

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-500250

(P2016-500250A)

(43) 公表日 平成28年1月12日 (2016. 1. 12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 1 8
A 2 3 L 33/17 (2016. 01)	A 2 3 L 1/305 Z N A	4 B O 2 4
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15	4 B O 5 0
C 1 2 N 1/19 (2006. 01)	C 1 2 N 1/19	4 B O 6 4
C 1 2 N 1/21 (2006. 01)	C 1 2 N 1/21	4 B O 6 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 303 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2015-543148 (P2015-543148)
 (86) (22) 出願日 平成25年11月20日 (2013. 11. 20)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年7月17日 (2015. 7. 17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/071091
 (87) 国際公開番号 W02014/081884
 (87) 国際公開日 平成26年5月30日 (2014. 5. 30)
 (31) 優先権主張番号 61/728, 427
 (32) 優先日 平成24年11月20日 (2012. 11. 20)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 514244103
 プロニュートリア・インコーポレイテッド
 Pronutria, Inc.
 アメリカ合衆国02139マサチューセツ
 ツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ
 840番、サード・フロア
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄
 (74) 代理人 100084146
 弁理士 山崎 宏
 (74) 代理人 100122301
 弁理士 富田 憲史
 (74) 代理人 100157956
 弁理士 稲井 史生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改変された分泌タンパク質及び方法

(57) 【要約】

本明細書は栄養タンパク質を提供する。更に、タンパク質をコードする核酸、それらのタンパク質を生産する組換え型微生物、それらのタンパク質を発現するためのベクター、組換え型微生物を用いてそれらのタンパク質を作製する方法、それらのタンパク質を含む組成物、及びそれらのタンパク質の使用法を含む種々のその他の実施形態を提供する。栄養タンパク質は改変タンパク質を含み、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも20アミノ酸の配列を含み、改変タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合が、参照分泌タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合より高い。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の少なくとも1つの必須アミノ酸残基置換を含む。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

単離された栄養ポリペプチドを含む製剤であって、前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも 50 アミノ酸の参照分泌タンパク質中における全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合より高く、前記栄養ポリペプチドが、栄養的量で前記製剤中に存在し、前記製剤が、非食用生産物を実質的に含まない、製剤。

【請求項 2】

前記 1 又は複数の必須アミノ酸が、栄養的量で前記製剤中に存在する、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 3】

前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する全必須アミノ酸の割合が、前記参照分泌タンパク質中における全アミノ酸に対する全必須アミノ酸の割合の割合より高い、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 4】

前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する単一必須アミノ酸の割合が、前記参照分泌タンパク質中における全アミノ酸に対する単一必須アミノ酸の割合より高い、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 5】

前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する 2 つの必須アミノ酸の割合が、前記参照分泌タンパク質中における全アミノ酸に対する 2 つの必須アミノ酸の割合より高い、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 6】

前記参照分泌タンパク質が、分泌酵素ポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 7】

前記単離された栄養ポリペプチドが、前記分泌酵素ポリペプチドの主要な酵素活性のレベルが低減したものであることができる、請求項 6 に記載の製剤。

【請求項 8】

前記単離された栄養ポリペプチドが、宿主細胞から実質的に精製されている、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 9】

前記栄養ポリペプチドの溶解度が pH 7 で約 10 g / l より大きい、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 10】

前記栄養ポリペプチドの溶解度が、前記参照分泌タンパク質の溶解度より大きい、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 11】

前記栄養ポリペプチドの消化率が、60 分未満の人工胃液消化半減期を有する、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 12】

前記栄養ポリペプチドの消化率が、前記参照分泌タンパク質の消化率を超える、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 13】

前記栄養ポリペプチドの熱安定性が、前記参照分泌タンパク質の熱安定性より高い、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 14】

前記栄養ポリペプチドの計算溶媒和スコアが -20 以下である、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 15】

前記栄養ポリペプチドの計算凝集スコアが 0.75 以下である、請求項 1 に記載の製剤。

10

20

30

40

50

。

【請求項 16】

前記栄養ポリペプチドの溶解度及び消化率が、前記参照分泌タンパク質の溶解度及び消化率を超える、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 17】

前記栄養ポリペプチドの、公知のアレルゲンに対する相同性が約 50%未満である、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 18】

前記参照分泌タンパク質が、(i) UniProt 受け入れ番号 Q4WBW4、Q99034、A1DBP9、Q8NJP6、A1CU44、B0Y8K2、Q4WM08、Q0CMT2、Q8NKK02、A1DNL0、A1CCN4、B0XWL3、Q4WFK4、A2QYR9、Q0CFP1、Q5B2E8、A1DJQ7、A1C4H2、B0Y9G4、B8MXJ7、Q4WBU0、Q96WQ9、A2R5N0、Q2US83、Q0CEU4、Q5BCX8、A1DBS6、Q9HE18、O14405、P62694、Q06886、P13860、Q9P8P3、P62695、P07987、A1C8U0、B0Y9E7、B8NIV9、Q4WBS1、Q2U2I3、Q5AR04、A1DBV1、B0YEK2、B8N7Z0、A4DA70、A2R2S6、Q2UI87、Q0CVX4、Q5AX28、A1D9S3、A1CC12、B0Y2K1、Q4WW45、Q5AQZ4、Q99024、P29026、P29027、P69328、P69327、P36914、P23176、P22832、A2QHE1、A1CR85、B0XPE1、B8NRX2、Q4WJJ3、P87076、A2RAL4、Q2UUD6、D0VKF5、Q0CTD7、Q5B5S8、A1D451、B8NJF4、A2QPK4、Q2UNR0、Q5AUW5、B0Y7Q8、B8NP65、Q4WMU3、Q2UN12、Q0CI67、Q5B6C6、A1DMR8、B8NMR5、Q2U325、Q0CUC1、Q5B0F4、A1DC16、A1CUR8、B0XM94、B8NPL7、Q4WL79、Q2U9M7、Q5B6C7、A1DPG0、A1CA51、B0Y3M6、B8NDE2、Q4WU49、A2R989、Q2U8Y5、Q0CAF5、Q5BB53、A1DFA8、B0Y8M8、Q4WLY1、Q5AV15、A1DNN8、Q5BA18、B0YB65、Q4WGT3、Q0CEF3、Q5B9F2、A1DCV5、B0XPB8、B8N5S6、Q4WR62、A5ABF5、Q2UDK7、Q0C7L4、Q5AWD4、A1D122、Q5B681、Q5BG51、A1CCL9、Q0CB82、Q5ATH9、Q4AEG8、B0XP71、B8MYV0、Q4WRB0、A2QA27、O00089、Q2UR38、Q0CMH8、Q5BAS1、P29026、P29027、P48827、A1CIA7、B0Y708、P35211、B8N106、P28296、P12547、Q00208、A1CWF3、P52750、P52754、P79073、P52755、P41746、又は P28346 によって識別されるタンパク質から選択されるタンパク質、(ii) SEQID-45001、(iii) SEQID-45029、又は(iv)長さが少なくとも50アミノ酸の(i)、(ii)、若しくは(iii)の断片である、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 19】

製剤 1kg 当たり少なくとも 100g の濃度で少なくとも 1.0g の栄養ポリペプチドを含む、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 20】

前記製剤が、約 500ml を超えない液体、半液体、若しくはゲルとして又は約 200g を超えない質量の固体若しくは半固体として存在する、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 21】

前記栄養ポリペプチドが組換え型生物中で生産される、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 22】

前記栄養ポリペプチドが、前記栄養ポリペプチドをコードする組換え型核酸配列を含む

10

20

30

40

50

単細胞生物により生産される、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 2 3】

前記製剤が、タンパク質の基準 1 日摂取値の少なくとも約 2 % の栄養的利益を提供するか、ヒト対象に消費された時に満腹感を与えるのに十分な量で存在する、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 2 4】

前記製剤が、1 又は複数の必須アミノ酸の基準 1 日摂取値の少なくとも約 2 % の栄養的利益を提供する、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 2 5】

前記製剤が、全必須アミノ酸の基準 1 日摂取値の少なくとも約 2 % の栄養的利益を提供する、請求項 1 に記載の製剤。

10

【請求項 2 6】

前記製剤が、少なくとも 10 グラムの栄養ポリペプチドを提供する、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 2 7】

経腸投与用に製剤化されている、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 2 8】

(i) 前記栄養ポリペプチドが、前記栄養ポリペプチド又は前記参照分泌タンパク質の全長にわたり、前記参照分泌タンパク質に対して少なくとも約 98 %、99 %、99.5 %、又は 99.9 % の全体的配列同一性を有するか、(i i) 前記栄養ポリペプチドが、前記参照分泌タンパク質のオルソログを含み、前記オルソログが、前記栄養ポリペプチド又は前記参照分泌タンパク質の全長にわたり、前記参照分泌タンパク質に対して少なくとも約 70 % の全体的配列同一性を有する、請求項 1 に記載の製剤。

20

【請求項 2 9】

少なくとも約 1 グラムの請求項 1 に記載の製剤を含む食品。

【請求項 3 0】

前記製剤が、100 g 当たり、タンパク質の基準 1 日摂取値の少なくとも約 2 % 以上の栄養的利益を提供する、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 3 1】

ヒト対象に投与された時に、前記栄養ポリペプチドの有効量が、前記参照分泌タンパク質の有効量より少ない、請求項 1 に記載の製剤。

30

【請求項 3 2】

界面活性剤、ポリビニルアルコール、プロピレングリコール、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルピロリドン、非食用のポリ酸若しくはポリオール、脂肪アルコール、アルキルベンジルスルホナート、アルキルグルコシド、又はメチルパラベンを実質的に含まない、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 3 3】

味覚物質、ビタミン、ミネラル、又はその組合せを更に含む、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 3 4】

香味剤又は非栄養ポリオールを更に含む、請求項 1 に記載の製剤。

40

【請求項 3 5】

栄養炭水化物及び／又は栄養脂質を更に含む、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 3 6】

単離された栄養ポリペプチドをコードする組換え型核酸配列を含む組換え型単細胞生物であって、前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも 50 アミノ酸の参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、組換え型単細胞生物。

【請求項 3 7】

前記単細胞生物から栄養ポリペプチドが分泌される、請求項 3 6 に記載の組換え型単細胞生物。

50

【請求項 38】

栄養生産物を製剤化する方法であって、有効量の単離された栄養ポリペプチドを含む組成物を用意するステップであって、前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも 50 アミノ酸の参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合より高く、前記栄養ポリペプチドが、前記組成物 1 グラム当たり少なくとも 1 mg の栄養ポリペプチドの濃度で前記組成物中に存在するステップ及び前記組成物を少なくとも 1 つの食品成分と組み合わせることにより栄養生産物を製剤化するステップを含む、方法。

【請求項 39】

前記食品成分が、香味剤、味覚物質、農業由来食品、ビタミン、ミネラル、栄養炭水化物、栄養脂質、結合剤、充填剤、又はその組合せを含み、前記栄養生産物が、食用であり、前記栄養生産物が、少なくとも 1.0 g の栄養ポリペプチドを栄養生産物 1 kg 当たり少なくとも 100 g の濃度で含み、前記栄養生産物が、約 500 ml を超えない体積で液体、半液体、若しくはゲルとして又は約 200 g を超えない質量で固体若しくは半固体として存在する、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

栄養組成物の利益を受け得るヒト対象に投与するための栄養組成物を選択する方法であって、前記対象の最小必須アミノ酸栄養必要量を特定すること；前記最小必須アミノ酸栄養必要量を満たすのに必要な必須アミノ酸含有量スコアを計算すること；及び有効量の栄養ポリペプチドを含む栄養組成物を用意することを含み、前記栄養組成物が、少なくとも前記必要な必須アミノ酸含有量スコアを有する、方法。

