ala Arg Glu Trp Leu Asn Arg Leu Ile Thr
 85 90 95
 Trp Ile Gln Ser Leu Ile Phe Arg
 100
 <210> 72
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (55) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (80) .. (83)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 72

```
Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Ile Leu Leu Asp Leu
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Thr Glu Ser
          20           25           30
Glu Met Glu Asp Tyr Trp Ser Asn Val Arg Val Ile Leu Arg Glu Leu
        35           40           45
Ala Arg Leu Met Glu Glu Xaa Xaa Xaa Lys Glu Leu Ser Glu Leu Met
        50           55           60
Glu Arg Met Arg Lys Ile Val Glu Lys Ile Arg Gln Ile Val Thr Xaa
65           70           75           80
Xaa Xaa Xaa Leu Asp Thr Ala Arg Glu Trp Leu Asn Arg Leu Ile Thr
          85           90           95
Trp Ile Gln Ser Leu Ile Phe Arg
          100
```

<210> 73

<211> 96

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (47) .. (50)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (72) .. (75)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 73

```
Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Leu Leu Leu Asp Val
1           5           10           15
Leu Met Met Leu Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Ala Ser Asn
           20           25           30
Ala Gln Val Ile Ala Asp Glu Phe Arg Glu Leu Ala Arg Glu Xaa Xaa
           35           40           45
Xaa Xaa Asp Glu Ala Lys Lys Ala Glu Lys Ile Ile Glu Ala Leu Glu
           50           55           60
Arg Ala Arg Glu Trp Leu Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Glu Lys Ala Lys
65           70           75           80
Glu Ala Leu Asn Arg Ala Ile Thr Ile Ala Gln Ser Trp Ile Phe Asn
           85           90           95
```

<210> 74

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (55) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (80) .. (83)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 74

```
Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Asn Ile Glu Ser
```

<400> 75

151

65	70	75	80
Xaa Xaa Xaa Lys Glu Arg Ala Lys Glu Glu Leu Asn Arg Leu Ile Thr			
	85	90	95
Tyr Val Gln Ser Glu Ile Phe Arg			
100			

<210> 76

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (22) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 76

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15
Leu Met Ile Leu Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asn Ala Glu Glu			
	20	25	30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Val Glu Val Ile Leu Glu Glu Ile			
35	40	45	
Ala Arg Leu Met Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala			
50	55	60	
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu			
65	70	75	80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Arg Ile Ile Thr Leu Leu Gln Ser			
	85	90	95
Trp Ile Phe Ser			
100			

<210> 77

<211> 100
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (22) .. (27)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (54) .. (57)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (77) .. (79)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 77

Pro	Glu	Lys	Lys	Arg	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5				10						15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Gln	Asn	Ala	Glu	Glu
				20				25						30	
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Val	Glu	Val	Ile	Met	Glu	Glu	Phe
				35				40						45	
Ala	Arg	Met	Met	Arg	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ser	Glu	Glu	Ala	Glu	Asn	Ala
				50				55						60	
Glu	Arg	Ile	Lys	Lys	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Ser	Ser	Xaa	Xaa	Xaa	Ser
65					70					75					80
Glu	Glu	Gln	Arg	Glu	Met	Met	Asn	Arg	Ala	Ile	Thr	Leu	Met	Gln	Ser
				85						90					95
Trp	Ile	Phe	Glu												
															100

<210> 78
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (58)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (75) .. (78)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 78

Pro	Glu	Lys	Lys	Arg	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5				10						15	
Leu	Met	Val	Leu	Asn	Met	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asn	Thr	Glu	Glu
			20					25						30	
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ile	Ser	Asn	Met	Lys	Val	Ile	Ile	Lys	Glu	Met
			35					40						45	
Ile	Glu	Leu	Met	Arg	Ser	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Glu	Glu	Ala	Glu	Lys	Trp
			50					55						60	
Lys	Glu	Ala	Leu	Lys	Ala	Val	Glu	Lys	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Ser
65				70						75				80	
Glu	Thr	Ala	Arg	Glu	Leu	Ala	Asn	Arg	Ile	Ile	Thr	Leu	Ala	Gln	Ser
				85						90				95	
Ala	Ile	Phe	Tyr												
				100											

<210> 79

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (58)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (78)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 79

```
Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10          15
Leu Met Phe Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Ala Glu Glu
          20          25          30
Lys Ile Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Arg Val Ile Ala Glu Glu Leu
          35          40          45
Ala Arg Leu Phe Glu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Asp Glu Ala Gln Lys Ala
          50          55          60
Lys Asp Ile Lys Glu Leu Ala Glu Arg Ala Arg Ser Xaa Xaa Ser Ser
65          70          75          80
Glu Lys Arg Lys Glu Ala Met Asn Arg Ala Ile Thr Ile Leu Gln Ser
          85          90          95
Met Ile Phe Arg
          100
```

<210> 80

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (27)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (58)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失t

<220>

<221> 混杂特征

<222> (75) .. (78)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 80

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Asn Thr Glu Ser
 20 25 30
 Lys Leu Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Leu Lys Val Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Met Glu Ser Leu Xaa Xaa Xaa Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Glu Ala Met Arg Leu Ala Asp Lys Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Lys Lys Glu Ala Met Asn Arg Val Ile Thr Trp Ala Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Asn
 100

<210> 81

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (29)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (58)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 81

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

Ala Lys Leu Met Glu Ser Leu Xaa Xaa Xaa Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Glu Ala Ala Arg Trp Ala Glu Glu Ala Arg Thr Xaa Xaa Xaa Lys
 65 70 75 80
 Asp Gln Arg Arg Glu Leu Ala Asn Arg Ile Ile Thr Leu Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 82

<211> 99

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (55) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (76) .. (78)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 82

Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Leu Leu Leu Asp Ala Leu
 1 5 10 15
 Met Ile Leu Asn Ile Ile Glu Thr Asn Glu Gln Asn Ala Glu Ser Lys
 20 25 30
 Leu Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Ala Lys Val Ile Leu Asp Glu Phe Arg
 35 40 45
 Glu Met Ala Arg Asp Leu Xaa Xaa Xaa Asp Glu Ala Lys Lys Ala Glu
 50 55 60
 Lys Met Lys Arg Trp Leu Glu Lys Met Arg Ser Xaa Xaa Xaa Ser Asp
 65 70 75 80
 Glu Arg Arg Glu Trp Ala Asn Arg Met Ile Thr Thr Ala Gln Ser Trp
 85 90 95
 Ile Phe Asn

<210> 83

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (44) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 83

Thr Asn Lys Lys Ala Gln Leu His Ala Glu Phe Ala Leu His Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Leu Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Asp Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu

50 55 60

Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Ser Asn Leu Arg

65 70 75 80

Leu Ile Leu Gln Glu Leu Ala

85

<210> 84

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (44) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 84

Thr Asn Lys Glu Ala Gln Leu His Ala Glu Phe Ala Leu Tyr Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Leu Leu Asn Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Leu Asn Arg

20 25 30

Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40 45

Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Leu Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu

50 55 60

Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Val Asn Leu Arg

65 70 75 80

Leu Ile Leu Gln Glu Leu Ala

85

<210> 85

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (28)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (44) .. (48)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 85

Met Arg Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Val Val Asn Leu Arg
65 70 75 80

Tyr Ile Leu Gln Glu Leu Ala
85

<210> 87

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (21) .. (24)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (46) .. (50)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (80)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 87

Glu Asp Tyr Tyr Ser Asn Leu Lys Leu Ile Leu Glu Glu Leu Ala Arg
1 5 10 15

Glu Met Glu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Lys Ala Glu Glu Trp Arg Gln
20 25 30

Trp Lys Lys Ile Val Glu Arg Ile Arg Gln Ile Arg Ser Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Asn Glu Ala Lys Glu Leu Leu Asn Arg Leu Ile Thr Tyr Ile
50 55 60

Gln Ser Gln Ile Phe Glu Val Leu His Gly Val Gly Xaa Xaa Xaa Xaa
65 70 75 80

Glu Lys Lys Glu Glu Ser Trp Lys Lys Trp Asp Leu Leu Leu Glu His
85 90 95

Ala Leu Leu Asp Val Leu Met Leu Leu Asn Asp
100 105

<210> 88

<211> 107

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (21) .. (24)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (46) .. (50)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (77) .. (80)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 88

Glu	Asp	Tyr	Tyr	Ser	Asn	Leu	Lys	Val	Ile	Leu	Glu	Glu	Leu	Ala	Arg
1				5					10					15	
Glu	Met	Glu	Arg	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Lys	Ala	Glu	Glu	Trp	Arg	Gln
			20					25					30		
Trp	Lys	Lys	Ile	Val	Glu	Arg	Ile	Arg	Gln	Ile	Arg	Ser	Xaa	Xaa	Xaa
			35				40				45				
Xaa	Xaa	Asn	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Leu	Asn	Glu	Leu	Ile	Thr	Tyr	Ile
		50				55				60					
Gln	Ser	Gln	Ile	Phe	Glu	Val	Ile	Glu	Arg	Glu	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
65				70				75						80	
Glu	Lys	Lys	Glu	Glu	Ser	Trp	Lys	Lys	Trp	Glu	Leu	His	Leu	Glu	His
			85					90					95		
Ala	Leu	Leu	Asp	Val	Leu	Met	Leu	Leu	Asn	Asp					
			100					105							

<210> 89
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征

$\langle 222 \rangle$ (21) . . (24)

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 90

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
           20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
           50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95
Trp Ile Phe Ser
           100

```

<210> 91

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (32)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 91

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Phe Asp Leu

```

<400> 92

50	55	60
Lys Arg Met Lys Glu Trp	Met Lys Arg Ile Lys Thr	Xaa Xaa Xaa Glu
65	70	75
Asp Glu Gln Glu Glu Met	Ala Asn Ala Ile Ile Thr	Ile Leu Gln Ser
85	90	95
Trp Ile Phe Ser		
100		
<210> 93		
<211> 100		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的		
<220>		
<221> 混杂特征		
<222> (23) .. (32)		
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失		
<220>		
<221> 混杂特征		
<222> (56) .. (57)		
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失		
<220>		
<221> 混杂特征		
<222> (77) .. (79)		
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失		
<400> 93		
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Ile Met Ala Glu Glu Ala Leu Lys Asp Ala		
1	5	10
Leu Ser Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa		
20	25	30
Gln Leu Glu Arg Phe Ala Lys Arg Phe Glu Arg Asn Leu Trp Gly Ile		
35	40	45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala		
50	55	60
Lys Arg Met Ile Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu		
65	70	75
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser		
85	90	95
Trp Phe Phe Ser		

100

<210> 94

 $\langle 211 \rangle$ 100

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle \quad (23) \dots (32)$

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

 $\langle 222 \rangle$ (55) . . (56)

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 混杂特征

$\langle 222 \rangle$ (77) .. (79)

〈223〉 Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 94

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Tyr Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala

1 5 10 15

[illegible]

20 25 30

Glu Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile

35 40 45

Ala Arg Leu Phe Glu Ser Xaa Xaa Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala

50 55 60

Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu

65 70 75 80

Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser

85 90 95

Trp Ile Phe Ser

100

95

<211> 5

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成的

<400> 95

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 96

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 97

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 97

Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 98

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 98

Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 99

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly

1	5	10	15
<210> 100			
<211> 15			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 100			
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly			
1	5	10	15
<210> 101			
<211> 30			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 101			
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
1	5	10	15
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
	20	25	30
<210> 102			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<220>			
<221> 混杂特征			
<222> (5) .. (5)			
<223> X 是 Q, E, 或 S			
<400> 102			
Gly Gly Gly Gly Xaa			
1	5		
<210> 103			
<211> 87			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			

<223> 合成的

<400> 103

Ser Thr Lys Lys Trp Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Trp
1 5 10 15
Gln Met Ala Leu Asn Lys Ser Pro Glu Pro Asn Glu Asn Leu Asn Arg
 20 25 30
Ala Ile Thr Ala Ala Gln Ser Trp Ile Ser Thr Gly Lys Ile Asp Leu
 35 40 45
Asp Lys Ala Glu Asp Ile Arg Arg Asn Ser Asp Gln Ala Arg Arg Glu
 50 55 60
Ala Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ala Gln
65 70 75 80
Val Ile Leu Leu Glu Ala Arg
 85

<210> 104

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 104

Ser Thr Lys Lys Trp Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Trp
1 5 10 15
Gln Met Ala Leu Asn Lys Ser Pro Glu Pro Asn Glu Asn Leu Asn Arg
 20 25 30
Ala Ile Thr Ala Ala Gln Ser Cys Ile Ser Thr Gly Lys Cys Asp Leu
 35 40 45
Asp Lys Ala Glu Asp Ile Arg Arg Asn Ser Asp Gln Ala Arg Arg Glu
 50 55 60
Ala Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ala Gln
65 70 75 80
Val Ile Leu Leu Glu Ala Arg
 85

<210> 105

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 107

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Phe Leu Leu Asp Val
1 5 10 15
Gln Met Ile Leu Asn Glu Ser Pro Glu Pro Asn Glu Glu Leu Asn Arg
20 25 30
Cys Ile Thr Asp Ala Gln Ser Trp Ile Ser Thr Gly Lys Ile Asp Leu
35 40 45
Asp Arg Ala Glu Glu Cys Ala Arg Asn Leu Glu Lys Val Arg Asp Glu
50 55 60
Ala Leu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Val Ser Asn Ala Lys
65 70 75 80
Val Ile Ala Leu Glu Leu Lys
85

<210> 108

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 108

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Phe Leu Leu Asp Val
1 5 10 15
Gln Met Ile Leu Asn Glu Ser Pro Glu Pro Asn Glu Glu Leu Asn Arg
20 25 30
Ala Ile Thr Asp Ala Gln Ser Cys Ile Ser Thr Gly Lys Cys Asp Leu
35 40 45
Asp Arg Ala Glu Glu Leu Ala Arg Asn Leu Glu Lys Val Arg Asp Glu
50 55 60
Ala Leu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Val Ser Asn Ala Lys
65 70 75 80
Val Ile Ala Leu Glu Leu Lys
85

<210> 109

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 109

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Phe Leu Leu Asp Val

1	5	10	15
Gln Met Ile Leu Asn Glu Ser Pro Glu Pro Asn Glu Glu Leu Asn Arg			
	20	25	30
Ala Ile Thr Asp Ala Gln Ser Trp Ile Ser Thr Gly Lys Ile Asp Leu			
	35	40	45
Asp Arg Ala Glu Glu Leu Cys Arg Asn Leu Glu Lys Val Arg Asp Glu			
	50	55	60
Ala Leu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Val Ser Asn Ala Cys			
65	70	75	80
Val Ile Ala Leu Glu Leu Lys			
	85		

<210> 110

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 110

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15
Gln Met Met Leu Asn Arg Ser Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg			
	20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Ser Thr Gly Lys Ile Asp Leu			
	35	40	45
Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Arg Gln Glu			
	50	55	60
Ala Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Ala Ser Asn Leu Lys			
65	70	75	80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala			
	85		

<210> 111

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 111

Ser Thr Lys Lys Leu Gln Leu Gln Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15

Gln Met Met Leu Asn Arg Ser Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Cys Ile Ser Thr Gly Lys Cys Asp Leu
 35 40 45
 Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Arg Gln Glu
 50 55 60
 Ala Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 112

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 112

Ser Thr Lys Lys Ile Gln Leu Gln Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Val
 1 5 10 15
 Gln Met Ala Leu Asn Arg Ser Pro Glu Pro Asn Glu Ser Leu Asn Arg
 20 25 30
 Met Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Ser Thr Gly Lys Ile Asp Leu
 35 40 45
 Asp Asn Ala Gln Glu Met Ala Lys Glu Ala Glu Lys Ile Arg Lys Glu
 50 55 60
 Met Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Ile
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ser
 85

<210> 113

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 113

Ser Thr Lys Lys Ile Gln Leu Gln Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Val
 1 5 10 15
 Gln Met Ala Leu Asn Arg Ser Pro Glu Pro Asn Glu Ser Leu Asn Arg

<400> 115

175

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Tyr Thr Gly Lys Ile Asp Ala
 35 40 45
 Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 Tyr Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Glu Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 116

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 116

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 His Met Met Leu Asn Met Leu Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile His Thr Gly Lys Ile Asp Gly
 35 40 45
 Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 Tyr Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Glu Asp Glu Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 117

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 117

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Phe Met Met Leu Asn Met Val Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly

35	40	45
Asp Gly Ala Lys Glu Leu	Ala Lys Glu Val Glu Glu	Leu Glu Gln Glu
50	55	60
Phe Glu Lys Arg Gly Ile Asp	Val Glu Asp Glu Ala Ser	Asn Leu Lys
65	70	75
Val Ile Leu Leu Glu Leu	Ala	

85

<210> 118

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 118

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu	Ala Glu His Ala Leu Leu	Asp Ala
1	5	10
15		

Leu Met Met Leu Asn Met Val Pro	Glu Pro Asn Glu Lys Leu	Asn Arg
20	25	30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp	Ile Phe Thr Gly Lys Ile	Asp Gly
35	40	45

Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys	Glu Val Glu Glu Leu Glu	Gln Glu
50	55	60

Leu Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val	Glu Asp Tyr Ala Ser	Asn Leu Lys
65	70	75
80		

Val Ile Leu Leu Glu Leu	Ala
85	

<210> 119

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 119

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu	Ala Glu His Ala Leu Leu	Asp Ala
1	5	10
15		

His Met Met Leu Asn Val Val Pro	Glu Pro Asn Glu Lys Leu	Asn Arg
20	25	30

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp	Ile Tyr Thr Gly Lys Ile	Asp Arg
35	40	45

Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 Leu Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 120

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 120

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Met Leu Asn Leu Leu Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly
 35 40 45
 Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
 50 55 60
 His Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
 85

<210> 121

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 121

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

50	55	60
Leu Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Asp Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys		
65	70	75
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala		80
85		

<210> 122

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 122

Ser Thr Lys Lys Thr His Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala		
1	5	10
Tyr Met Met Leu Asn Val Met Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg		15
20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly		
35	40	45
Asp Gly Ala Lys Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu		
50	55	60
Phe Glu Lys Arg Gly Ile Asp Val Asp Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys		
65	70	75
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala		80
85		

<210> 123

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 123

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala		
1	5	10
Tyr Met Met Leu Asn Leu Val Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg		15
20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Ala		
35	40	45
Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Ile Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu		
50	55	60

65	70	75	80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala			
	85		
<210> 126			
<211> 87			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 126			
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15
Leu His Met Arg Arg Asn Leu Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Ser Arg			
	20	25	30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly			
	35	40	45
Asp Gly Ala Gln Glu Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu			
	50	55	60
His Glu Lys Arg Gly Arg Asp Val Glu Asp Asp Ala Ser Asn Leu Lys			
65	70	75	80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala			
	85		
<210> 127			
<211> 87			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 127			
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ile Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15
Leu Asn Met Arg Lys Lys Leu Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Ser Arg			
	20	25	30
Ile Ile Thr Asp Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly			
	35	40	45
Asp Gly Ala Gln Gln Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu			
	50	55	60
His Glu Lys Arg Gly Gly Asp Val Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys			
65	70	75	80

Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
85

<210> 128

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 128

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Leu Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1 5 10 15
Leu His Met Ser Arg Glu Leu Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Asn Arg
20 25 30
Ile Ile Thr Asp Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly
35 40 45
Asp Gly Ala Gln Asp Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
50 55 60
His Glu Lys Arg Gly Gly Asp Val Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
65 70 75 80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala
85

<210> 129

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 129

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Leu Ile Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1 5 10 15
Leu His Met Ser Arg Lys Leu Pro Glu Pro Asn Glu Lys Leu Ser Arg
20 25 30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Ile Asp Gly
35 40 45
Asp Gly Ala Gln His Leu Ala Lys Glu Val Glu Glu Leu Glu Gln Glu
50 55 60
His Glu Lys Arg Gly Gly Glu Val Glu Asp Glu Ala Ser Asn Leu Lys
65 70 75 80
Val Ile Leu Leu Glu Leu Ala

85

<210> 130

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 130

Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Leu	Ile	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	His	Met	Lys	Arg	Lys	Leu	Pro	Glu	Pro	Asn	Glu	Lys	Leu	Asn	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Asn	Met	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Glu	Lys	Ile	Asp	Gly
		35					40					45			
Asp	Gly	Ala	Gln	Asp	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Glu	Gln	Glu
	50					55				60					
His	Glu	Lys	Arg	Gly	Gln	Asp	Val	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70				75					80	
Val	Ile	Leu	Leu	Glu	Leu	Ala									

85

<210> 131

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 131

Ser	Thr	Glu	Lys	Thr	Gln	Leu	Ala	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Arg	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Leu	Lys	His	Leu	Leu	Asn	Glu	Pro	Asn	Glu	Lys	Leu	Ala	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Thr	Met	Gln	Ser	Trp	Gln	Phe	Thr	Gly	Lys	Ile	Asp	Gly
		35					40					45			
Asp	Gly	Ala	Gln	Glu	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Gln	Gln	Glu
	50					55				60					
His	Glu	Val	Arg	Gly	Ile	Asp	Val	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70				75					80	
Val	Ile	Leu	Leu	His	Leu	Ala									

85

<210> 132

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 132

Ser	Thr	Lys	Asn	Thr	Gln	Leu	Ala	Ala	Glu	Asp	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Leu	Arg	Asn	Leu	Leu	Asn	Glu	Pro	Asn	Glu	Lys	Leu	Ala	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Thr	Met	Gln	Ser	Trp	Gln	Phe	Thr	Glu	Lys	Ile	Asp	Gly
		35					40					45			
Asp	Gly	Ala	Gln	Glu	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Gln	Gln	Glu
	50					55					60				
His	Glu	Glu	Arg	Gly	Ile	Asp	Val	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70				75					80	
Val	Ile	Leu	Leu	Gln	Leu	Ala									
					85										

<210> 133

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 133

Ser	Thr	Glu	Lys	Thr	Gln	His	Ala	Ala	Glu	Asp	Ala	Leu	Arg	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Leu	Arg	Asn	Leu	Leu	Asn	Glu	Pro	Asn	Glu	Lys	Leu	Ala	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Thr	Met	Gln	Ser	Trp	Gln	Phe	Thr	Glu	Lys	Ile	Asp	Gly
		35					40					45			
Asp	Gly	Ala	Gln	Glu	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Gln	Gln	Glu
	50					55					60				
His	Glu	Val	Arg	Gly	Ile	Asp	Val	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70				75					80	
Val	Ile	Leu	Leu	Gln	Leu	Ala									
					85										

<210> 134

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 134

Thr	Gln	Lys	Lys	Gln	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Met	Leu	Lys	Thr	Ser	Ser	Glu	Ala	Val	Asn	Arg
			20					25					30		
Met	Ile	Thr	Ile	Ala	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Gly	Thr	Ser	Asn	Pro
		35					40					45			
Glu	Glu	Ala	Lys	Glu	Met	Ile	Lys	Met	Ala	Glu	Gln	Ala	Glu	Glu	Glu
	50					55					60				
Ala	Arg	Arg	Glu	Gly	Val	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70					75				80	
Val	Ile	Leu	Lys	Glu	Ile	Ala									
															85

<210> 135

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 135

Thr	Thr	Lys	Lys	Tyr	Gln	Leu	Leu	Val	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Met	Leu	Asn	Leu	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Glu	Lys	Met	Asn	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Thr	Met	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Gly	Thr	Phe	Asp	Pro
		35					40					45			
Asp	Gln	Ala	Glu	Glu	Leu	Ala	Lys	Leu	Val	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Glu
	50					55					60				
Phe	Arg	Lys	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys
65					70					75				80	
Val	Ile	Leu	Lys	Glu	Leu	Ser									
															85

<210> 136

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 136

Thr	Thr	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	Leu	Val	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Leu	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Glu	Lys	Leu	Asn	Arg
				20				25						30	
Ile	Ile	Thr	Thr	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Arg	Gly	Glu	Ile	Asp	Pro
				35				40						45	
Asp	Arg	Ala	Arg	Glu	Leu	Ala	Lys	Leu	Leu	Glu	Glu	Ile	Arg	Glu	Glu
				50				55						60	
Met	Arg	Lys	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Met	Ile
65						70				75					80
Val	Ile	Ile	Arg	Glu	Leu	Ala									
															85

<210> 137

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 137

Thr	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Val	Leu	Leu	Asp	Leu
1				5					10					15	
Leu	Met	Met	Leu	Asn	Leu	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Glu	Lys	Met	Asn	Arg
				20				25						30	
Leu	Ile	Thr	Ile	Val	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Gly	Thr	Ile	Asp	Pro
				35				40						45	
Asp	Gln	Ala	Glu	Glu	Met	Ala	Lys	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Glu
				50				55						60	
Phe	Arg	Lys	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Ala	Ser	Asn	Val	Lys
65						70				75					80
Val	Ile	Leu	Lys	Glu	Leu	Ser									
															85

<210> 138

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 138

Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ile	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Val	Leu	Asn	Met	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Glu	Lys	Leu	Asn	Arg
			20					25					30		
Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Gly	Thr	Trp	Asp	Pro
		35					40					45			
Asp	Leu	Ala	Glu	Glu	Met	Glu	Lys	Leu	Met	Gln	Glu	Ile	Glu	Glu	Glu
	50					55				60					
Leu	Arg	Arg	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Met	Arg
65				70					75					80	
Val	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Ser									
				85											

<210> 139

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 139

Thr	Lys	Lys	Lys	Leu	Gln	Leu	Leu	Val	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Met
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Met	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Glu	Lys	Leu	Asn	Arg
			20					25					30		
Leu	Ile	Thr	Glu	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Arg	Gly	Glu	Ile	Asp	Pro
		35					40					45			
Asp	Lys	Ala	Glu	Glu	Met	Trp	Lys	Ile	Met	Glu	Glu	Ile	Glu	Lys	Glu
	50					55				60					
Leu	Arg	Glu	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Ala	Lys
65				70					75					80	
Val	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Ser									
				85											

<210> 140

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 140

Thr	Ser	Lys	Lys	Gln	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Leu	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Ser	Ser	Glu	Ser	Ser	Glu	Ala	Val	Asn	Arg
				20				25						30	
Ala	Ile	Thr	Trp	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Lys	Gly	Thr	Val	Asn	Pro
				35				40						45	
Asp	Gln	Ala	Glu	Glu	Met	Arg	Lys	Leu	Ala	Glu	Gln	Ile	Arg	Glu	Glu
				50				55						60	
Met	Arg	Lys	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Leu	Glu
65					70					75					80
Val	Ile	Ala	Lys	Glu	Leu	Ser									

<210> 141

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 141

Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ile	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu
1				5					10					15	
Leu	Met	Val	Leu	Asn	Met	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Glu	Lys	Ile	Asn	Arg
				20				25						30	
Leu	Ile	Thr	Trp	Leu	Gln	Ser	Trp	Ile	Phe	Thr	Gly	Thr	Tyr	Asp	Pro
				35				40						45	
Asp	Leu	Ala	Glu	Glu	Met	Tyr	Lys	Ile	Leu	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Glu
				50				55						60	
Met	Arg	Glu	Arg	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Asp	Tyr	Met	Ser	Asn	Met	Arg
65					70					75					80
Val	Ile	Val	Lys	Glu	Leu	Ser									

<210> 142

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 142

Thr Lys Lys Lys Trp Gln Leu Leu Ile Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
Leu Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Tyr Asp Pro
 35 40 45
Asp Leu Ala Glu Glu Met Lys Lys Met Met Asp Glu Ile Glu Asp Glu
 50 55 60
Leu Arg Glu Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Met Ser Asn Ala Lys
65 70 75 80
Val Ile Ile Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 143

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 143

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Ile Asp Pro
 35 40 45
Asp Gln Ala Glu Glu Leu Ser Lys Leu Val Glu Glu Ile Arg Glu Glu
 50 55 60
Met Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys
65 70 75 80
Val Ile Leu Asp Glu Leu Ser
 85

<210> 144

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 146

Thr Thr Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Met Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Glu Gly Arg Ile Asp Pro
 35 40 45
 Asp Gln Ala Gln Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60
 Phe Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Glu Glu Leu Ser
 85

<210> 147

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 147

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Met Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Ile Asp Pro
 35 40 45
 Asp Gln Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Arg Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60
 Phe Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Arg Glu Leu Ser
 85

<210> 148

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 148

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala

1	5	10	15
Leu Met Ile Leu Asn Leu Ser Ser Lys Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg			
20	25	30	
Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Asn Gly Thr Ile Asp Pro			
35	40	45	
Asp Arg Ala Arg Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Ile Arg Asp Glu			
50	55	60	
Met Glu Lys Asn Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Lys			
65	70	75	80
Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala			

85

<210> 149

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 149

Thr Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Ile Glu His Val Leu Leu Asp Leu			
1	5	10	15
Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Met Asn Arg			
20	25	30	
Leu Ile Thr Ile Leu Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Tyr Asp Pro			
35	40	45	
Asp Lys Ala Glu Glu Met Ala Lys Leu Leu Lys Glu Leu Arg Glu Glu			
50	55	60	
Phe Arg Glu Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Ala Ile			
65	70	75	80
Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser			

85

<210> 150

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 150

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala			
1	5	10	15

Leu Met Met Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Ile Asp Pro
 35 40 45
 Asp Arg Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60
 Phe Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 151

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 151

Thr Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Met Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Asn Gly Thr Ile Asp Pro
 35 40 45
 Asp Gln Ala Arg Glu Leu Ala Lys Leu Val Glu Glu Leu Arg Glu Glu
 50 55 60
 Phe Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala
 85

<210> 152

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 152

Thr Lys Lys Lys Leu Gln Leu Leu Val Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg

<400> 154

194

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Ile Asp Pro
 35 40 45
 Asp Arg Ala Glu Glu Leu Ala Lys Leu Val Arg Glu Ile Arg Glu Glu
 50 55 60
 Met Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Arg Glu Leu Ser
 85

<210> 155

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 155

Thr Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Leu Ile Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Lys Leu Asn Arg
 20 25 30
 Leu Ile Thr Trp Leu Gln Ser Trp Ile Phe Arg Gly Glu Trp Asp Pro
 35 40 45
 Asp Lys Ala Glu Glu Trp Ala Lys Ile Leu Lys Glu Ile Arg Glu Glu
 50 55 60
 Leu Arg Glu Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Met Ser Asn Ala Ile
 65 70 75 80
 Val Ile Met Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 156

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 156

Thr Asp Lys Lys Leu Gln Leu Leu Val Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Met Met Leu Asn Leu Ser Ser Lys Ser Asn Glu Lys Met Asn Arg
 20 25 30
 Leu Ile Thr Ile Ala Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Lys Val Asp Pro

Ile Ile Thr Thr Met Gln Ser Trp Ile Phe Thr Gly Thr Tyr Asp Pro
35 40 45

Asp Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Leu Ala Lys Glu Ile Glu Asp Glu
 50 55 60
 Ala Arg Glu Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Met Ser Asn Leu Arg
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser
 85

<210> 159

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 159

Thr Lys Lys Lys Ala Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Arg Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Thr Gly Thr Tyr Asp Pro
 35 40 45
 Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Leu Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu
 50 55 60
 Met Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Arg
 65 70 75 80
 Val Ile Leu Gln Glu Leu Ala
 85

<210> 160

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 160

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

50	55	60
Met Arg Lys Arg Gly Ile Asp Met Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Met Lys		
65	70	75
Val Ile Ala Glu Glu Met Ser		80
85		

<210> 161

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 161

Glu Asp Tyr Tyr Ser Asn Leu Lys Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala Arg		
1	5	10
Glu Met Glu Arg Asn Gly Leu Ser Asp Lys Ala Glu Glu Trp Arg Gln		15
20	25	30
Trp Lys Lys Ile Val Glu Arg Ile Arg Gln Ile Arg Ser Asn Asn Ser		
35	40	45
Asp Leu Asn Glu Ala Lys Glu Leu Leu Asn Arg Leu Ile Thr Tyr Ile		
50	55	60
Gln Ser Gln Ile Phe Glu Ile Ser Glu Arg Ile Arg Glu Thr Asp Gln		
65	70	75
Glu Lys Lys Glu Glu Ser Trp Lys Lys Trp Gln Leu Leu Leu Glu His		80
85	90	95
Ala Leu Leu Asp Val Leu Met Leu Leu Asn Asp		
100	105	

<210> 162

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 162

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

Ala Lys Leu Met Glu Ser Leu Gly Leu Ser Asp Glu Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Lys Ile Lys Gln Trp Leu Arg Glu Val Trp Arg Ile Trp Ser Ser
 65 70 75 80
 Thr Asn Trp Ser Thr Leu Glu Asp Lys Ala Arg Glu Leu Leu Asn Arg
 85 90 95
 Ile Ile Thr Thr Ile Gln Ser Gln Ile Phe Tyr
 100 105

<210> 163

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 163

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Ile Leu Leu Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Met Ile Glu Thr Asn Arg Glu Asn Thr Glu Ser
 20 25 30
 Glu Met Glu Asp Tyr Trp Ser Asn Val Arg Val Ile Leu Arg Glu Leu
 35 40 45
 Ala Arg Leu Met Glu Glu Leu Asn Tyr Lys Glu Leu Ser Glu Leu Met
 50 55 60
 Glu Arg Met Arg Lys Ile Val Glu Lys Ile Arg Gln Ile Val Thr Asn
 65 70 75 80
 Asn Ser Ser Leu Asp Thr Ala Arg Glu Trp Leu Asn Arg Leu Ile Thr
 85 90 95
 Trp Ile Gln Ser Leu Ile Phe Arg
 100

<210> 164

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 164

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Leu Asn Ile Ile Glu Thr Asn Ser Lys Asn Thr Glu Ser

	20		25		30
Lys Met Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Glu Val Ile Leu Thr Glu Phe					
35		40		45	
Lys Lys Leu Ala Glu Lys Leu Asn Phe Ser Glu Glu Ala Glu Arg Ala					
50		55		60	
Glu Arg Met Lys Arg Trp Ala Arg Lys Ala Tyr Gln Met Met Thr Leu					
65		70		75	80
Asp Leu Ser Leu Asp Lys Ala Lys Glu Met Leu Asn Arg Ile Ile Thr					
	85		90		95
Ile Leu Gln Ser Ile Ile Phe Asn					
100					

<210> 165

<211> 96

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 165

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Leu Leu Leu Asp Val			
1	5	10	15
Leu Met Met Leu Asn Gly Asn Ala Ser Leu Lys Asp Tyr Ala Ser Asn			
20	25	30	
Ala Gln Val Ile Ala Asp Glu Phe Arg Glu Leu Ala Arg Glu Leu Gly			
35	40	45	
Leu Thr Asp Glu Ala Lys Lys Ala Glu Lys Ile Ile Glu Ala Leu Glu			
50	55	60	
Arg Ala Arg Glu Trp Leu Leu Asn Asn Lys Asp Lys Glu Lys Ala Lys			
65	70	75	80
Glu Ala Leu Asn Arg Ala Ile Thr Ile Ala Gln Ser Trp Ile Phe Asn			
85	90	95	

<210> 166

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 166

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu			
1	5	10	15

Leu Met Ile Leu Asn Met Leu Arg Thr Asn Pro Lys Asn Ile Glu Ser
20 25 30
Asp Trp Glu Asp Tyr Met Ser Asn Ile Glu Val Ile Ile Glu Glu Leu
35 40 45
Arg Lys Ile Met Glu Ser Leu Gly Arg Ser Glu Lys Ala Lys Glu Trp
50 55 60
Lys Arg Met Lys Gln Trp Val Arg Arg Ile Leu Glu Ile Val Lys Asn
65 70 75 80
Asn Ser Asp Leu Glu Glu Ala Lys Glu Trp Leu Asn Arg Leu Ile Thr
85 90 95
Ile Val Gln Ser Glu Ile Phe Glu
100

<210> 167

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 167

Trp Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Met Trp Arg Thr Asn Pro Gln Asn Thr Glu Ser
20 25 30
Leu Met Glu Asp Tyr Met Ser Asn Ala Lys Val Ile Val Glu Glu Leu
35 40 45
Ala Arg Met Met Arg Ser Gln Gly Leu Glu Asp Lys Ala Arg Glu Trp
50 55 60
Glu Glu Met Lys Lys Arg Ile Glu Glu Ile Arg Gln Ile Ile Gln Asn
65 70 75 80
Asn Ser Ser Lys Glu Arg Ala Lys Glu Glu Leu Asn Arg Leu Ile Thr
85 90 95
Tyr Val Gln Ser Glu Ile Phe Arg
100

<210> 168

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 168

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Gln Asn Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Val Glu Val Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Met Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Arg Ile Ile Thr Leu Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 169

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 169

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Leu Gln Thr Asn Pro Gln Asn Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Met Ser Asn Val Glu Val Ile Met Glu Glu Phe
 35 40 45
Ala Arg Met Met Arg Asn Gly Asp Arg Ser Glu Glu Ala Glu Asn Ala
 50 55 60
Glu Arg Ile Lys Lys Trp Val Arg Lys Ala Ser Ser Thr Ala Ser Ser
65 70 75 80
Glu Glu Gln Arg Glu Met Met Asn Arg Ala Ile Thr Leu Met Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Glu
 100

<210> 170

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 170

```

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Leu Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Val Leu Asn Met Leu Thr Thr Asn Ser Lys Asn Thr Glu Glu
           20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Met Lys Val Ile Ile Lys Glu Met
           35           40           45
Ile Glu Leu Met Arg Ser Leu Gly Arg Leu Glu Glu Ala Glu Lys Trp
           50           55           60
Lys Glu Ala Leu Lys Ala Val Glu Lys Ile Gly Ser Arg Met Asp Ser
65           70           75           80
Glu Thr Ala Arg Glu Leu Ala Asn Arg Ile Ile Thr Leu Ala Gln Ser
           85           90           95
Ala Ile Phe Tyr
           100

```

<210> 171

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 171

```

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Phe Leu Asn Leu Val Glu Thr Asn Pro Asp Gln Ala Glu Glu
           20           25           30
Lys Ile Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Leu Arg Val Ile Ala Glu Glu Leu
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Asn Leu Gly Arg Leu Asp Glu Ala Gln Lys Ala
           50           55           60
Lys Asp Ile Lys Glu Leu Ala Glu Arg Ala Arg Ser Arg Val Ser Ser
65           70           75           80
Glu Lys Arg Lys Glu Ala Met Asn Arg Ala Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95
Met Ile Phe Arg
           100

```

<210> 172

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 172

```

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Ile Arg Thr Asn Ser Asp Asn Thr Glu Ser
          20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Leu Lys Val Ile Leu Glu Glu Ile
          35           40           45
Ala Arg Leu Met Glu Ser Leu Gly Leu Ser Asp Glu Ala Glu Lys Ala
          50           55           60
Lys Glu Ala Met Arg Leu Ala Asp Lys Ala Gly Ser Thr Ala Ser Glu
65           70           75           80
Glu Glu Lys Lys Glu Ala Met Asn Arg Val Ile Thr Trp Ala Gln Ser
          85           90           95
Trp Ile Phe Asn
          100

```

<210> 173

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 173

```

Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Met Leu Asn Ile Leu Arg Thr Asn Pro Asp Asn Ala Glu Glu
          20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Trp Ser Asn Leu Ile Val Ile Leu Arg Glu Ile
          35           40           45
Ala Lys Leu Met Glu Ser Leu Gly Leu Thr Asp Glu Ala Glu Lys Ala
          50           55           60
Lys Glu Ala Ala Arg Trp Ala Glu Glu Ala Arg Thr Thr Ala Ser Lys
65           70           75           80
Asp Gln Arg Arg Glu Leu Ala Asn Arg Ile Ile Thr Leu Leu Gln Ser

```

	85	90	95
Trp Ile Phe Ser			
100			
<210> 174			
<211> 100			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 174			
Pro Glu Lys Lys Arg Gln Leu Leu Ala Glu His Leu Leu Leu Asp Ala			
1 5 10 15			
Leu Met Ile Leu Asn Ile Ile Glu Thr Asn Glu Gln Asn Ala Glu Ser			
20 25 30			
Lys Leu Glu Asp Tyr Ile Ser Asn Ala Lys Val Ile Leu Asp Glu Phe			
35 40 45			
Arg Glu Met Ala Arg Asp Leu Gly Leu Leu Asp Glu Ala Lys Lys Ala			
50 55 60			
Glu Lys Met Lys Arg Trp Leu Glu Lys Met Arg Ser Asn Ala Ser Ser			
65 70 75 80			
Asp Glu Arg Arg Glu Trp Ala Asn Arg Met Ile Thr Thr Ala Gln Ser			
85 90 95			
Trp Ile Phe Asn			
100			
<210> 175			
<211> 87			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 175			
Thr Asn Lys Glu Ala Gln Leu His Ala Glu Phe Ala Leu Tyr Asp Ala			
1 5 10 15			
Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Arg Leu Asn Arg			
20 25 30			
Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Tyr Glu Thr Tyr Asp Pro			
35 40 45			
Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Leu Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu			
50 55 60			