【請求項 41】

栄養組成物の利益を受け得るヒト対象に投与するための栄養組成物を選択する方法であって、前記対象の最大必須アミノ酸栄養必要量を特定すること；前記最大必須アミノ酸栄養必要量を超えないために必要な必須アミノ酸含有量スコアを計算すること；及び有効量の栄養ポリペプチドを含む栄養組成物を用意することを含み、前記栄養組成物が前記必要な必須アミノ酸含有量スコアを超えることがない、方法。

【請求項 42】

処置を必要とするヒト対象において、タンパク質栄養不良を特徴とする又はそれにより悪化する疾患、障害、又は状態を処置する方法であって、そのような疾患、障害、又は状態を処置するのに十分な量で栄養製剤を前記ヒト対象に投与するステップを含み、前記栄養製剤が、栄養ポリペプチド及び農業由来食品を含み、前記栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも 50 アミノ酸の参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、方法。

【請求項 43】

前記ヒト対象が高齢対象である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 44】

前記ヒト対象が 18 歳未満の子供である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 45】

前記ヒト対象が、妊娠している対象又は授乳中の女性対象である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 46】

前記ヒト対象が、18 歳から約 65 歳の成人である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 47】

前記ヒト対象が、肥満、糖尿病、又は循環器疾患に苦しむ又はそれらを発症するリスクがある成人である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 48】

ヒト対象の栄養状態を改善する方法であって、農業由来食品及び単離された栄養ポリペプチドを含む有効量の栄養製剤を前記対象に投与することを含み、前記栄養ポリペプチド

10

20

30

40

50

の全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも50アミノ酸の参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、方法。

【請求項49】

参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも20アミノ酸の配列を含む改変タンパク質であって、前記改変タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合が、前記参照分泌タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合より高い、改変タンパク質。

【請求項50】

前記参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の少なくとも1つの必須アミノ酸残基置換を含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

10

【請求項51】

(i) 前記参照分泌タンパク質中の非アルギニン (Arg) 又は非グルタミン (Glu) アミノ酸残基の少なくとも1つのアルギニン (Arg) 又はグルタミン (Glu) アミノ酸残基置換、(ii) 前記参照分泌タンパク質中の非フェニルアラニン (Phe) アミノ酸残基の少なくとも1つのPheアミノ酸残基置換、又は(iii) その組合せを含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項52】

(i) 前記参照分泌タンパク質中の非ロイシン (Leu) アミノ酸残基の少なくとも1つのLeuアミノ酸残基置換、(ii) 前記参照分泌タンパク質中の非イソロイシン (Ile) アミノ酸残基の少なくとも1つのIleアミノ酸残基置換、又は(iii) その組合せを含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

20

【請求項53】

前記参照分泌タンパク質中の非バリン (Val) アミノ酸残基の少なくとも1つのValアミノ酸残基置換を含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項54】

前記参照分泌タンパク質中の非スレオニン (Thr) アミノ酸残基の少なくとも1つのThrアミノ酸残基置換を含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項55】

前記参照分泌タンパク質中の非リジン (Lys) アミノ酸残基の少なくとも1つのLysアミノ酸残基置換を含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

30

【請求項56】

前記参照分泌タンパク質中の非メチオニン (Met) アミノ酸残基の少なくとも1つのMetアミノ酸残基置換を含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項57】

前記参照分泌タンパク質中の非ヒスチジン (His) アミノ酸残基の少なくとも1つのHisアミノ酸残基置換を含む、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項58】

前記アミノ酸残基置換が、アミノ酸1個当たりの位置エントロピーが少なくとも1.5のアミノ酸位置である、請求項49に記載の改変タンパク質。

40

【請求項59】

前記参照分泌タンパク質と前記改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差が0.5以下である、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項60】

位置エントロピーが少なくとも1.5の位置で参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の少なくとも1つの必須アミノ酸残基置換を含む、改変タンパク質。

【請求項61】

前記参照分泌タンパク質が天然タンパク質である、請求項49に記載の改変タンパク質。

【請求項62】

50

前記改変タンパク質が、適合微生物中で発現された時にそれから分泌される、請求項 4 9 に記載の改変タンパク質。

【請求項 6 3】

前記微生物が、前記参照分泌タンパク質を天然に生じる微生物と同じ属である、請求項 6 2 に記載の改変タンパク質。

【請求項 6 4】

前記微生物が従属栄養生物である、請求項 6 2 に記載の改変タンパク質。

【請求項 6 5】

前記微生物が光合成微生物である、請求項 6 2 に記載の改変タンパク質。

【請求項 6 6】

前記光合成微生物がシアノバクテリアである、請求項 6 5 に記載の改変タンパク質。

【請求項 6 7】

参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも 2 0 アミノ酸の配列を含む単離された改変タンパク質であって、前記改変タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合が、前記参照分泌タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合より高い、単離された改変タンパク質。

【請求項 6 8】

栄養的量の請求項 6 7 に記載の単離された改変タンパク質を含む製剤。

【請求項 6 9】

前記製剤が非食用生産物を実質的に含まない、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 0】

前記改変タンパク質のアミノ酸配列が、前記参照分泌タンパク質と少なくとも 4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 9 9 . 5 % 相同である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 1】

前記改変タンパク質のアミノ酸配列が、前記参照分泌タンパク質と少なくとも 4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 9 9 . 5 % 同一である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 2】

前記参照分泌タンパク質中の少なくとも 2 個の非必須アミノ酸残基が必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 3】

前記参照分泌タンパク質中の約 5 ～約 5 0 個の非必須アミノ酸残基が必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 4】

前記参照分泌タンパク質中の 1 又は複数の非必須アミノ酸残基の少なくとも約 1 % が 1 又は複数の必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 5】

前記参照分泌タンパク質中の 1 又は複数の非必須アミノ酸残基の少なくとも約 1 . 5 % が 1 又は複数の必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 6】

前記参照分泌タンパク質中の 1 又は複数の非必須アミノ酸残基の少なくとも約 2 % が 1 又は複数の必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 7】

前記参照分泌タンパク質中の 1 又は複数の非必須アミノ酸残基の少なくとも約 3 % が 1 又は複数の必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 7 8】

前記参照分泌タンパク質中の 1 又は複数の非必須アミノ酸残基の少なくとも約 4 % が 1

10

20

30

40

50

又は複数の必須アミノ酸残基で置換されている、請求項 68 に記載の製剤。

【請求項 79】

前記参照分泌タンパク質が、アスペルギルス (*Aspergillus*)、トリコデルマ (*Trichoderma*)、ペニシリウム (*Penicillium*)、サーモマイセス (*Thermomyces*)、クルイベロマイセス (*Kluyveromyces*)、クリソスポリウム (*Chrysosporium*)、マイセリオフソラ (*Myceliophthora*)、アクレモニウム (*Acremonium*)、フザリウム (*Fusarium*)、トラメテス (*Trametes*)、及びリゾプス (*Rhizopus*) から選択される属の生物に対して天然のものである、請求項 68 に記載の製剤。

【請求項 80】

前記参照分泌タンパク質が、エスチェリヒア・コリ (*Escherichia coli*)、バチルス・ズブチルス (*Bacillus subtilis*)、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、ピチア・パストリス (*Pichia pastoris*)、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*) の種、バチルス・アミロリクエファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*)、バチルス・リチェニフォルミス (*Bacillus licheniformis*)、シネコシスティス (*Synechocystis*) の種、及びシネココッカス (*Synechococcus*) の種から選択される微生物に対して天然のものである、請求項 68 に記載の製剤。

【請求項 81】

前記参照分泌タンパク質が、付録 A に記載のタンパク質から選択されるタンパク質である、請求項 68 に記載の製剤。

【請求項 82】

前記参照分泌タンパク質が、配列番号 1～9 から選択される、請求項 68 に記載の製剤。

【請求項 83】

前記参照分泌タンパク質が、セルロース結合ドメイン、炭水化物結合モジュール、フィブロネクチン III 型ドメイン、及びヒドロホビンから選択されるフォールドのコンセンサス配列を含む、請求項 68 に記載の製剤。

【請求項 84】

前記参照分泌タンパク質が、UniProt 受け入れ番号 Q4WBW4、Q99034、A1DBP9、Q8NJP6、A1CU44、B0Y8K2、Q4WM08、Q0CMT2、Q8NKK02、A1DNL0、A1CCN4、B0XWL3、Q4WFK4、A2QYR9、Q0CFP1、Q5B2E8、A1DJQ7、A1C4H2、B0Y9G4、B8MXJ7、Q4WBU0、Q96WQ9、A2R5N0、Q2US83、Q0CEU4、Q5BCX8、A1DBS6、Q9HE18、O14405、P62694、Q06886、P13860、Q9P8P3、P62695、P07987、A1C8U0、B0Y9E7、B8NIV9、Q4WBS1、Q2U2I3、Q5AR04、A1DBV1、B0YEK2、B8N7Z0、A4DA70、A2R2S6、Q2UI87、Q0CVX4、Q5AX28、A1D9S3、A1CC12、B0Y2K1、Q4WW45、Q5AQZ4、Q99024、P29026、P29027、P69328、P69327、P36914、P23176、P22832、A2QHE1、A1CR85、B0XP E1、B8NRX2、Q4WJJ3、P87076、A2RAL4、Q2UUD6、D0VKF5、Q0CTD7、Q5B5S8、A1D451、B8NJF4、A2QPK4、Q2UNR0、Q5AUW5、B0Y7Q8、B8NP65、Q4WMU3、Q2UN12、Q0CI67、Q5B6C6、A1DMR8、B8NMR5、Q2U325、Q0CUC1、Q5B0F4、A1DC16、A1CUR8、B0XM94、B8NPL7、Q4WL79、Q2U9M7、Q5B6C7、A1DPG0、A1CA51、B0Y3M6、B8NDE2、Q4WU49、A2R989、Q2U8Y5、Q0CAF5、Q5BB53、A1DFA8、B0Y8M8、Q4WLY1、Q5AV15、A1DNN8、Q

5 B A 1 8、B 0 Y B 6 5、Q 4 W G T 3、Q 0 C E F 3、Q 5 B 9 F 2、A 1 D C V 5、B 0 X P B 8、B 8 N 5 S 6、Q 4 W R 6 2、A 5 A B F 5、Q 2 U D K 7、Q 0 C 7 L 4、Q 5 A W D 4、A 1 D 1 2 2、Q 5 B 6 8 1、Q 5 B G 5 1、A 1 C C L 9、Q 0 C B 8 2、Q 5 A T H 9、Q 4 A E G 8、B 0 X P 7 1、B 8 M Y V 0、Q 4 W R B 0、A 2 Q A 2 7、O 0 0 0 8 9、Q 2 U R 3 8、Q 0 C M H 8、Q 5 B A S 1、P 2 9 0 2 6、P 2 9 0 2 7、P 4 8 8 2 7、A 1 C I A 7、B 0 Y 7 0 8、P 3 5 2 1 1、B 8 N 1 0 6、P 2 8 2 9 6、P 1 2 5 4 7、Q 0 0 2 0 8、A 1 C W F 3、P 5 2 7 5 0、P 5 2 7 5 4、P 7 9 0 7 3、P 5 2 7 5 5、P 4 1 7 4 6、及び P 2 8 3 4 6 によって識別されるタンパク質から選択されるタンパク質である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 8 5】

10

前記改変タンパク質が、アフィニティー精製のためのポリペプチドタグを更に含む、請求項 4 9 に記載の改変タンパク質。

【請求項 8 6】

前記アフィニティー精製のためのタグが、ポリヒスチジンタグを含む、請求項 8 5 に記載の改変タンパク質。

【請求項 8 7】

前記改変タンパク質のアミノ酸 1 個当たりの正味の絶対電荷が、p H 7 で少なくとも 0 . 0 5 である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 8 8】

前記改変タンパク質のアミノ酸 1 個当たりの正味の絶対電荷が、p H 7 で少なくとも 0 . 1 0 である、請求項 6 8 に記載の製剤。

20

【請求項 8 9】

前記改変タンパク質のアミノ酸 1 個当たりの正味の絶対電荷が、p H 7 で少なくとも 0 . 1 5 である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 9 0】

前記改変タンパク質のアミノ酸 1 個当たりの正味の絶対電荷が、p H 7 で少なくとも 0 . 2 0 である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 9 1】

前記改変タンパク質のアミノ酸 1 個当たりの正味の絶対電荷が、p H 7 で少なくとも 0 . 2 5 である、請求項 6 8 に記載の製剤。

30

【請求項 9 2】

前記改変タンパク質が、p H 7 で正味正の電荷を有する、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 9 3】

前記改変タンパク質が、p H 7 で正味負の電荷を有する、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 9 4】

前記改変タンパク質が消化可能である、請求項 6 8 に記載の製剤。

【請求項 9 5】

前記改変タンパク質が、ペプシン認識部位、トリプシン認識部位、及びキモトリプシン認識部位から選択されるプロテアーゼ認識部位を含むか、前記改変タンパク質のペプシン認識部位、トリプシン認識部位、及びキモトリプシン認識部位から選択されるプロテアーゼ認識部位の割合が参照分泌タンパク質より高い、請求項 6 8 に記載の製剤。

40

【請求項 9 6】

請求項 4 9 に記載の改変タンパク質をコードする核酸配列を含む単離された核酸。

【請求項 9 7】

改変タンパク質をコードする前記核酸配列に機能可能に連結した発現調節配列を更に含む、請求項 9 6 に記載の単離された核酸。

【請求項 9 8】

請求項 4 9 に記載の改変タンパク質をコードする核酸配列を含むベクター。

【請求項 9 9】

改変タンパク質をコードする前記核酸配列に機能可能に連結した発現調節配列を更に含

50

む、請求項 98 に記載のベクター。

【請求項 100】

(a) 請求項 96 及び 97 のいずれか一項に記載の核酸並びに (b) 請求項 98 及び 99 のいずれか一項に記載のベクター、の少なくとも 1 つを含む、組換え型微生物。

【請求項 101】

請求項 100 に記載の組換え型微生物を前記組換え型微生物による改変タンパク質の生産に十分な条件下で培養することを含む、改変タンパク質の作製方法。

【請求項 102】

前記培養から前記改変タンパク質を単離することを更に含む、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 103】

前記改変タンパク質が可溶性である、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 104】

前記改変タンパク質が、前記培養組換え微生物によって分泌され、前記改変タンパク質が、前記培養培地から単離される、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 105】

請求項 49 に記載の改変タンパク質及び少なくとも 1 つの第 2 の成分を含む、栄養組成物。

【請求項 106】

前記第 2 の成分が、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、遊離アミノ酸、炭水化物、脂肪、ミネラル又はミネラル源、ビタミン、及び賦形剤から選択される、請求項 105 に記載の栄養組成物。

【請求項 107】

前記第 2 の成分がタンパク質である、請求項 105 に記載の栄養組成物。

【請求項 108】

前記タンパク質が改変タンパク質である、請求項 107 に記載の栄養組成物。

【請求項 109】

前記第 2 の成分が、必須アミノ酸から選択される 1 又は複数の遊離アミノ酸である、請求項 105 に記載の栄養組成物。

【請求項 110】

前記第 2 の成分が、分岐鎖アミノ酸から選択される 1 又は複数の遊離アミノ酸である、請求項 105 に記載の栄養組成物。

【請求項 111】

前記第 2 の成分が L e u である、請求項 110 に記載の栄養組成物。

【請求項 112】

前記第 2 の成分が賦形剤である、請求項 105 に記載の栄養組成物。

【請求項 113】

前記賦形剤が、緩衝剤、保存剤、安定剤、結合剤、圧縮剤、滑沢剤、分散助剤、崩壊剤、香味剤、甘味剤、及び着色剤からなる群から選択される、請求項 112 に記載の栄養組成物。

【請求項 114】

前記栄養組成物が、液体溶液、スラリー、懸濁液、ゲル、ペースト、粉末、又は固体として製剤化される、請求項 105 に記載の栄養組成物。

【請求項 115】

栄養組成物の作製方法であって、請求項 49 に記載の改変タンパク質を用意すること及び前記改変タンパク質を第 2 の成分と混合することを含む、方法。

【請求項 116】

前記第 2 の成分が、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、遊離アミノ酸、炭水化物、脂肪、ミネラル又はミネラル源、ビタミン、及び賦形剤から選択される、請求項 115 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1 7】

前記第 2 の成分がタンパク質である、請求項 1 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 8】

前記タンパク質が改変タンパク質である、請求項 1 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 9】

対象における筋肉量、筋力、及び機能的パフォーマンスを維持又は増強する方法であって、十分な量の請求項 4 9 に記載の改変タンパク質、請求項 1 0 5 に記載の栄養組成物、又は請求項 1 1 5 に記載の方法により作製された栄養組成物を前記対象に与えることを含む、方法。

【請求項 1 2 0】

対象において望ましい肥満度指数を維持又は達成する方法であり、十分な量の請求項 4 9 に記載の改変タンパク質、請求項 1 0 5 に記載の栄養組成物、又は請求項 1 1 5 に記載の方法により作製された栄養組成物を前記対象に与えることを含む、方法。

【請求項 1 2 1】

前記対象が高齢者、医学的危篤状態、又はタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいる、請求項 1 1 9 又は 1 2 0 に記載の方法。

【請求項 1 2 2】

請求項 4 9 に記載の改変タンパク質、請求項 1 0 5 に記載の栄養組成物、又は請求項 1 1 5 に記載の方法により作製された栄養組成物が、運動の実行とともに前記対象により消費される、請求項 1 1 9 又は 1 2 0 に記載の方法。

【請求項 1 2 3】

タンパク質エネルギー栄養不良である対象にタンパク質を与える方法であって、十分な量の請求項 4 9 に記載の改変タンパク質、請求項 1 0 5 に記載の栄養組成物、又は請求項 1 1 5 に記載の方法により作製された栄養組成物を前記対象に与えることを含む、方法。

【請求項 1 2 4】

請求項 4 9 に記載の改変タンパク質、請求項 1 0 5 に記載の栄養組成物、又は請求項 1 1 5 に記載の方法により作製された栄養組成物が、経口、経腸、又は非経口経路で前記対象によって消費される、請求項 1 2 3 に記載の方法。

【請求項 1 2 5】

改変タンパク質の作製方法であって、

(a) 参照分泌タンパク質を用意すること、(b) 前記タンパク質の栄養含有量を向上させるための変異のための、前記参照分泌タンパク質のアミノ酸位置のセットを特定すること、及び(c) 標的アミノ酸置換を含む改変タンパク質を合成すること、を含む方法。

【請求項 1 2 6】

前記アミノ酸置換が、(i) 複数の望ましいアミノ酸をコードできる又は(ii) 1 又は複数の望ましくないアミノ酸をコードしないことができる縮重コドンによってコードされる、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記複数の望ましいアミノ酸が、1 又は複数のアミノ酸について濃縮されている、請求項 1 2 6 に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

(d) 前記アミノ酸置換を含む改変タンパク質を選択することを更に含む、請求項 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記参照分泌タンパク質が、(i) *Aspergillus*、*Trichoderma*、*Penicillium*、*Chrysosporium*、*Myceliophthora*、*Acremonium*、*Fusarium*、*Trametes*、及び*Rhizopus* から選択される属のメンバーに対して天然のもの、(ii) *Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Pichia pastoris*、*Corynebacterium* の種

10

20

30

40

50

、*Synechocystis* の種、及び *Synechococcus* の種から選択される微生物に対して天然のもの、又は (i i i) 付録 A に記載のタンパク質である、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記参照分泌タンパク質が、セルロース結合ドメイン、炭水化物結合モジュール、フィブロネクチン I I I 型ドメイン、及びヒドロホビンから選択されるフォールドのコンセンサス配列を含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記タンパク質の栄養含有量を向上させるための変異のための参照分泌タンパク質のアミノ酸位置のセットを特定することが、前記参照分泌タンパク質の複数のアミノ酸位置のアミノ酸尤度 (A A L i k e) 、アミノ酸タイプ尤度 (A A T L i k e) 、位置エントロピー (S _{p o s}) 、アミノ酸タイプ位置エントロピー (S _{A A T p o s}) 、相対的なフォールディングの自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{f o l d}$) 、及び二次構造アイデンティティ (L o o p I D) から選択される少なくとも 1 つのパラメーターを決定することを含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

前記参照分泌タンパク質の複数のアミノ酸位置の (A) A A l i k e 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、 (B) A A T l i k e 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、 (C) A A l i k e 、 A A T l i k e 、及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、 (D) S _{p o s} 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、 (E) S _{A A T p o s} 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、 (F) L o o p I D 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、 (G) A A l i k e 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び L o o p I D 、 (H) A A l i k e 、 A A T l i k e 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び L o o p I D 、 (I) A A T l i k e 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び L o o p I D 、 (J) S _{p o s} 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び L o o p I D 、並びに (K) S _{A A T p o s} 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び L o o p I D から選択されるパラメーターの組合せが決定される、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

前記パラメーターに基づいて前記参照分泌タンパク質の複数のアミノ酸位置を順位付けし、少なくとも閾値のパラメーター値を有する位置のアミノ酸を変異させることを更に含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記改変タンパク質がインビボで合成される、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

栄養ポリペプチド変異体をコードする複数の組換え型核酸配列を含むライブラリーであって、各前記栄養ポリペプチド変異体の全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも 5 0 アミノ酸の参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する 1 又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、ライブラリー。

【請求項 1 3 6】

請求項 1 3 5 に記載のライブラリーを含む組換え型単細胞生物の集団。

【請求項 1 3 7】

請求項 1 3 6 に記載の集団から分泌される、単離された栄養ポリペプチド変異体。

【請求項 1 3 8】

請求項 1 3 7 に記載の栄養ポリペプチド変異体の単離された断片であって、質量分析法による分析に適している、断片。

【請求項 1 3 9】

請求項 1 3 6 に記載の集団を含むデバイスであって、別個の異なるポリペプチド変異体を含む 2 つ以上の個々の組換え型単細胞生物が空間的に隔てられている、デバイス。

【請求項 1 4 0】

分泌栄養ポリペプチド変異体が特定可能である、請求項 1 3 9 に記載のデバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【0001】

関連出願の相互参照

本願は2013年11月20日付で提出された米国特許出願第61/728,427号の優先権を主張するものであり、2013年3月15日付で提出された国際出願PCT/US2013/032232号、2013年3月15日付で提出された国際出願PCT/US2013/032180号、2013年3月15日付で提出された国際出願PCT/US2013/032225号、2013年3月15日付で提出された国際出願PCT/US2013/032218号、2013年3月15日付で提出された国際出願PCT/US2013/032212号、2013年3月15日付で提出された国際出願PCT/US2013/032206号、及び2013年4月29日付で提出された国際出願PCT/US2013/038682号に関連する。これらの開示全体を、ここであらゆる目的のために参照により援用する。