Met Arg Lys Arg Lys Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Val Asn Leu Arg
65 70 75 80
Leu Ile Leu Gln Glu Leu Ala
85

<210> 176

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 176

Thr Lys Lys Asp Ala Glu Leu Leu Ala Glu Phe Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Arg Leu Asn Glu
20 25 30
Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Tyr Gly Thr Tyr Asp Pro
35 40 45
Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Leu Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu
50 55 60
Met Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Arg
65 70 75 80
Leu Ile Leu Gln Glu Leu Ala
85

<210> 177

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 177

Thr Asn Lys Lys Ala Gln Leu His Ala Glu Phe Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Arg Leu Asn Asp
20 25 30
Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Thr Gly Thr Tyr Asp Pro
35 40 45
Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Leu Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu
50 55 60
Met Arg Lys Arg Lys Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Val Asn Leu Arg

65	70	75	80
Tyr Ile Leu Gln Glu Leu Ala			
	85		
<210> 178			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 178			
Glu Asp Tyr Tyr Ser Asn Leu Lys Leu Ile Leu Glu Glu Leu Ala Arg			
1	5	10	15
Glu Met Glu Arg Asn Gly Leu Ser Asp Lys Ala Glu Glu Trp Arg Gln			
	20	25	30
Trp Lys Lys Ile Val Glu Arg Ile Arg Gln Ile Arg Ser Asn Asn Ser			
	35	40	45
Asp Leu Asn Glu Ala Lys Glu Leu Leu Asn Arg Leu Ile Thr Tyr Ile			
	50	55	60
Gln Ser Gln Ile Phe Glu Val Leu His Gly Val Gly Glu Thr Asp Gln			
65	70	75	80
Glu Lys Lys Glu Glu Ser Trp Lys Lys Trp Asp Leu Leu Leu Glu His			
	85	90	95
Ala Leu Leu Asp Val Leu Met Leu Leu Asn Asp			
	100	105	
<210> 179			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 179			
Glu Asp Tyr Tyr Ser Asn Leu Lys Val Ile Leu Glu Glu Leu Ala Arg			
1	5	10	15
Glu Met Glu Arg Asn Gly Leu Ser Asp Lys Ala Glu Glu Trp Arg Gln			
	20	25	30
Trp Lys Lys Ile Val Glu Arg Ile Arg Gln Ile Arg Ser Asn Asn Ser			
	35	40	45
Asp Leu Asn Glu Ala Lys Glu Leu Leu Asn Glu Leu Ile Thr Tyr Ile			
	50	55	60

<400> 181

208

35	40	45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala		
50	55	60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu		
65	70	75
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser		
85	90	95
Trp Ile Phe Ser		
100		

<210> 182

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 182

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Phe Asp Leu
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Gln Asn Ala Glu Glu
20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Tyr Asn Ala Gly Val Ile Leu Glu Glu Ile
35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Asp Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Glu Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
85 90 95
Trp Asn Phe Ser
100

<210> 183

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 183

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Ile Thr Ala Glu Glu Ala Leu Lys Asp Ala
1 5 10 15

Leu Ser Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
20 25 30
Gln Leu Glu Arg Phe Ala Lys Arg Phe Glu Arg Asn Leu Trp Gly Ile
35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
85 90 95
Trp Ile Phe Ser
100

<210> 184

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 184

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Ile Met Ala Glu Glu Ala Leu Lys Asp Ala
1 5 10 15
Leu Ser Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
20 25 30
Gln Leu Glu Arg Phe Ala Lys Arg Phe Glu Arg Asn Leu Trp Gly Ile
35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
50 55 60
Lys Arg Met Ile Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
85 90 95
Trp Phe Phe Ser
100

<210> 185

<400> 185

000

<210> 186

<211> 130

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 186

Gly	Pro	Gly	Ser	His	Leu	Glu	Gln	Leu	Leu	Met	Asp	Leu	Gln	Glu	Leu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Arg	Met	Glu	Asn	Tyr	Arg	Asn	Leu	Lys	Leu	Pro	Arg	Met	Leu
			20					25					30		
Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Leu	Pro	Lys	Gln	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	Asp	Leu
		35					40					45			
Gln	Cys	Leu	Glu	Asp	Glu	Leu	Gly	Pro	Leu	Arg	His	Val	Leu	Asp	Leu
	50					55				60					
Thr	Gln	Ser	Lys	Ser	Phe	Gln	Leu	Glu	Asp	Ala	Glu	Asn	Phe	Ile	Ser
65					70					75				80	
Asn	Ile	Arg	Val	Thr	Val	Val	Lys	Leu	Lys	Gly	Ser	Asp	Asn	Thr	Phe
			85					90					95		
Glu	Cys	Gln	Phe	Asp	Asp	Glu	Ser	Ala	Thr	Val	Val	Asp	Phe	Leu	Arg
			100					105					110		
Arg	Trp	Ile	Ala	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Ser	Pro	Gln	Ala
		115					120						125		

Ala Ala

130

<210> 187

<211> 133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 187

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His
1				5					10					15	
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55				60					
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	His	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Phe
65				70						75				80	

Asp Pro Arg Asp Val Val Ser Asn Ile Asn Val Phe Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Leu Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 188

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 188

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Leu Ala Glu His Ala Leu Leu Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Gln Asn Ala Glu Glu
 20 25 30
 Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Ser Asn Val Glu Val Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Met Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Arg Ile Ile Thr Leu Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 189

<211> 101

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 189

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Lys Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu

	20		25		30										
Glu	Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu
	35		40		45										
Ile	Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Asp	Gln	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys
	50		55		60										
Ala	Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser
65			70		75										80
Glu	Asp	Glu	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln
			85		90										95
Ser	Trp	Ile	Phe	Ser											
	100														

<210> 190

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 190

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Ser	Pro	Pro	Ala	Glu	Glu
			20					25					30		
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
			35				40						45		
Ala	Cys	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Asp	Gln	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
			50				55						60		
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Glu
65				70					75						80
Asp	Glu	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
				85					90						95
Trp	Ile	Phe	Ser												
			100												

<210> 191

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 191

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Cys Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 192

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 192

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Cys Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 193

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 193

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Cys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 194

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 194

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Cys Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 195

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 195

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
           20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Cys Lys Ala
           50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95
Trp Ile Phe Ser
           100

```

<210> 196

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 196

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
           20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
           50           55           60
Lys Cys Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95

```

Trp Ile Phe Ser
100

<210> 197

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 197

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Ser	Pro	Pro	Ala	Glu	Glu
			20					25					30		
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
		35					40					45			
Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Asp	Gln	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
	50					55				60					
Lys	Arg	Met	Lys	Cys	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Glu
65				70					75					80	
Asp	Glu	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
			85						90					95	

Trp Ile Phe Ser
100

<210> 198

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 198

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Ser	Pro	Pro	Ala	Glu	Glu
			20					25					30		
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
		35					40					45			
Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Asp	Gln	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
	50					55				60					
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Cys	Ile	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Glu

65	70	75	80
Asp Glu Gln Glu Glu	Met Ala Asn Ala	Ile Ile Thr Ile	Leu Gln Ser
	85	90	95
Trp Ile Phe Ser			
100			

<210> 199

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 199

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Cys Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
85 90 95
Trp Ile Phe Ser
100

<210> 200

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 200

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

Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
 65 70 75 80
 Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 201

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 201

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
 Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Gln Glu Cys Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 202

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 202

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu

20	25	30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile		
35	40	45
Ala Cys Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala		
50	55	60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu		
65	70	75
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser		
85	90	95
Trp Ile Phe Ser		
100		

<210> 203

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 203

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala		
1	5	10
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu		
20	25	30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile		
35	40	45
Ala Arg Leu Phe Cys Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala		
50	55	60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu		
65	70	75
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser		
85	90	95
Trp Ile Phe Ser		
100		

<210> 204

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 204

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Cys Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 205

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 205

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Cys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 206

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 206

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Cys Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 207

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 207

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1 5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Cys Lys Ala
 50 55 60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 208

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 208

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
           20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
           50           55           60
Lys Cys Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95
Trp Ile Phe Ser
           100

```

<210> 209

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 209

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
           20           25           30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Cys Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
           50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65           70           75           80
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95

```

Trp Ile Phe Ser
100

<210> 210

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 210

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Ser	Pro	Pro	Ala	Glu	Glu
			20					25					30		
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
		35					40					45			
Ala	Arg	Leu	Phe	Cys	Ser	Gly	Asp	Gln	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
	50					55				60					
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Glu
65					70				75					80	
Asp	Cys	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
				85					90					95	

Trp Ile Phe Ser
100

<210> 211

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 211

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Ser	Pro	Pro	Ala	Glu	Glu
			20					25					30		
Lys	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
		35					40					45			
Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Cys	Gln	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
	50					55				60					
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Glu

65	70	75	80
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser			
	85	90	95
Trp Ile Phe Ser			
100			

<210> 212

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 212

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala			
1	5	10	15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu			
	20	25	30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile			
	35	40	45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Cys Asp Glu Ala Glu Lys Ala			
	50	55	60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu			
65	70	75	80
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser			
	85	90	95
Trp Ile Phe Ser			
100			

<210> 213

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 213

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

Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Cys Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
 65 70 75 80
 Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 214

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 214

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
 Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Cys Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
 65 70 75 80
 Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 215

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 215

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu

20	25	30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe	Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile	
35	40	45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly	Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala	
50	55	60
Lys Cys Met Lys Glu Trp Met	Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu	
65	70	75
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala	Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser	
85	90	95
Trp Ile Phe Ser		
100		

<210> 216

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 216

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His	Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1	5 10 15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys	Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
20	25 30
Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe	Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
35	40 45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly	Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
50	55 60
Lys Arg Met Lys Cys Trp Met	Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala Ser Glu
65	70 75 80
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala	Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
85	90 95
Trp Ile Phe Ser	
100	

<210> 217

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征
 <222> (23) .. (33)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (56) .. (57)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (77) .. (79)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 217
 Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Cys Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100
 <210> 218
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (33)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (56) .. (57)

Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Cys Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 220

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 220

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Cys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80

Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95

Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 221

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 221

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

Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45

Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Cys Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60

Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80

Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95

Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 222

<211> 100

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (23) .. (33)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (56) .. (57)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <220>
 <221> 混杂特征
 <222> (77) .. (79)
 <223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失
 <400> 222

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			20					25						30	
Xaa	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
			35					40						45	
Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Xaa	Xaa	Lys	Asp	Glu	Ala	Cys	Lys	Ala
			50				55				60				
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Glu
65					70					75					80
Asp	Glu	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
				85					90					95	
Trp	Ile	Phe	Ser												
			100												

<210> 223
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 223

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
          35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
          50           55           60
Lys Cys Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
          85           90           95
Trp Ile Phe Ser
          100
```

<210> 224

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 224

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
          35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
          50           55           60
Lys Arg Met Lys Cys Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
          85           90           95
Trp Ile Phe Ser
          100
```

<210> 225

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 225

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
```


85	90	95
Trp Ile Phe Ser		
100		
<210> 227		
<211> 100		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的		
<220>		
<221> 混杂特征		
<222> (23) .. (33)		
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失		
<220>		
<221> 混杂特征		
<222> (56) .. (57)		
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失		
<220>		
<221> 混杂特征		
<222> (77) .. (79)		
<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失		
<400> 227		
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala		
1 5 10 15		
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa		
20 25 30		
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile		
35 40 45		
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala		
50 55 60		
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu		
65 70 75 80		
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser		
85 90 95		
Trp Ile Phe Ser		
100		
<210> 228		
<211> 100		
<212> PRT		

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 228

```

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
           20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
           50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Cys Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95
Trp Ile Phe Ser
           100

```

<210> 229

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 229

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			20					25						30	
Xaa	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
			35				40							45	
Ala	Cys	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Xaa	Xaa	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
			50				55				60				
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Cys	Ile	Lys	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Glu
65					70				75					80	
Asp	Glu	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
				85					90					95	
Trp	Ile	Phe	Ser												
			100												

<210> 230

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 230

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
      20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
      35           40           45
Ala Arg Leu Phe Cys Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
      50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
      85           90           95
Trp Ile Phe Ser
      100
```

<210> 231

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 231

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
      20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
      35           40           45
```

Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Cys Gln Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 232

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 232

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Cys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95

〈213〉 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 234

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
          35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Cys Lys Ala
          50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
          85           90           95
Trp Ile Phe Ser
          100
```

<210> 235

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 235

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10          15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
          35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
          50           55           60
Lys Cys Met Lys Glu Trp Met Lys Cys Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
          85           90           95
Trp Ile Phe Ser
          100
```

<210> 236

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 236

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
          35           40           45
Ala Cys Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
          50           55           60
Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
          85           90           95
Trp Ile Phe Ser
          100
```

<210> 237

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 237

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
```

<400> 238

245

100

<210> 239

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 239

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala

1 5 10 15

Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile

35 40 45

Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Cys Asp Glu Ala Glu Lys Ala

50 55 60

Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu

65 70 75 80

Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser

85 90 95

Trp Ile Phe Ser

100

<210> 240

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 240

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
				20				25						30	
Xaa	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
				35				40						45	
Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Xaa	Xaa	Lys	Cys	Glu	Ala	Glu	Lys	Ala
				50				55						60	
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Glu
65					70					75					80
Asp	Cys	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
					85					90					95
Trp	Ile	Phe	Ser												
															100

<210> 241

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 241

Pro	Lys	Lys	Lys	Ile	Gln	Leu	His	Ala	Glu	His	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ala
1				5					10					15	
Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			20					25						30	
Xaa	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ala	Phe	Asn	Phe	Glu	Leu	Ile	Leu	Glu	Glu	Ile
			35					40						45	
Ala	Arg	Leu	Phe	Glu	Ser	Gly	Xaa	Xaa	Lys	Asp	Glu	Ala	Cys	Lys	Ala
			50					55						60	
Lys	Arg	Met	Lys	Glu	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Lys	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Glu
65						70				75					80
Asp	Cys	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Asn	Ala	Ile	Ile	Thr	Ile	Leu	Gln	Ser
						85				90					95
Trp	Ile	Phe	Ser												
															100

<210> 242

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 242

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
           20           25           30
Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
           35           40           45
Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
           50           55           60
Lys Cys Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
65           70           75           80
Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
           85           90           95
Trp Ile Phe Ser
           100
```

<210> 243

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (23) .. (33)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (56) .. (57)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<220>

<221> 混杂特征

<222> (77) .. (79)

<223> Xaa, 当存在时, 可以是任何天然发生氨基酸或任选缺失

<400> 243

```
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
1           5           10           15
Leu Met Ile Leu Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
           20           25           30
```

Xaa Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Xaa Xaa Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala
 50 55 60
 Lys Arg Met Lys Cys Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Xaa Xaa Xaa Glu
 65 70 75 80
 Asp Cys Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln Ser
 85 90 95
 Trp Ile Phe Ser
 100

<210> 244

<211> 726

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (1) .. (25)

<223> 任选的His标签

<220>

<221> 混杂特征

<222> (26) .. (609)

<223> 小鼠血清清蛋白

<220>

<221> 混杂特征

<222> (610) .. (626)

<223> 接头

<220>

<221> 混杂特征

<222> (627) .. (726)

<223> Neo2/15

<400> 244

Gly Ser Asp Gly Gly Ser His His His His His His Gly Ser Gly Ser
 1 5 10 15
 Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser Gly Glu Ala His Lys Ser Glu Ile
 20 25 30
 Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val
 35 40 45

Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His		
50	55	60
Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala		
65	70	75 80
Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly		
85	90	95
Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu		
100	105	110
Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu		
115	120	125
Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu		
130	135	140
Ala Glu Ala Met Cys Thr Ser Phe Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met		
145	150	155 160
Gly His Tyr Leu His Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala		
165	170	175
Pro Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln		
180	185	190
Cys Cys Ala Glu Ala Asp Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp		
195	200	205
Gly Val Lys Glu Lys Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys		
210	215	220
Cys Ser Ser Met Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala		
225	230	235 240
Val Ala Arg Leu Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile		
245	250	255
Thr Lys Leu Ala Thr Asp Leu Thr Lys Val Asn Lys Glu Cys Cys His		
260	265	270
Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr		
275	280	285
Met Cys Glu Asn Gln Ala Thr Ile Ser Ser Lys Leu Gln Thr Cys Cys		
290	295	300
Asp Lys Pro Leu Leu Lys Lys Ala His Cys Leu Ser Glu Val Glu His		
305	310	315 320
Asp Thr Met Pro Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu		
325	330	335
Asp Gln Glu Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu		
340	345	350
Gly Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val		

355	360	365
Ser Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys		
370	375	380
Cys Cys Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala		
385	390	395
Glu Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn		400
405	410	415
Cys Asp Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile		
420	425	430
Leu Val Arg Tyr Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu		
435	440	445
Val Glu Ala Ala Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr		
450	455	460
Leu Pro Glu Asp Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala		
465	470	475
Ile Leu Asn Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu		
485	490	495
His Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys		
500	505	510
Phe Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys		
515	520	525
Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys		
530	535	540
Glu Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His		
545	550	555
Lys Pro Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe		
565	570	575
Ala Gln Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys		
580	585	590
Phe Ser Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Cys Lys Asp Ala Leu		
595	600	605
Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly		
610	615	620
Ser Gly Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr		
625	630	635
Asp Ala Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala		
645	650	655
Glu Glu Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu		
660	665	670

Glu Ile Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu
 675 680 685
 Lys Ala Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala
 690 695 700
 Ser Glu Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu
 705 710 715 720
 Gln Ser Trp Ile Phe Ser
 725

<210> 245

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 245

Thr Asn Lys Lys Ala Gln Leu His Ala Glu Phe Ala Leu His Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Leu Leu Asn Leu Ser Ser Glu Ser Asn Glu Arg Leu Asn Arg
 20 25 30
 Ile Ile Thr Trp Leu Gln Ser Ile Ile Phe Tyr Gly Thr Tyr Asp Pro
 35 40 45
 Asp Met Val Lys Glu Ala Val Lys Asp Ala Asp Glu Ile Glu Asp Glu
 50 55 60
 Met Arg Lys Arg Gly Ile Asp Thr Glu Asp Tyr Val Ser Asn Leu Arg
 65 70 75 80
 Leu Ile Leu Gln Glu Leu Ala
 85

<210> 246

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 246

Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu Tyr Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala Glu Glu
 20 25 30
 Glu Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile

<400> 247

254

	85	90	95
Trp Ile Phe Ser			
100			
<210> 248			
<211> 22			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 248			
Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr Asp Ala			
1 5 10 15			
Leu Met Ile Leu Asn Ile			
20			
<210> 249			
<211> 22			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 249			
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu			
1 5 10 15			
Gln Met Ile Leu Asn Gly			
20			
<210> 250			
<211> 15			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 250			
Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu			
1 5 10 15			
<210> 251			
<211> 22			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			

<223> 合成的

<400> 251

Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu Glu Ile Ala

1 5 10 15

Arg Leu Phe Glu Ser Gly

20

<210> 252

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 252

Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys

1 5 10 15

Gly Ser Glu Thr Thr Phe

20

<210> 253

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 253

Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu

1 5 10 15

Ser Ser Asn Gly Asn Val

20

<210> 254

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 254

Lys Asp Glu Ala Glu Lys Ala Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg

1 5 10 15

Ile Lys Thr

<210> 255

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 255

Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro

1 5 10 15

Leu Glu Glu

<210> 256

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 256

Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val

1 5 10 15

Ile Ser Leu

<210> 257

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 257

Glu Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu Gln

1 5 10 15

Ser Trp Ile Phe Ser

20

<210> 258

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 258

Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln

1 5 10 15

Ser Ile Ile Ser Thr

20

<210> 259

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 259

Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln

1

5

10

15

Met Phe Ile Asn Thr

20

<210> 260

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 260

Cys Asn Ser Asn

1

<210> 261

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 261

Asn Phe Gln Cys

1

<210> 262

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> 混杂特征

<222> (1) .. (1)