10

【背景技術】

【0002】

天然のタンパク質は異なる20種類のアミノ酸、すなわちアラニン（A）、アルギニン（R）、アスパラギン（N）、アスパラギン酸（D）、システイン（C）、グルタミン酸（E）、グルタミン（Q）、グリシン（G）、ヒスチジン（H）、イソロイシン（I）、ロイシン（L）、リジン（K）、メチオニン（M）、フェニルアラニン（F）、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、トリプトファン（W）、チロシン（Y）、及びバリン（V）で構成される。消化中、摂取されたタンパク質はアミノ酸へと分解される。ほとんどの哺乳動物は必要とするアミノ酸の全ては合成できず、必須アミノ酸を食物から得る必要があるため、タンパク質はヒトの食事の重要な成分である。必須であるとされるアミノ酸はヒスチジン（H）、イソロイシン（I）、ロイシン（L）、リジン（K）、メチオニン（M）、フェニルアラニン（F）、スレオニン（T）、トリプトファン（W）、及びバリン（V）である。

20

世界保健機関は、エネルギーが平衡状態にあり、体重が安定している時、食事性タンパク質がエネルギー摂取の約10～15%に寄与することを推奨している。種々の国における平均1日タンパク質摂取量は、これらの推奨が世界中で消費されているタンパク質の量と一致していることを示している。エネルギー平衡状態で消費される時、平均20～30%のエネルギーがタンパク質によるものである食事が典型的な高タンパク質食である。

30

【0003】

植物性及び動物性の食物はどちらもタンパク質を含む。全ての必須アミノ酸を提供するタンパク質は「上質」タンパク質と呼ばれる。動物性食物、例えば肉、魚、鳥肉、卵、及び乳製品は全て上質タンパク質源である。これらの食物は、良好なバランスの必須アミノ酸を提供する。良好なバランスの必須アミノ酸を提供しないタンパク質は「低品質」タンパク質と呼ばれる。ほとんどの果物及び野菜は不十分なタンパク質源である。豆、エンドウマメ、レンズマメ、ナッツ等の一部の植物性食物及びコムギ等の穀物はより良いタンパク質源である。

【0004】

カゼイン、乳清、及び大豆は主要なタンパク質源である。カゼインは哺乳動物の乳中に一般的に見られ、牛乳のタンパク質の80%を構成し、人乳のタンパク質の20～40%を構成する。カゼインはチーズの主成分でもある。乳清は、乳を凝固させて漉した後に残る液体であり、チーズ又はカゼインの製造の副産物でもある。大豆製品は、大豆から製造される植物性タンパク質である。大部分の植物性タンパク質は低品質タンパク質であるとみなされるが、大豆タンパク質は一部に上質タンパク質であると考えられており、多くの動物／乳清タンパク質に匹敵する。

40

【0005】

ヒトにおいて多量のタンパク質を消費することの急性効果の研究により、食事にタンパク質を含めること及び場合により食事のタンパク質含有量を増やすことが有益な効果を示し得ることが示されている。例えば、研究により、タンパク質は食後の満腹感を誘導で

50

きること（空腹を抑制することによるものを含む）、タンパク質食が熱産生を誘導すること、及びタンパク質食によって血糖反応が低減することが示されている。

【0006】

減量のための高タンパク質食の慢性的利用の研究により、タンパク質はエネルギー消費及び除脂肪体重に良い影響を与えること、タンパク質に由来するエネルギーを少なくとも5%含む食事で過食による体重増加が有意に少なくなること、及び高タンパク質食がエネルギー摂取量を低減することが示されている。

【0007】

臨床研究により、加齢又はベッド上療養による筋肉タンパク質喪失をタンパク質が防止することの証拠が示された。具体的には、長期のベッド上療養中、タンパク質補充後に筋線維合成速度（fractional synthetic rate:FSR）が上がり、タンパク質補充は、長期ベッド上療養中の脚の質量及び強度を維持し、タンパク質補充は除脂肪体重を増加させ、タンパク質補充は歩行及び平衡の機能的測定値を改善し、必須アミノ酸補充は、動けないこと又は長期ベッド上療養によりサルコペニアのリスクがある個人への実行可能な介入となり得る。

【0008】

運動選手における筋肉タンパク質同化の増強に関する研究により、運動後に提供されたタンパク質が、運動のみによって達成されるよりも大幅に筋肥大を促進することが示された。更に、運動後に提供されたタンパク質が、タンパク質分解の増加なしにタンパク質合成を助け、その結果、正味で正のタンパク質平衡及び筋肉成長となることが示された。筋肉タンパク質合成は必須アミノ酸補充に用量反応的に反応するようであるが、全てのタンパク質が筋肉構築において同等であるわけではない。例えば、乳タンパク質は、レジスタンストレーニングによる筋肉成長の補助において大豆よりも優れているようであり、一方、どちらも炭水化物のみより優れている。アミノ酸ロイシンは筋肉タンパク質合成の刺激に重要な因子である。

【0009】

食物中に一般的に見られる全タンパク質は必ずしもヒト等の哺乳動物のアミノ酸必要量に適合するアミノ酸組成を効率的に提供しない。したがって、各必須アミノ酸の最小必要量を得るために、食事性タンパク質の質がより高い場合に必要とされるよりも多量の総タンパク質を食事で消費しなければならない。食事のタンパク質の質を向上させることにより、より低い質のタンパク質を含む食事と比べて、消費されなければならないタンパク質の総量を低減することができる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

一般的に、より高いタンパク質品質のタンパク質は、そうでない他のタンパク質よりも哺乳動物の食事において有益であるとされている。そのようなタンパク質は、例えば哺乳動物の食事の構成要素として、有用である。状況によっては、そのようなタンパク質は、とりわけ、筋肉量、健康的な肥満度指数、及び血糖バランスの維持を促進する。したがって、タンパク質品質の高いタンパク質源に対するニーズがある。

【0011】

一般的に、より高いタンパク質品質のタンパク質は、そうでない他のタンパク質よりも哺乳動物の食事において有益であるとされている。そのようなタンパク質は、例えば哺乳動物の食事の構成要素として、有用である。状況によっては、そのようなタンパク質は、とりわけ、筋肉量、健康的な肥満度指数、及び血糖バランスの維持を促進する。したがって、タンパク質品質の高いタンパク質源に対するニーズがある。

【0012】

理論的に、分岐鎖アミノ酸のうちの少なくとも1つ、及び必須アミノ酸を高い比率で含むポリペプチドを完全にインシリコで設計することができる。次いで、合成タンパク質をコードする核酸を合成することができ、核酸を含む組換え型微生物を、組換え型タンパク

10

20

30

40

50

質の生産のために作製することができる。しかし、このアプローチには複数の潜在的欠点がある。例えば、当業者は、そのような合成配列の可溶性バージョン生産を高レベルで実現することが非常に困難であることを知っている。

【課題を解決するための手段】

【0013】

一態様では、栄養ポリペプチド、及び栄養ポリペプチドを含む製剤が提供される。例えば、単離された栄養ポリペプチドであって、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも50アミノ酸の参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合より高く、栄養ポリペプチドが製剤中に栄養的量で存在し、製剤が、非食用生産物を実質的に含まない、栄養ポリペプチドが提供される。一実施形態では、1又は複数の必須アミノ酸は、栄養的量で製剤中に存在する。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する全必須アミノ酸の割合は、参照分泌タンパク質の全アミノ酸に対する全必須アミノ酸の割合よりも高い。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する単一の必須アミノ酸の割合が、参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する単一の必須アミノ酸の割合より高い。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する2つの必須アミノ酸の割合が、参照分泌タンパク質における全アミノ酸に対する2つの必須アミノ酸の割合より高い。別の実施形態では、参照分泌タンパク質は分泌酵素ポリペプチドを含む。例えば、単離された栄養ポリペプチドは、分泌酵素ポリペプチドの主な酵素活性のレベルが低減することができる。別の実施形態では、単離された栄養ポリペプチドは宿主細胞から実質的に精製されている。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの溶解度はpH7で約10g/lを超える。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの溶解度は参照分泌タンパク質の溶解度より高い。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの消化率は、60分未満の人工胃液消化半減期を有する。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの消化率は参照分泌タンパク質の消化率を超える。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの熱安定性は参照分泌タンパク質の熱安定性を超える。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの計算溶媒和スコアは-20以下である。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの計算凝集スコアは0.75以下である。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの溶解度及び消化率は参照分泌タンパク質の溶解度及び消化率を超える。別の実施形態では、栄養ポリペプチドは公知のアレルゲンに対する相同性が約50%未満である。代表的な製剤は、製剤1kg当たり少なくとも100gの濃度で少なくとも1.0gの栄養ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、製剤は、約500mlを超えない体積で液体、半液体、若しくはゲルとして又は約200gを超えない質量で固体若しくは半固体として存在する。別の実施形態では、栄養ポリペプチドは組換え型生物中で生産される。別の実施形態では、栄養ポリペプチドは、栄養ポリペプチドをコードする組換え型核酸配列を含む単細胞生物によって生産される。別の実施形態では、製剤は、ヒト対象に消費された時に、タンパク質の基準1日摂取値の少なくとも約2%の栄養的利益を提供するか、満腹感を与えるのに十分な量で存在する。別の実施形態では、製剤は、1又は複数の必須アミノ酸の基準1日摂取値の少なくとも約2%の栄養的利益を提供する。別の実施形態では、製剤は、全必須アミノ酸の基準1日摂取値の少なくとも約2%の栄養的利益を提供する。別の実施形態では、製剤は少なくとも10グラムの栄養ポリペプチドを提供する。製剤は好ましくは経腸投与用に製剤化される。別の実施形態では、(i) 栄養ポリペプチドは、栄養ポリペプチド又は参照分泌タンパク質の全長にわたって参照分泌タンパク質と少なくとも約98%、99%、99.5%、又は99.9%の全体的配列同一性を有するか、(ii) 栄養ポリペプチドは、参照分泌タンパク質のオルソログを含み、オルソログは、栄養ポリペプチド又は参照分泌タンパク質の全長にわたって参照分泌タンパク質と少なくとも約70%の全体的配列同一性を有する。更に、本明細書中で提供される製剤を少なくとも約1グラム含む食品が提供される。別の実施形態では、製剤は、100g当たり、タンパク質の基準1日摂取値の少なくとも約2%以上の栄養的利益を提供する。別の実施形態では、栄養ポリペプチドの有効量は、ヒト対象に投与された時、参照分泌タンパク質の有効量より少ない。好ましい製剤は、界面活性剤、ポ

リビニルアルコール、プロピレングリコール、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルピロリドン、非食用のポリ酸若しくはポリオール、脂肪アルコール、アルキルベンジルスルホナート、アルキルグルコシド、又はメチルパラベンを実質的に含まない。いくつかの実施形態では、製剤は、味覚物質、ビタミン、ミネラル、若しくはその組合せ、香味剤若しくは非栄養ポリオール、又は栄養炭水化物及び／若しくは栄養脂質を更に含む。

【0014】

別の態様では、単離された栄養ポリペプチドをコードする組換え型核酸配列を個々に含む組換え型単細胞生物であって、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも50アミノ酸の参照分泌タンパク質の全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、組換え型単細胞生物が提供される。いくつかの実施形態では、栄養ポリペプチドは単細胞生物から分泌される。

10

【0015】

更に、栄養生産物を製剤化する方法であって、有効量の単離された栄養ポリペプチドを含む組成物を用意するステップであって、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも50アミノ酸の参照分泌タンパク質中の全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合より高く、栄養ポリペプチドが、組成物1グラム当たり少なくとも1mgの栄養ポリペプチドの濃度で組成物中に存在するステップ及び組成物を少なくとも1つの食品成分と組み合わせることにより栄養生産物を製剤化するステップを含む、方法が提供される。例えば、食品成分は、香味剤、味覚物質、農業由来食品、ビタミン、ミネラル、栄養炭水化物、栄養脂質、結合剤、充填剤、又はその組合せを含み、栄養生産物は食用であり、栄養生産物は、栄養生産物1kg当たり少なくとも100gの濃度で少なくとも1.0gの栄養ポリペプチドを含み、栄養生産物は、約500mlを超えない体積で液体、半液体、若しくはゲルとして又は約200g以下の質量で固体若しくは半固体として存在する。

20

【0016】

更に、栄養組成物の利益を受け得るヒト対象に投与するための栄養組成物を選択する方法であって、対象における最小必須アミノ酸栄養必要量を特定すること、最小必須アミノ酸栄養必要量を満たすために必要な必須アミノ酸含有量スコアを計算すること、及び有効量の栄養ポリペプチドを含む、少なくとも必要な必須アミノ酸含有量スコアを有する栄養組成物を用意することを含む方法が提供される。

30

【0017】

更に、栄養組成物の利益を受け得るヒト対象に投与するための栄養組成物を選択する方法であって、対象における最大必須アミノ酸栄養必要量を特定すること、最大必須アミノ酸栄養必要量を超えないために必要な必須アミノ酸含有量スコアを計算すること、及び有効量の栄養ポリペプチドを含み、必要な必須アミノ酸含有量スコアを超えることがない栄養組成物を用意することを含む、方法が提供される。

【0018】

別の態様では、処置を必要とするヒト対象におけるタンパク質栄養不良を特徴とする又はこれにより悪化する疾患、障害、又は状態を処置する方法であって、そのような疾患、障害、又は状態を処置するのに十分な量で栄養製剤をヒト対象に投与するステップを含み、栄養製剤が、栄養ポリペプチド及び農業由来食品を含み、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも50アミノ酸の参照分泌タンパク質中の全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、方法が提供される。一実施形態では、ヒト対象は高齢の対象である。別の実施形態では、ヒト対象は18歳未満の子供である。別の実施形態では、ヒト対象は妊娠対象又は授乳中の女性対象である。別の実施形態では、ヒト対象は18歳から約65歳の成人である。別の実施形態では、ヒト対象は、肥満、糖尿病、又は循環器疾患に苦しむ又はそれを発症するリスクがある成人である。

40

【0019】

更に、ヒト対象の栄養状態を改善する方法であって、農業由来食品及び単離された栄養

50

ポリペプチドを含む有効量の栄養製剤を対象に投与することを含み、栄養ポリペプチドの全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合が、長さが少なくとも50アミノ酸の参照分泌タンパク質中の全アミノ酸に対する1又は複数の必須アミノ酸の割合より高い、方法が提供される。

【0020】

別の態様では、改変タンパク質を含む栄養ポリペプチドが提供される。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも20アミノ酸の配列を含み、改変タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合が参照分泌タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合より高い。

10

【0021】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の少なくとも1つの必須アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の少なくとも1つの分岐鎖アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非アルギニン (A r g) 又は非グルタミン (G l u) アミノ酸残基の少なくとも1つのアルギニン (A r g) 又はグルタミン (G l u) アミノ酸残基置換を含む。

【0022】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質の非ロイシン (L e u) アミノ酸残基の少なくとも1つの L e u アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は、L e u 頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は L e u 頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は疎水性アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、L e u アミノ酸残基置換は、アミノ酸1個当たりの位置エントロピーが少なくとも1.5のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下である。

20

30

【0023】

改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも2つの非ロイシン (L e u) アミノ酸残基が、改変タンパク質において L e u アミノ酸残基で置換されており、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0024】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、位置エントロピーが少なくとも1.5の位置で参照分泌タンパク質中の非 L e u アミノ酸残基の少なくとも1つの L e u アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 L e u アミノ酸残基の少なくとも2つの L e u アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される L e u アミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

40

【0025】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、L e u 置換により生じる全自由フォールディングエネルギーが0.5以下の位置で参照分泌タンパク質中の非 L e u アミノ酸残基

50

の少なくとも1つのL e uアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非L e uアミノ酸残基の少なくとも2つのL e uアミノ酸残基置換を含み、独立して考慮されるL e uアミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0026】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非バリン（V a l）アミノ酸残基の少なくとも1つのV a lアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、V a l頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、V a l頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a lアミノ酸残基置換は、アミノ酸1個当たりの位置エントロピーが少なくとも1.5のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質の間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下である。

【0027】

改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも2つの非バリン（V a l）アミノ酸残基が、改変タンパク質中ではV a lアミノ酸残基により置換されており、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0028】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、位置エントロピーが少なくとも1.5の位置で参照分泌タンパク質中の非V a lアミノ酸残基の少なくとも1つのV a lアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質の間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非V a lアミノ酸残基の少なくとも2つのV a lアミノ酸残基置換を含み、独立して考慮されるV a lアミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0029】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、V a l置換による全自由フォールディングエネルギーが0.5以下である位置で参照分泌タンパク質中の非V a lアミノ酸残基の少なくとも1つのV a lアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非V a lアミノ酸残基の少なくとも2つのV a lアミノ酸残基置換を含み、独立して考慮されるV a lアミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0030】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非イソロイシンI l eアミノ酸残基の少なくとも1つのI l eアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、I l eアミノ酸残基置換は、I l e頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l eアミノ酸残基置換は、I l e頻度スコアが少なくと

も 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが 0 より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが 0 より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、アミノ酸 1 個当たりの位置エントロピーが少なくとも 1.5 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下である。

【0031】

改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 2 つの非イソロイシン (I l e) アミノ酸残基が改変タンパク質中で I l e アミノ酸残基で置換されており、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下であり、各アミノ酸について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0032】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、位置エントロピーが少なくとも 1.5 の位置で参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 1 つの I l e アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 2 つの I l e アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される I l e アミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0033】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、I l e 置換による全自由フォールディングエネルギーが 0.5 以下の位置で参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 1 つの I l e アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 2 つの I l e アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される I l e アミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0034】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は天然タンパク質である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、適合微生物中で発現された時にその微生物から分泌される。いくつかの実施形態では、適合微生物は、参照分泌タンパク質を天然に生じる微生物と同じ属である。いくつかの実施形態では、微生物は従属栄養生物である。いくつかの実施形態では、微生物は光合成微生物である。いくつかの実施形態では、光合成微生物はシアノバクテリアである。

【0035】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質のアミノ酸配列は、参照分泌タンパク質と少なくとも 40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 99.5% 相同である。

【0036】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の 5~50 個の非必須アミノ酸残基が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の 5~50 個の非分岐鎖アミノ酸残基が、改変タンパク質で分岐

10

20

30

40

50

鎖アミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の5～50個の非Leuアミノ酸残基が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の5～50個の非Valアミノ酸残基が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の5～50個の非Ileアミノ酸残基が、改変タンパク質中でIleアミノ酸残基により置換されている。

【0037】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Valアミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基により置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Ileアミノ酸残基の5～50%、例えば、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、5～30%、5～40%、5～45%、10～15%、10～20%、10～25%、10～30%、10～35%、10～40%、10～45%、15～20%、15～25%、15～30%、15～35%、15～40%、15～45%、20～25%、20～30%、20～35%、20～40%、20～45%、25～30%、25～35%、25～40%、25～45%、30～35%、30～40%、30～45%、35～40%、35～45%、又は40～45%が、改変タンパク質中でIleアミノ酸残基により置換されている。

【0038】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、(a) 改変栄養性タンパク質配列中に存在する全アミノ酸残基に対する分岐鎖アミノ酸残基の割合が少なくとも26.3%であるか、(b) 改変栄養性タンパク質配列中に存在する全アミノ酸に対するLeu残基の割合が少なくとも11.8%であるか、(c) 改変栄養性タンパク質配列中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸残基の割合が少なくとも55.5%である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は各必須アミノ酸を含む。改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、*Aspergillus*、*Trichoderma*、*Penicillium*、*Chrysosporium*、*Acremonium*、*Fusarium*、*Trametes*、及び*Rhizopus*から選択される属のメンバーに由来する。改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Pichia pastoris*、*Corynebacterium*の種、*Synechocystis*の種、及び*Synechococcus*の種から選択される微生物に由来する。改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、付録Aに記載のタンパク質から選択されるタンパク質である。改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は配列番号1～9から選択される。改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、セルロース結合ドメイン、炭水化物結合モジュール(carbohydrate binding module)、フィブロネクチンIII型ドメイン、及びヒドロホビンから選択されるフォールドのコンセンサス配列を含む。改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、UniProt受け入れ番号Q4WBW4、Q99034、A1DBP9、Q8NJP6、A1CU44、B0Y8K2、Q4WM08、Q0CMT2、Q8NK02、A1DNL0、A1CCN4、B0XWL3、Q4WFK4、A2QYR9、Q0CFP1、Q5B2E8、A1DJQ7、A1C4H2、B0Y9G4、B8MXJ7、Q4WBU0、Q96WQ9、A2R5N0、Q2US83、Q0CEU4、Q5BCX8、A1DBS6、Q9HE18、O14405、P62694、Q06886、P13860、Q9P8P3、P62695、P07987、A1C8U0、B0Y9E7、B8N

I V 9、Q 4 W B S 1、Q 2 U 2 I 3、Q 5 A R 0 4、A 1 D B V 1、B 0 Y E K 2、B 8 N 7 Z 0、A 4 D A 7 0、A 2 R 2 S 6、Q 2 U I 8 7、Q 0 C V X 4、Q 5 A X 2 8、A 1 D 9 S 3、A 1 C C 1 2、B 0 Y 2 K 1、Q 4 W W 4 5、Q 5 A Q Z 4、Q 9 9 0 2 4、P 2 9 0 2 6、P 2 9 0 2 7、P 6 9 3 2 8、P 6 9 3 2 7、P 3 6 9 1 4、P 2 3 1 7 6、P 2 2 8 3 2、A 2 Q H E 1、A 1 C R 8 5、B 0 X P E 1、B 8 N R X 2、Q 4 W J J 3、P 8 7 0 7 6、A 2 R A L 4、Q 2 U U D 6、D 0 V K F 5、Q 0 C T D 7、Q 5 B 5 S 8、A 1 D 4 5 1、B 8 N J F 4、A 2 Q P K 4、Q 2 U N R 0、Q 5 A U W 5、B 0 Y 7 Q 8、B 8 N P 6 5、Q 4 W M U 3、Q 2 U N 1 2、Q 0 C I 6 7、Q 5 B 6 C 6、A 1 D M R 8、B 8 N M R 5、Q 2 U 3 2 5、Q 0 C U C 1、Q 5 B 0 F 4、A 1 D C 1 6、A 1 C U R 8、B 0 X M 9 4、B 8 N P L 7、Q 4 W L 7 9、Q 2 U 9 M 7、Q 5 B 6 C 7、A 1 D P G 0、A 1 C A 5 1、B 0 Y 3 M 6、B 8 N D E 2、Q 4 W U 4 9、A 2 R 9 8 9、Q 2 U 8 Y 5、Q 0 C A F 5、Q 5 B B 5 3、A 1 D F A 8、B 0 Y 8 M 8、Q 4 W L Y 1、Q 5 A V 1 5、A 1 D N N 8、Q 5 B A 1 8、B 0 Y B 6 5、Q 4 W G T 3、Q 0 C E F 3、Q 5 B 9 F 2、A 1 D C V 5、B 0 X P B 8、B 8 N 5 S 6、Q 4 W R 6 2、A 5 A B F 5、Q 2 U D K 7、Q 0 C 7 L 4、Q 5 A W D 4、A 1 D 1 2 2、Q 5 B 6 8 1、Q 5 B G 5 1、A 1 C C L 9、Q 0 C B 8 2、Q 5 A T H 9、Q 4 A E G 8、B 0 X P 7 1、B 8 M Y V 0、Q 4 W R B 0、A 2 Q A 2 7、O 0 0 0 8 9、Q 2 U R 3 8、Q 0 C M H 8、Q 5 B A S 1、P 2 9 0 2 6、P 2 9 0 2 7、P 4 8 8 2 7、A 1 C I A 7、B 0 Y 7 0 8、P 3 5 2 1 1、B 8 N 1 0 6、P 2 8 2 9 6、P 1 2 5 4 7、Q 0 0 2 0 8、A 1 C W F 3、P 5 2 7 5 0、P 5 2 7 5 4、P 7 9 0 7 3、P 5 2 7 5 5、P 4 1 7 4 6、及びP 2 8 3 4 6により識別されるタンパク質から選択される。本明細書中で提供される受け入れ番号により示される配列は、本願の出願日時点におけるデータベース中の配列である。