<223> 生物素受体肽

<400> 262

Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu

1

5

10

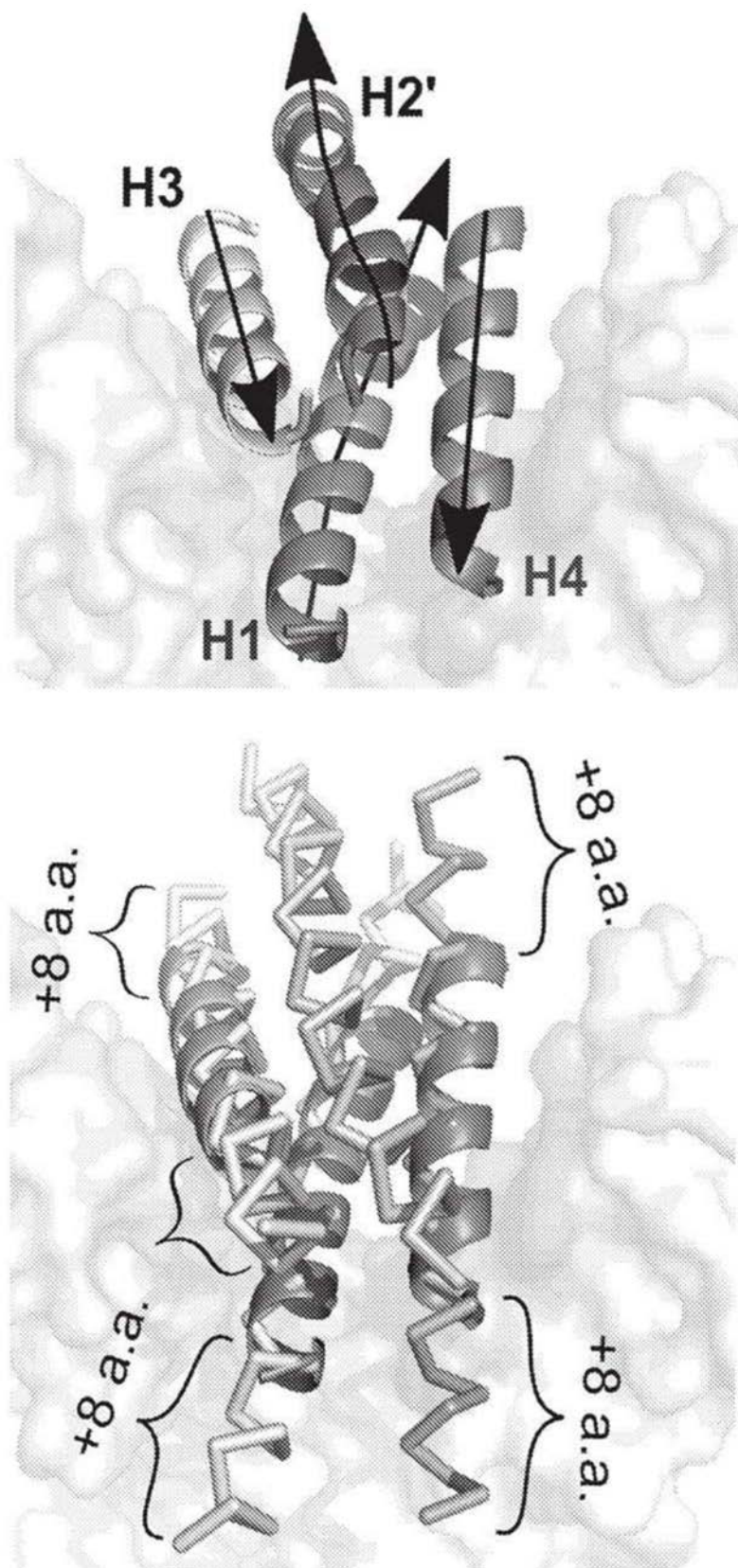


图1A

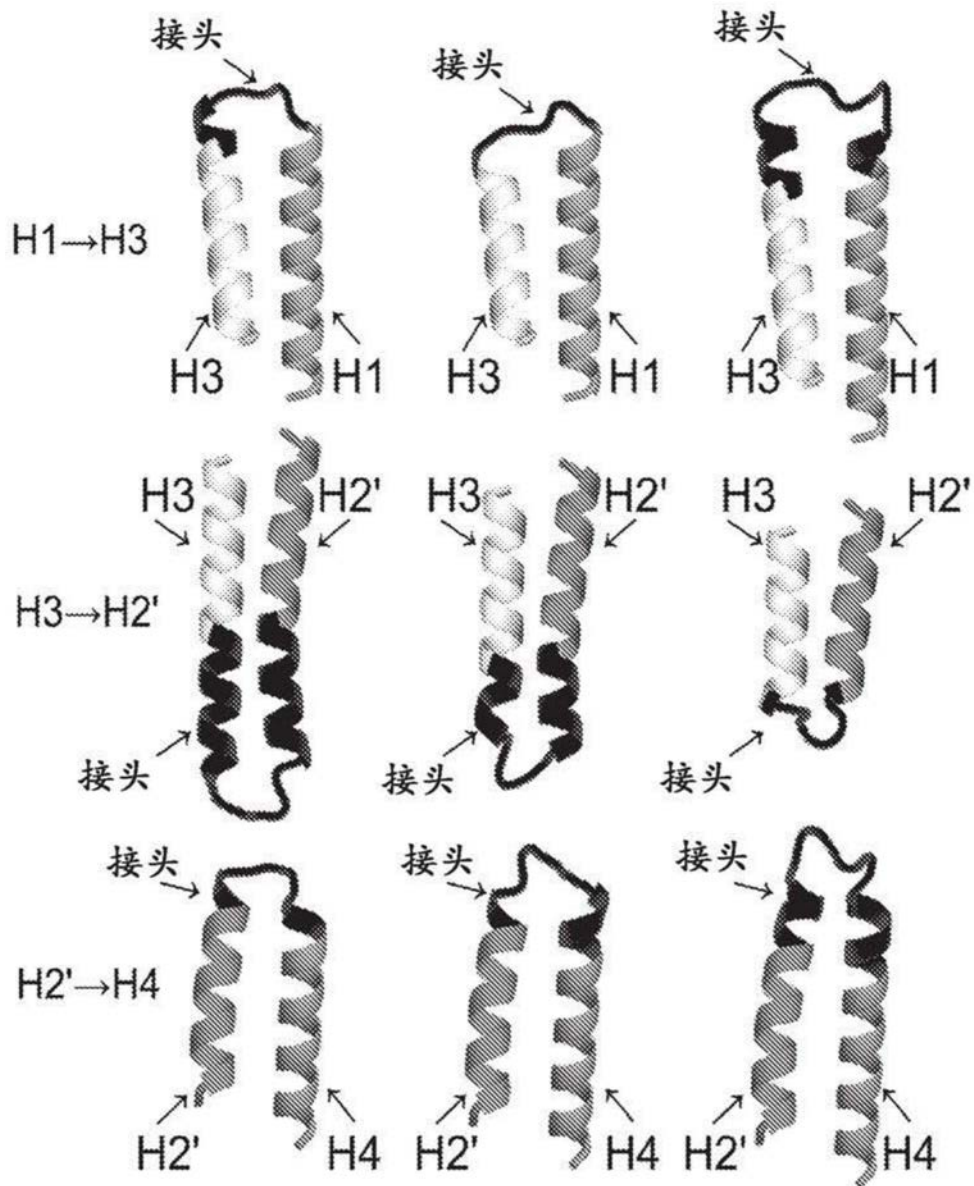


图1B

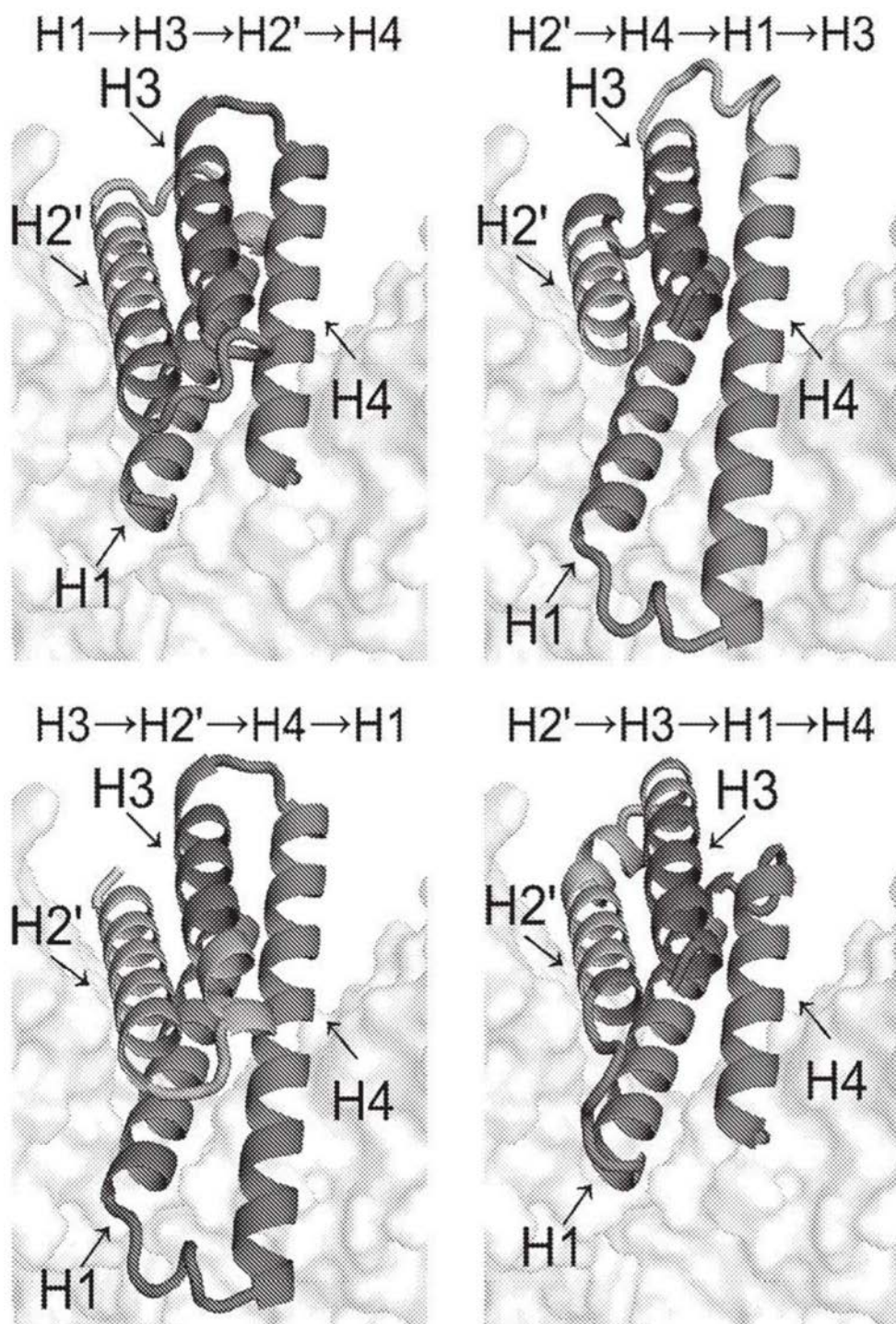


图1C

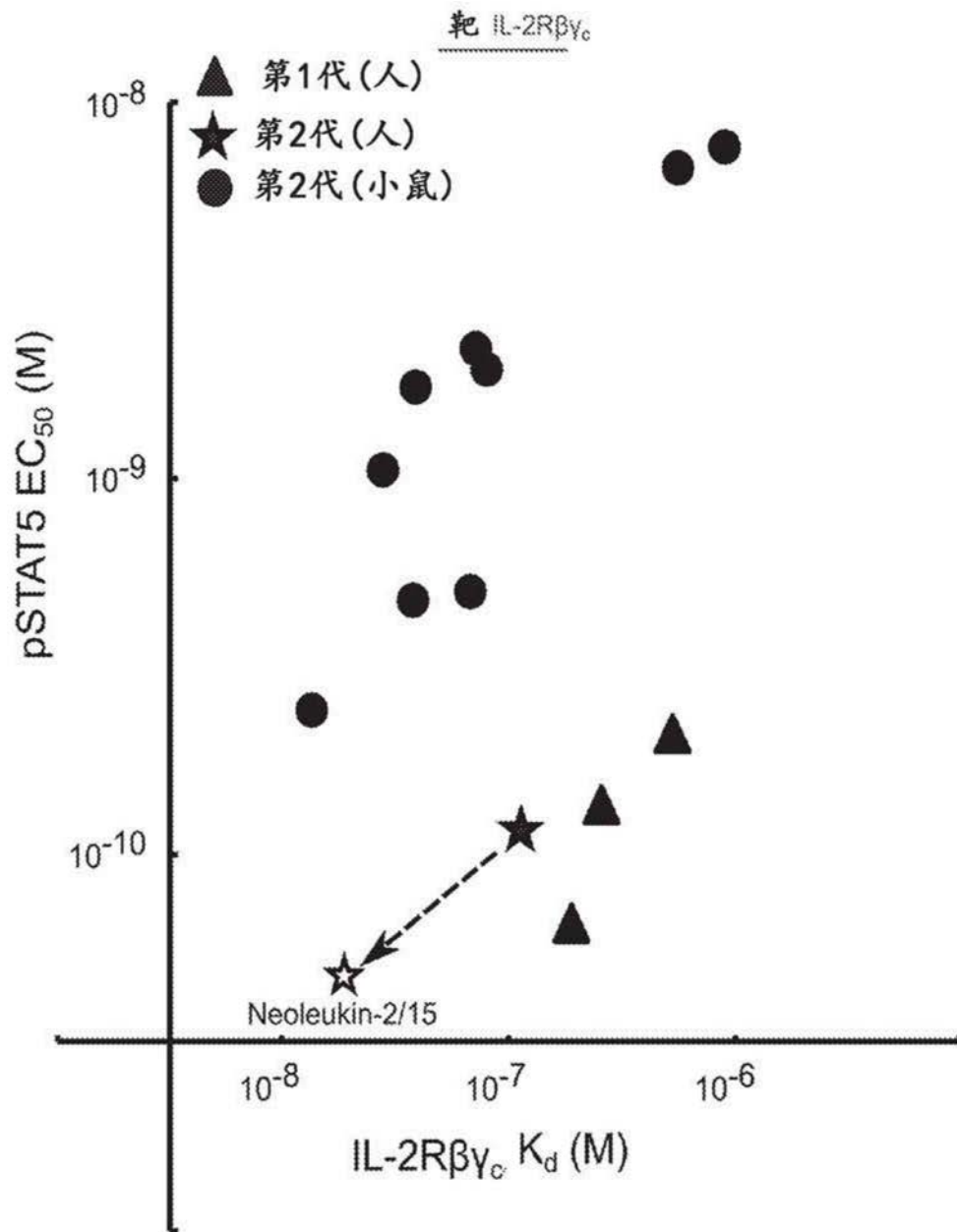


图1D

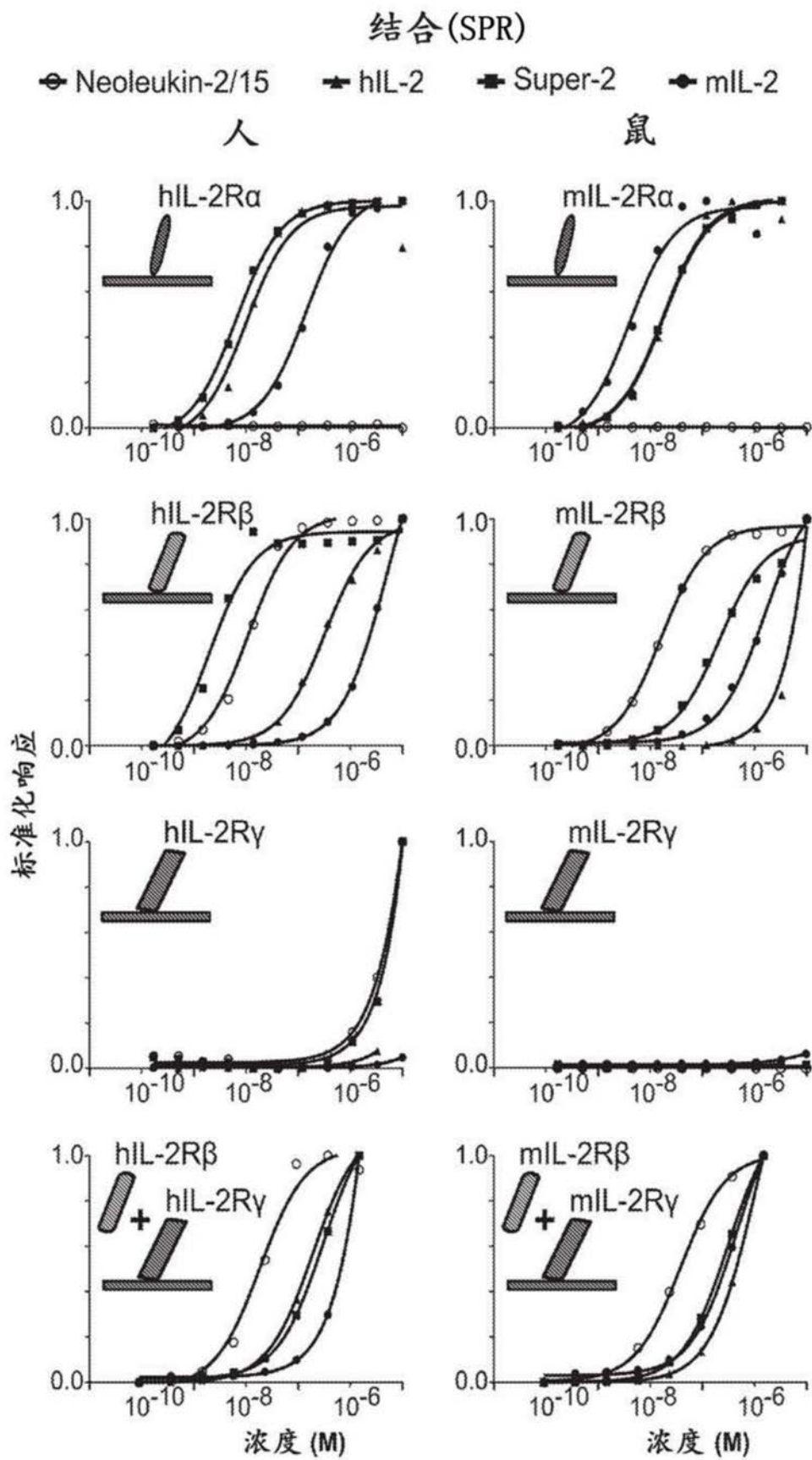


图2A

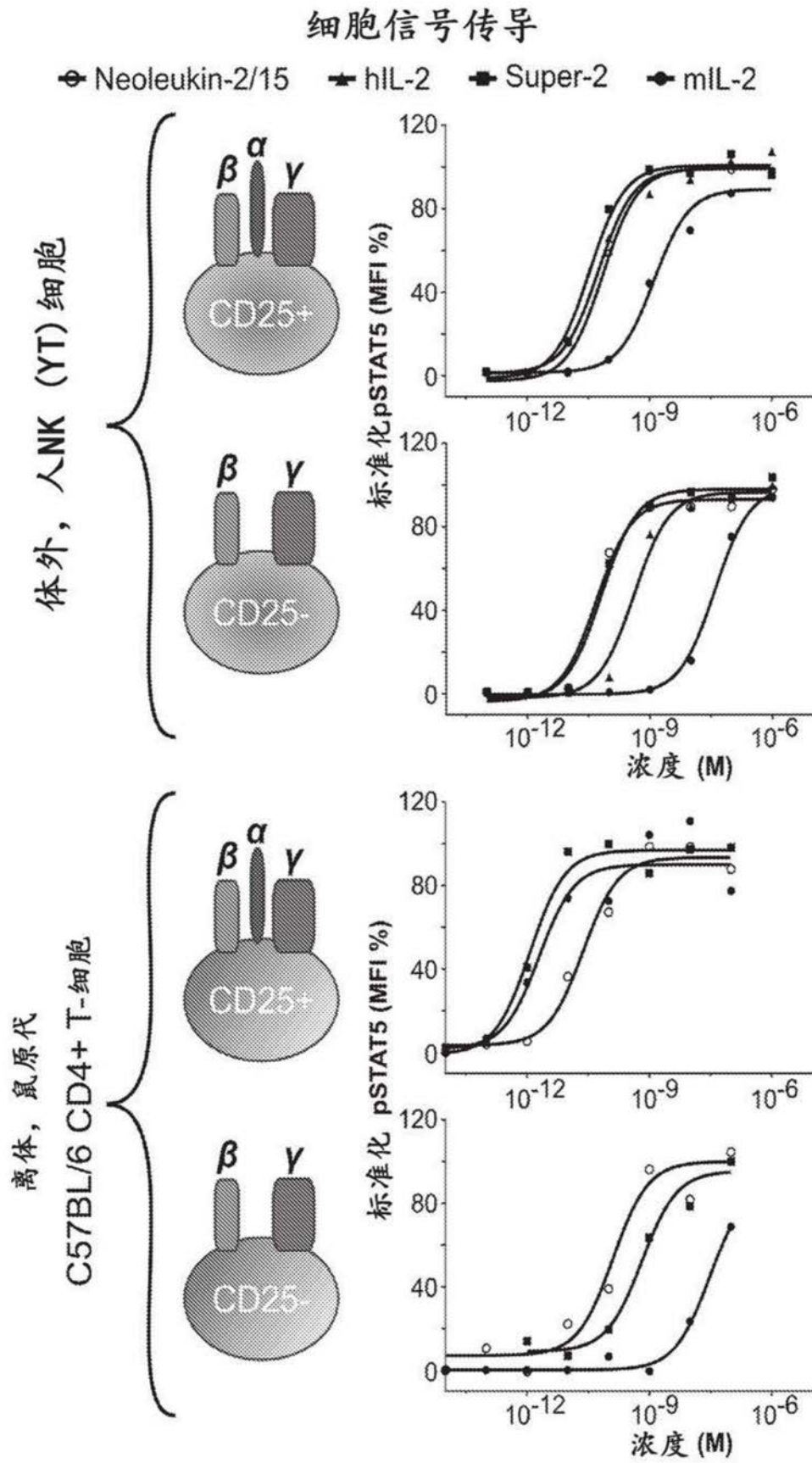


图2B

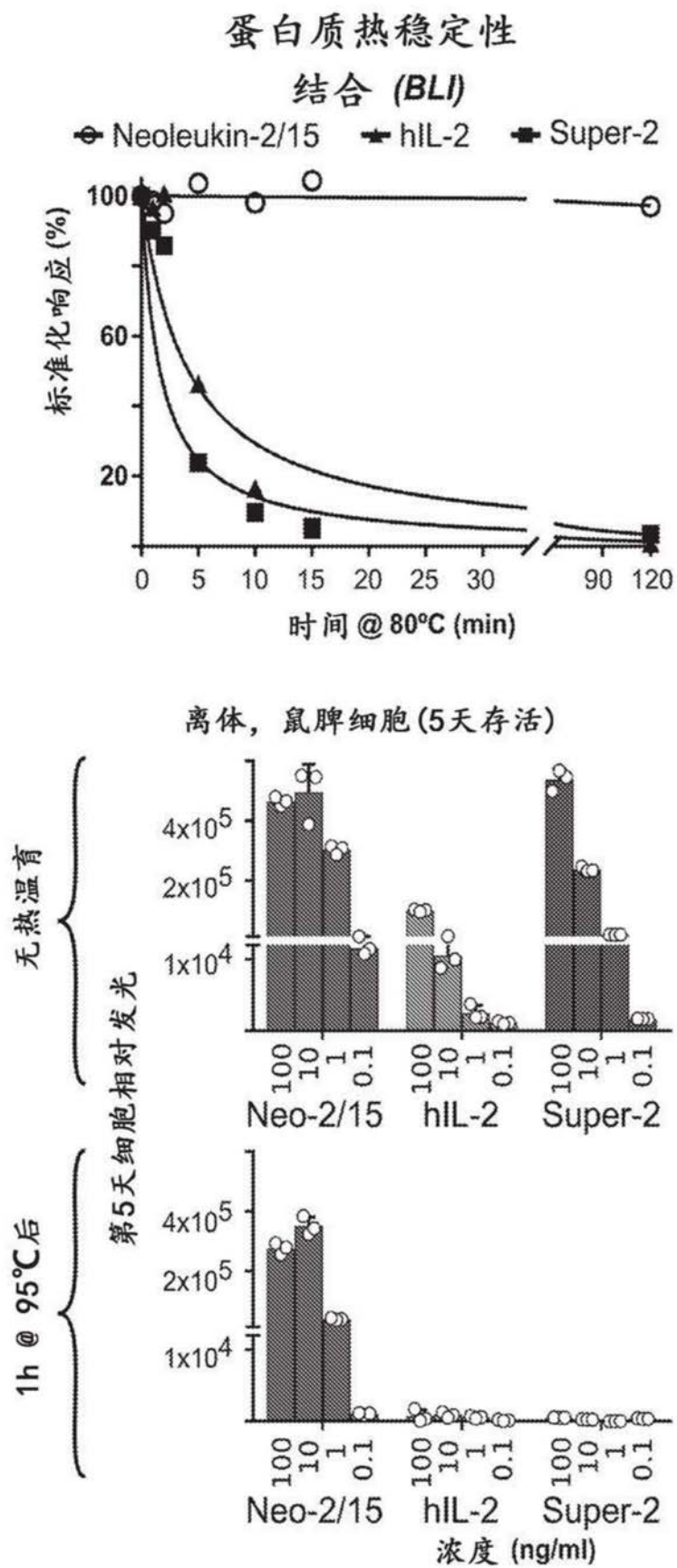


图2C

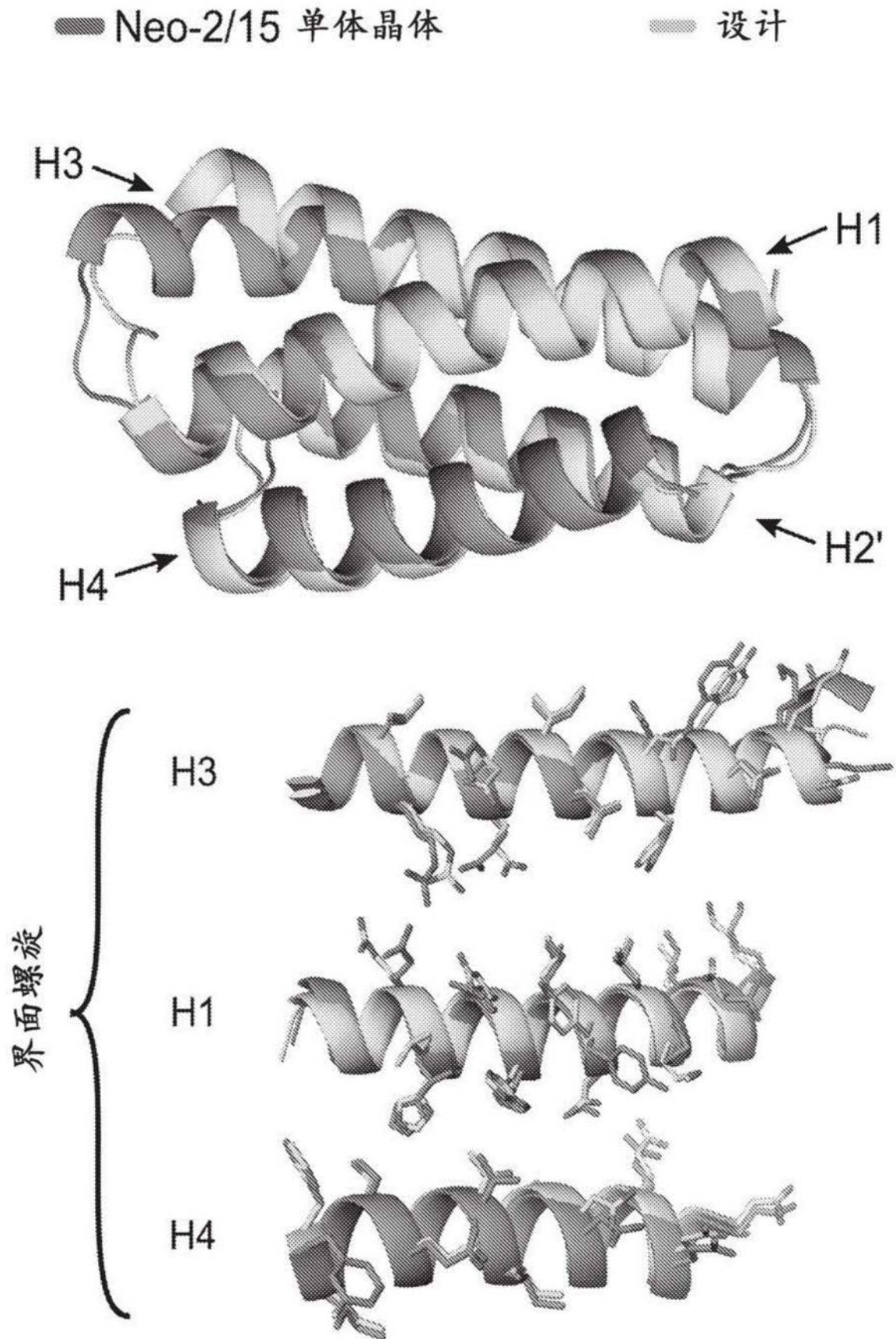


图3A

Neo-2/15 三元晶体 (有 mIL-2 β Yc)

Neo-2/15



图3B

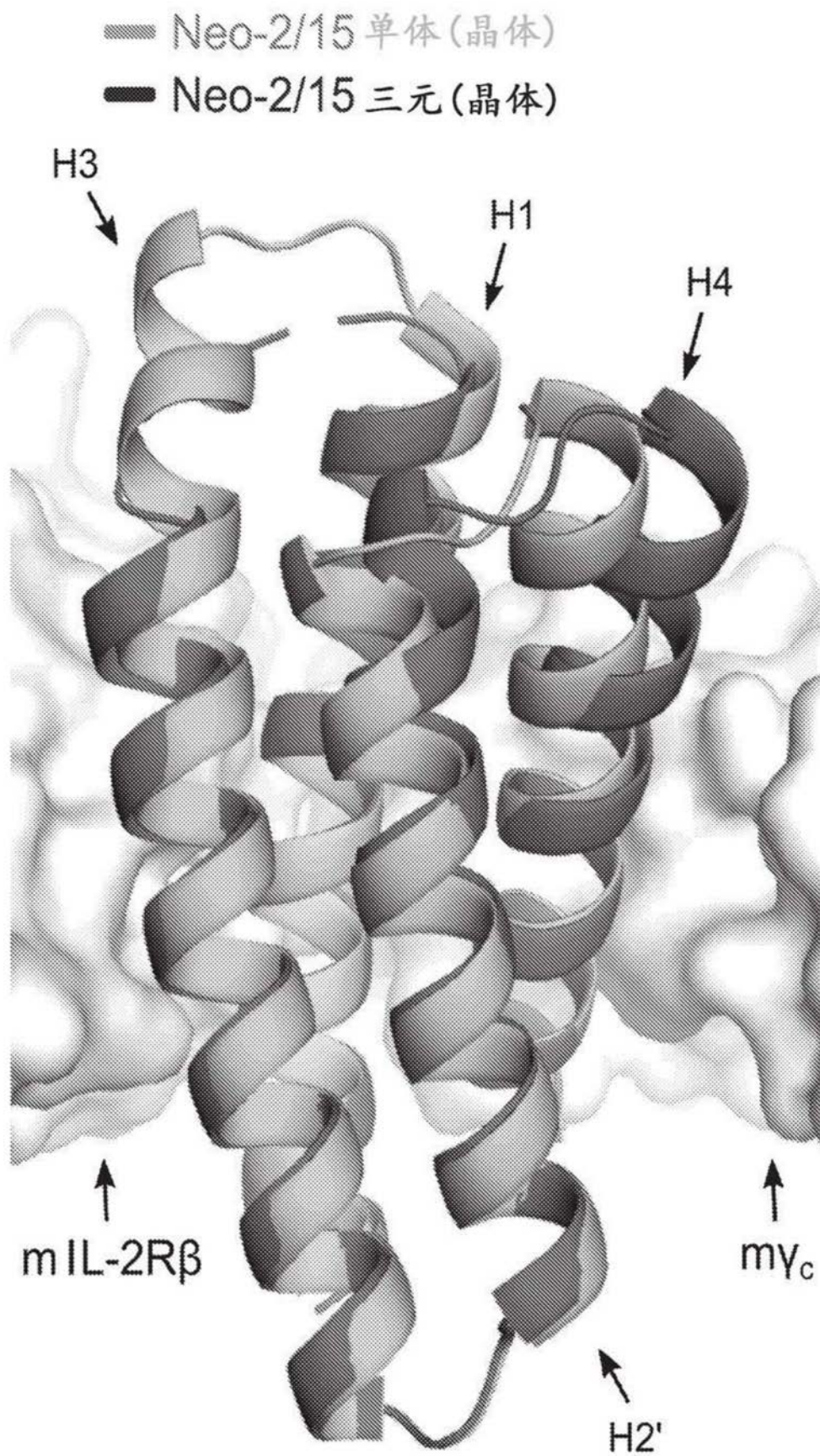


图3C

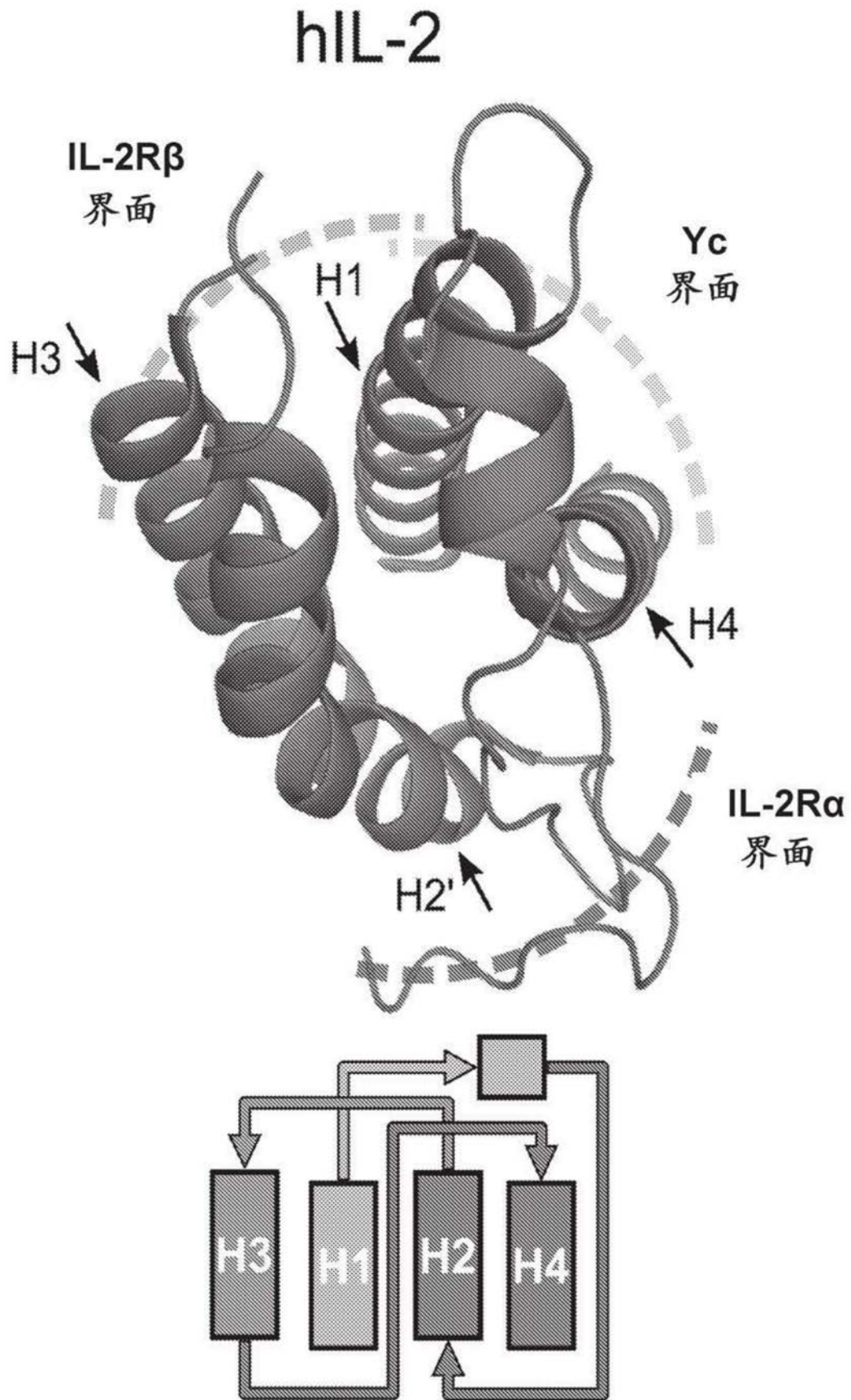


图3D

Neo-2/15

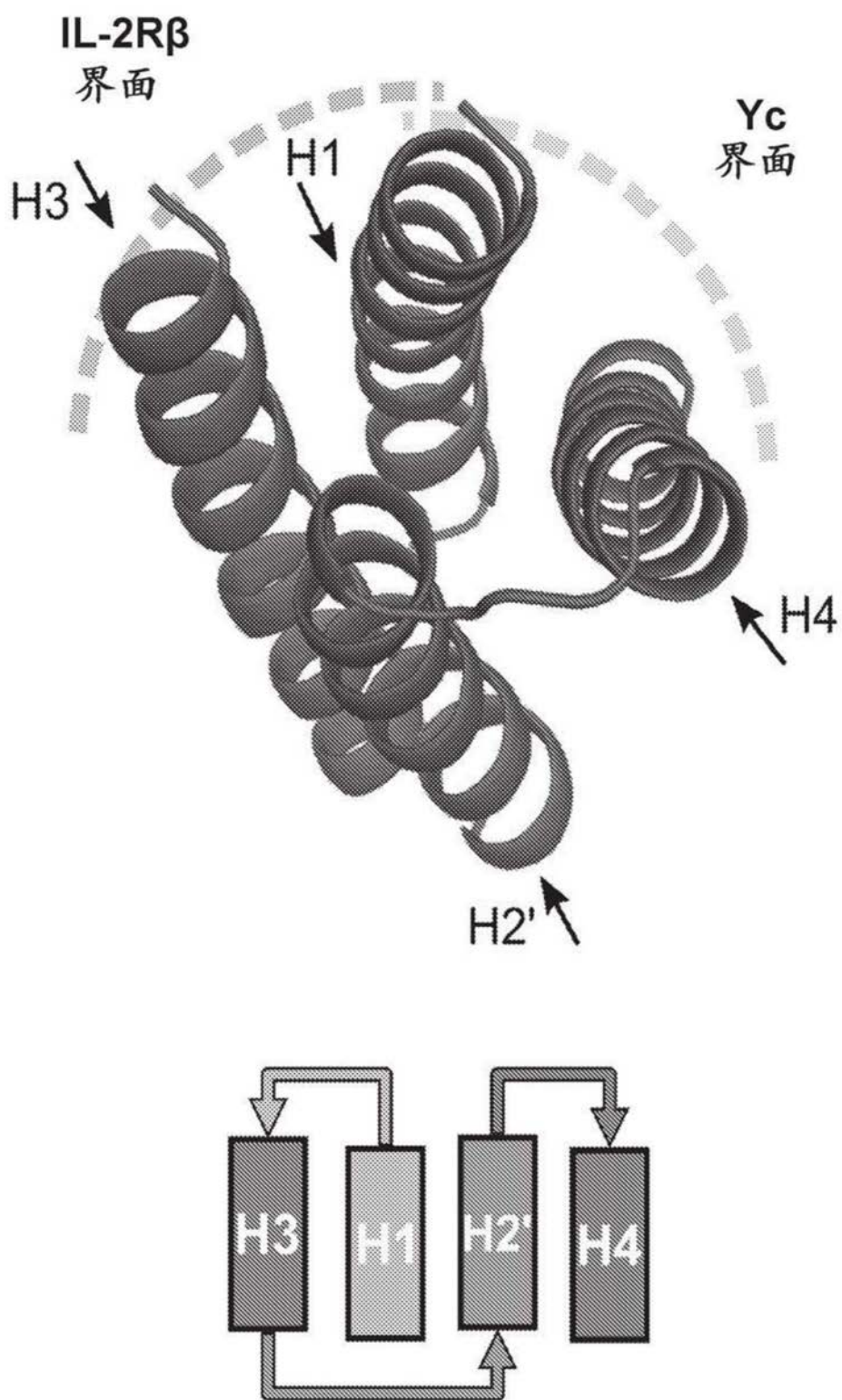


图3E

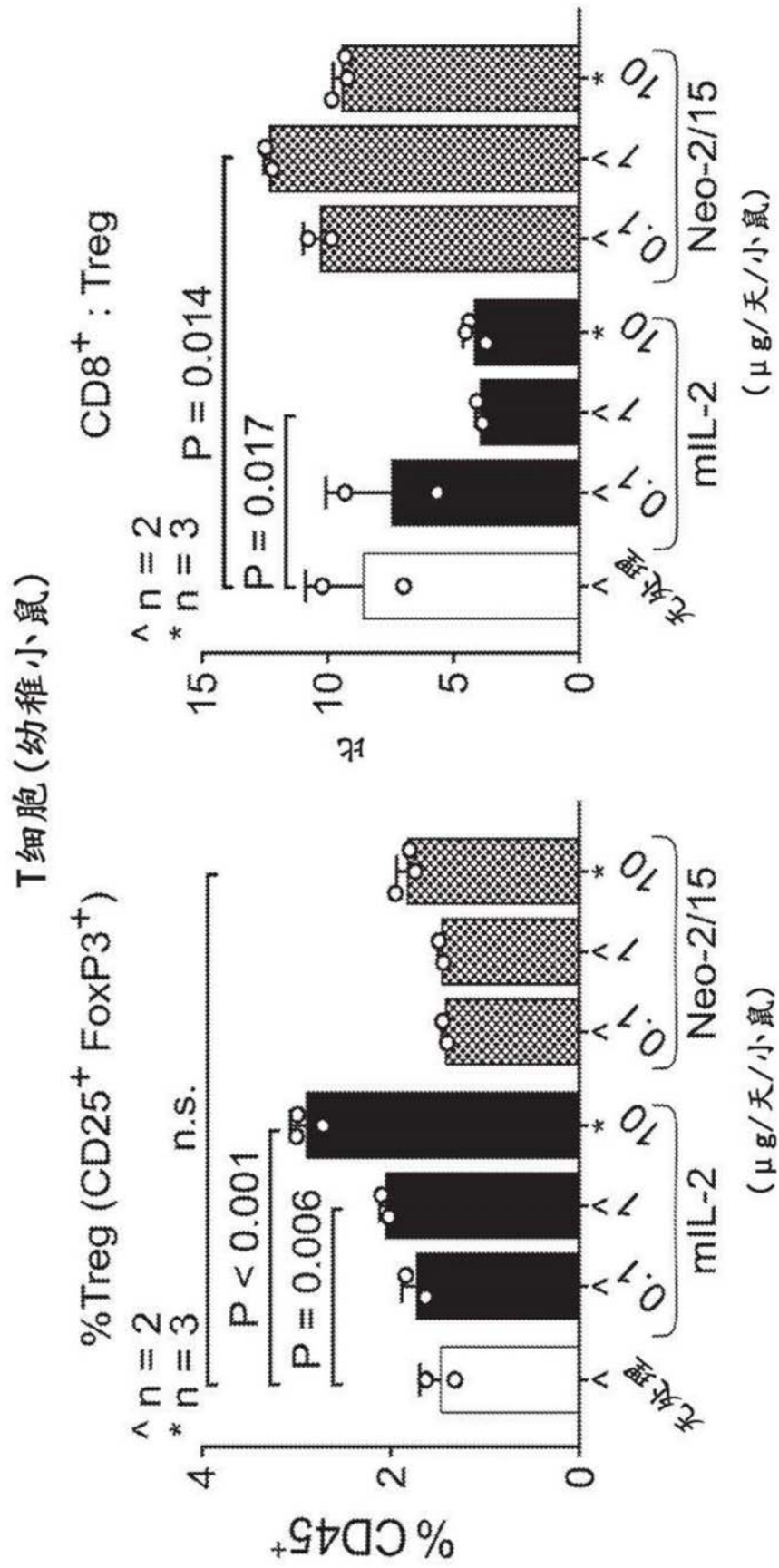


图4A

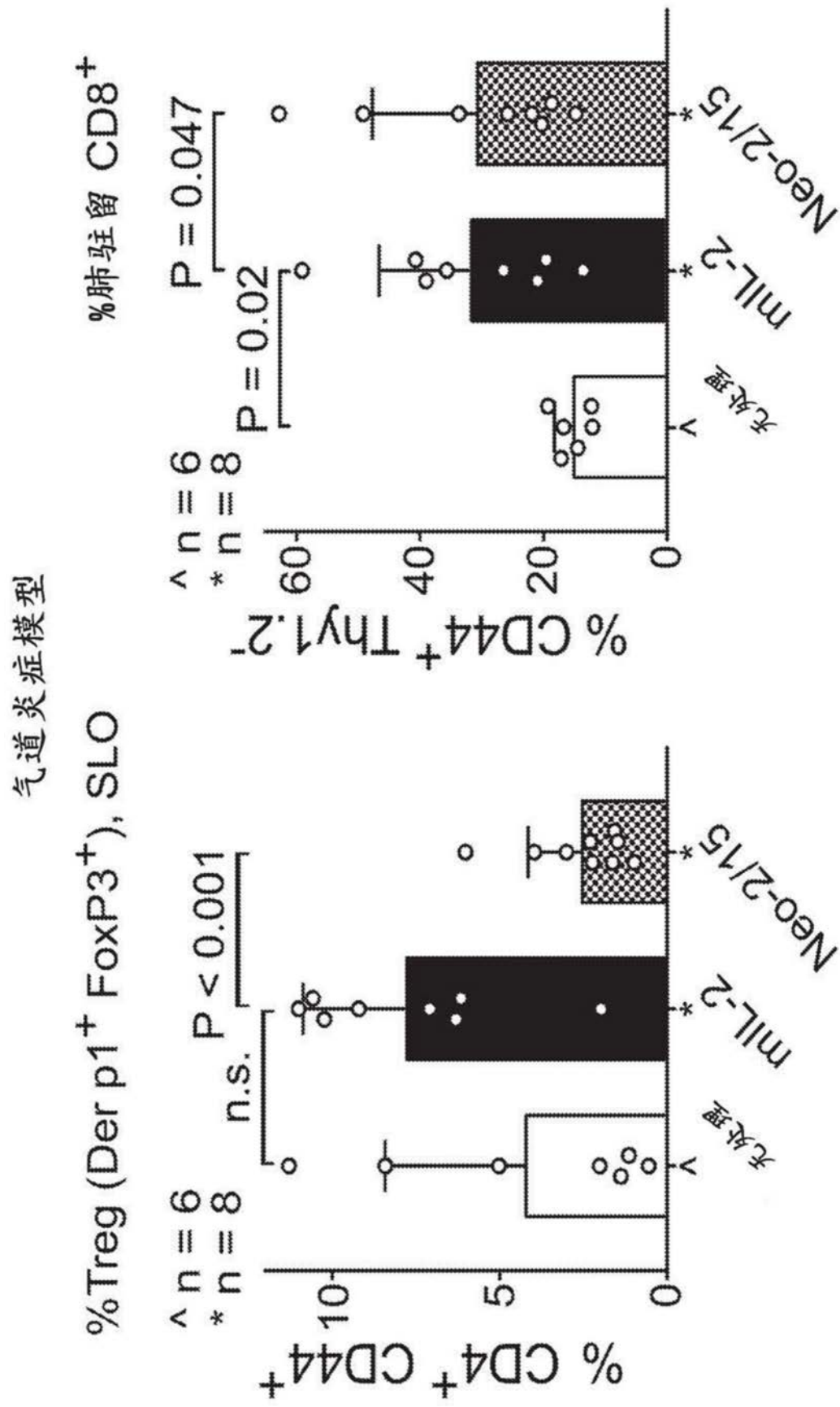


图4B

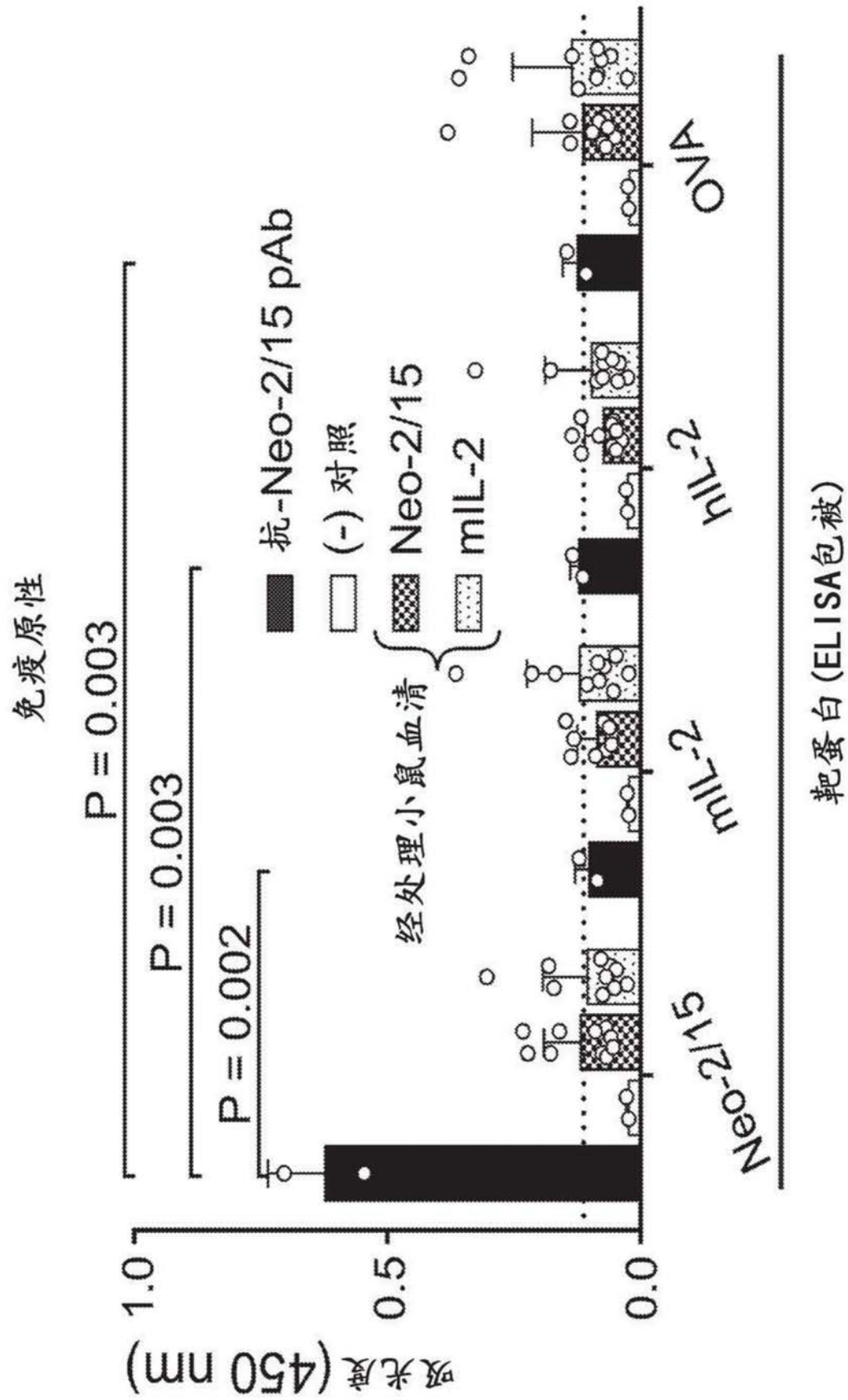


图4C

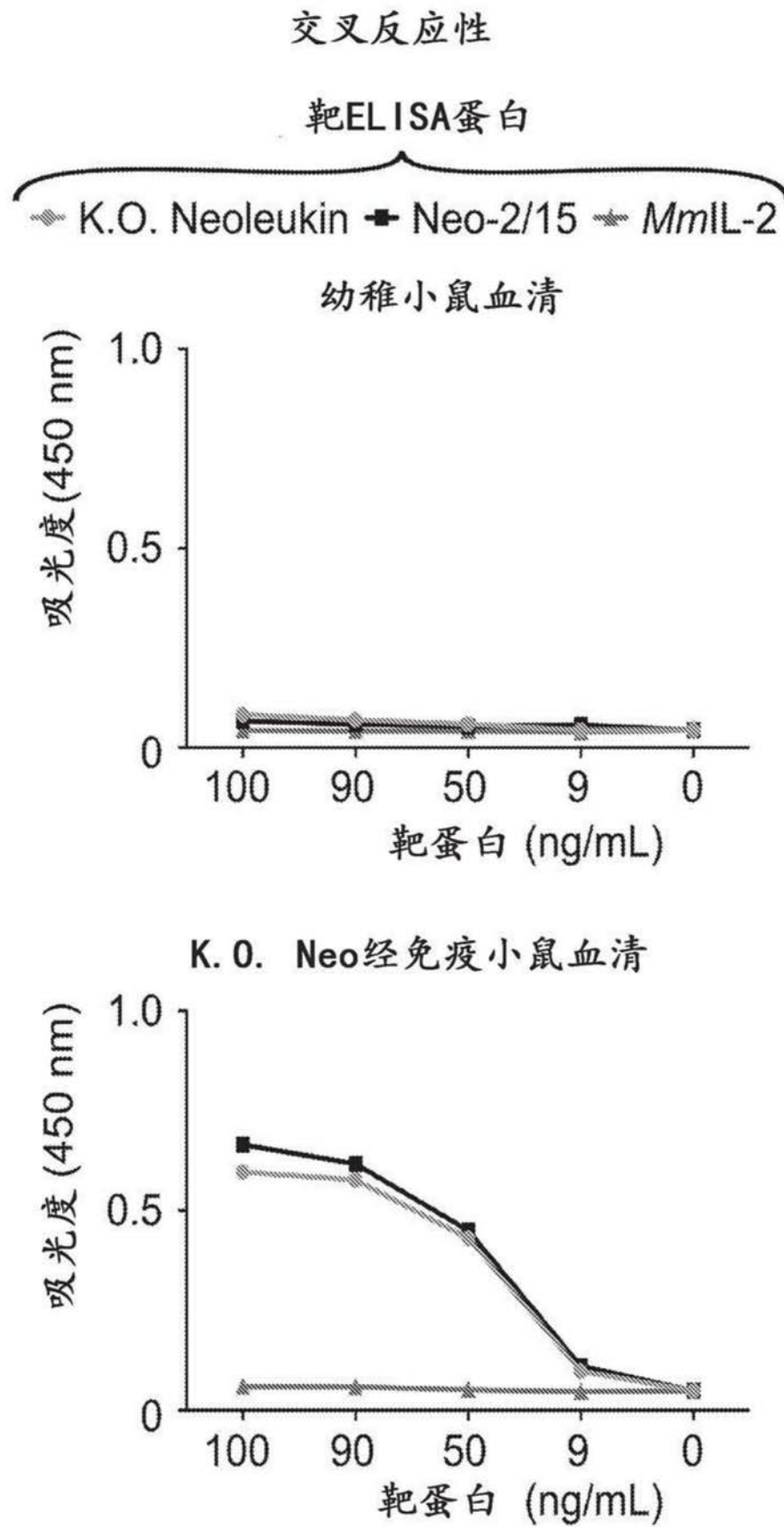


图4D

结肠癌

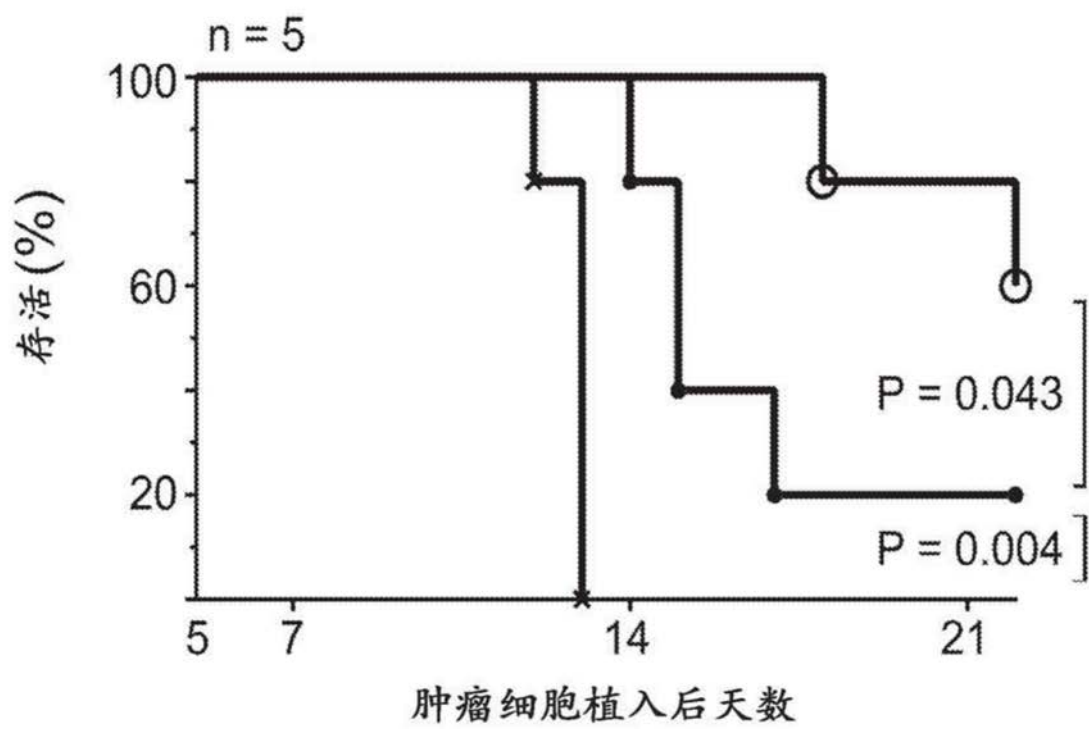
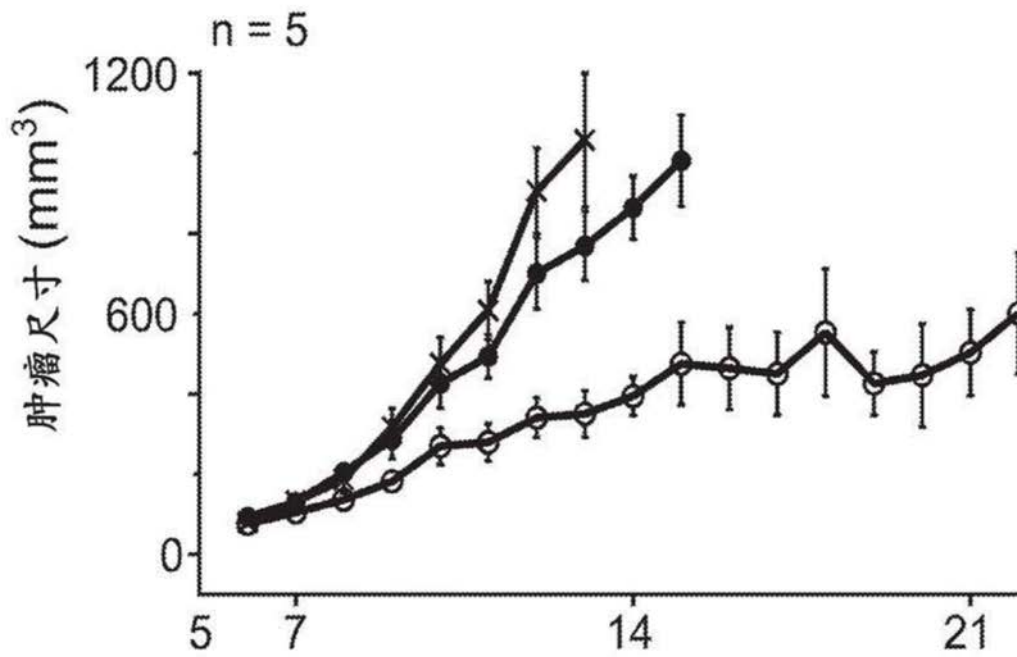
✕ 无处理 ● mlL-2 (10 $\mu\text{g}/\text{天}$) ○ Neo-2/15 (10 $\mu\text{g}/\text{天}$)

图4E

黑素瘤

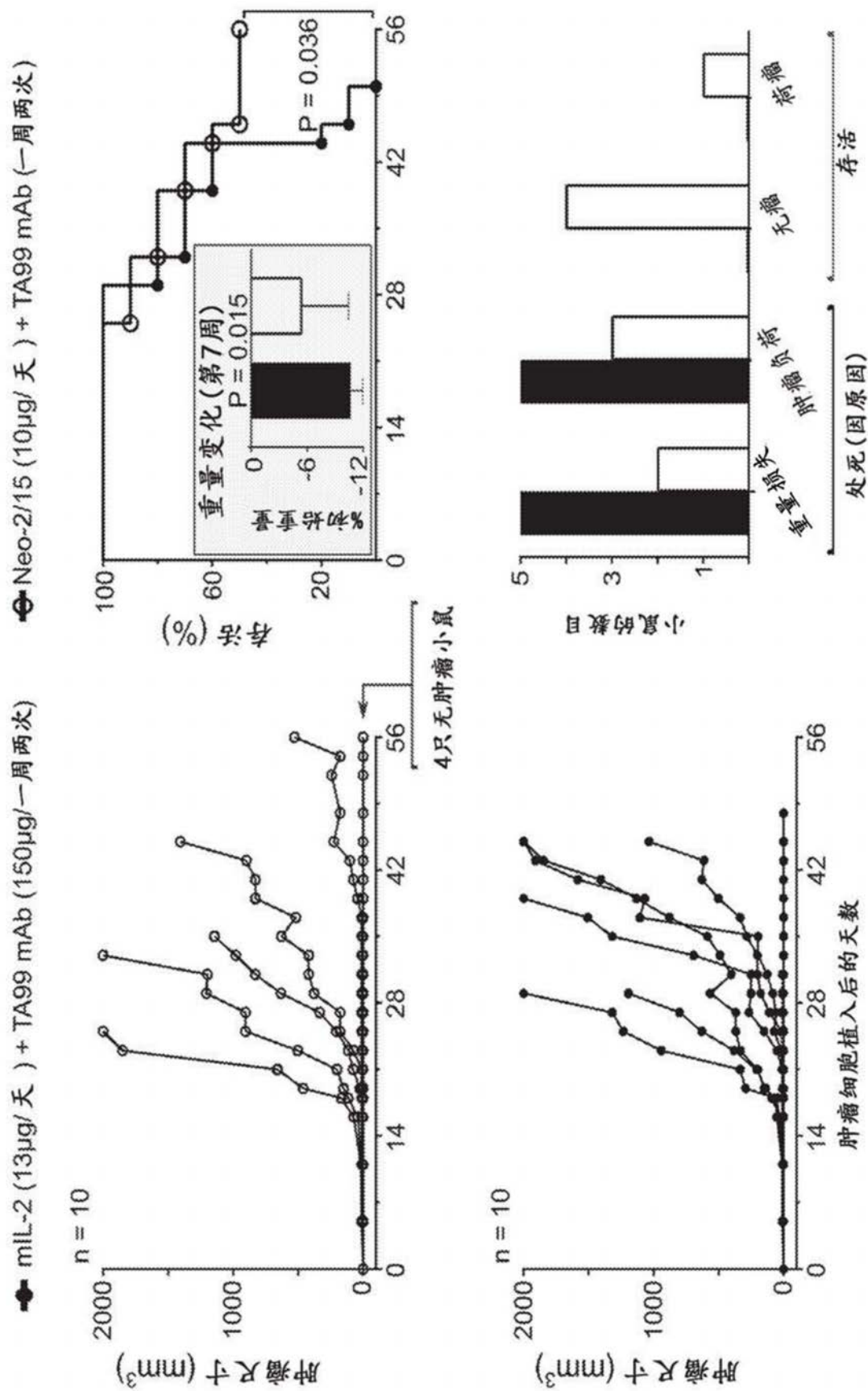


图4F

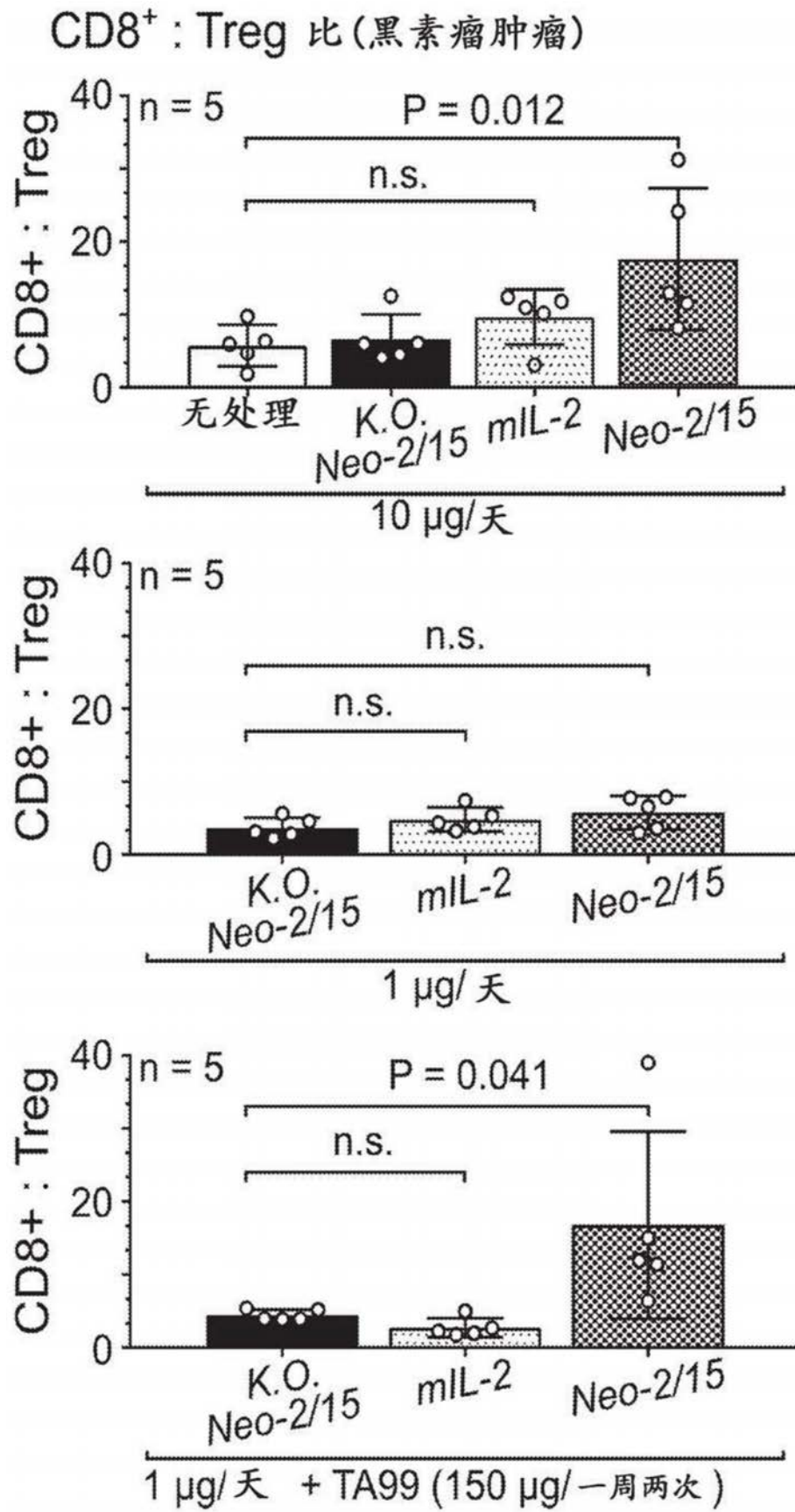


图4G

单一药剂(6天处理)

- ✕ 无处理 ◆ Neoleukin-2/15 (1 $\mu\text{g}/\text{天}$)
● MmlL-2 (5 $\mu\text{g}/\text{天}$) ○ Neoleukin-2/15 (3 $\mu\text{g}/\text{天}$)

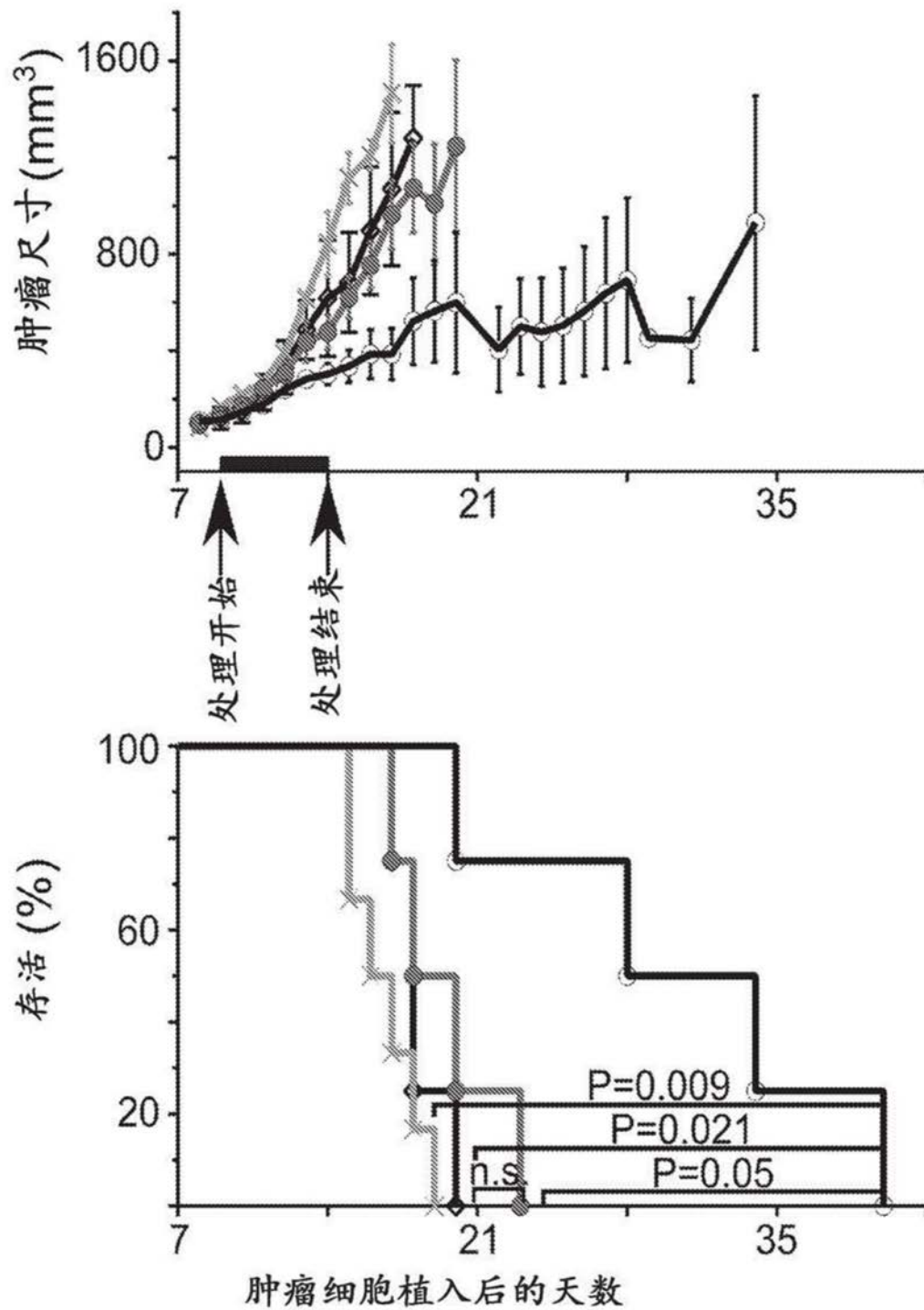


图5A

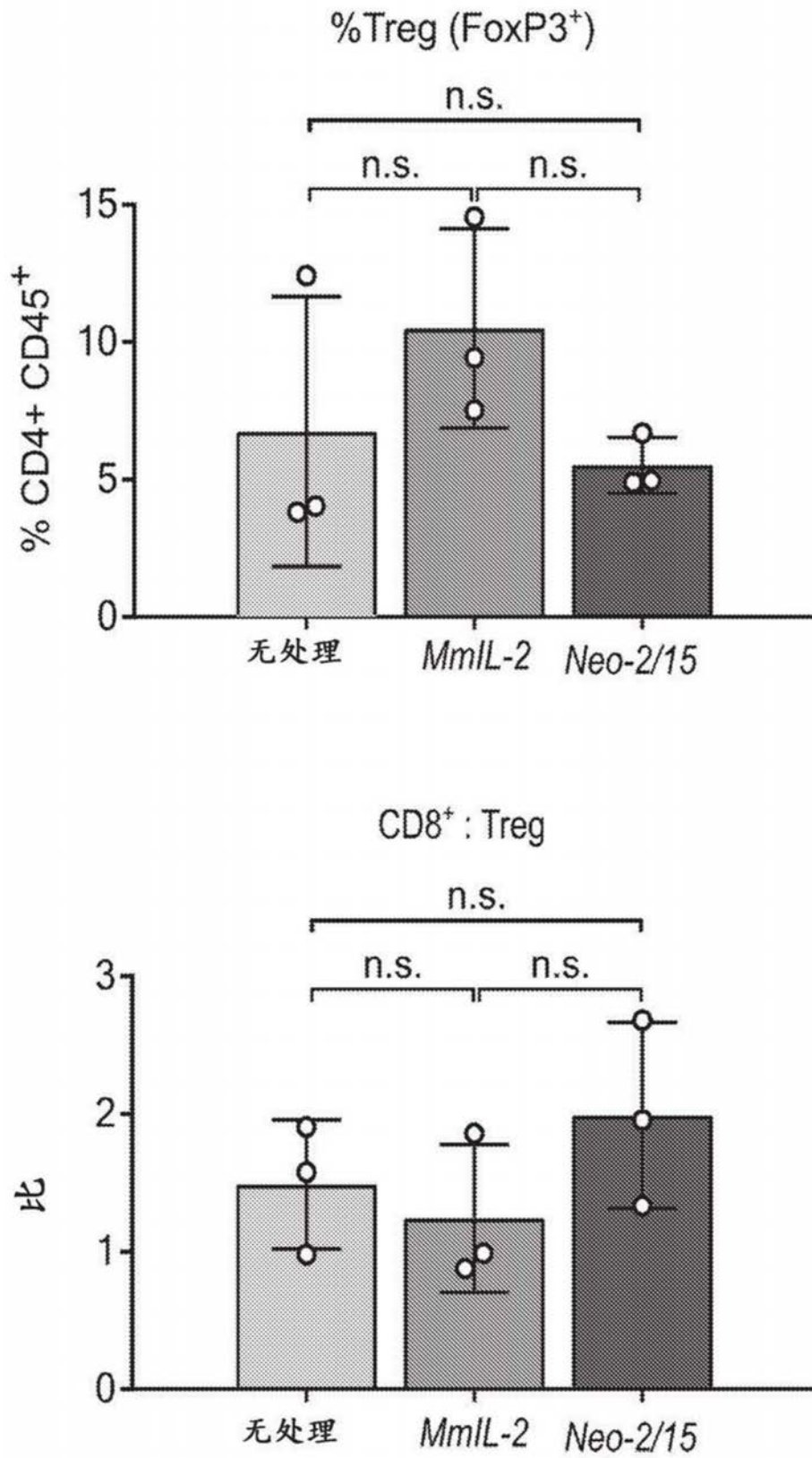
肿瘤@第14天 (10 μ g/天)