【0039】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は配列番号10～13から選択される。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、アフィニティー精製のためのポリペプチドタグを更に含む。いくつかの実施形態では、アフィニティー精製のためのタグはポリヒスチジンタグである。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、アミノ酸1個当たりの正味の絶対電荷がpH7で少なくとも0.05である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、アミノ酸当たりの正味の絶対電荷がpH7で少なくとも0.10である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、アミノ酸当たりの正味の絶対電荷がpH7で少なくとも0.15である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、アミノ酸当たりの正味の絶対電荷がpH7で少なくとも0.20である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、アミノ酸当たりの正味の絶対電荷がpH7で少なくとも0.25である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質はpH7で正味の正の電荷を有する。いくつかの実施形態では、改変タンパク質はpH7で正味の負の電荷を有する。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は消化可能である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、ペプシン認識部位、トリプシン認識部位、及びキモトリプシン認識部位から選択されるプロテアーゼ認識部位を含む。

【0040】

更なる態様では、本開示は、核酸（いくつかの実施形態では単離された核酸を含む）を提供する。いくつかの実施形態では、核酸は、本開示の改変タンパク質をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、改変タンパク質をコードする核酸配列に機能可能に連結した発現調節配列を更に含む。

【0041】

更なる態様では、本開示はベクターを提供する。いくつかの実施形態では、ベクターは、本開示の改変タンパク質をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ベクターは、改変タンパク質をコードする核酸配列に機能可能に連結した発現調節配列を更に含む。

【0042】

更なる態様では、本開示は組換え型微生物を提供する。いくつかの実施形態では、組換え型微生物は、(a) 本開示の改変タンパク質をコードする核酸及び(b) 本開示の改変タンパク質をコードする核酸を含むベクター、のうちの少なくとも1つを含む。いくつかの実施形態では、組換え型微生物は原核生物である。いくつかの実施形態では、原核生物は従属栄養性である。いくつかの実施形態では、原核生物は独立栄養性である。いくつかの実施形態では、原核生物は細菌である。

【0043】

更なる態様では、本開示は、本開示の組換え型改変タンパク質の製造方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、組換え型微生物による組換え型改変タンパク質の生産に十分な条件下で本開示の組換え型微生物を培養することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、培養から組換え型改変タンパク質を単離することを更に含む。いくつかの実施形態では、組換え型タンパク質は可溶性である。いくつかの実施形態では、組換え型改変タンパク質は、培養された組換え型微生物により分泌され、分泌されたタンパク質は、培養培地から単離される。

【0044】

更なる態様では、本開示は栄養組成物を提供する。いくつかの実施形態では、栄養組成物は、本開示の改変タンパク質及び少なくとも1つの第2の成分を含む。いくつかの実施形態では、第2の成分は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、遊離アミノ酸、炭水化物、脂肪、ミネラル又はミネラル源、ビタミン、及び賦形剤から選択される。いくつかの実施形態では、第2の成分はタンパク質である。いくつかの実施形態では、タンパク質は改変タンパク質である。いくつかの実施形態では、第2の成分は、必須アミノ酸から選択される遊離アミノ酸である。いくつかの実施形態では、第2の成分は、分岐鎖アミノ酸から選択される遊離アミノ酸である。いくつかの実施形態では、第2の成分はLeuである。いくつかの実施形態では、第2の成分はValである。いくつかの実施形態では、第2の成分はIleである。いくつかの実施形態では、第2の成分は賦形剤である。いくつかの実施形態では、賦形剤は、緩衝剤、保存剤、安定剤、結合剤、圧縮剤(compact ion agent)、滑沢剤、分散助剤、崩壊剤、香味剤、甘味剤、着色剤から選択される。いくつかの実施形態では、栄養組成物は、液体溶液、スラリー、懸濁液、ゲル、ペースト、粉末、又は固体として製剤化される。

【0045】

更なる態様では、本開示は、栄養組成物の作製方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、本開示の改変タンパク質を用意すること及び改変タンパク質を第2の成分と組み合わせることを含む。いくつかの実施形態では、第2の成分は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、遊離アミノ酸、炭水化物、脂肪、ミネラル又はミネラル源、ビタミン、及び賦形剤から選択される。いくつかの実施形態では、第2の成分はタンパク質である。いくつかの実施形態では、第2の成分は、必須アミノ酸から選択される遊離アミノ酸である。いくつかの実施形態では、第2の成分は、分岐鎖アミノ酸から選択される遊離アミノ酸である。いくつかの実施形態では、第2の成分はLeuである。いくつかの実施形態では、第2の成分はValである。いくつかの実施形態では、第2の成分はIleである。いくつかの実施形態では、第2の成分は賦形剤である。いくつかの実施形態では、賦形剤は、緩衝剤、保存剤、安定剤、結合剤、圧縮剤、滑沢剤、分散助剤、崩壊剤、香味剤、甘味剤、着色剤から選択される。いくつかの実施形態では、栄養組成物は、液体溶液、スラリー、懸濁液、ゲル、ペースト、粉末、又は固体として製剤化される。

【0046】

更なる態様では、本開示は、対象における筋肉量、筋力、及び機能的能力のうちの少なくとも1つを維持又は増強する方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、十分な量の本開示に係る改変タンパク質、本開示に係る栄養組成物、又は本開示に係る方法により作製された栄養組成物を対象に与えることを含む。いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、医学的危篤状態(critically-medically ill)、及びタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいるうちの少なくとも1つである。いくつか

の実施形態では、本開示に係る改変タンパク質、本開示に係る栄養組成物、又は本開示に係る方法により作製された栄養組成物は、運動の実行とともに対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示に係る改変タンパク質、本開示に係る栄養組成物、又は本開示に係る方法により作製された栄養組成物は、経口、経腸、又は非経口経路により対象によって消費される。

【0047】

更なる態様では、本開示は、対象において望ましい肥満度指数を維持又は実現する方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、十分な量の本開示の改変タンパク質、本開示の栄養組成物、又は本開示の方法により作製された栄養組成物を対象に与えることを含む。いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、医学的危篤状態、及びタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいるうちの少なくとも1つである。いくつかの実施形態では、本開示に係る改変タンパク質、本開示に係る栄養組成物、又は本開示に係る方法により作製された栄養組成物は、運動の実行とともに対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示に係る改変タンパク質、本開示に係る栄養組成物、又は本開示に係る方法により作製された栄養組成物は、経口、経腸、又は非経口経路により対象によって消費される。

10

【0048】

更なる態様では、本開示は、タンパク質エネルギー栄養不良である対象にタンパク質を与える方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、十分な量の本開示の改変タンパク質、本開示の栄養組成物、又は本開示の栄養組成物を対象に与えることを含む。いくつかの実施形態では、本開示に係る改変タンパク質、本開示に係る栄養組成物、又は本開示に係る方法により作製された栄養組成物は、経口、経腸、又は非経口経路により対象によって消費される。

20

【0049】

更なる態様では、本開示は、改変タンパク質の作製方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、(a) 参照分泌タンパク質を用意すること、(b) タンパク質の栄養含有量を向上させるための変異のための参照分泌タンパク質のアミノ酸位置のセットを特定すること、及び(c) 標的アミノ酸置換を含む改変タンパク質を合成することを含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、*Aspergillus*、*Trichoderma*、*Penicillium*、*Chrysosporium*、*Acremonium*、*Fusarium*、*Trametes*、及び*Rhizopus*から選択される属のメンバーに由来する。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Pichia pastoris*、*Corynebacterium*の種、*Synechocystis*の種、及び*Synechococcus*の種から選択される微生物に由来する。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は付録Aに記載のタンパク質である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、UniProt受け入れ番号Q4WBW4、Q99034、A1DBP9、Q8NJP6、A1CU44、B0Y8K2、Q4WM08、Q0CMT2、Q8NKK02、A1DNL0、A1CCN4、B0XWL3、Q4WFK4、A2QYR9、Q0CFP1、Q5B2E8、A1DJQ7、A1C4H2、B0Y9G4、B8MXJ7、Q4WBU0、Q96WQ9、A2R5N0、Q2US83、Q0CEU4、Q5BCX8、A1DBS6、Q9HE18、O14405、P62694、Q06886、P13860、Q9P8P3、P62695、P07987、A1C8U0、B0Y9E7、B8NIV9、Q4WBS1、Q2U2I3、Q5AR04、A1DBV1、B0YEK2、B8N7Z0、A4DA70、A2R2S6、Q2UI87、Q0CVX4、Q5AX28、A1D9S3、A1CC12、B0Y2K1、Q4WW45、Q5AQZ4、Q99024、P29026、P29027、P69328、P69327、P36914、P23176、P22832、A2QHE1、A1CR85、B0XPE1、B8NRX2、Q4WJJ3、P87076、A2RAL4、Q2UUD6、D0VKF5、Q0CTD7、Q5B5

30

40

50

S 8、A 1 D 4 5 1、B 8 N J F 4、A 2 Q P K 4、Q 2 U N R 0、Q 5 A U W 5、B 0 Y 7 Q 8、B 8 N P 6 5、Q 4 W M U 3、Q 2 U N 1 2、Q 0 C I 6 7、Q 5 B 6 C 6、A 1 D M R 8、B 8 N M R 5、Q 2 U 3 2 5、Q 0 C U C 1、Q 5 B 0 F 4、A 1 D C 1 6、A 1 C U R 8、B 0 X M 9 4、B 8 N P L 7、Q 4 W L 7 9、Q 2 U 9 M 7、Q 5 B 6 C 7、A 1 D P G 0、A 1 C A 5 1、B 0 Y 3 M 6、B 8 N D E 2、Q 4 W U 4 9、A 2 R 9 8 9、Q 2 U 8 Y 5、Q 0 C A F 5、Q 5 B B 5 3、A 1 D F A 8、B 0 Y 8 M 8、Q 4 W L Y 1、Q 5 A V 1 5、A 1 D N N 8、Q 5 B A 1 8、B 0 Y B 6 5、Q 4 W G T 3、Q 0 C E F 3、Q 5 B 9 F 2、A 1 D C V 5、B 0 X P B 8、B 8 N 5 S 6、Q 4 W R 6 2、A 5 A B F 5、Q 2 U D K 7、Q 0 C 7 L 4、Q 5 A W D 4、A 1 D 1 2 2、Q 5 B 6 8 1、Q 5 B G 5 1、A 1 C C L 9、Q 0 C B 8 2、Q 5 A T H 9、Q 4 A E G 8、B 0 X P 7 1、B 8 M Y V 0、Q 4 W R B 0、A 2 Q A 2 7、O 0 0 0 8 9、Q 2 U R 3 8、Q 0 C M H 8、Q 5 B A S 1、P 2 9 0 2 6、P 2 9 0 2 7、P 4 8 8 2 7、A 1 C I A 7、B 0 Y 7 0 8、P 3 5 2 1 1、B 8 N 1 0 6、P 2 8 2 9 6、P 1 2 5 4 7、Q 0 0 2 0 8、A 1 C W F 3、P 5 2 7 5 0、P 5 2 7 5 4、P 7 9 0 7 3、P 5 2 7 5 5、P 4 1 7 4 6、及び P 2 8 3 4 6 により識別されるタンパク質から選択されるタンパク質である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は配列番号 1～9 から選択される。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質は、セルロース結合ドメイン、炭水化物結合モジュール、フィブロネクチン I I I 型ドメイン、及びヒドロホビンから選択されるフォールドのためのコンセンサス配列を含む。

10

【0050】

20

いくつかの実施形態では、タンパク質の栄養含有量を向上させるための変異のための参照分泌タンパク質のアミノ酸位置の組を特定するステップは、参照分泌タンパク質の複数のアミノ酸位置についてのアミノ酸尤度 (A A L i k e)、アミノ酸タイプ尤度 (A A T L i k e)、位置エントロピー ($S_{p o s}$)、アミノ酸タイプ位置エントロピー ($S_{A A T p o s}$)、フォールディングの相対的自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{f o l d}$)、及び二次構造アイデンティティ ($L o o p I D$) から選択される少なくとも 1 つのパラメーターを決定することを含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質の複数のアミノ酸位置について 2 つ以上のパラメーターの組合せを決定し、パラメーターの組合せは以下から選択される：(A) A A l i k e 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、(B) A A T l i k e 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、(C) A A l i k e、A A T l i k e、及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、(D) $S_{p o s}$ 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、(E) $S_{A A T p o s}$ 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、(F) $L o o p I D$ 及び $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、(G) A A l i k e、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び $L o o p I D$ 、(H) A A l i k e、A A T l i k e、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び $L o o p I D$ 、(I) A A T l i k e、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び $L o o p I D$ 、(J) $S_{p o s}$ 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び $L o o p I D$ 、並びに (K) $S_{A A T p o s}$ 、 $\Delta \Delta G_{f o l d}$ 、及び $L o o p I D$ 。いくつかの実施形態では、方法は、それらのパラメーターに基づいて参照分泌タンパク質の複数のアミノ酸位置をランク付けすること及び少なくとも閾値のパラメーター値を有する位置のアミノ酸を変異させることを更に含む。

30

【0051】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質はインビボで合成される。いくつかの実施形態では、改変タンパク質はインビトロで合成される。

40

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図 1】A. *n i g e r* のグルコアミラーゼタンパク質 (配列番号 1) 中におけるアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図 1 A は、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 1 B は、図 1 A のグラフの左端の拡大図を示している。図 1 C は、分岐鎖アミノ酸 (B C A A) 尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 1 D は、疎水性アミノ酸 (A、M、I、L、V) 尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0053】

【図 2】A. *n i g e r* のグルコアミラーゼタンパク質 (配列番号 1) 中における位置

50

エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図 2 Aでは、位置エントロピーは 20 アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図 2 Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する 5 グループのアミノ酸、すなわち疎水性 [A、V、I、L、M]、芳香族 [F、Y、W]、極性 [S、T、N、Q]、荷電 [R、H、K、D、E]、その他 [G、P、C] に基づいて計算されている。

【0054】

【図 3】A. *niger* のグルコアミラーゼタンパク質（配列番号 1）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0055】

【図 4】A. *niger* のエンド-β-1, 4-グルカナーゼタンパク質（配列番号 2）中におけるアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図 4 Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 4 Bは、図 4 Aのグラフの左端の拡大図を示している。図 4 Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 4 Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0056】

【図 5】A. *niger* のエンド-β-1, 4-グルカナーゼタンパク質（配列番号 2）中の位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図 5 Aでは、位置エントロピーは 20 アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図 5 Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する 5 グループのアミノ酸、すなわち疎水性 [A、V、I、L、M]、芳香族 [F、Y、W]、極性 [S、T、N、Q]、荷電 [R、H、K、D、E]、その他 [G、P、C] に基づいて計算されている。

【0057】

【図 6】A. *niger* のエンド-β-1, 4-グルカナーゼタンパク質（配列番号 2）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0058】

【図 7】A. *niger* の 1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼタンパク質（配列番号 3）中におけるアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図 7 Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 7 Bは、図 7 Aのグラフの左端の拡大図を示している。図 7 Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 7 Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0059】

【図 8】A. *niger* の 1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼタンパク質（配列番号 3）中の位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図 8 Aでは、位置エントロピーは 20 アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図 8 Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する 5 グループのアミノ酸、すなわち疎水性 [A、V、I、L、M]、芳香族 [F、Y、W]、極性 [S、T、N、Q]、荷電 [R、H、K、D、E]、その他 [G、P、C] に基づいて計算されている。

【0060】

【図 9】A. *niger* の 1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼタンパク質（配列番号 3）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0061】

【図 10】A. *niger* のエンド-1, 4-β-キシラナーゼタンパク質（配列番号 4）中におけるアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図 10 Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図 10 Bは、図 10 Aのグラフの左端の拡大図を示している。図 10 Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を

10

20

30

40

50

示しており、図10Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0062】

【図11】A. *niger*のエンドー1, 4- β -キシラナーゼタンパク質（配列番号4）中の位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図11Aでは、位置エントロピーは20アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図11Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する5グループのアミノ酸、すなわち疎水性[A、V、I、L、M]、芳香族[F、Y、W]、極性[S、T、N、Q]、荷電[R、H、K、D、E]、その他[G、P、C]に基づいて計算されている。

【0063】

【図12】A. *niger*のエンドー1, 4- β -キシラナーゼタンパク質（配列番号4）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0064】

【図13】A. *niger*のセルロース結合ドメイン1（配列番号5）中のアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図13Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図13Bは、図13Aのグラフの左端の拡大図を示している。図13Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を示しており、図13Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0065】

【図14】A. *niger*のセルロース結合ドメイン1（配列番号5）中の位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図14Aでは、位置エントロピーは20アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図14Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する5グループのアミノ酸、すなわち疎水性[A、V、I、L、M]、芳香族[F、Y、W]、極性[S、T、N、Q]、荷電[R、H、K、D、E]、その他[G、P、C]に基づいて計算されている。

【0066】

【図15】A. *niger*のセルロース結合ドメイン1（配列番号5）中の各アミノ酸位置について野生型と比べたロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0067】

【図16】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中のアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図16Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図16Bは、図16Aのグラフの左端の拡大図を示している。図16Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を示しており、図16Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0068】

【図17】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中のアミノ酸尤度に基づくイソロイシン置換を示す図である。図17Aは、イソロイシン尤度に基づくイソロイシン置換を示しており、図17Bは、図17Aのグラフの左端の拡大図を示している。図17Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくイソロイシン置換を示しており、図17Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくイソロイシン置換を示している。

【0069】

【図18】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中のアミノ酸尤度に基づくバリン置換を示す図である。図18Aは、バリン尤度に基づくバリン置換を示しており、図18Bは、図18Aのグラフの左端の拡大図を示している。図18Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくバリン置換を示しており、図18Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくバリン置換を示している。

【0070】

【図19】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中の位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図19Aでは、位置エントロピーは20アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図19Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する5グループのアミノ酸、すなわち疎水性〔A、V、I、L、M〕、芳香族〔F、Y、W〕、極性〔S、T、N、Q〕、荷電〔R、H、K、D、E〕、その他〔G、P、C〕に基づいて計算されている。

【0071】

【図20】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

10

【0072】

【図21】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するイソロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0073】

【図22】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するバリン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0074】

【図23】A. *niger*の炭水化物結合モジュール20（配列番号6）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するアルギニン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

20

【0075】

【図24】A. *niger*のグルコシダーゼフィブロネクチンIII型ドメイン（配列番号7）中におけるアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図24Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図24Bは、図24Aのグラフの左端の拡大図を示している。図24Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を示しており、図24Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0076】

30

【図25】A. *niger*のグルコシダーゼフィブロネクチンIII型ドメイン（配列番号7）中の位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図25Aでは、位置エントロピーは20アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図25Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する5グループのアミノ酸、すなわち疎水性〔A、V、I、L、M〕、芳香族〔F、Y、W〕、極性〔S、T、N、Q〕、荷電〔R、H、K、D、E〕、その他〔G、P、C〕に基づいて計算されている。

【0077】

【図26】A. *niger*のグルコシダーゼフィブロネクチンIII型ドメイン（配列番号7）中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異自由フォールディングエネルギーを示す図である。

40

【0078】

【図27】T. *Reesei*のヒドロホビンIタンパク質（配列番号8）中のアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図27Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図27Bは、図27Aのグラフの左端の拡大図を示している。図27Cは、分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度に基づくロイシン置換を示しており、図27Dは、疎水性アミノ酸（A、M、I、L、V）尤度に基づくロイシン置換を示している。

【0079】

【図28】T. *Reesei*のヒドロホビンIタンパク質（配列番号8）中における位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図28Aでは、位置エントロピーは、20アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図28Bでは、位置

50

エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する5グループのアミノ酸、すなわち疎水性 [A、V、I、L、M]、芳香族 [F、Y、W]、極性 [S、T、N、Q]、荷電 [R、H、K、D、E]、その他 [G、P、C] に基づいて計算されている。

【0080】

【図29】T. Reese i のヒドロホビン I タンパク質 (配列番号8) 中の各アミノ酸位置の、野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0081】

【図30】T. Reese i のヒドロホビン I I タンパク質 (配列番号9) 中におけるアミノ酸尤度に基づくロイシン置換を示す図である。図30Aは、ロイシン尤度に基づくロイシン置換を示しており、図30Bは、図30Aのグラフの左端の拡大図を示している。図30Cは、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) 尤度に基づくロイシン置換を示しており、図30Dは、疎水性アミノ酸 (A、M、I、L、V) 尤度に基づくロイシン置換を示している。

10

【0082】

【図31】T. Reese i のヒドロホビン I I タンパク質 (配列番号9) 中における位置エントロピーに基づくロイシン置換を示す図である。図31Aでは、位置エントロピーは20アミノ酸の完全なセットに基づいて計算されており、一方、図31Bでは、位置エントロピーは同様な生物物理学的性質を有する5グループのアミノ酸、すなわち疎水性 [A、V、I、L、M]、芳香族 [F、Y、W]、極性 [S、T、N、Q]、荷電 [R、H、K、D、E]、その他 [G、P、C] に基づいて計算されている。

20

【0083】

【図32】T. Reese i のヒドロホビン I I タンパク質 (配列番号9) 中の各アミノ酸位置の野生型に対するロイシン置換変異の自由フォールディングエネルギーを示す図である。

【0084】

【図33】SEQ ID-45001及びSEQ ID-45029変異体の作製に用いたライブラリー構築戦略の模式図を示す図である。

【0085】

【図34】図34A及び34Bは、Caliper LabChip GXIIを用いた分泌スクリーニングの結果を示す図である。(A) ヒット (目的のタンパク質ピークを矢印で示す)、陰性対照、及びタンパク質ラダーを示す電気泳動図。(B) タンパク質変異体の分泌を示す電気泳動図から作製されたシミュレートされたゲルイメージ (目的のタンパク質ピークが四角で囲まれている)。

30

【0086】

【図35】Aspergillus 培養上清の抗FLAGドットプロット分析の結果を示す図である。(A) SEQ ID-45029の特異的な変異体をコードする発現ベクターで形質転換された単離物。四角は標準曲線を示す。(B) (A) の陽性ウェルの定量化。SEQ ID-45029は野生型分泌の陽性対照である。(C) SEQ ID-45029変異体ライブラリーをコードする発現ベクターで形質転換された単離物。(D) 標準曲線 (四角) に基づく (C) の陽性ウェルの定量化。

40

【0087】

【図36】単離物18及び27の発現カセットの配列多様性を示す図である。ダッシュの後の数字は特異的なサブクローンを示す。四角は、同一配列を示す。可変領域の外側に欠失が存在することを示唆するクローンをアスタリスクで示す。