图5B

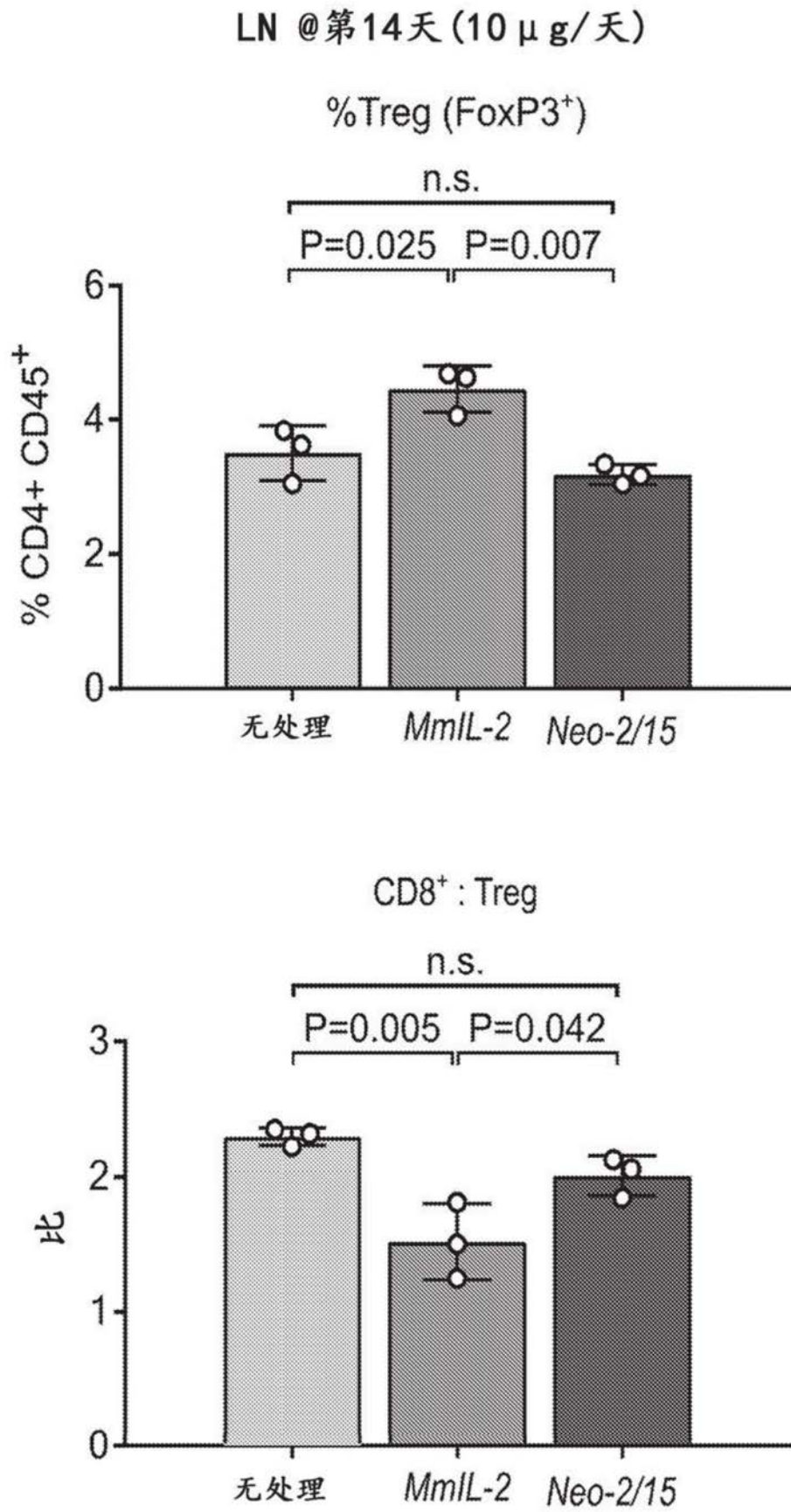


图5C

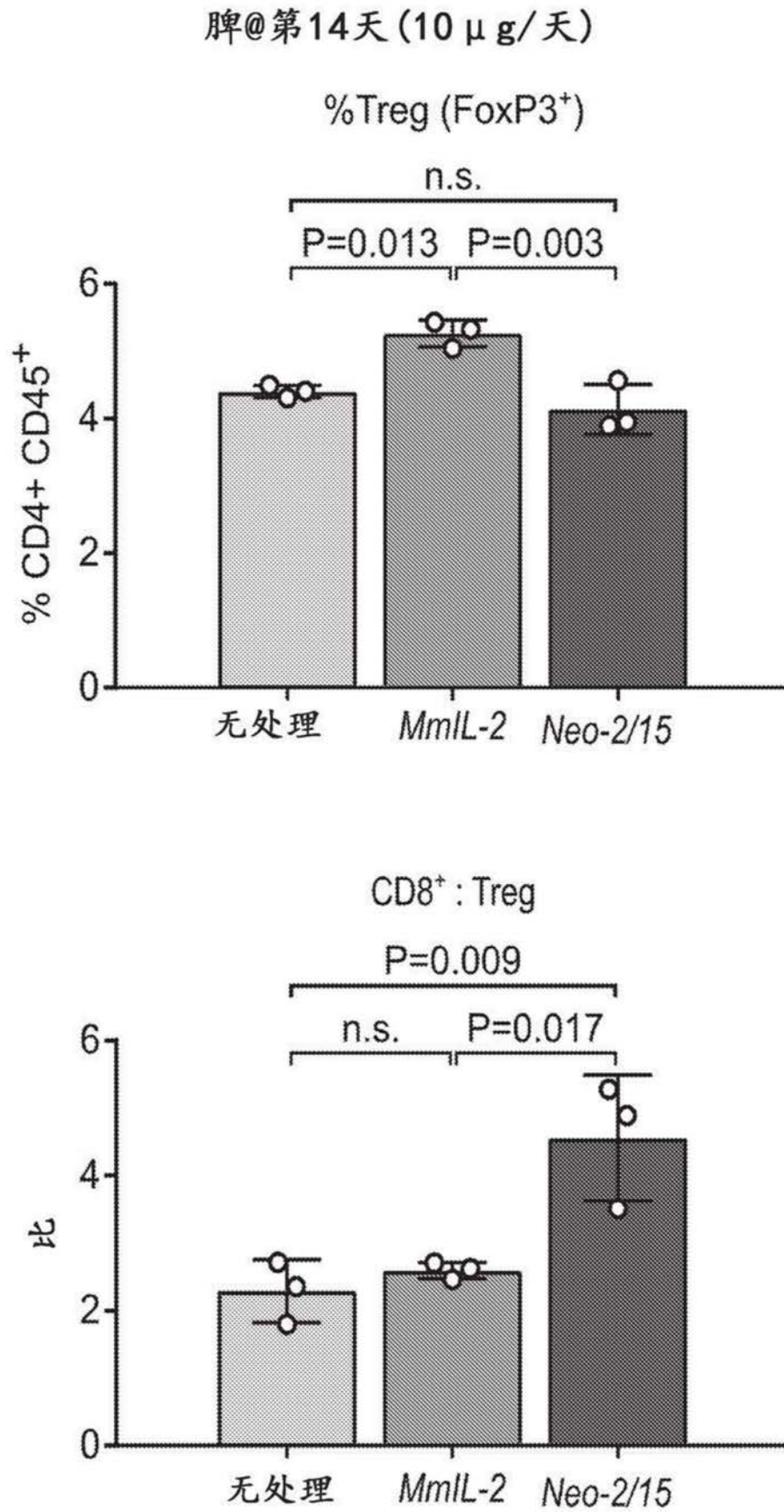


图5D

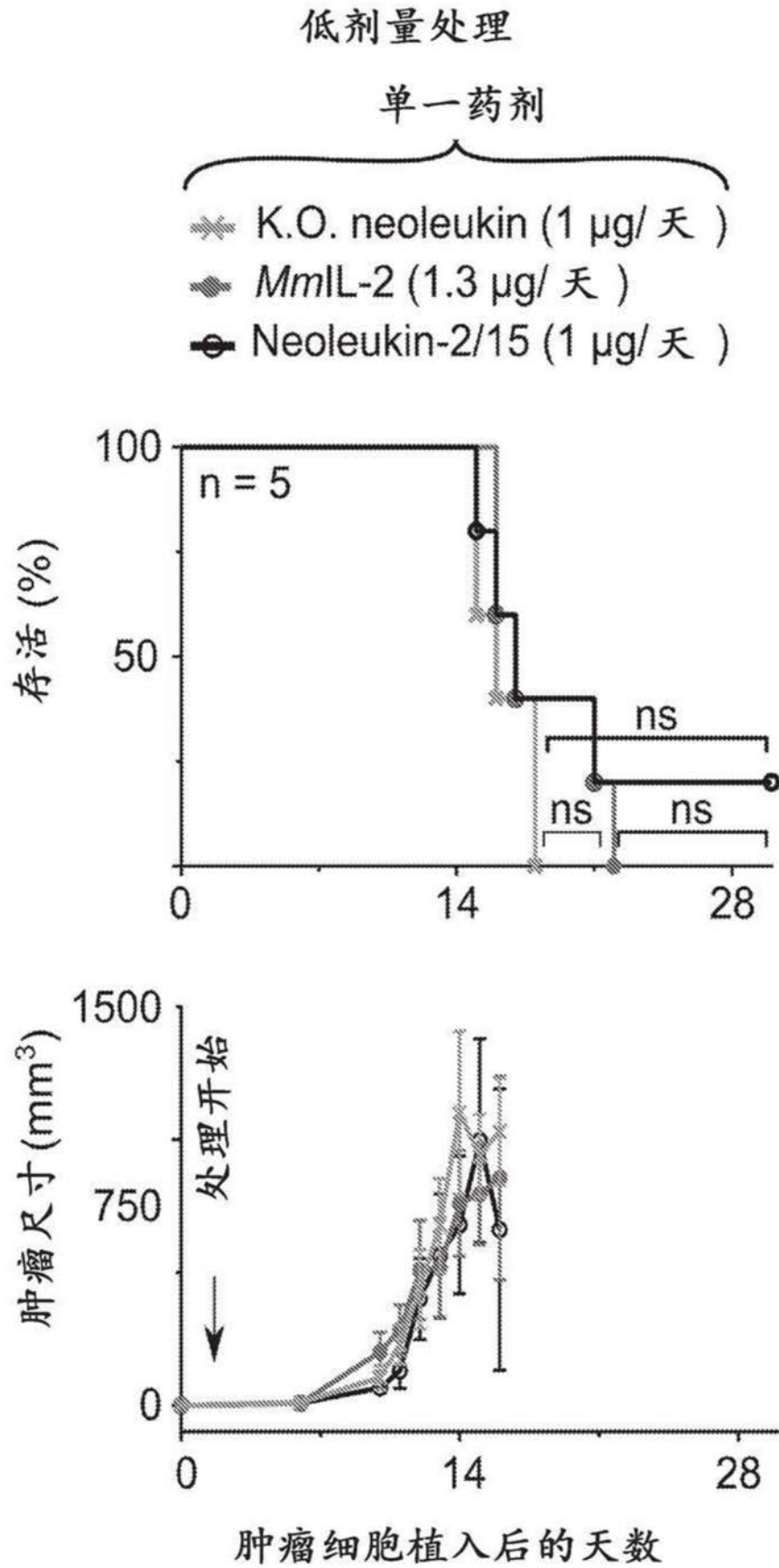


图6A

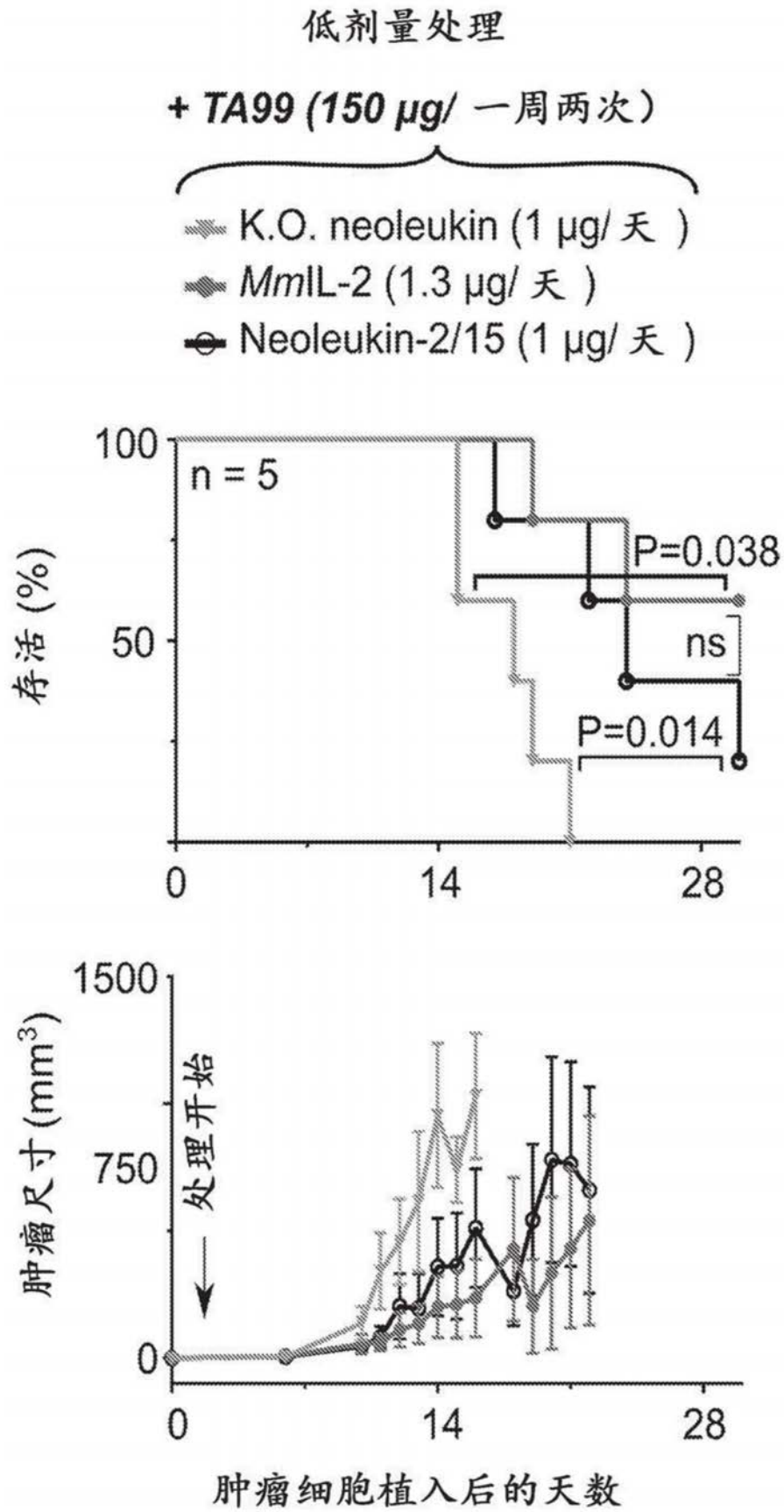


图6B

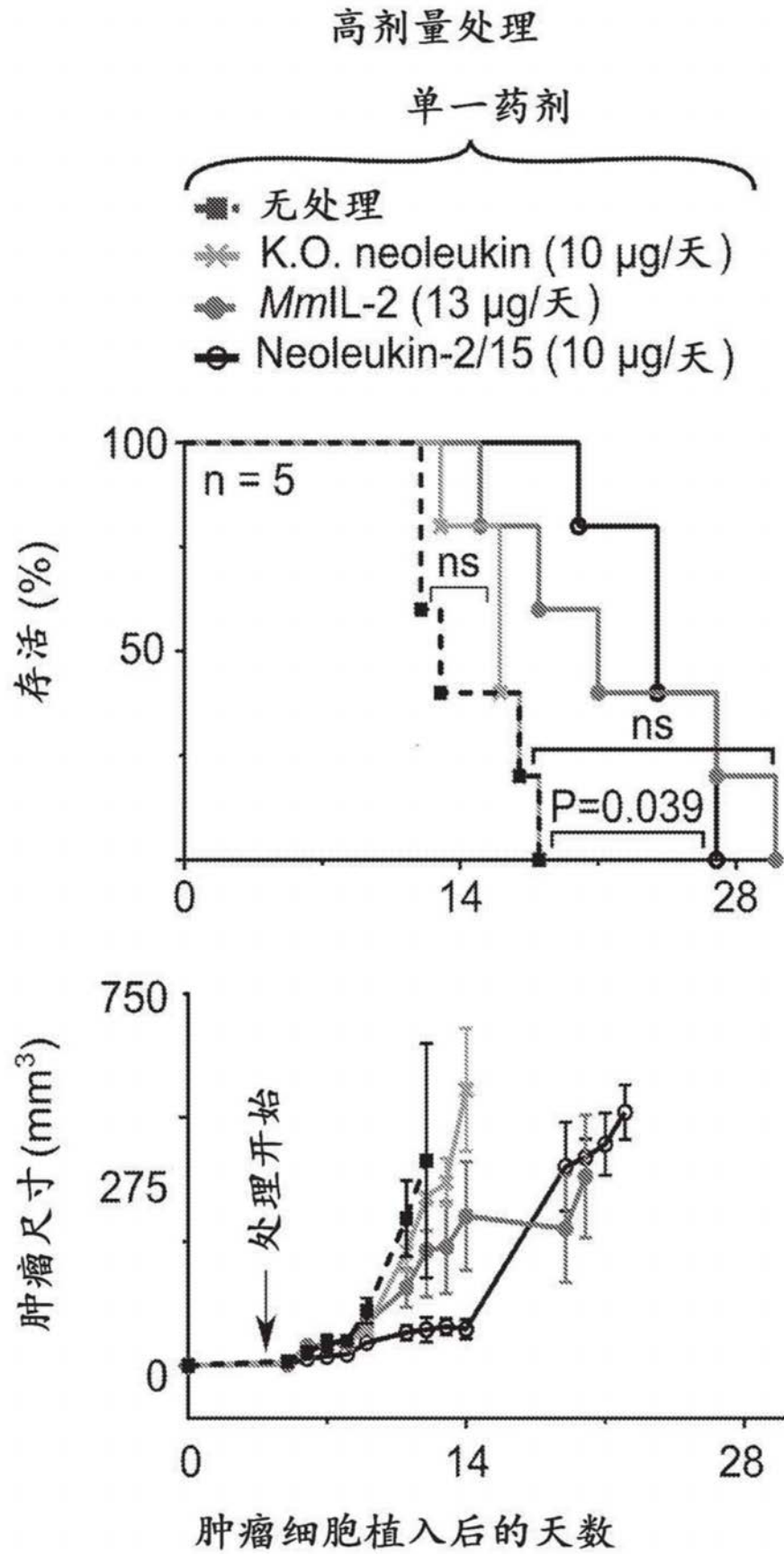


图6C

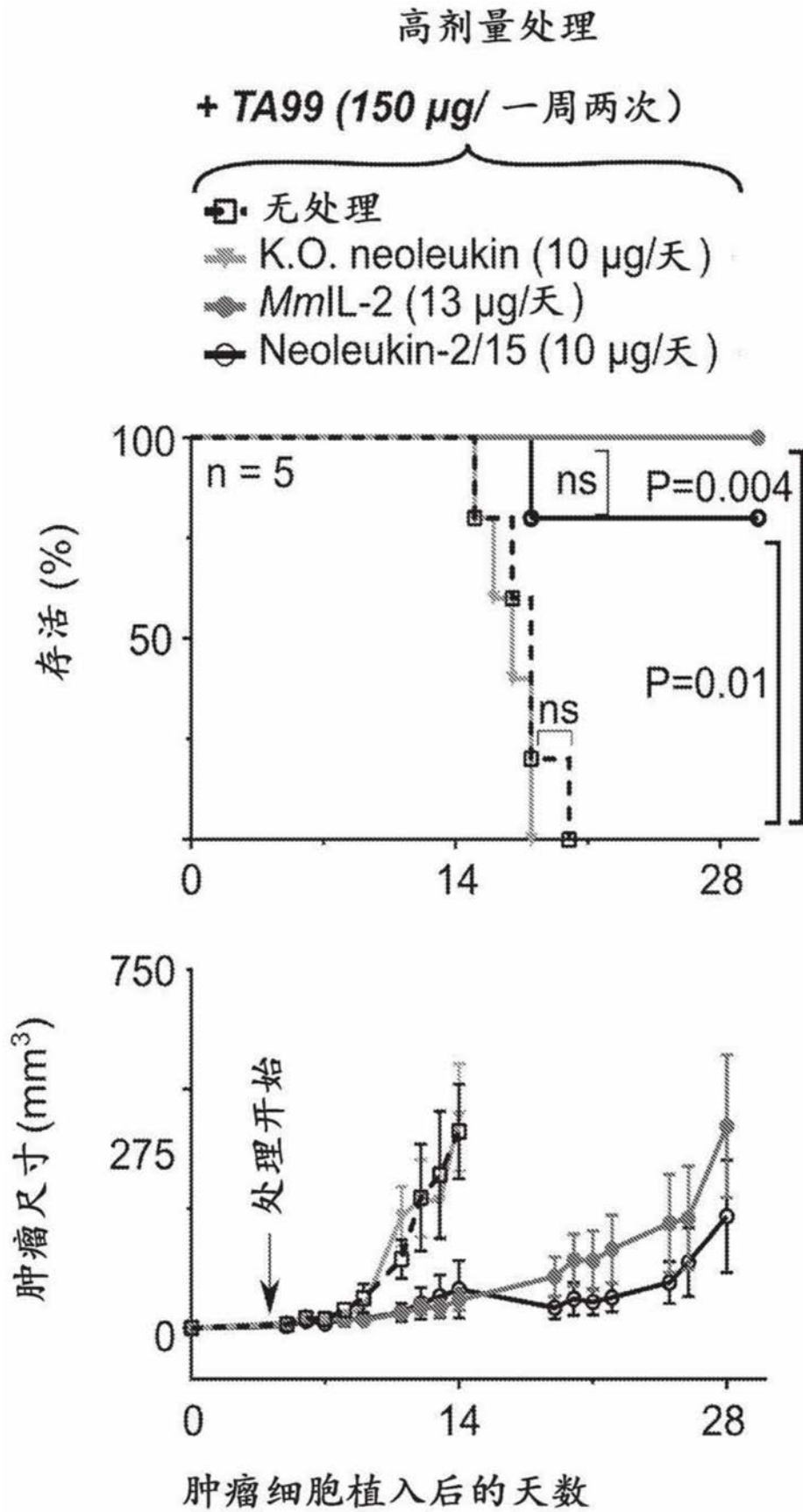


图6D

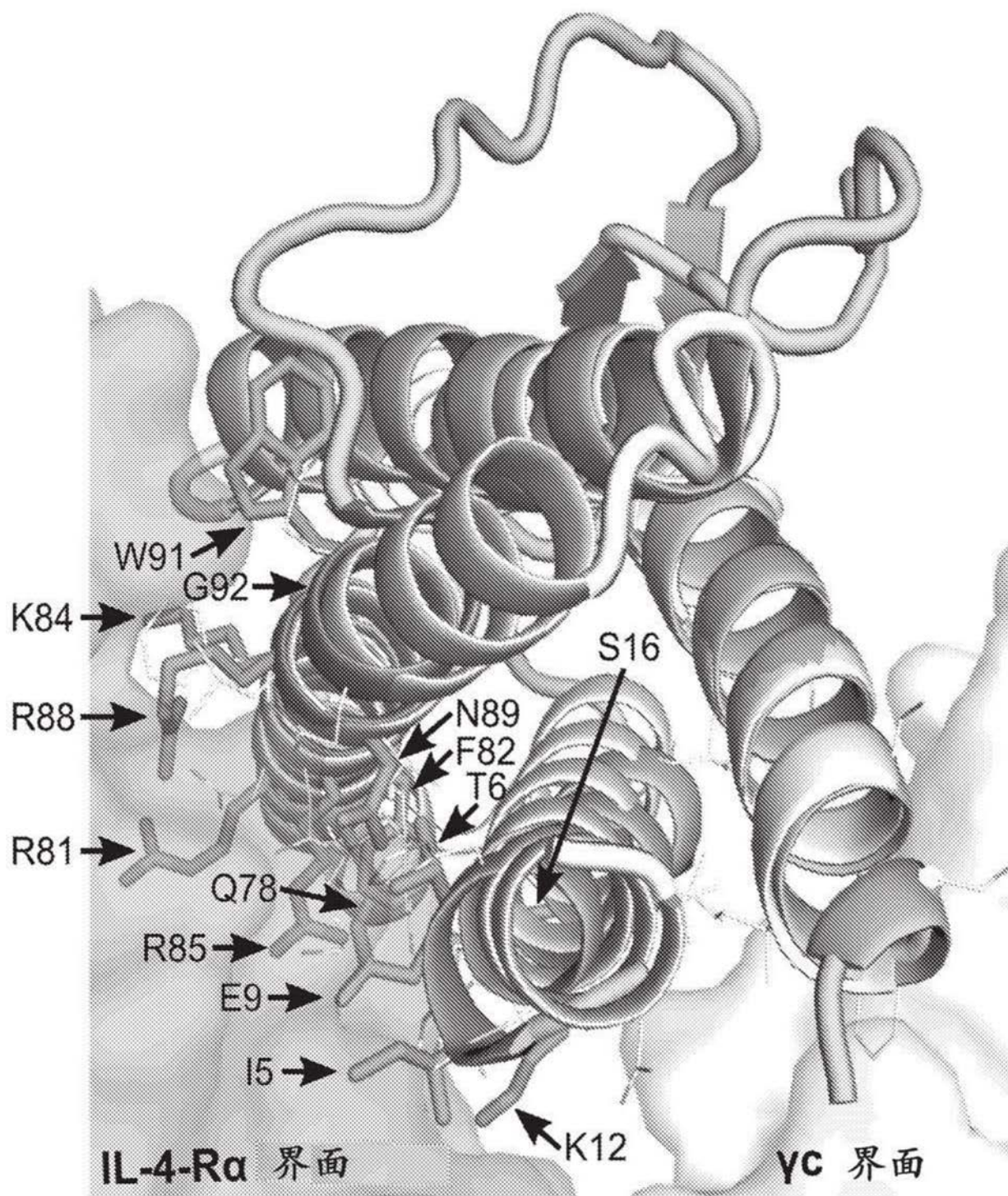


图7A

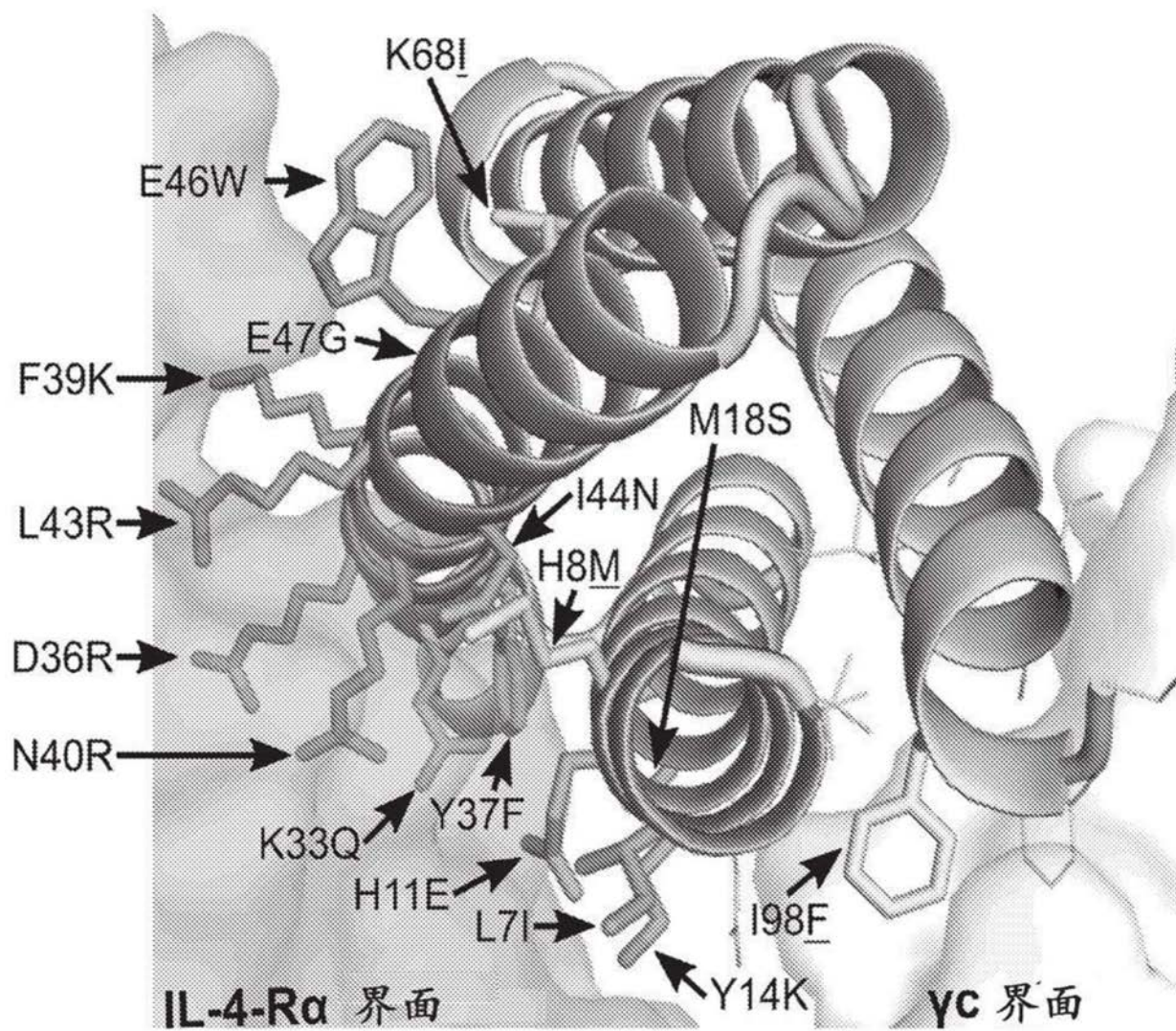


图7B

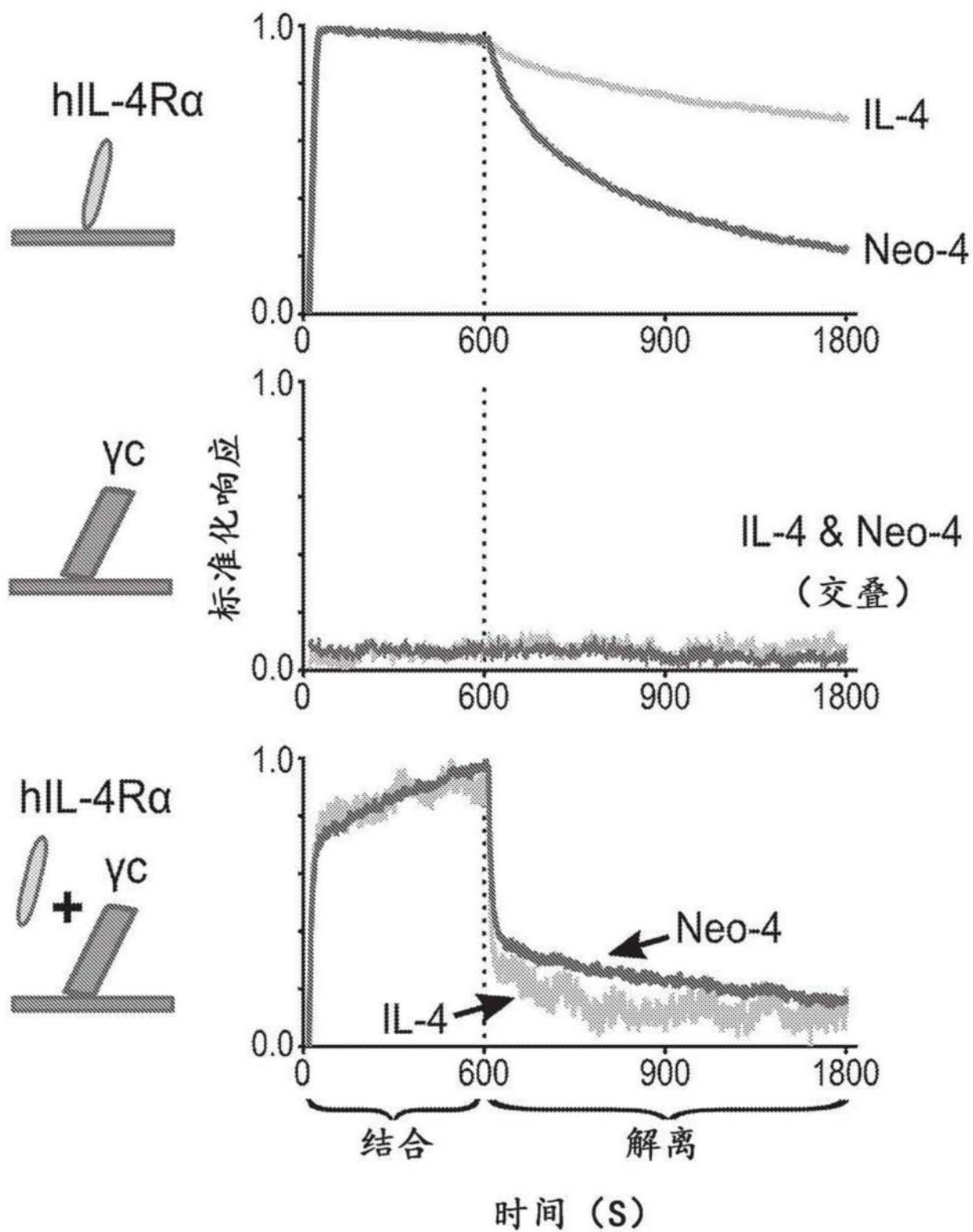


图7C

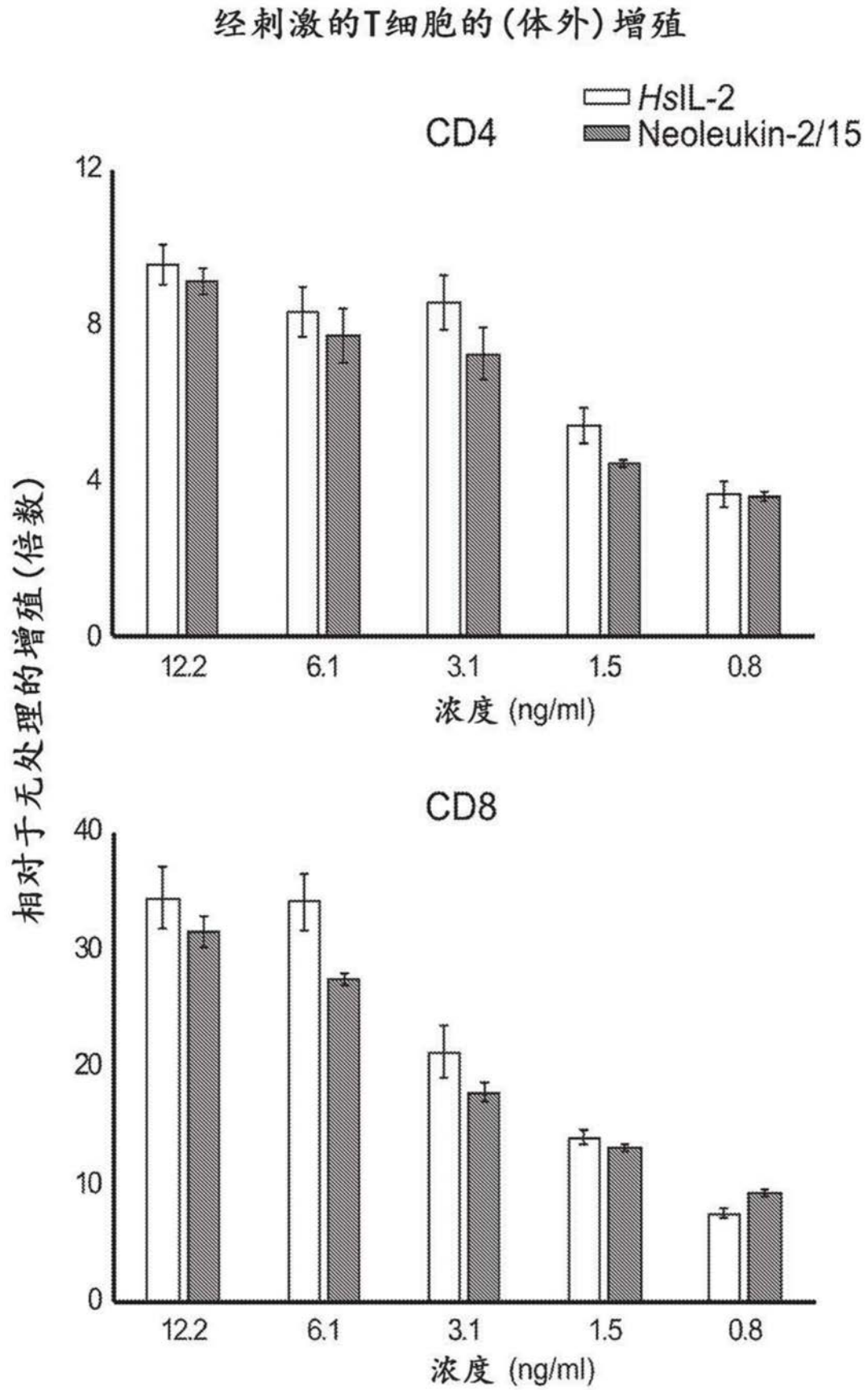


图8A

未刺激的T细胞的(体外)增殖

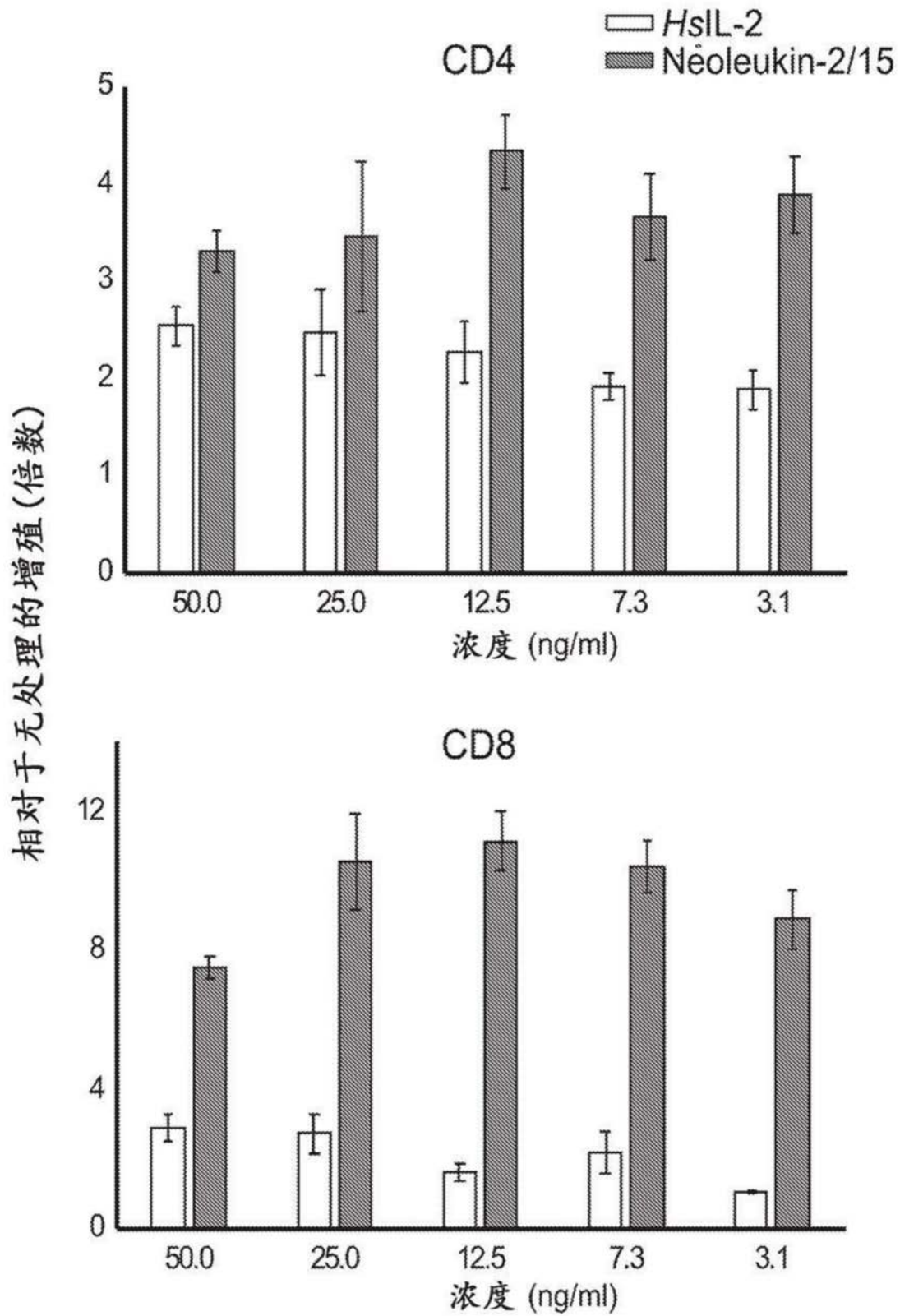


图8B

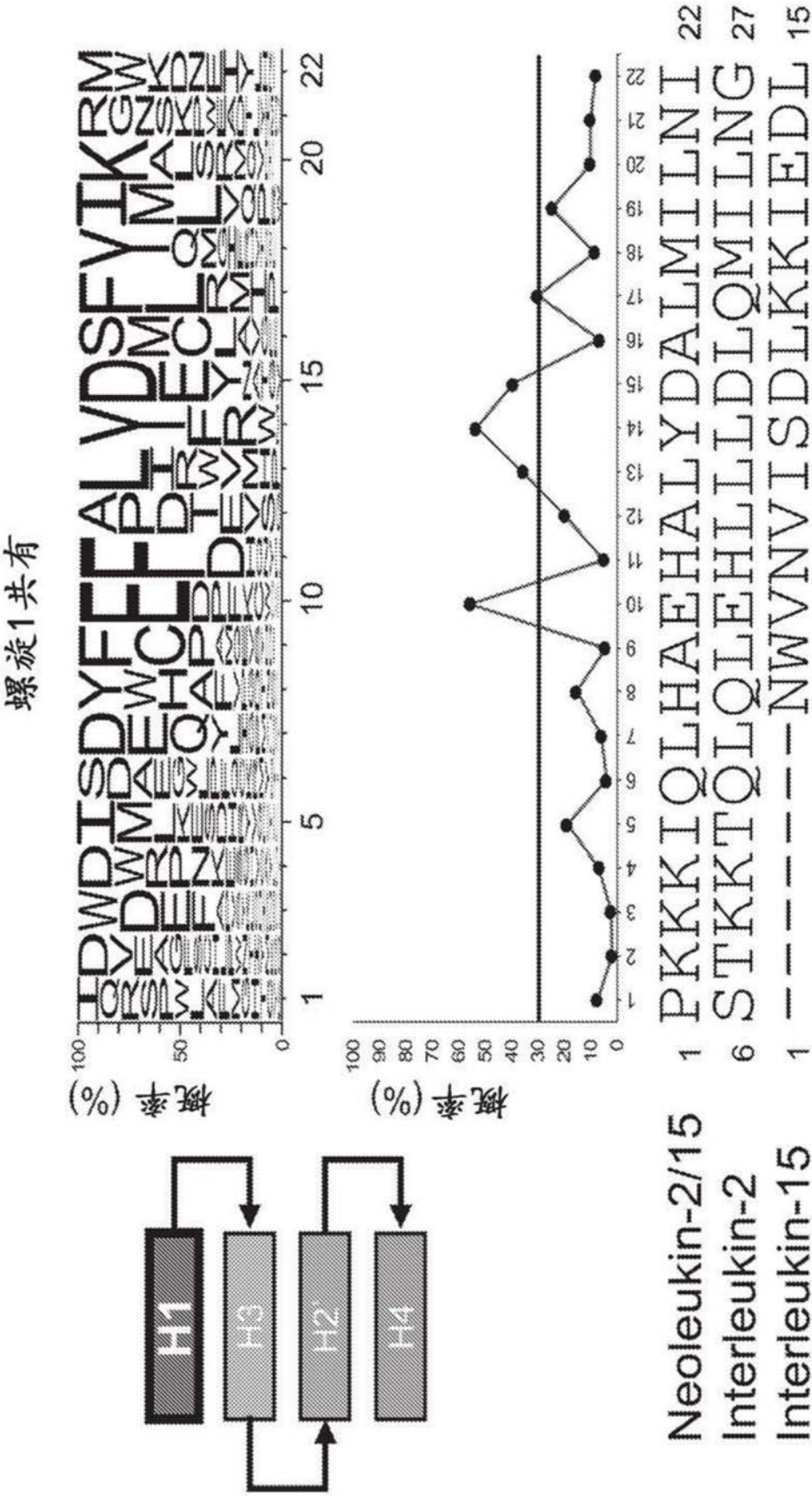


图9A

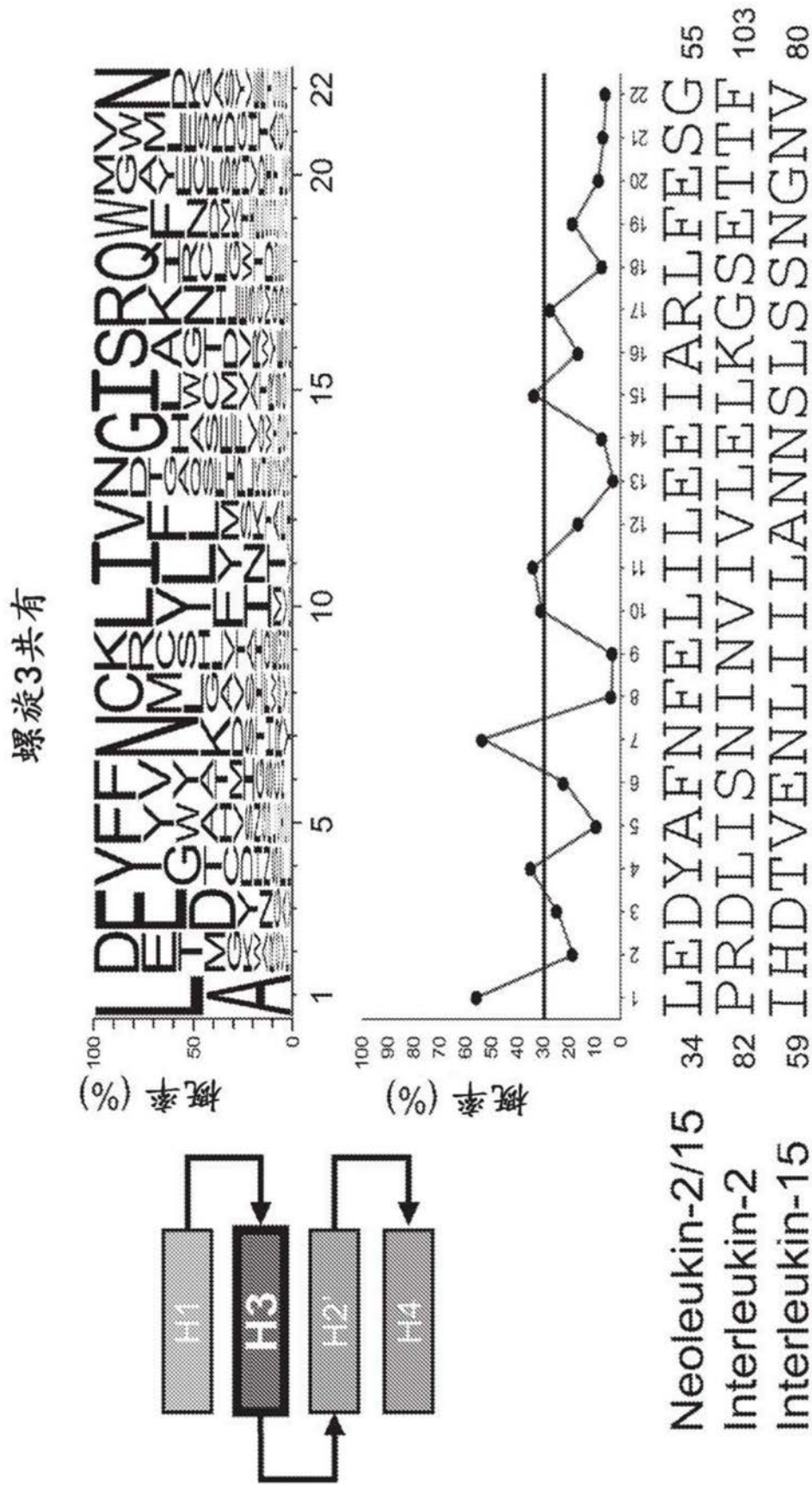


图9B

螺旋2' 共有

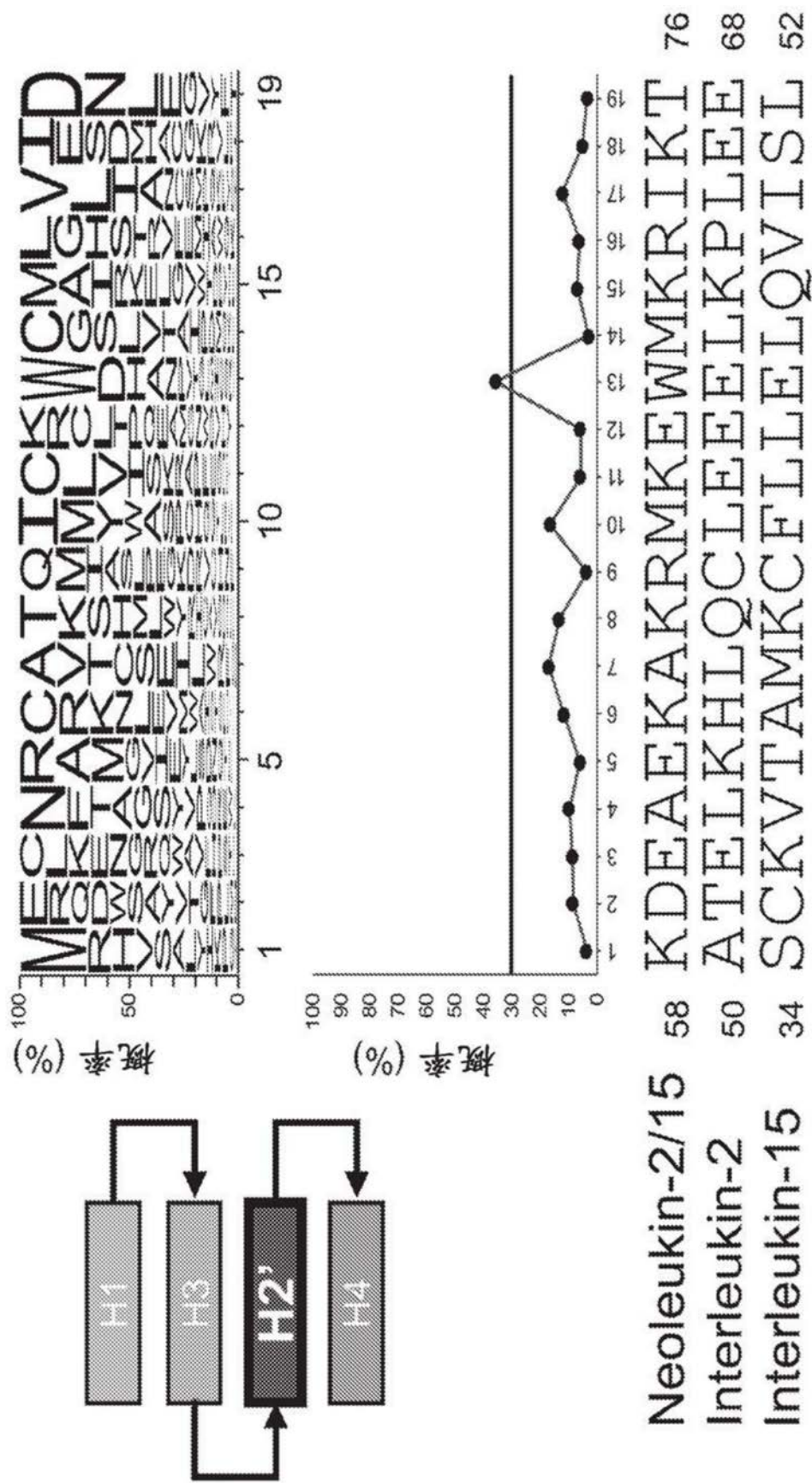


图9C

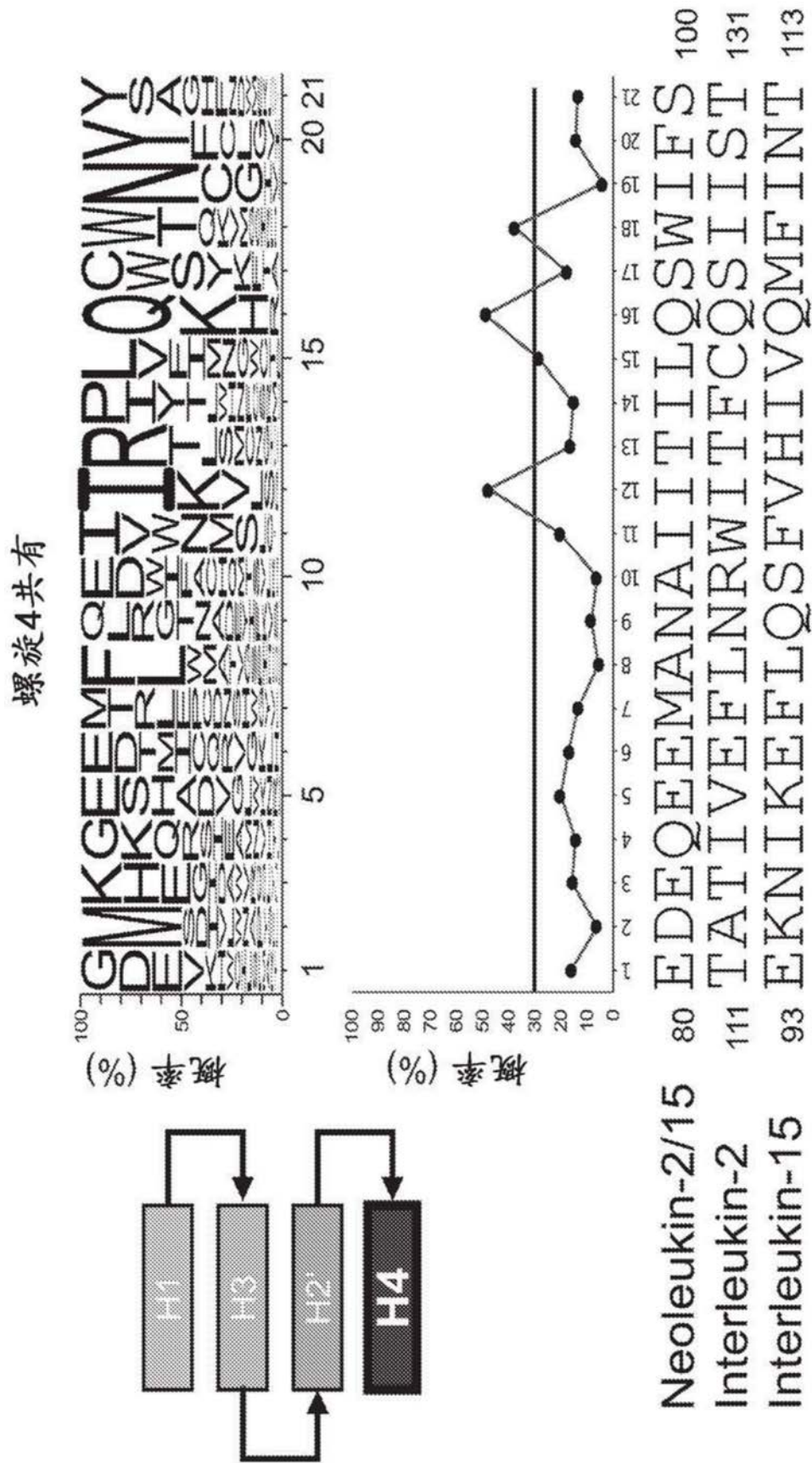


图9D

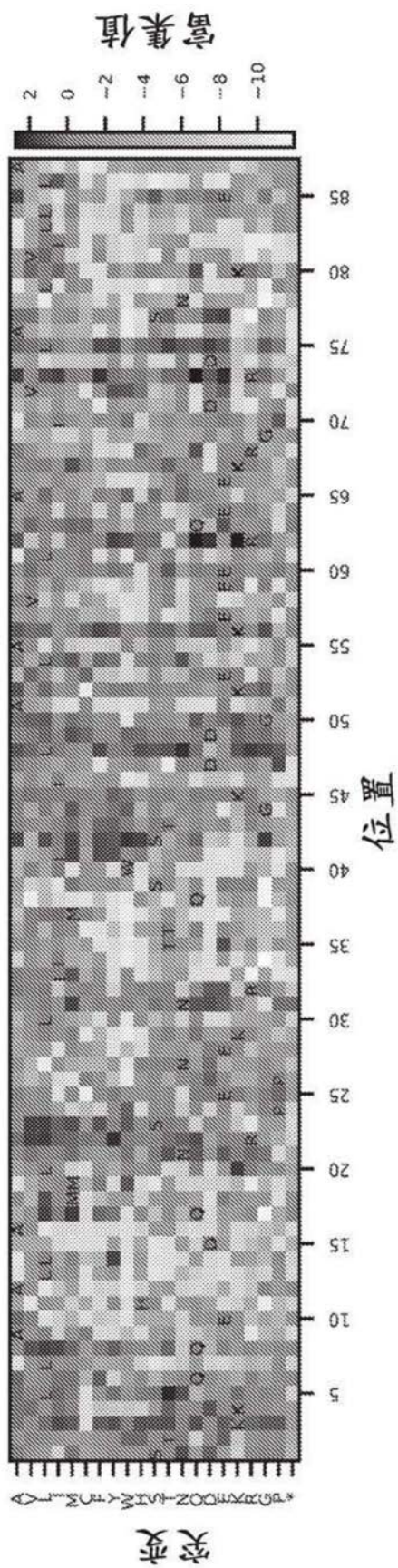


图10A

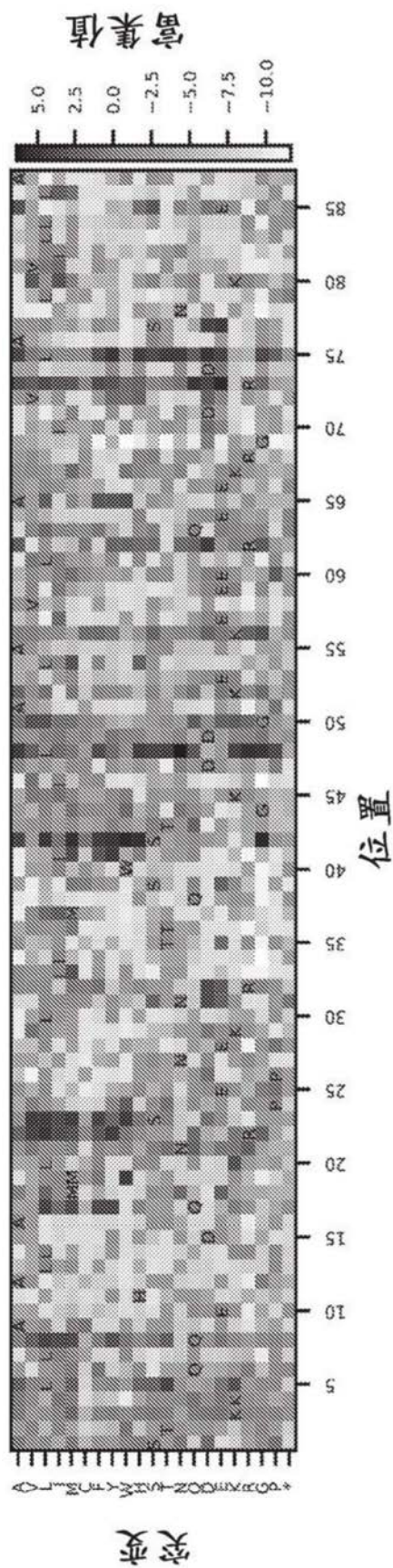


图10B

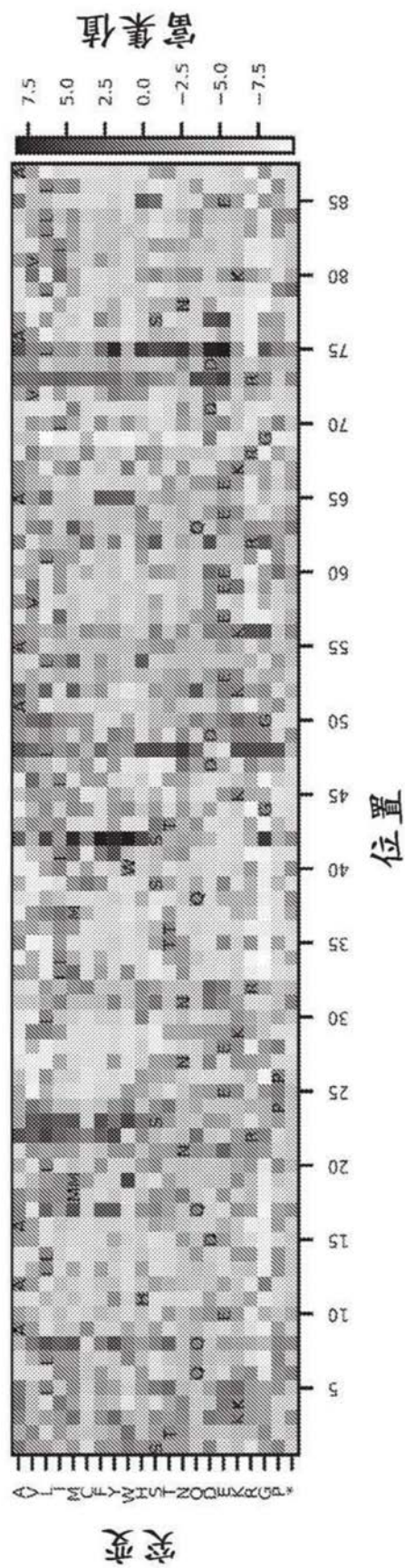


图10C

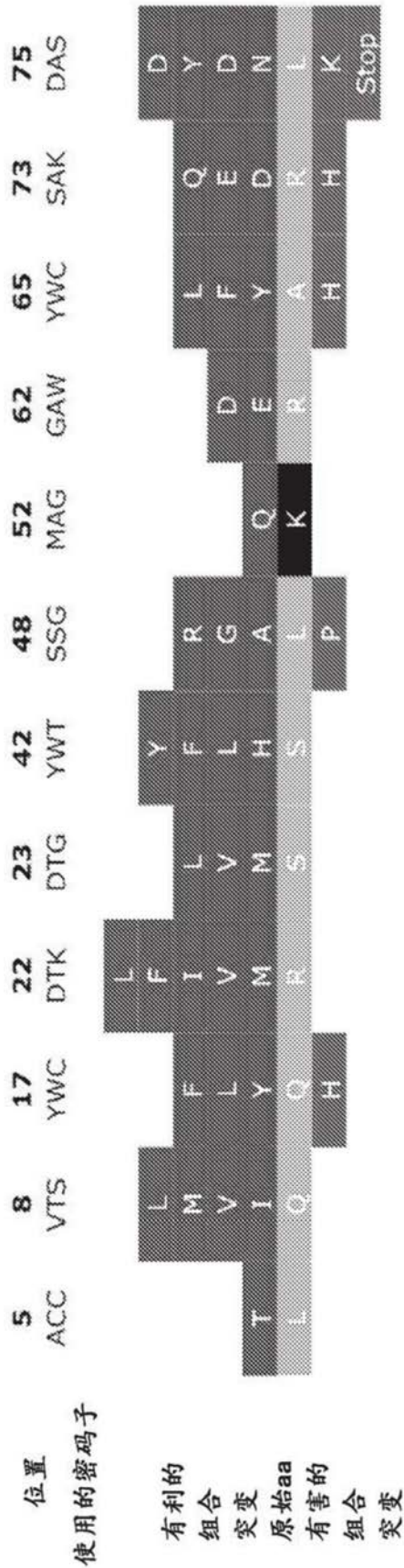


图10D

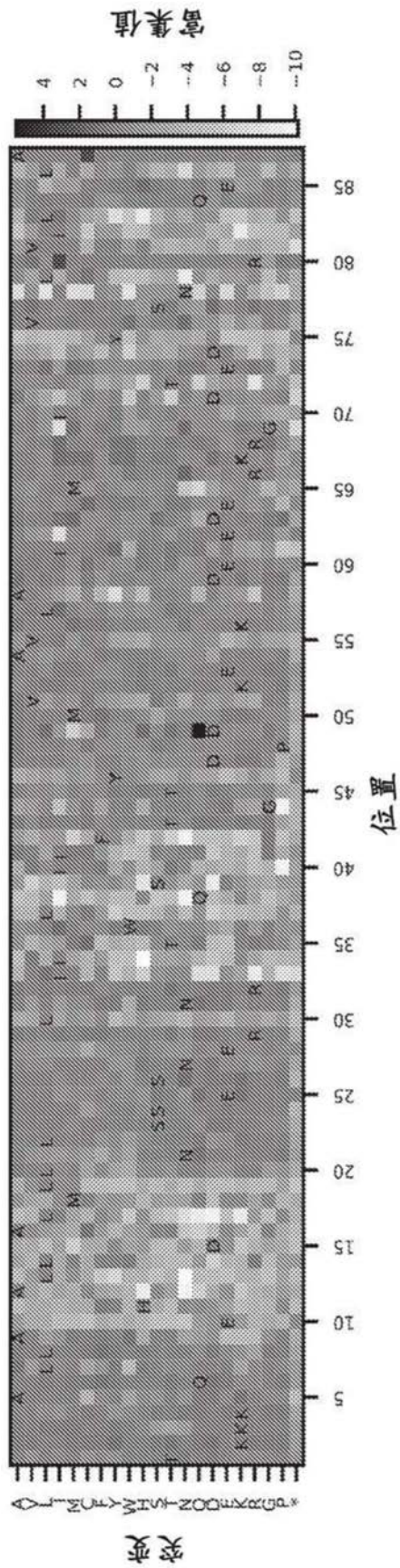


图11A

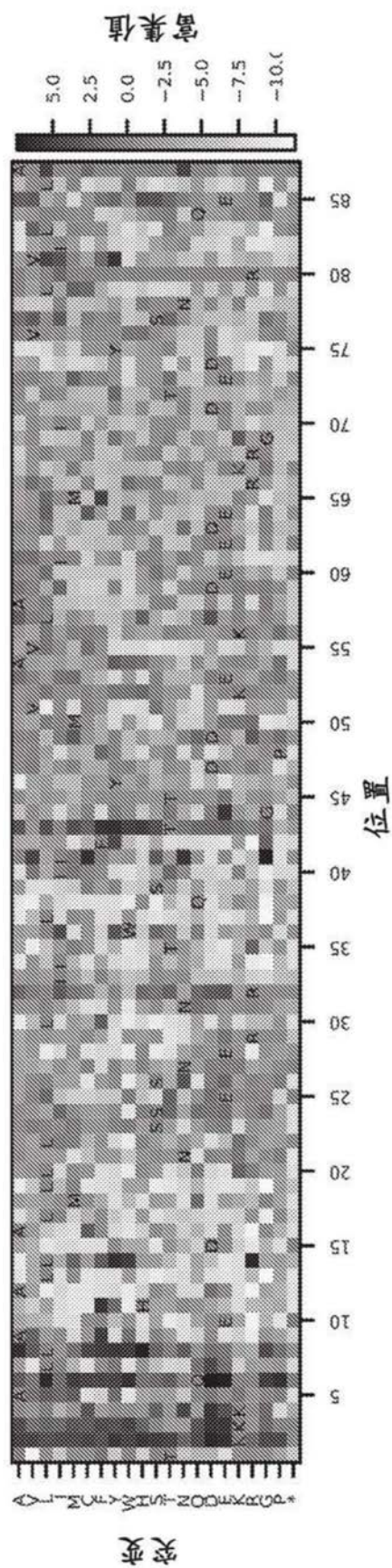


图11B

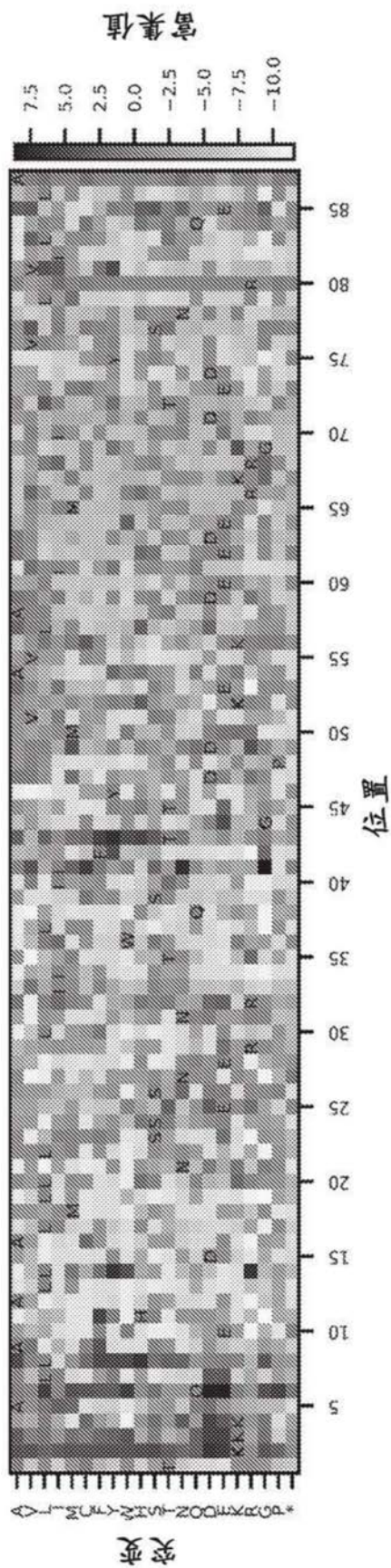


图11C

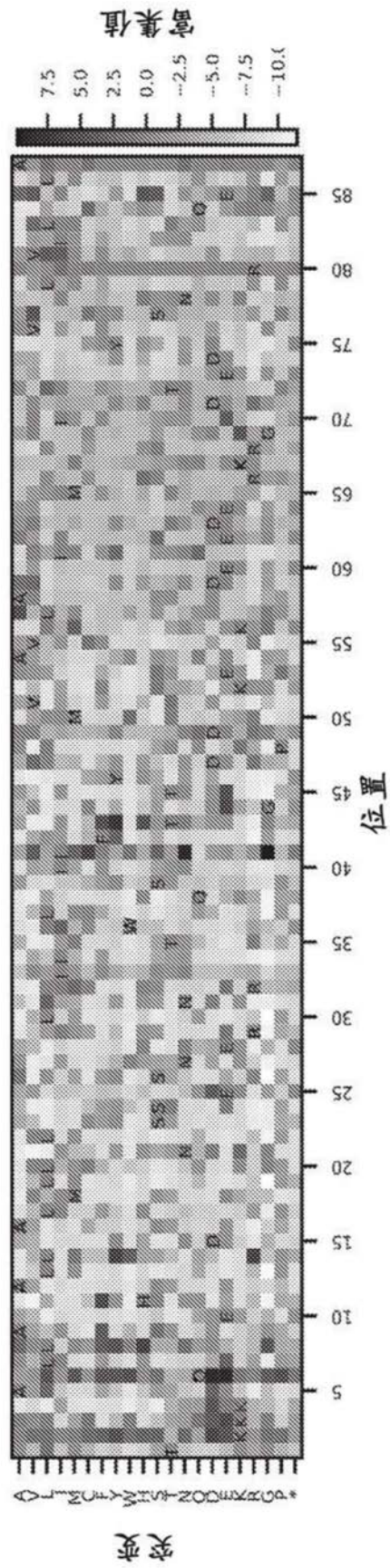


图11D

位置	2	4	6	8	11	14	32	41	43	44	57	69	77	81
使用的密码子	RAS	RAS	SAS	YWC	YWC	YWC	GAW CGT	AWC	TWC ACC	GRA	GMC CTG	AAG GGT	GTT TCT	KTA TAT
组合突变	D E N K	D E N K	E D H Q	H F Y L	F Y L H	H F Y L	E D R	N I	Y F T		A D L	K G	V S	L Y V
原始aa														

图11E

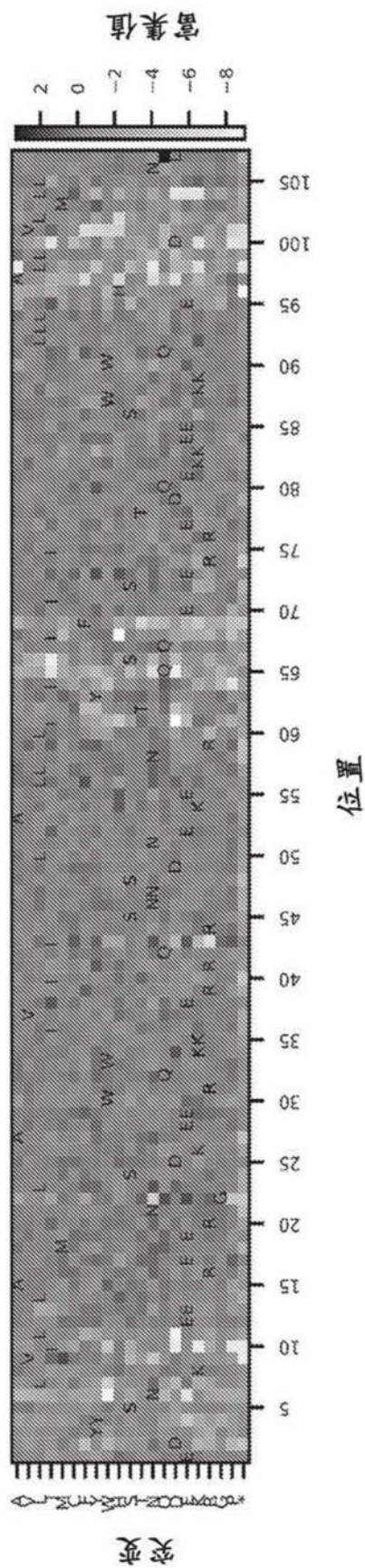


图12A

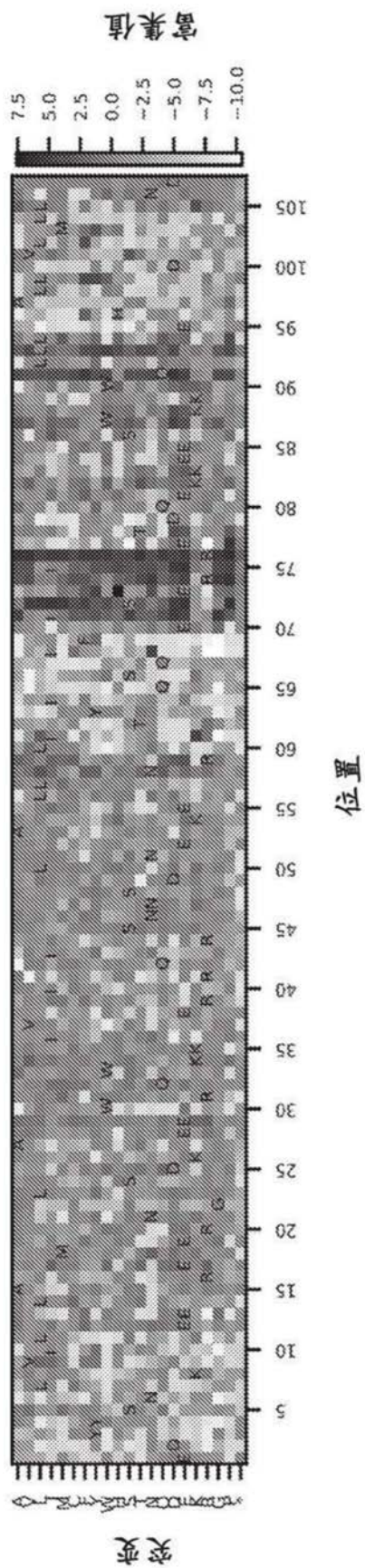


图12B

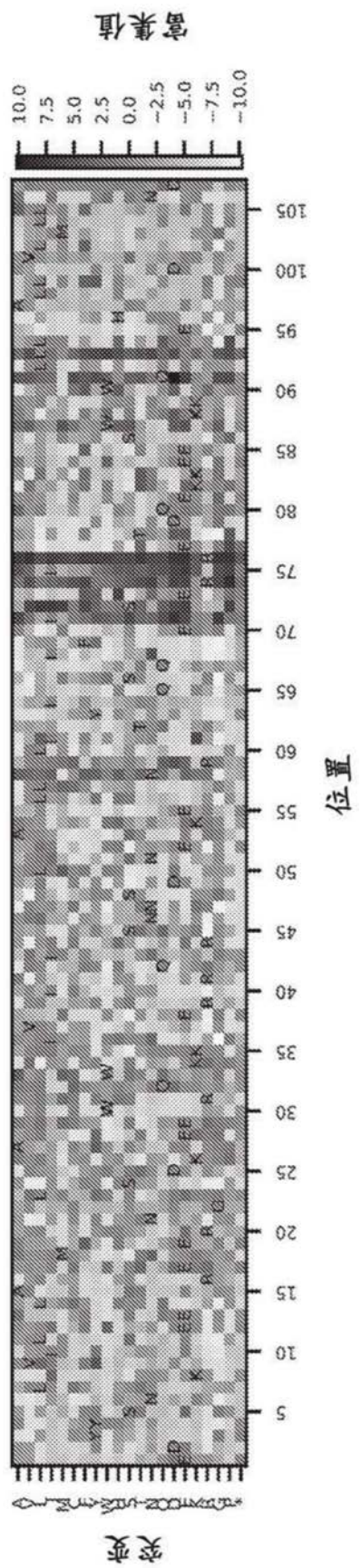


图12C

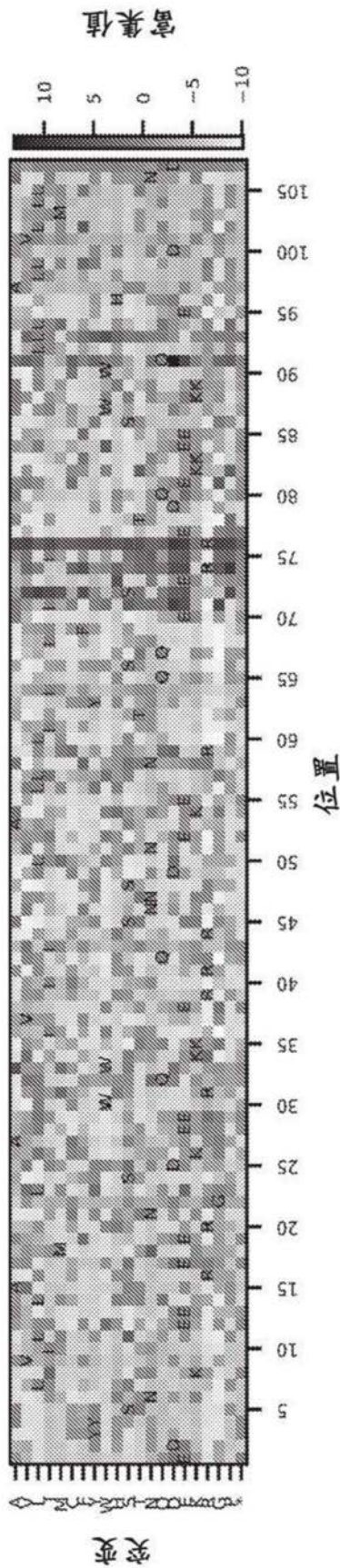


图12D

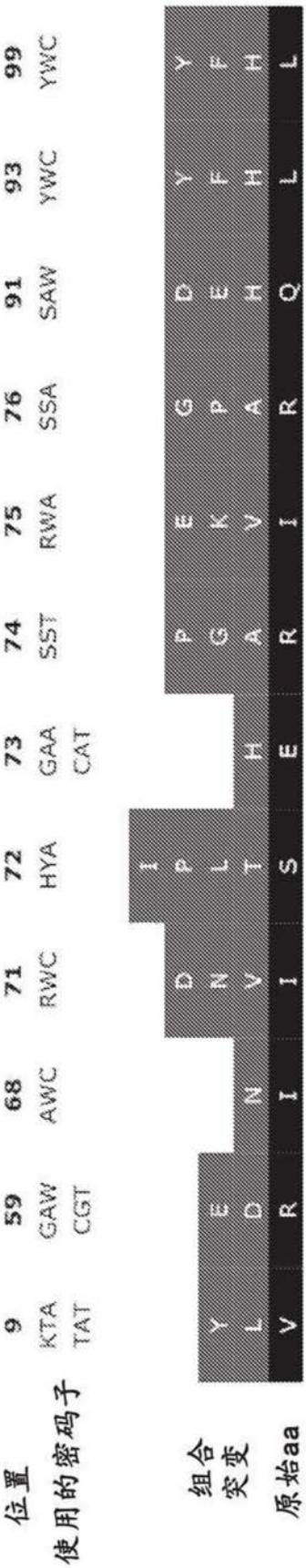


图12E

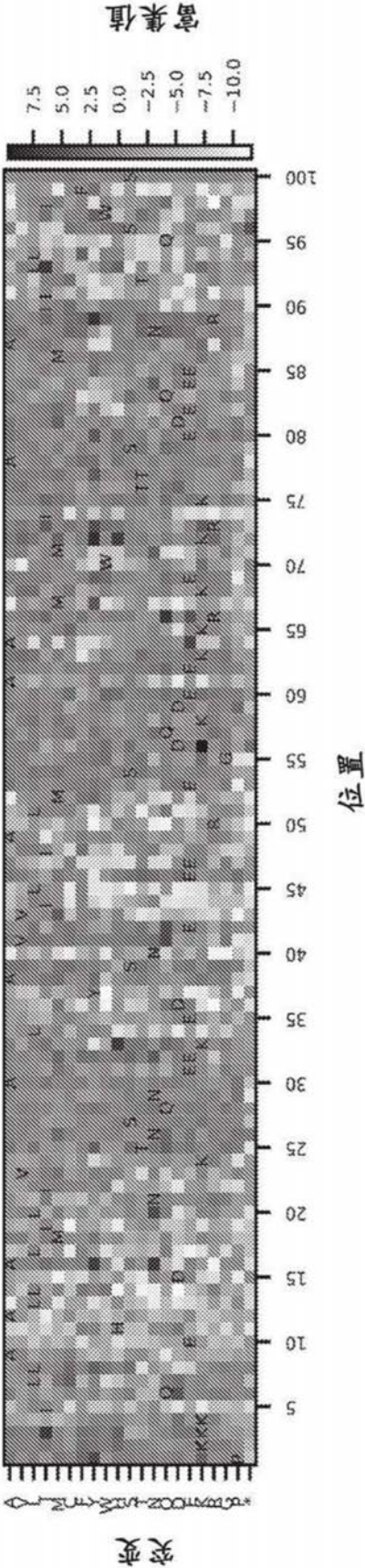


图13A

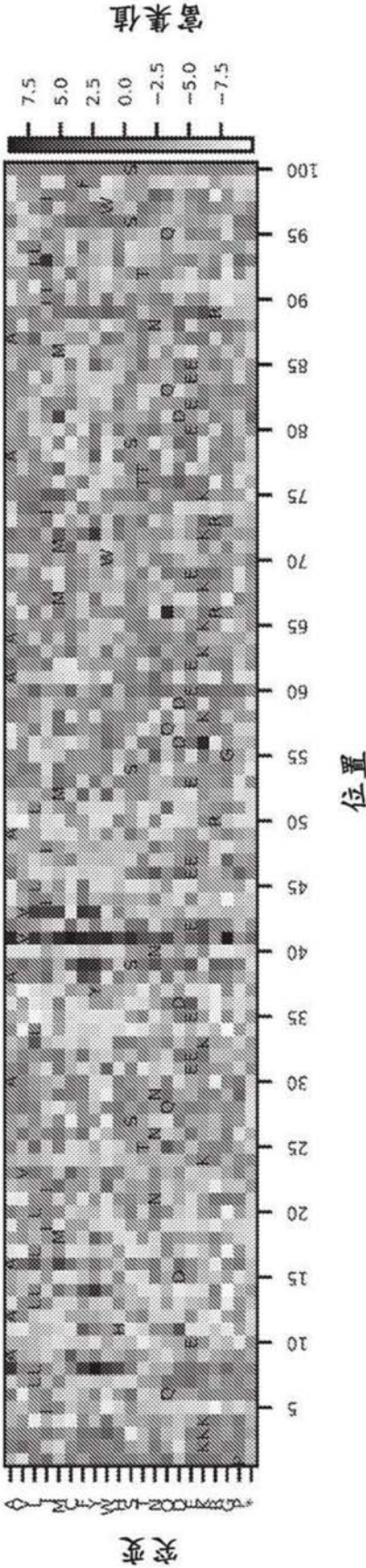


图13B

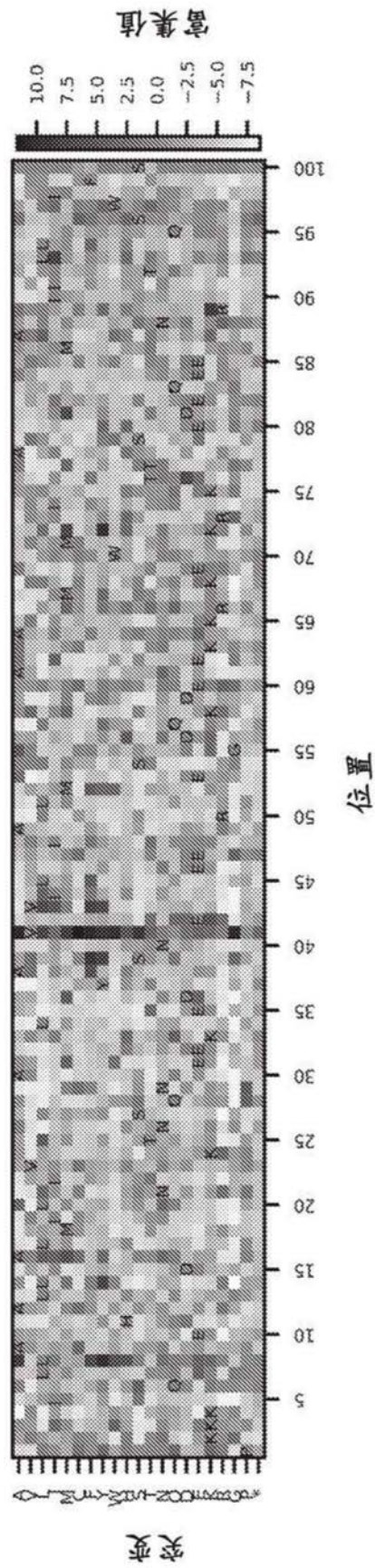


图13C

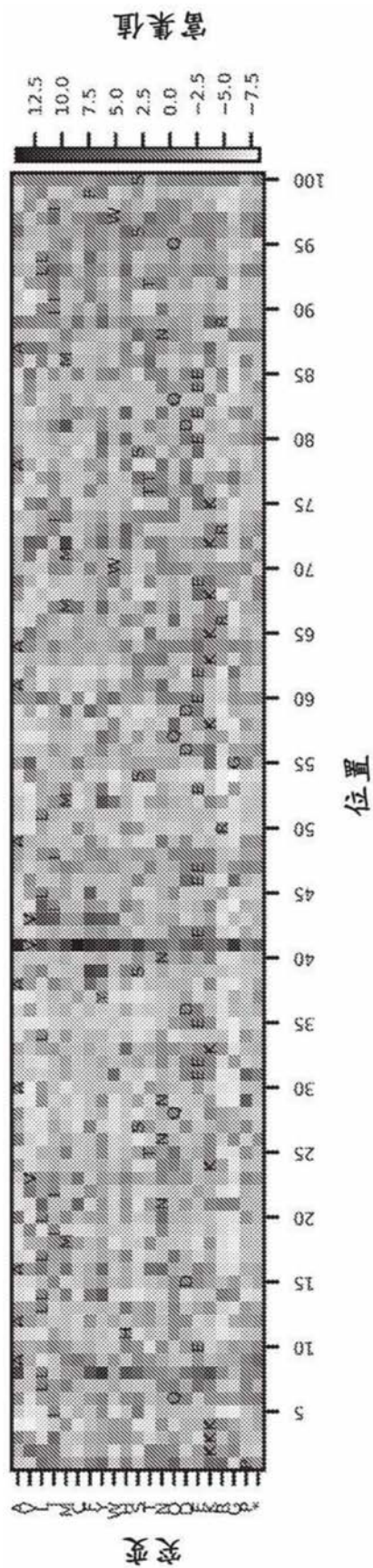


图13D

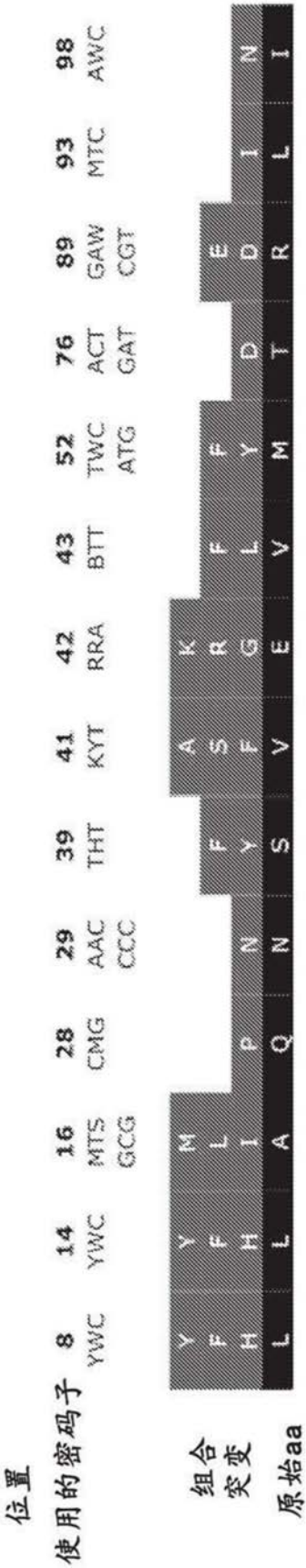


图13E

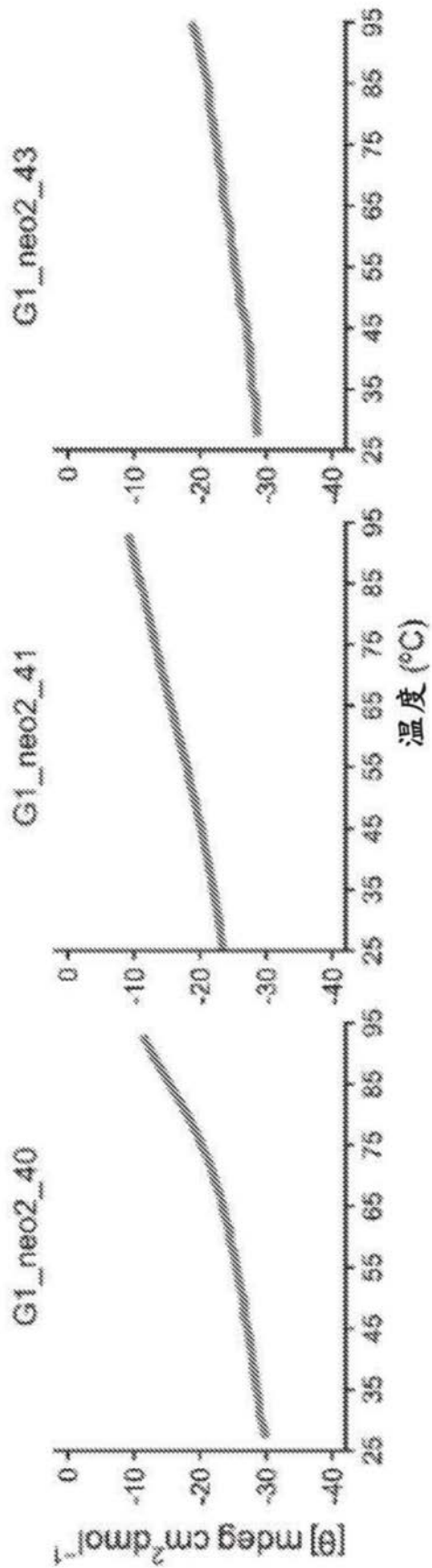


图14A

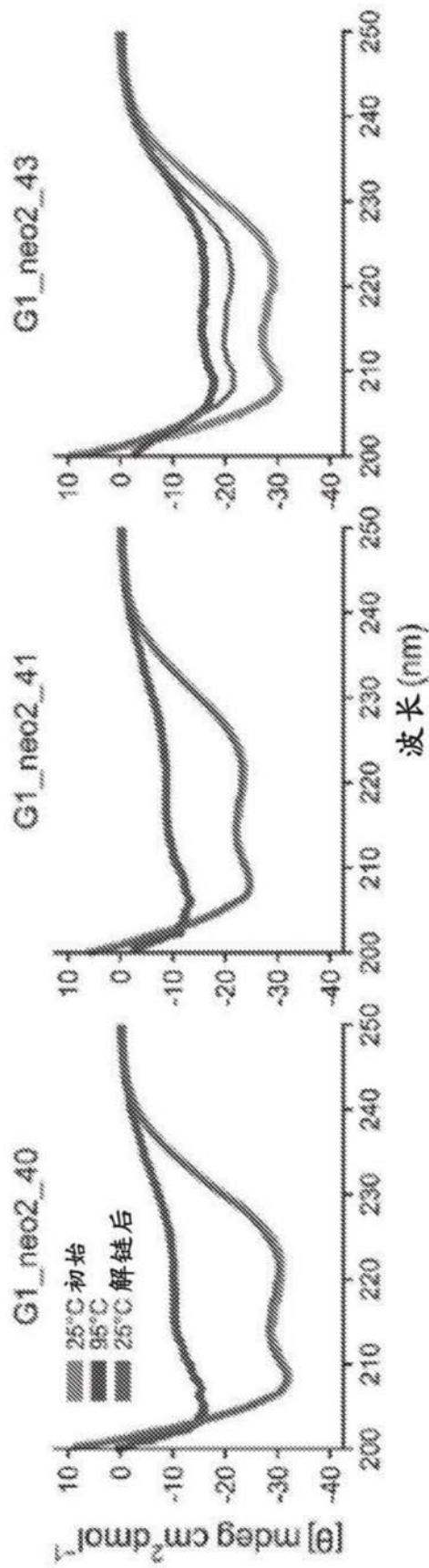


图14B

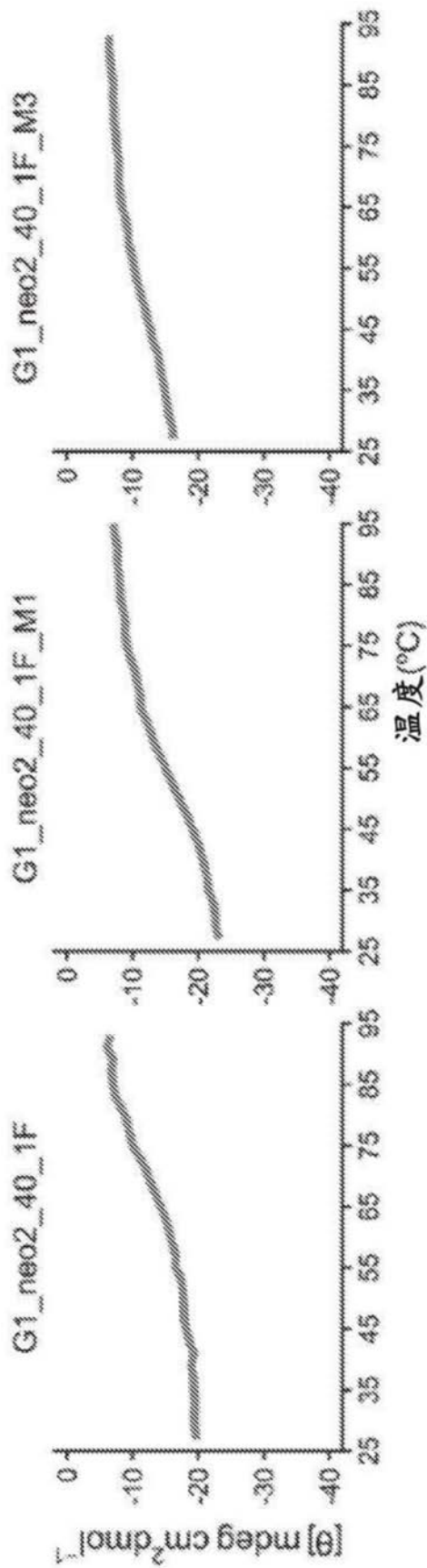


图15A

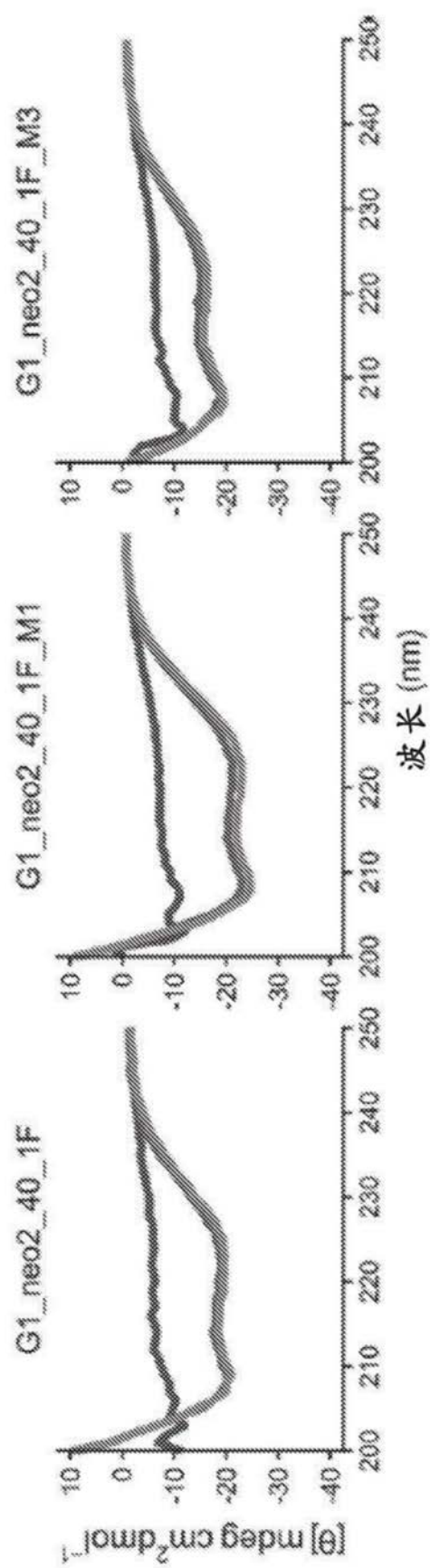


图15B

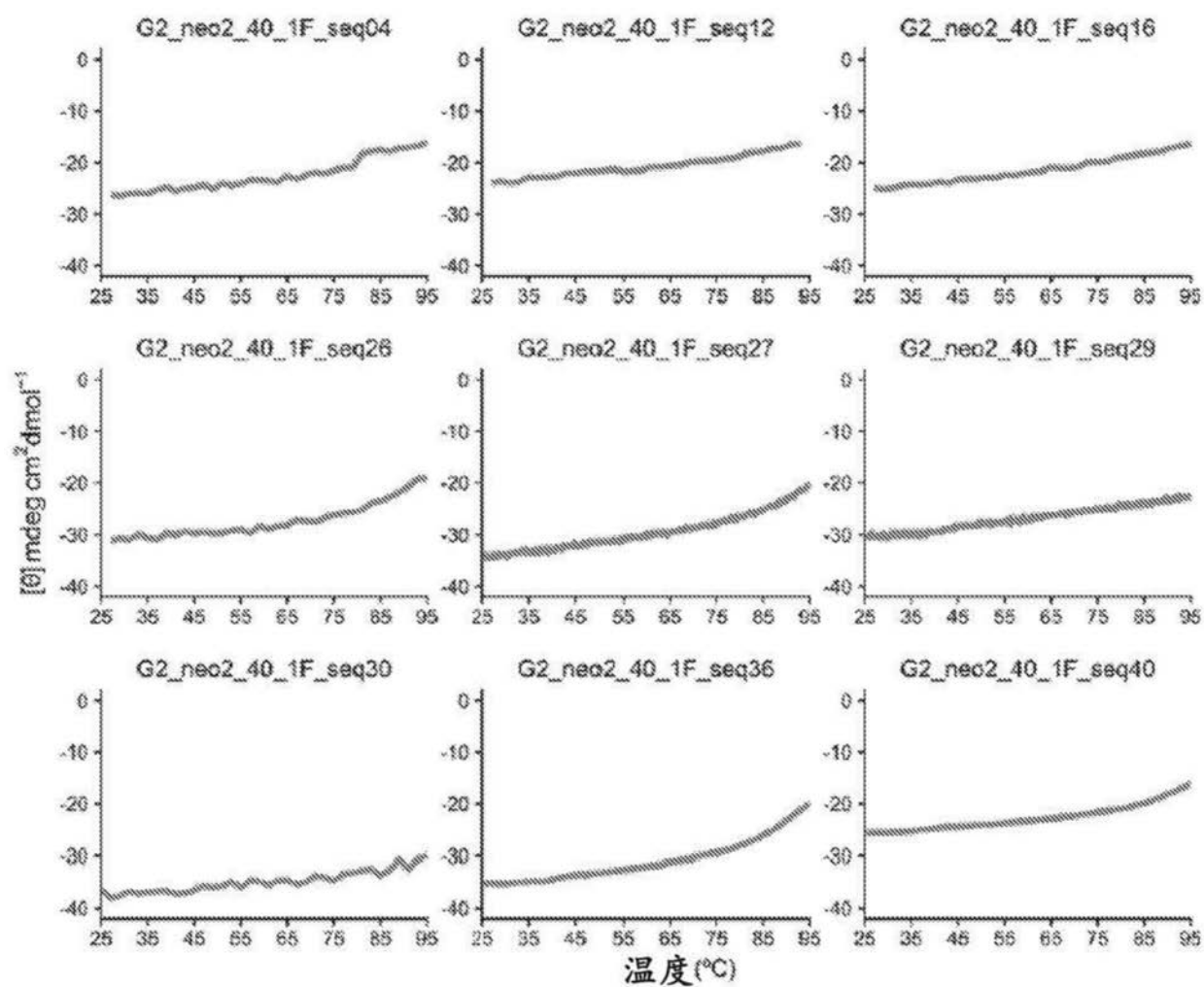


图16A

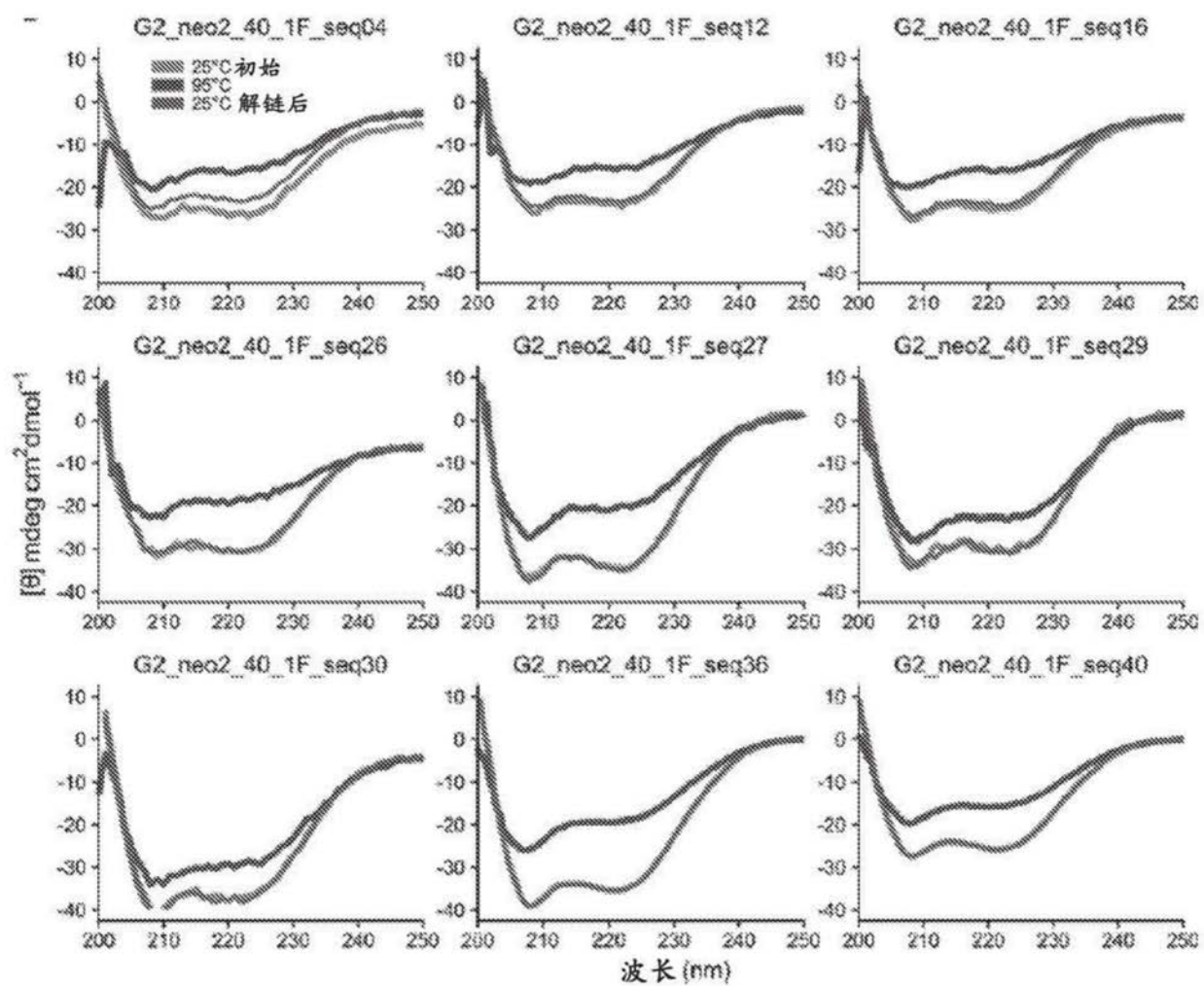


图16B

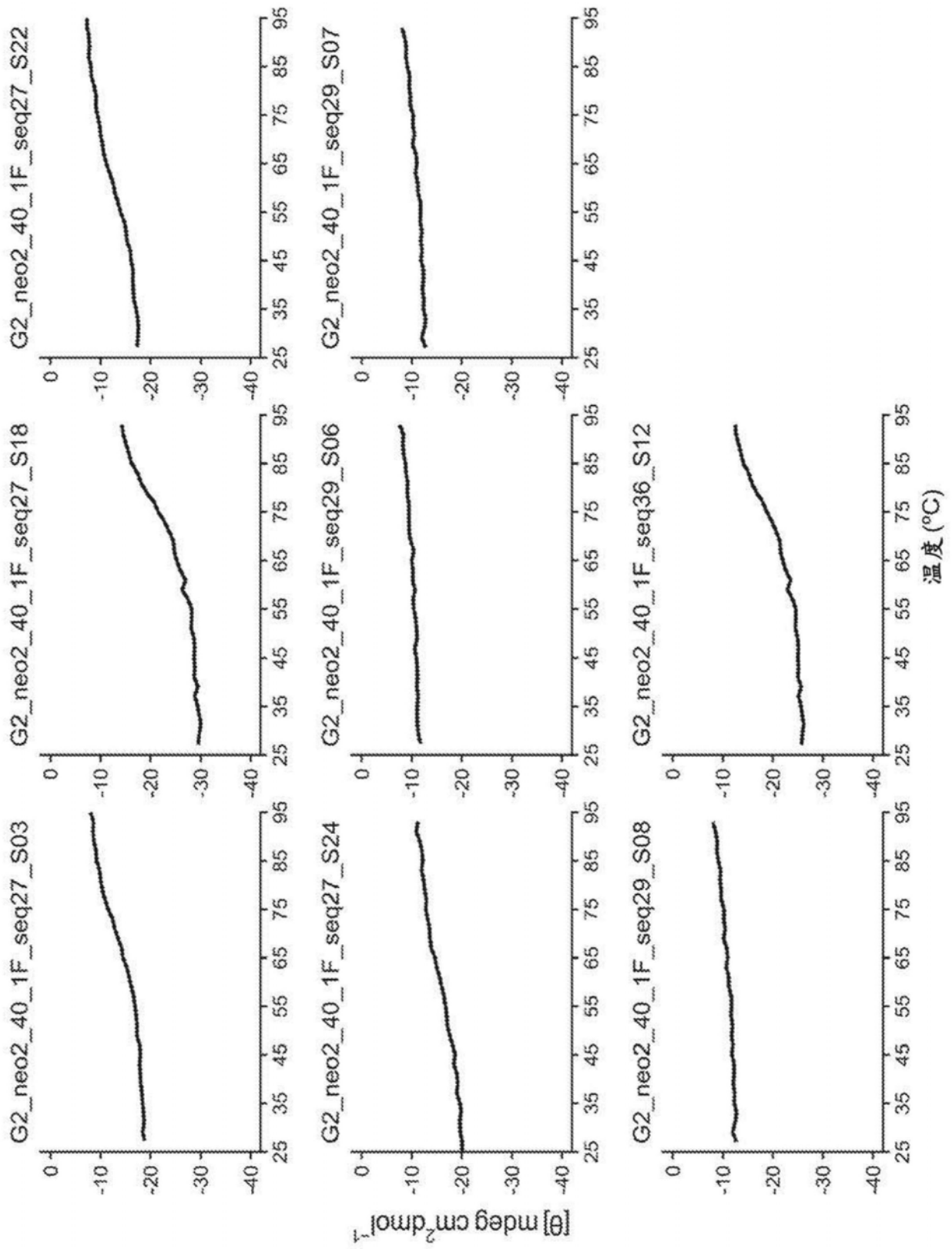


图16C

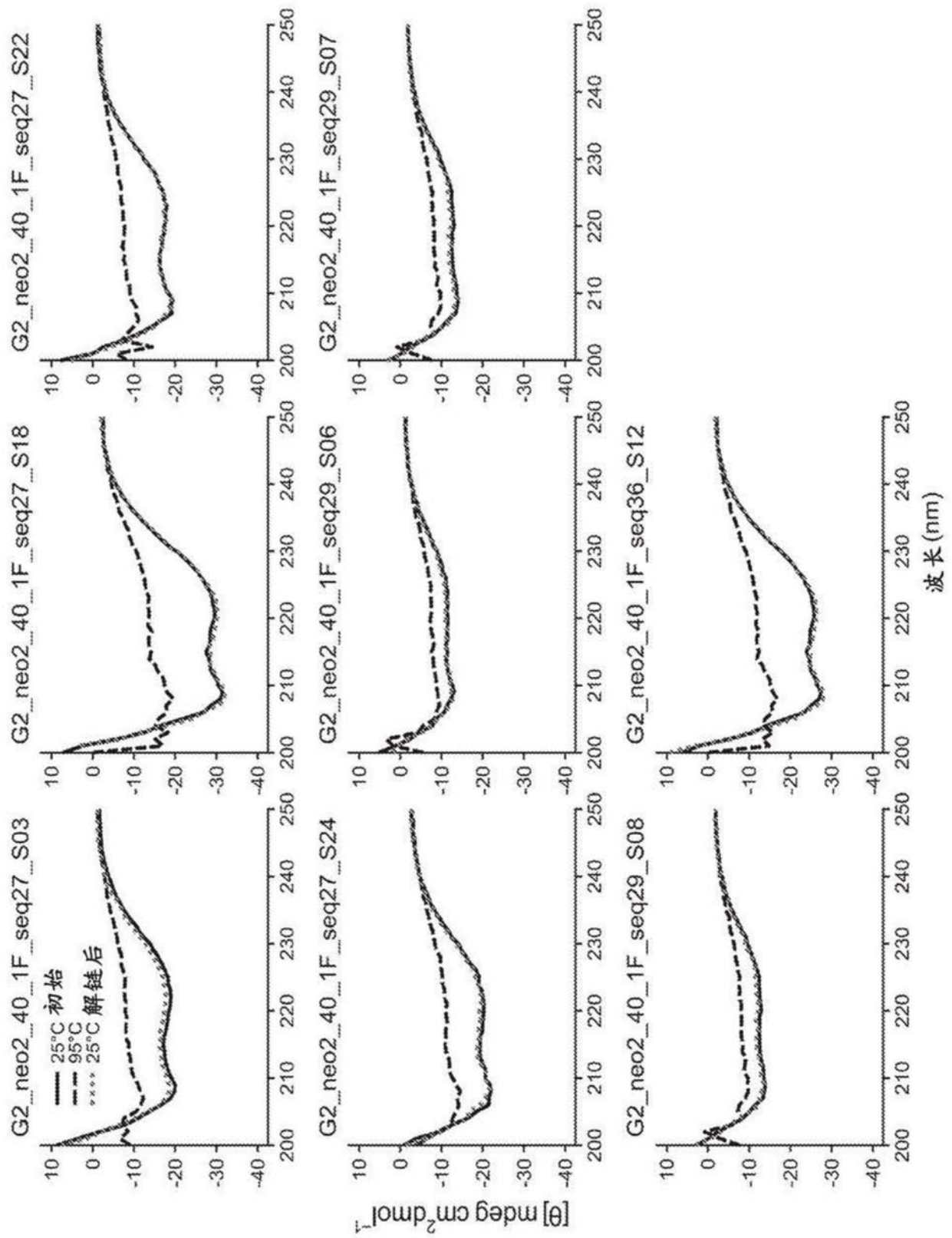


图16D

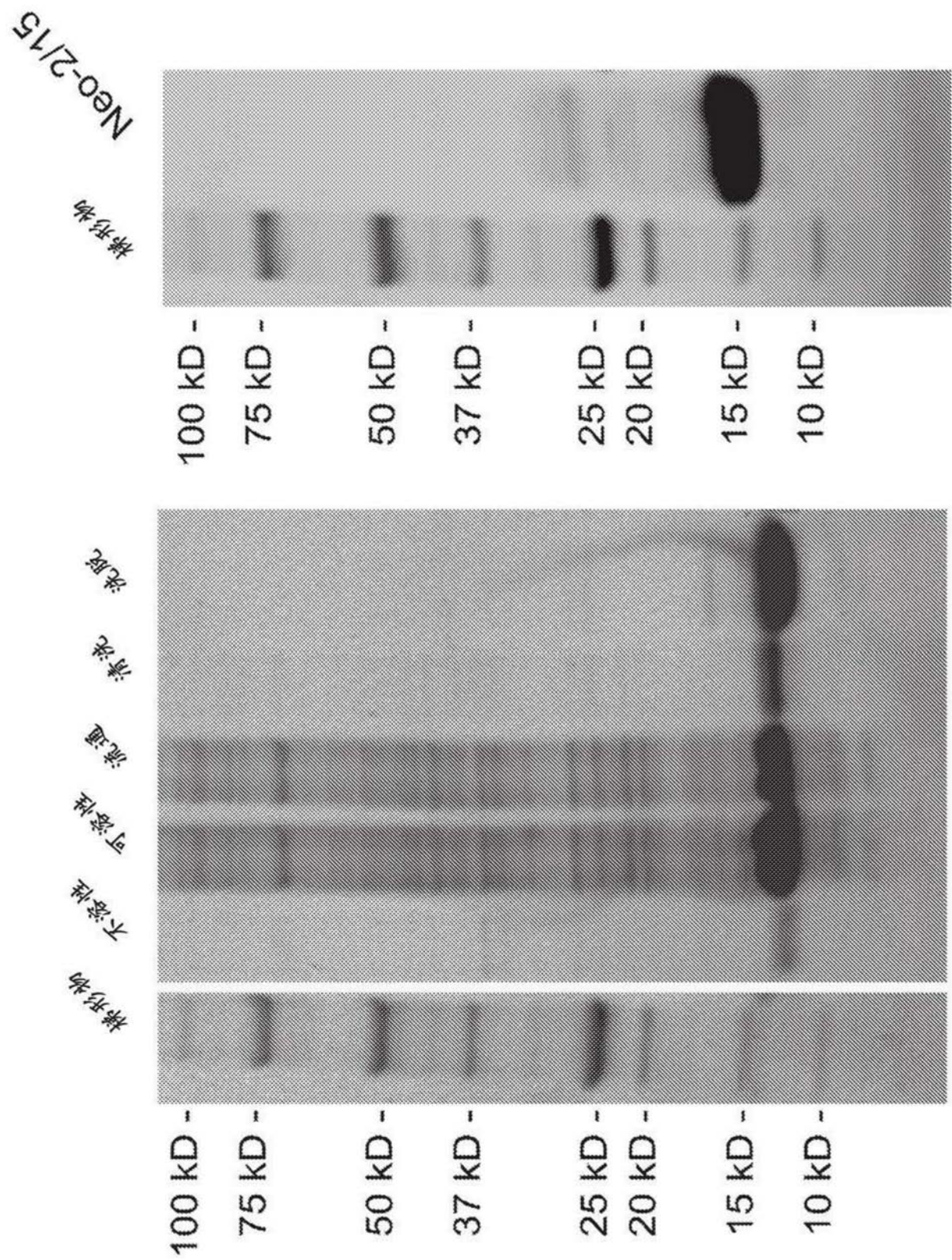


图17A

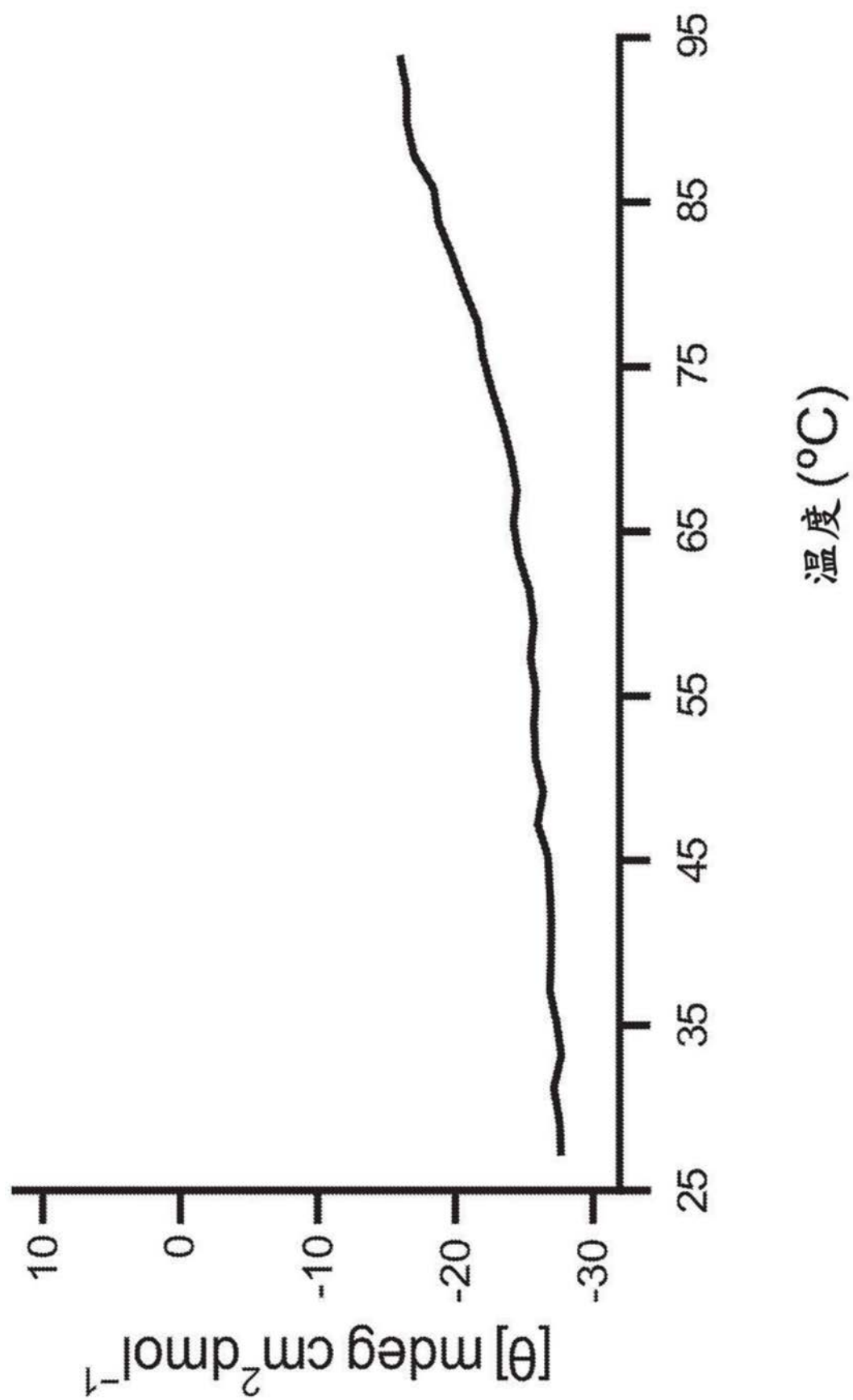


图17B

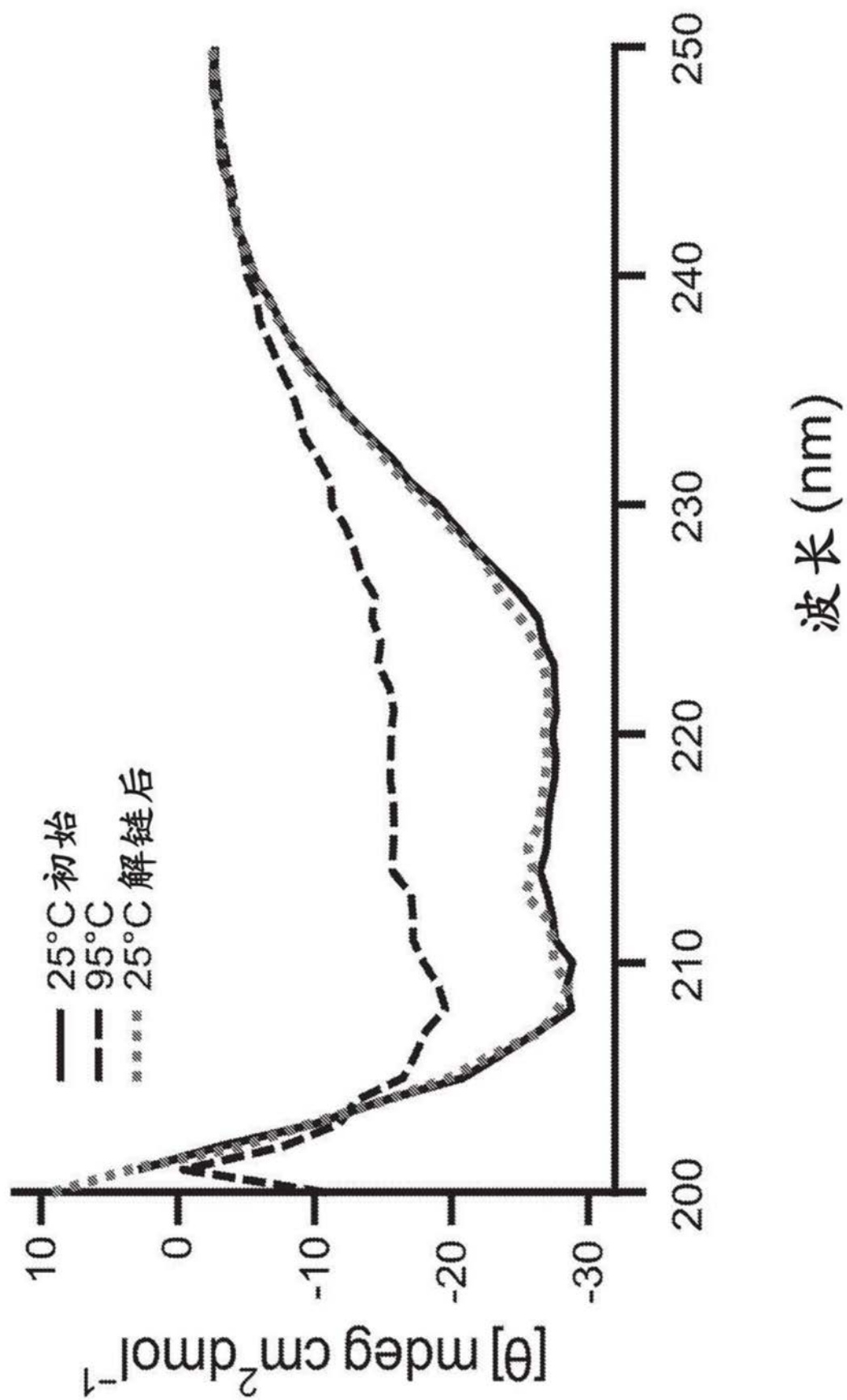


图17C

内部二硫化物

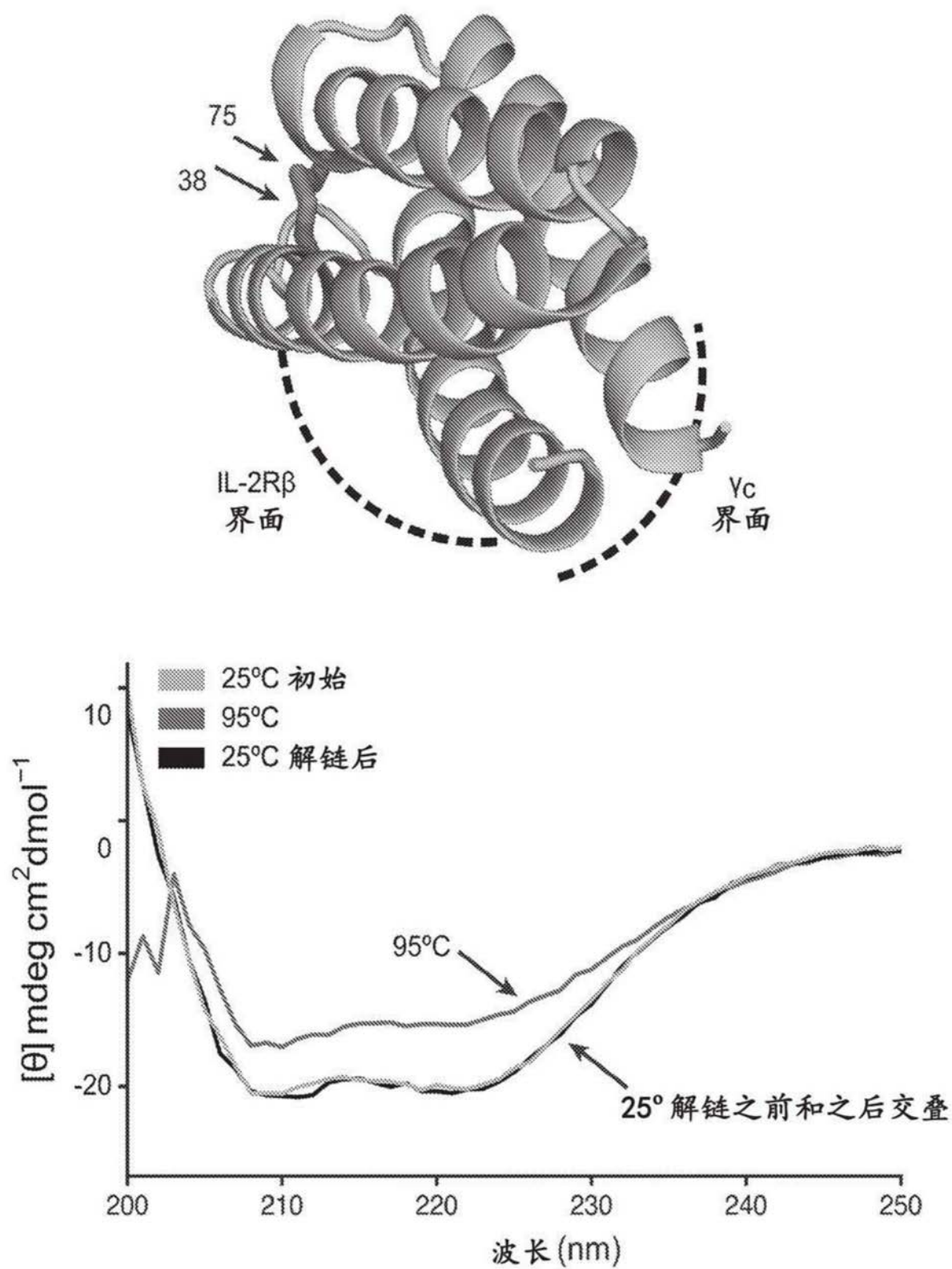


图18A

末端二硫化物

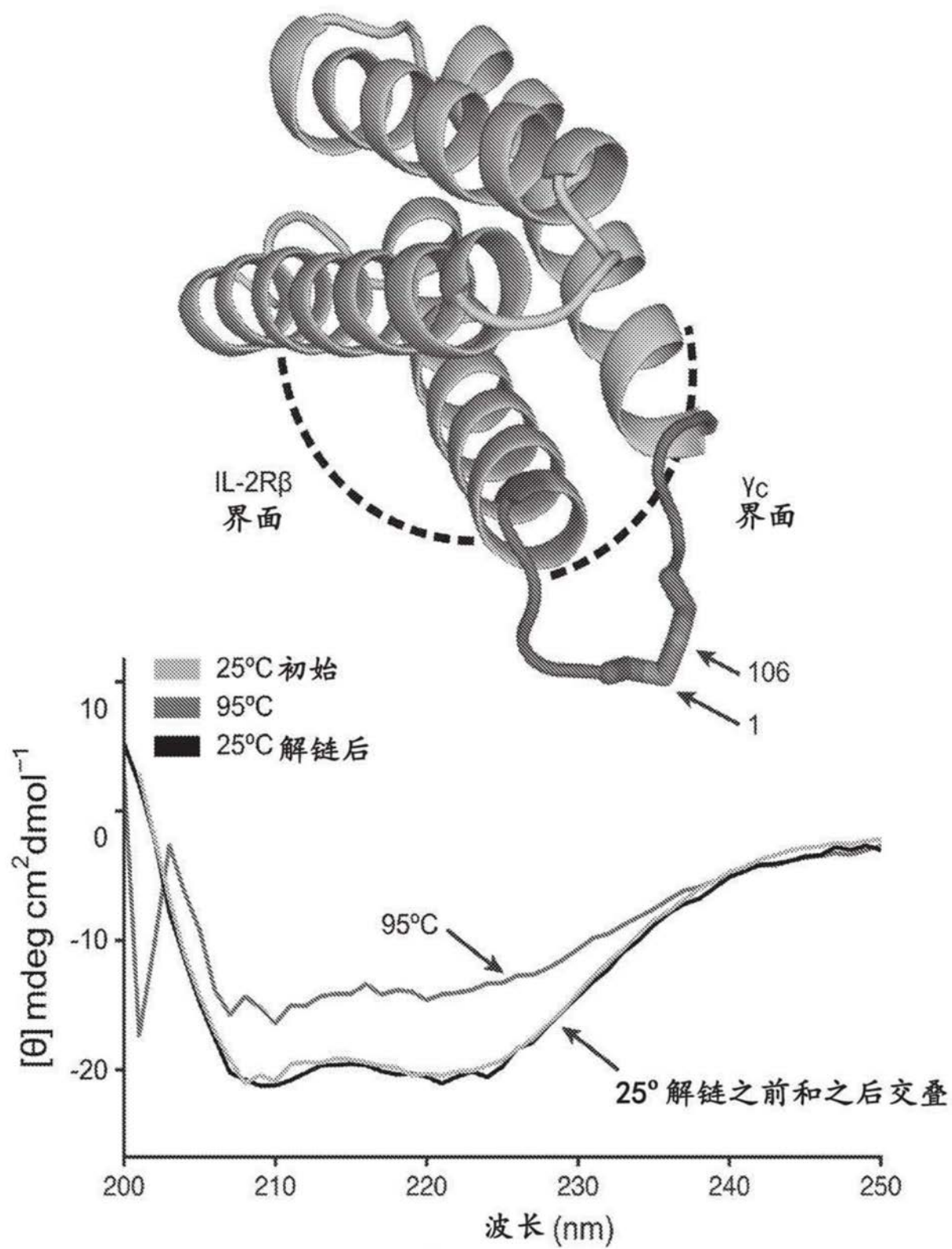


图18B

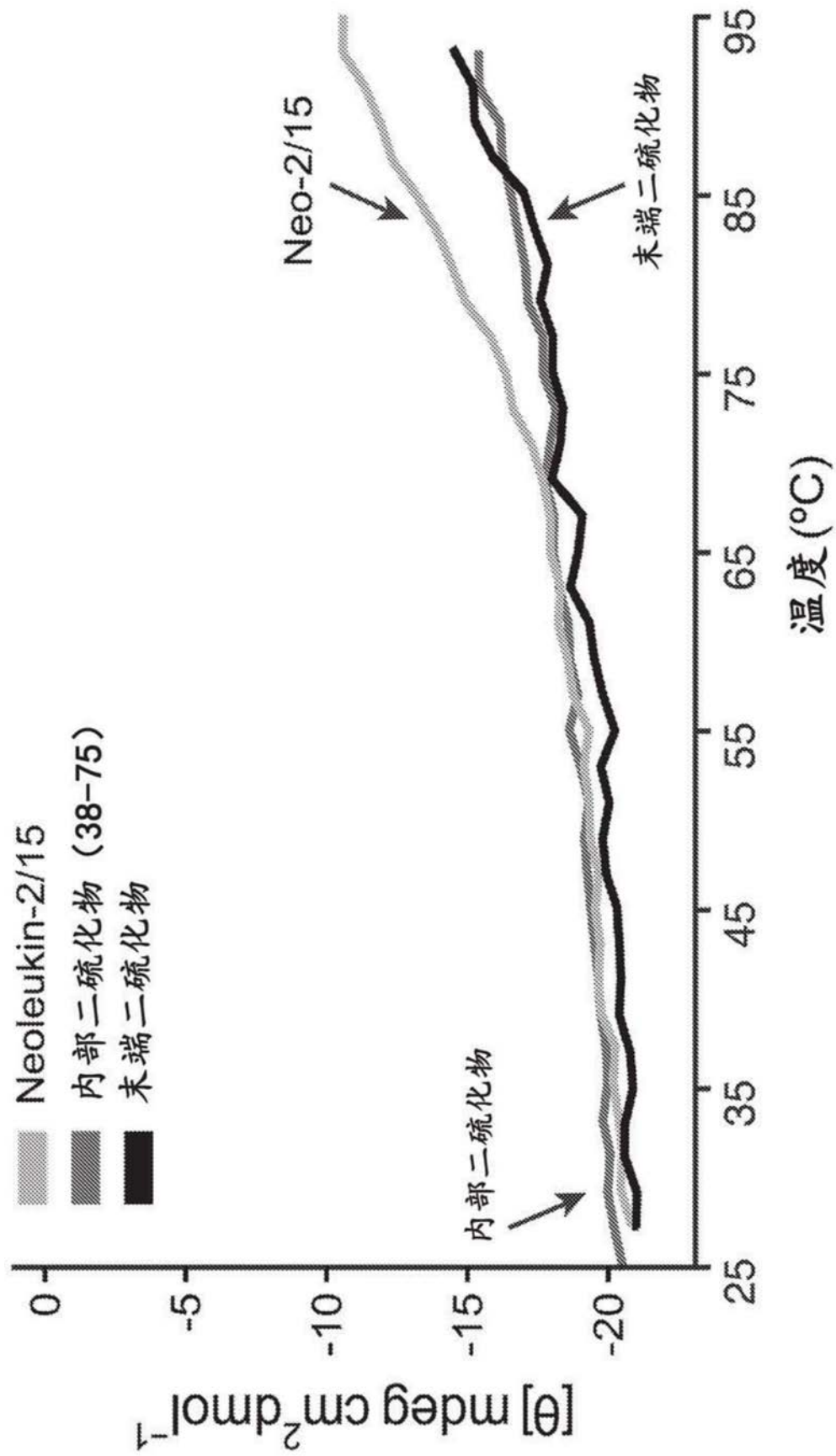


图18C

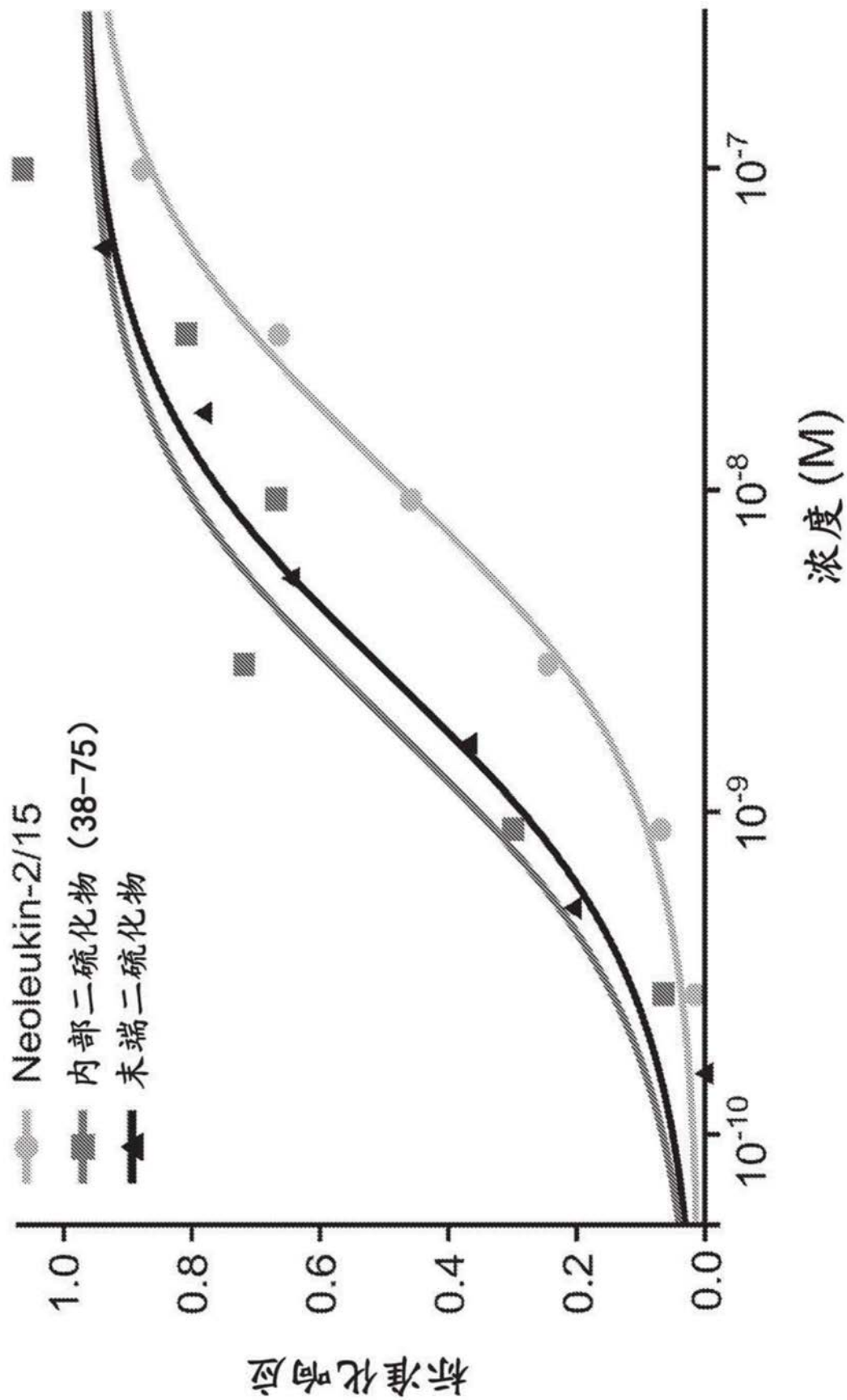


图18D

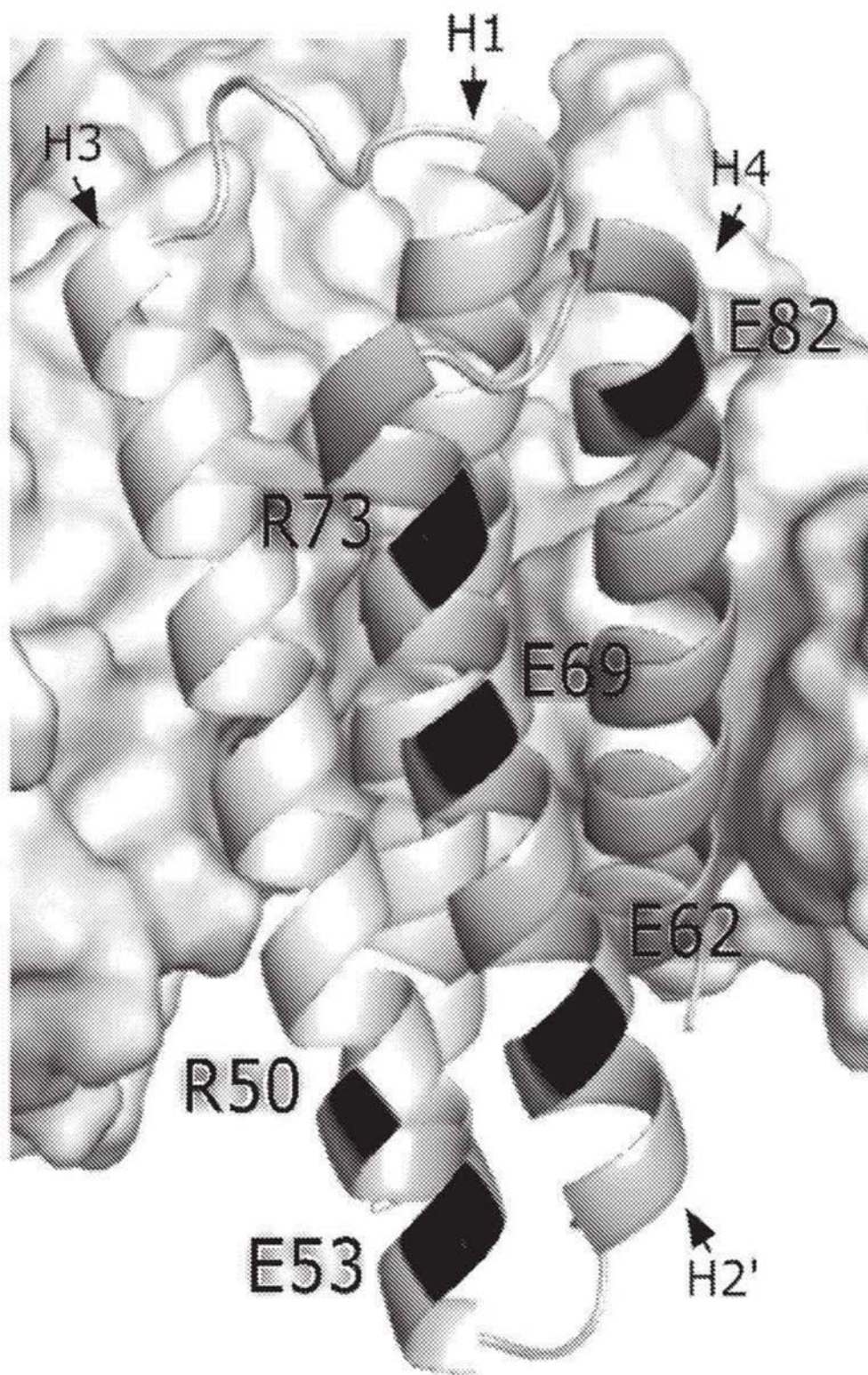


图19A

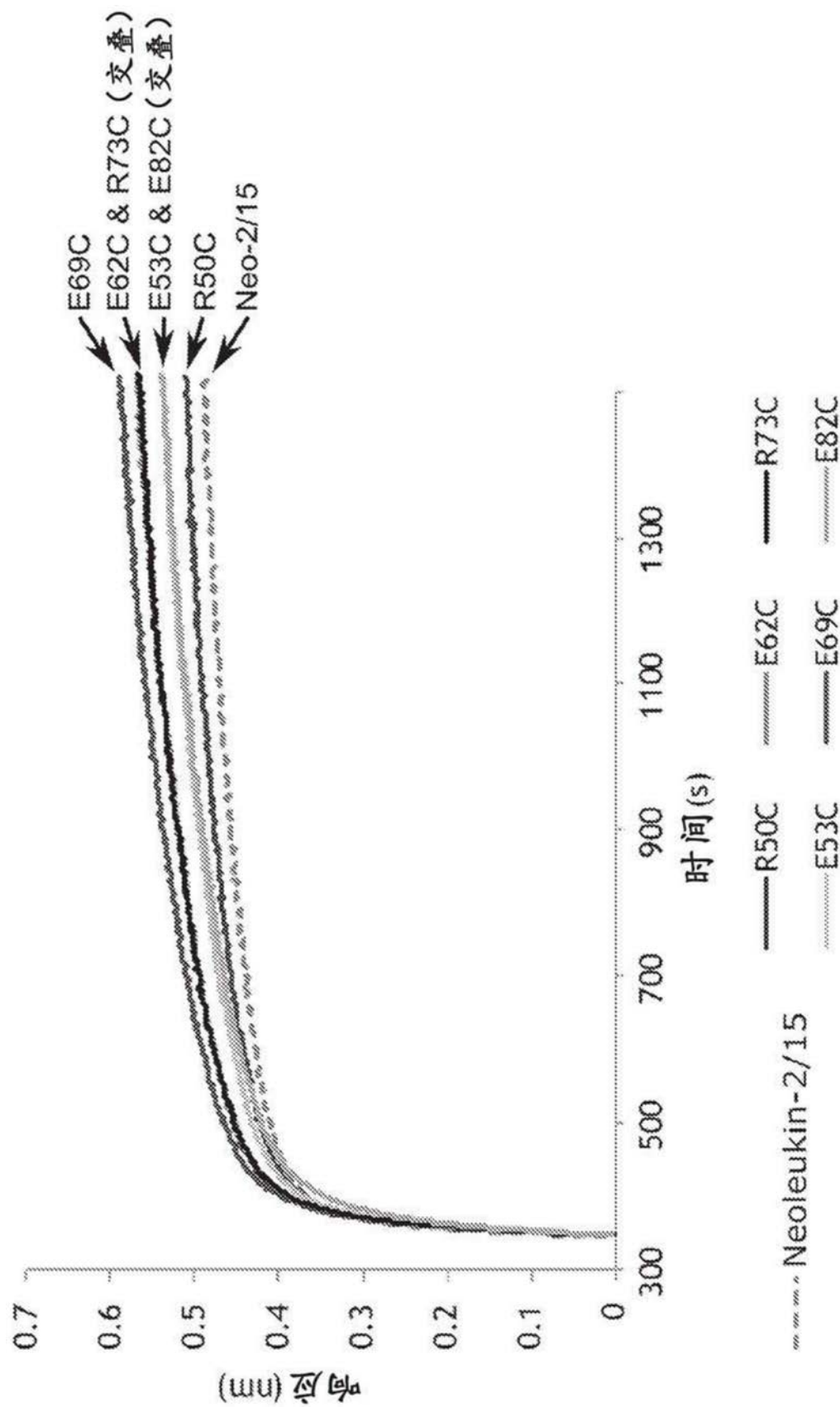


图19B

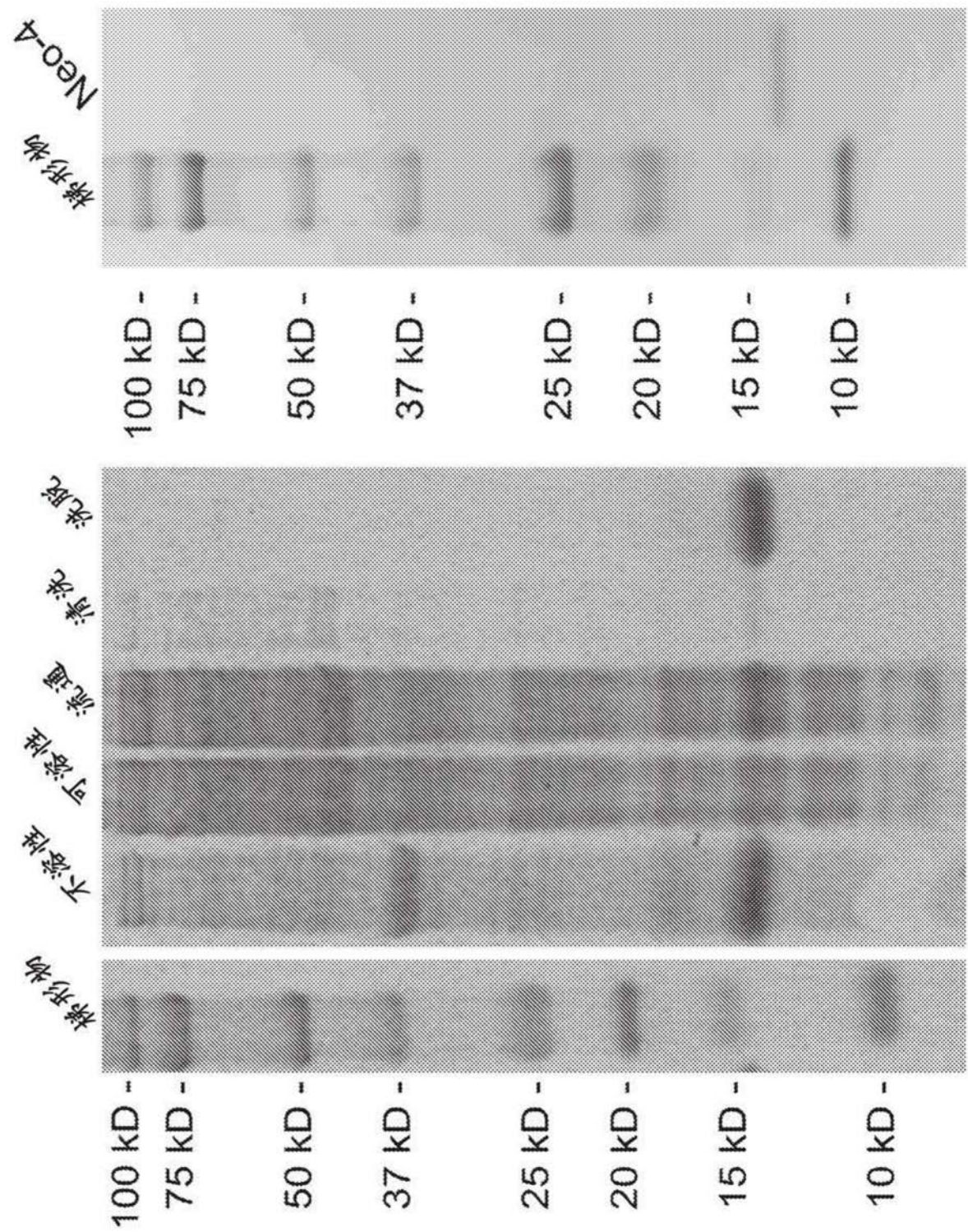


图20A

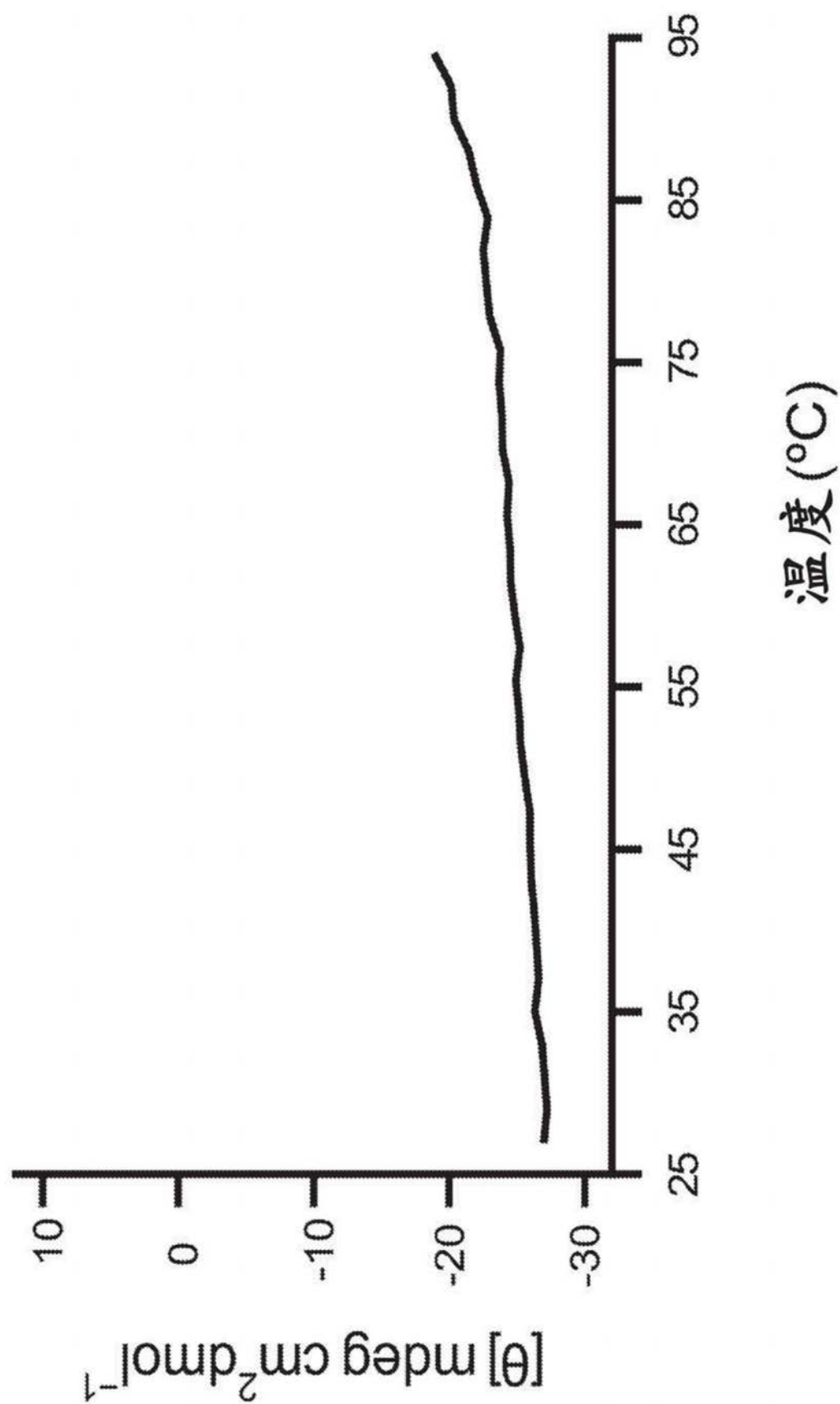


图20B

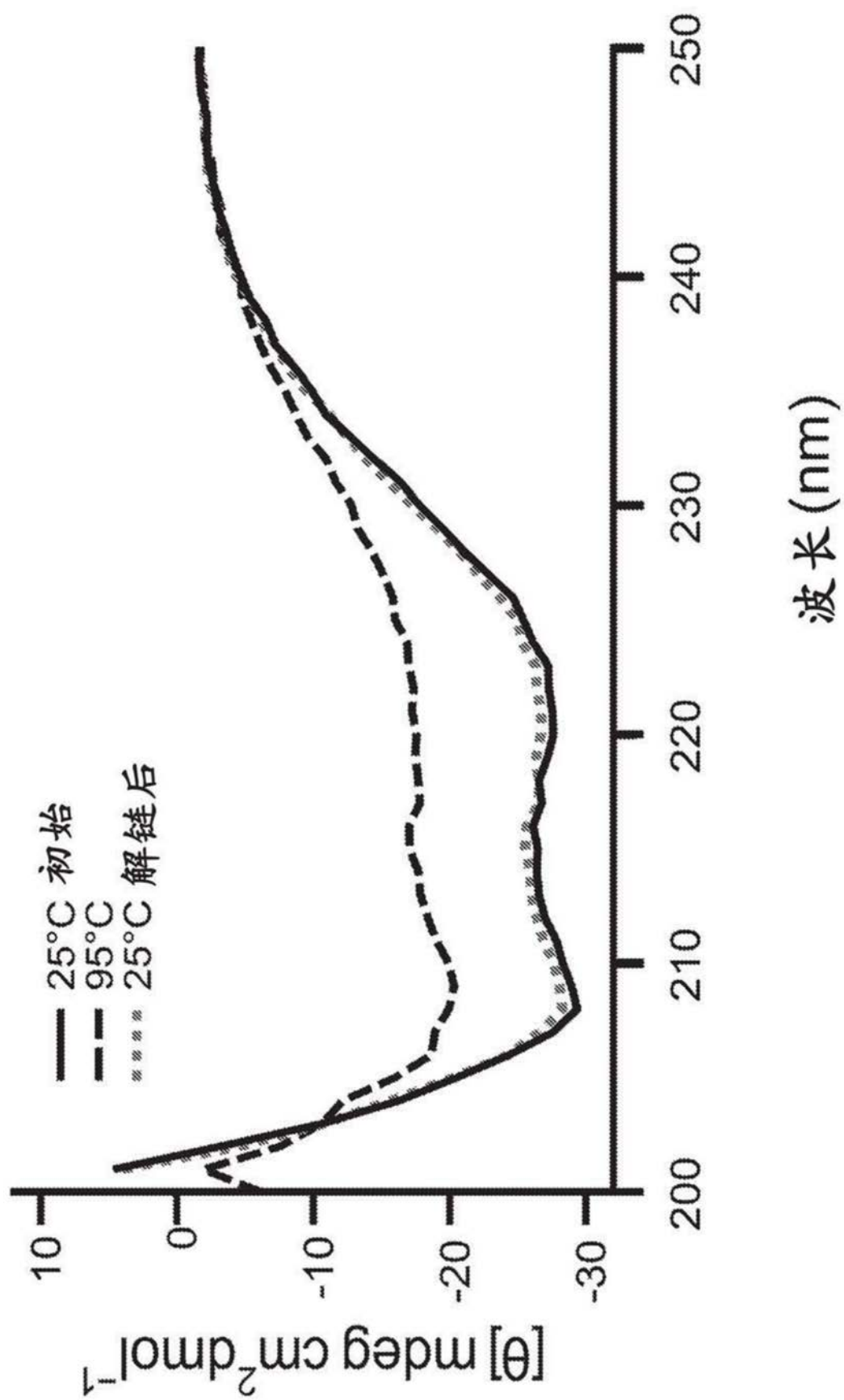


图20C

IL-10; Neo-2/15

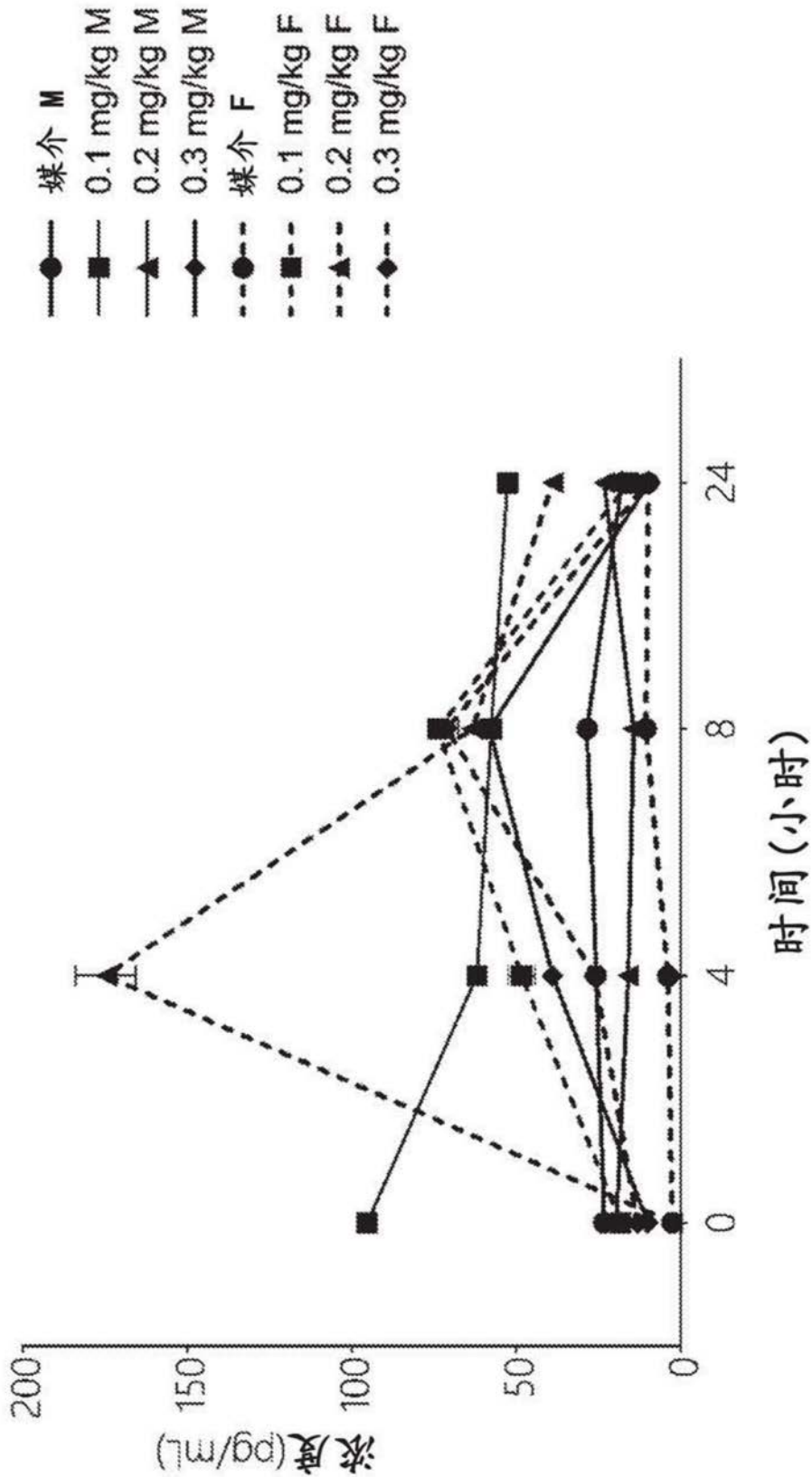


图21A

IL-10; Neo-2/15-PEG

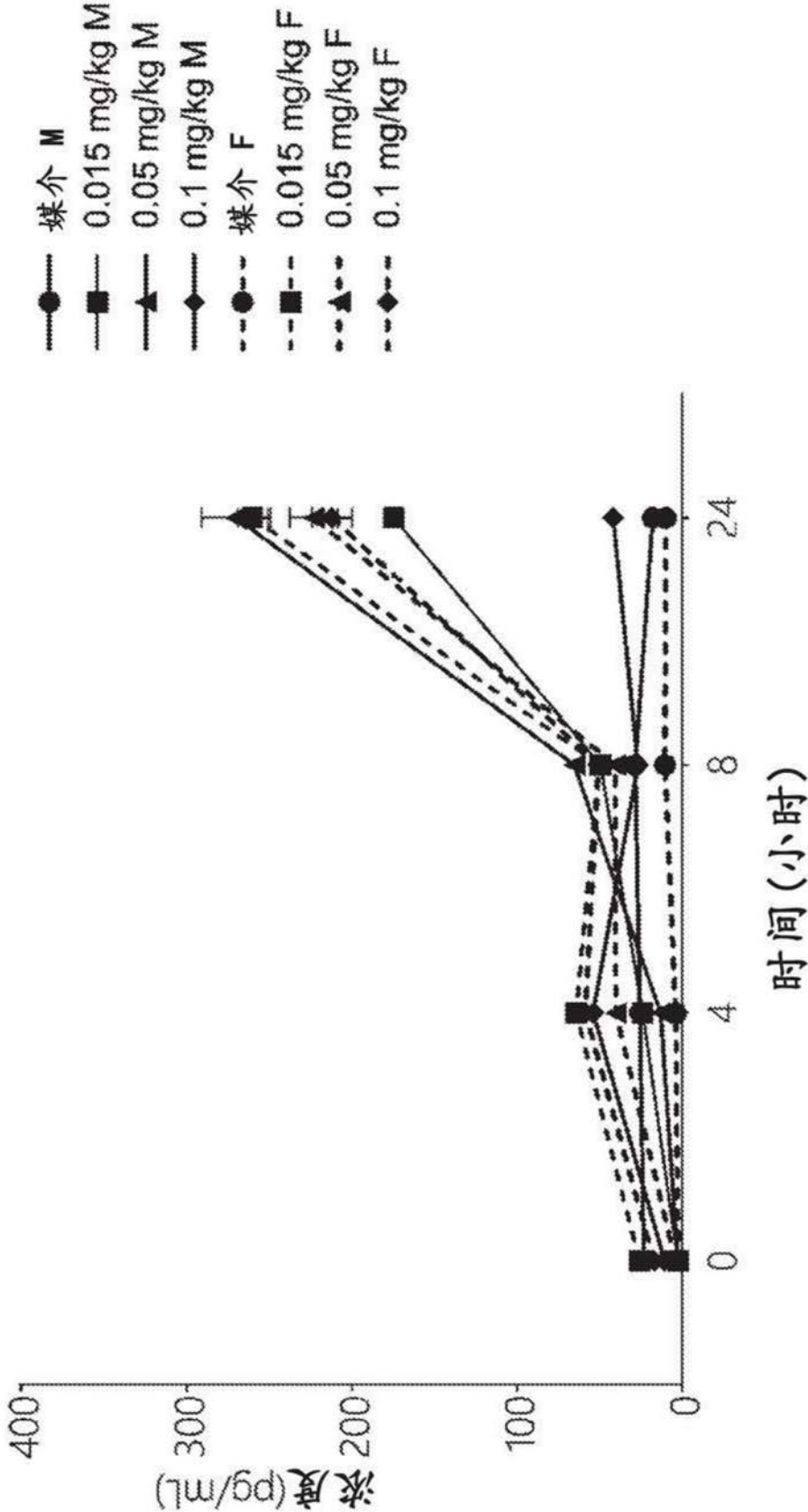


图21B

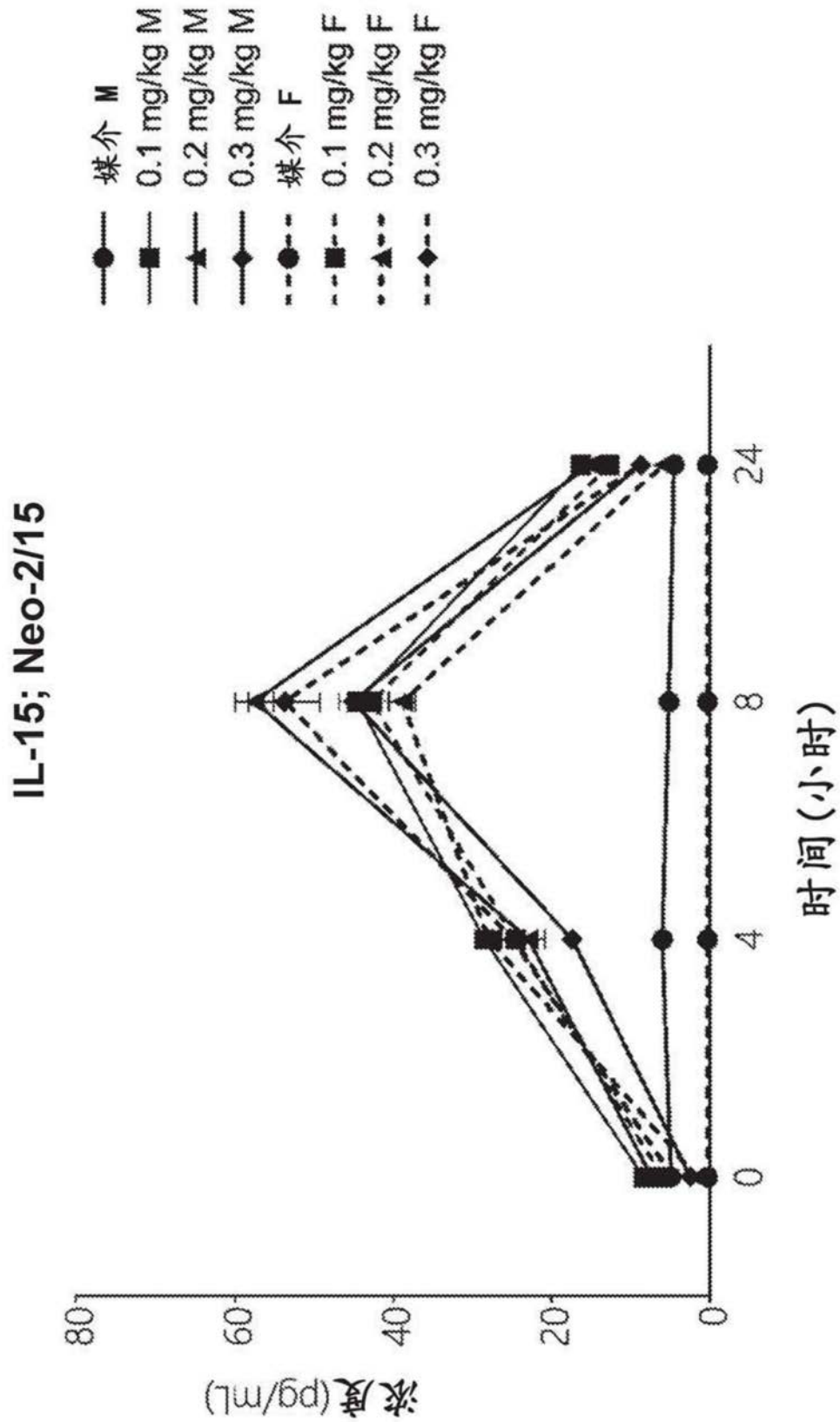


图21C

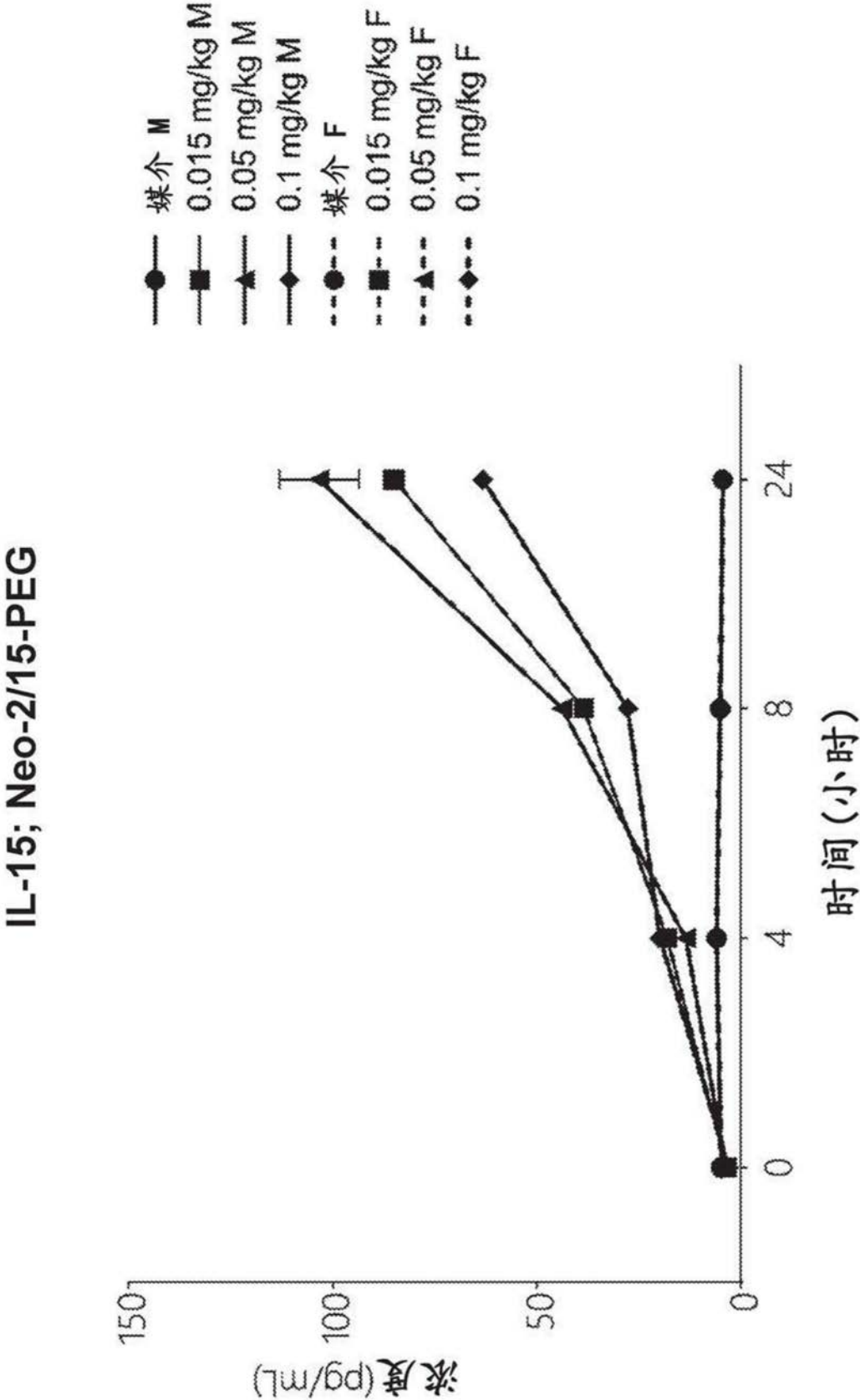


图21D

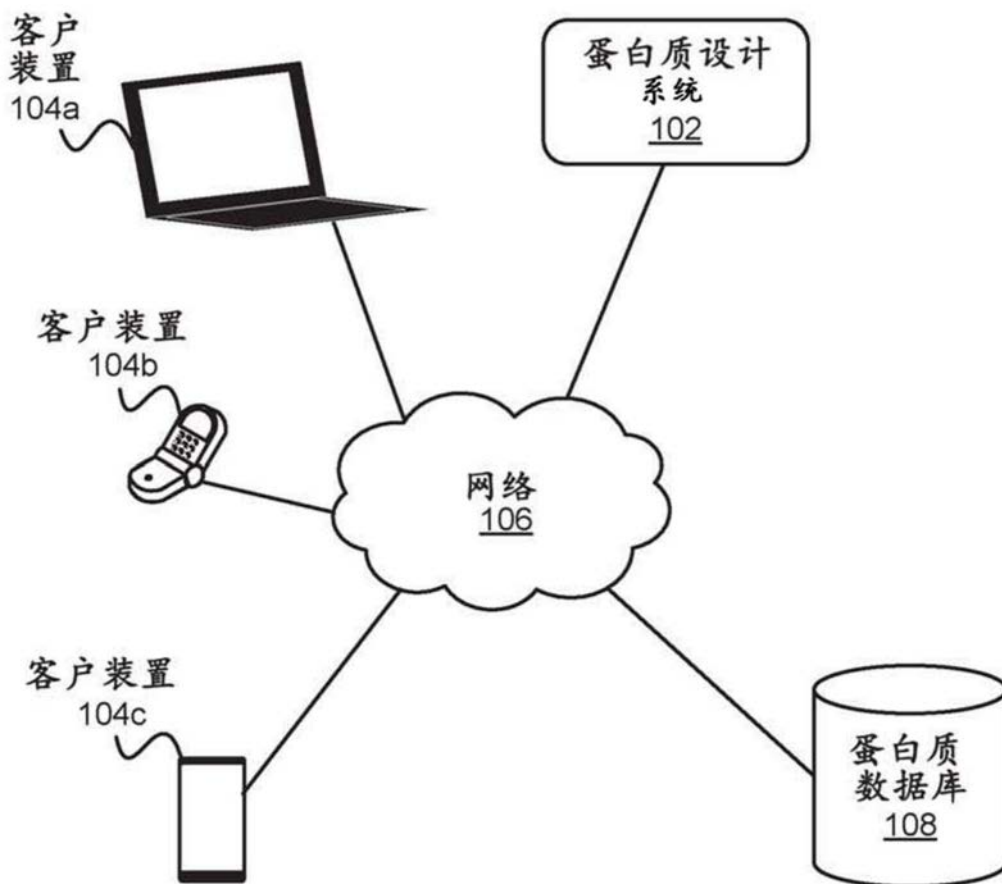


图22

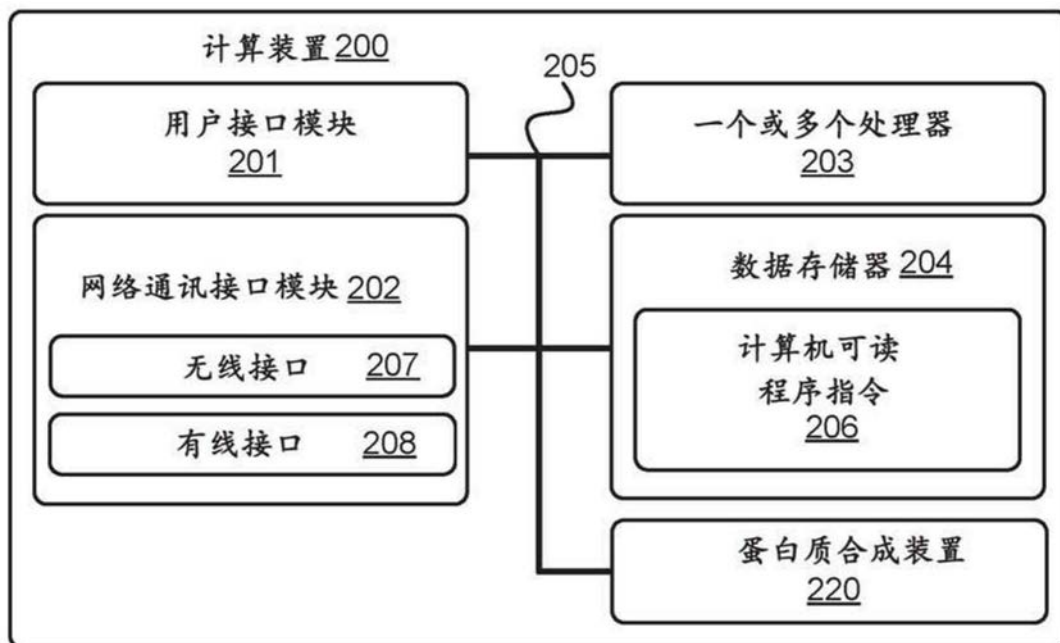


图23A

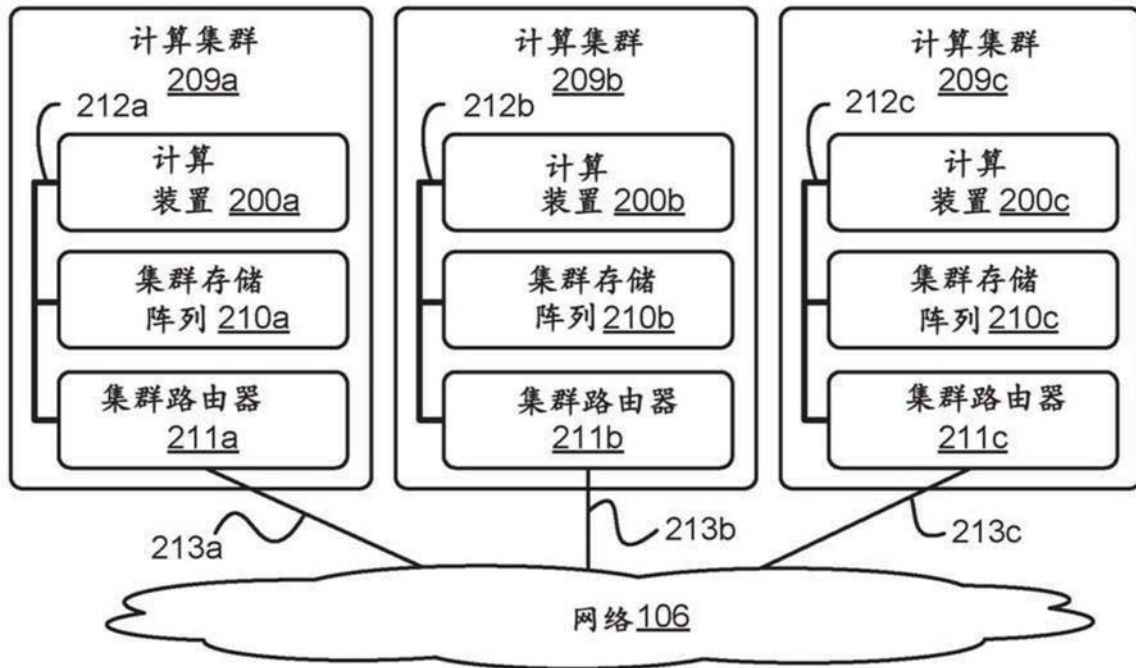


图23B

300

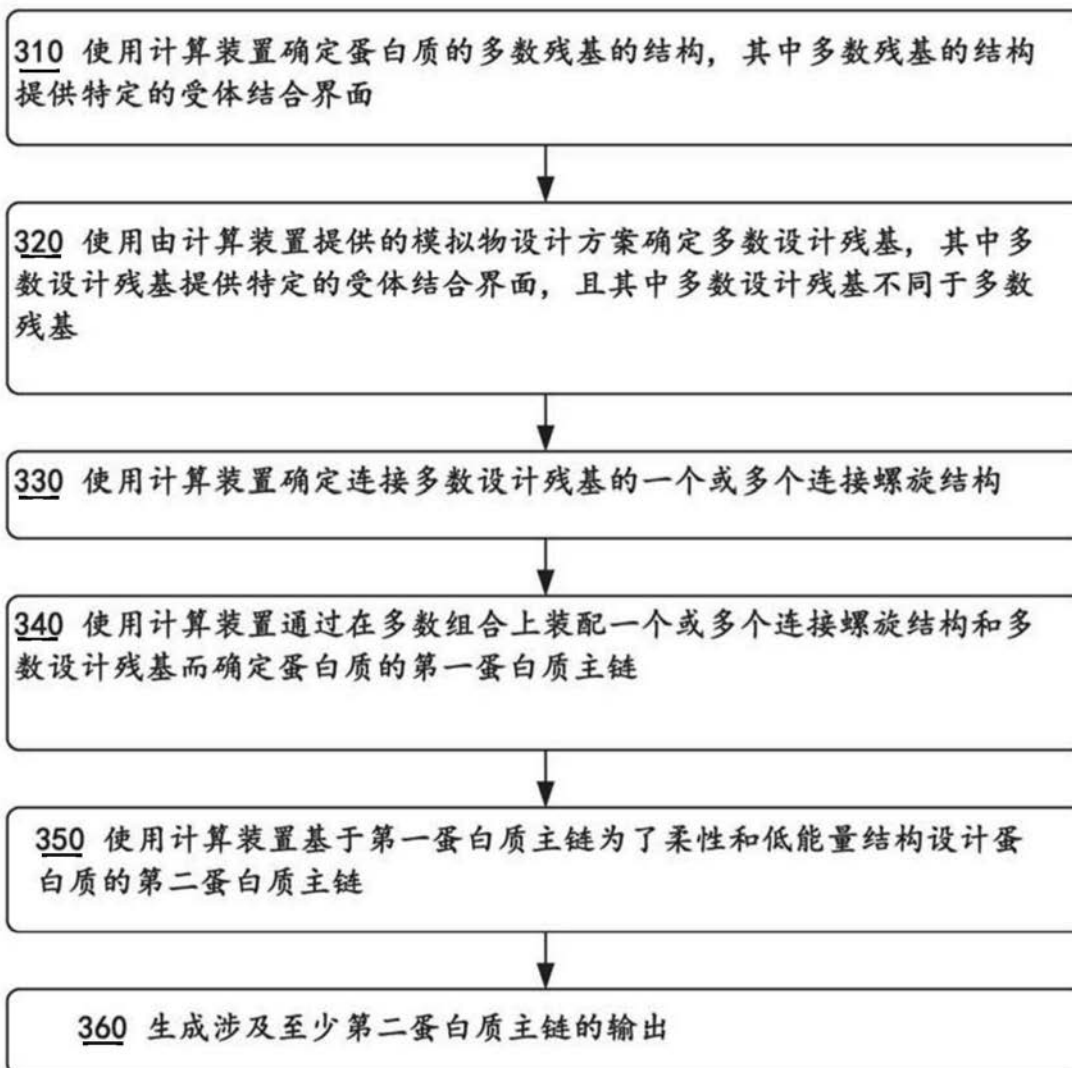


图24