【発明を実施するための形態】

【0088】

付録の説明

本願は付録A～Dを含む。

【0089】

50

付録Aに参照分泌タンパク質の例を列挙する。

【0090】

付録Bに、アンキリンリピート、ロイシンリッチリピート、テトラトリコペプチドリピー
ート、アルマジロリピート、フィブロネクチンIII型ドメイン、リポカリン様ドメイン
、ノッチン、セルロース結合ドメイン、炭水化物結合ドメイン、プロテインZのフォール
ド、PDZドメイン、SH3ドメイン、SH2ドメイン、WWドメイン、チオレドキシン
、ロイシンジッパー、植物ホメオドメイン、tudorドメイン、及びヒドロホビンから
選択されるフォールド／ドメインを含む代表的タンパク質を記載する。

【0091】

付録Cに、アミノ酸尤度を分析するためのマルチプル配列アラインメント(MSA)に
用いたタンパク質を記載する。

10

【0092】

付録Dに、実施例で分析したタンパク質及びポリペプチド配列の生理化学的性質の分析
を示す。

【0093】

詳細な説明

本明細書中で特に断りのない限り、本開示に関連して使用される科学技術用語は当業者
に一般的に理解される意味を有する。更に、文脈から要求されない限り、単数形の用語は
複数を包含し、複数形の用語は単数を包含するものとする。一般的に、本明細書に記載さ
れる生化学、酵素学、分子細胞生物学、微生物学、遺伝学及びタンパク質及び核酸化学、
並びにハイブリダイゼーションに関連して用いられる命名法並びに技術は、当該技術分野
で周知であり、一般的に用いられているものである。本明細書に引用されるある特定の参
照文献及び他の文献は明示的に参照により本明細書に援用される。更に、本明細書に引用
される全てのUniProt/SwissProtの記録を参照により本明細書に援用す
る。矛盾がある場合、定義を含む本明細書が優先される。材料、方法、及び実施例は説明
のみを目的とし、限定的することを意図しない。

20

【0094】

特に断りのない限り、本開示の方法及び技術は一般的に、当該技術分野で周知の従来の
方法に従って並びに種々の一般的な及び本明細書中に引用及び記載されているより具体的
な参照文献に説明されているように行われる。例えば、Sambrook et al.,
, Molecular Cloning: A Laboratory Manual
, 3d ed., Cold Spring Harbor Laboratory
Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (2001);
Ausubel et al., Current Protocols in Mol
ecular Biology, Greene Publishing Associ
ates (1992, and Supplements to 2002); Ta
ylor and Drickamer, Introduction to Glyc
obiology, Oxford Univ. Press (2003); Wor
thington Enzyme Manual, Worthington Bioc
hemical Corp., Freehold, N. J.; Handbook
of Biochemistry: Section A Proteins, Vol
I, CRC Press (1976); Handbook of Bioche
mistry: Section A Proteins, Vol II, CRC
Press (1976); Essentials of Glycobiology
, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1
999). Remington's Pharmaceutical Science
s, Mack Pub. Co, Easton, PA (18th ed.) (1
990)を参照されたい。シアノバクテリアに適用できる多くの分子生物学的及び遺伝
学的技術が、参照により本明細書に援用するHeidorn et al., "Syn
thetic Biology in Cyanobacteria: Enginee

30

40

50

ring and Analyzing Novel Functions, " Methods in Enzymology, Vol. 497, Ch. 24 (2011)に記載されている。

【0095】

本開示は、インターネット上に公開されている特定のタンパク質及び遺伝子の配列について、配列データベースエントリー（例えば、UniProt/SwissProtの記録）及び他のインターネット上の情報を参照する。当業者は、配列データベースのエントリーを含むインターネット上の情報が時々更新されること及び例えば特定の配列を参照するために用いられる参照番号が変わり得ることを理解している。インターネット上の配列情報又は他の情報の公開データベースを参照する場合、そのような変化が起こり得、インターネット上の情報の特定の実施形態は移り変わり得ると理解される。当業者はインターネット上でのサーチにより、等価な情報を見つけることができるので、インターネットウェブページアドレス又は配列データベースエントリーへの参照は、問題の情報が利用可能であり一般に広まっていることの証拠となる。全ての場合において、本明細書中で参照される配列データベースエントリーに含まれる配列情報は参照により本明細書に援用される。

10

【0096】

本発明のタンパク質、組成物、方法、及び別の実施形態を開示及び説明する前に、本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明することのみを目的としており、限定することを意図していないと理解されるべきである。明細書及び添付の特許請求の範囲において、文脈から明らかに否定されない限り、単数形は複数の参照対象を包含すると理解されることに留意しなければならない。

20

【0097】

本明細書において、「含む (comprising)」という用語は、「含む (including)」又は「含む (containing)」と同義であり、包括的又は開放式 (open-ended) であり、追加の記載されていないメンバー、要素、又は方法ステップを排除しない。

【0098】

本開示はアミノ酸に言及する。アミノ酸の完全な名称は、それぞれの標準的な3文字及び1文字の略語と交換可能に使用される。疑いが生じないように、それらは以下の通りである：アラニン (Ala、A)、アルギニン (Arg、R)、アスパラギン (Asn、N)、アスパラギン酸 (Asp、D)、システイン (Cys、C)、グルタミン酸 (Glu、E)、グルタミン (Gln、Q)、グリシン (Gly、G)、ヒスチジン (His、H)、イソロイシン (Ile、I)、ロイシン (Leu、L)、リジン (Lys、K)、メチオニン (Met、M)、フェニルアラニン (Phe、F)、プロリン (Pro、P)、セリン (Ser、S)、スレオニン (Thr、T)、トリプトファン (Trp、W)、チロシン (Tyr、Y)、バリン (Val、V)。

30

【0099】

本明細書において、「インビトロ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、又は微生物）内でなく、人工的環境、例えば試験管又は反応容器中、細胞培養液中、ペトリ皿中等で起こる事象を指す。

40

【0100】

本明細書において、「インビボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、又は微生物）内で起こる事象を指す。

【0101】

本明細書において、「単離された」という用語は、(1) それが（自然の中で又は実験環境で）最初に生産された時に付随していた成分の少なくとも一部から分離された、並びに／又は (2) 人の手によって生産、調製、及び／若しくは製造された、物質又は実体を指す。単離された物質及び／又は実体は、それらに最初に付随していたその他の成分の少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約

50

80%、約90%、又はそれ以上から分離され得る。いくつかの実施形態では、単離された薬剤は、約80%超、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超純粋である。本明細書において、他の成分を実質的に含まない場合、物質は「純粋」である。

【0102】

本明細書において、「分岐鎖アミノ酸」とは、ロイシン、イソロイシン、及びバリンから選択されるアミノ酸である。

【0103】

本明細書において、「必須アミノ酸」とは、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、及びバリンから選択されるアミノ酸である。

10

【0104】

本明細書において、「ペプチド」という用語は、短いポリペプチド、例えば典型的には約50個未満のアミノ酸、より典型的には約30個未満のアミノ酸を含むものを指す。本明細書において、この用語は、構造的、したがって生物学的機能を模倣するアナログ及び模倣物 (mimetics) を包含する。

【0105】

「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は交換可能であり、これらの用語は、天然及び非天然のポリペプチドの両方並びに本明細書で示されるように又は当該技術分野で一般的に知られているように、その断片、変異体、誘導体、及びアナログを包含する。ポリペプチドは、単量体であってもよく、すなわち単鎖を有してもよく、多量体であってもよく、すなわち共有的又は非共有的に結合することができる2個以上の鎖で構成されてもよい。更に、ポリペプチドは、それぞれが1又は複数の別個の活性を有する複数の異なるドメインを含み得る。明確にするために記すと、ポリペプチドは、2アミノ酸以上の任意の長さであり得る。

20

【0106】

「単離されたポリペプチド」という用語は、その起源又は由来する源に基づいて、(1)天然状態のいずれかにおいてそれに伴う天然に付随する成分が付随していないポリペプチド、(2)天然には見出されない純度で存在するポリペプチドであって、純度は他の細胞材料の存在に関連して決定され得る、ポリペプチド (例えば、同じ種に由来する他のポリペプチド又はポリペプチドが生産された宿主に由来する他のポリペプチドを含まない)、(3)異なる種の細胞から発現されるポリペプチド、(4)細胞によって組換え的に発現されるポリペプチド (例えば、宿主細胞中に存在する組換え型核酸から生産されて、生産する宿主細胞から分離されている場合、ポリペプチドは「単離されたポリペプチド」である)、(5)天然に生じないポリペプチド (例えば、これは、天然に見出されるポリペプチドのドメイン又は他の断片であるか、天然には見出されないアミノ酸のアナログ若しくは誘導体又は標準的ペプチド結合以外の結合を含む)、又は(6)その他の方法で人の手によって生産、調製、及び/又は製造されるポリペプチドである。したがって、「単離されたポリペプチド」は、同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを宿主細胞が天然で生産するかどうかに関係なく、宿主細胞中で組換え型核酸 (例えばベクター) から生産されるポリペプチドを含む。「ポリペプチド」は、変化させたプロモーターの非存在下における宿主細胞中でのその通常の発現レベルより高いレベルに発現が増大するようにポリペプチドのプロモーターを変化させること等による宿主細胞からのポリペプチドの過剰発現、例えば相同的過剰発現により宿主細胞によって生産されるポリペプチドを含む。化学的に合成される又はそれが天然に生じる細胞とは異なる細胞系において合成されるポリペプチドは、その天然の付随成分から「単離され」ている。ポリペプチドは更に、当該技術分野で周知のタンパク質精製技術を用いた単離により、天然付随成分を実質的に含まないようにすることができる。これらの定義から、「単離された」とは、そのように記載されたタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、又はオリゴペプチドが、それが合成された細胞から物理的に取り出されていることを必ずしも必要としない。

30

40

50

【0107】

「精製する」、「精製すること」、及び「精製（された）」という用語は、（自然中又は実験状況下のいずれであれ）それが最初に生産された時又はその最初の生産後の任意の時間中にそれに付随する成分の少なくとも一部から分離されている物質（又は実体、組成物、生産物、又は材料）を指す。栄養ポリペプチド等の物質は、生産時に又は最終生産物を含むそれまでの任意のレベル若しくは段階でそれが単離されている場合、精製されていると見なされるが、最終生産物は約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、又は約90%超までその他の材料を含んでよく、それでも「単離され」ていると見なされ得る。精製された物質又は実体は、それらに最初に付随していた他の成分の少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、又はそれ以上から分離され得る。いくつかの実施形態では、精製された物質は、約80%超、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超、純粋である。本明細書中に提供されるポリペプチド及び他のポリペプチドの場合、そのようなポリペプチドは、ポリペプチドを分泌する単細胞生物から分泌され得る1又は複数の他のポリペプチドから精製され得る。本明細書において、ポリペプチド物質は、他の成分又は他のポリペプチド成分を実質的に含まない場合、「純粋」である。

10

【0108】

本明細書において、「ポリペプチド断片」又は「タンパク質断片」という用語は、参照ポリペプチド（例えば天然タンパク質の全長ポリペプチド又はポリペプチドドメイン）より少ないアミノ酸を有するポリペプチド又はそのドメインを指す。「天然タンパク質」又は「天然ポリペプチド」は、非組み換え型の細胞又は生物により生産されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。一実施形態では、ポリペプチド断片は、断片のアミノ酸配列が天然配列の対応する位置と同一である連続配列である。断片は通常、少なくとも5、6、7、8、9、若しくは10アミノ酸長、少なくとも12、14、16、若しくは18アミノ酸長、少なくとも20アミノ酸長、少なくとも25、30、35、40、若しくは45アミノ酸、少なくとも50、60、70、80、90、若しくは100アミノ酸長、少なくとも110、120、130、140、150、160、170、180、190、若しくは200アミノ酸長、又は225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、若しくは600超のアミノ酸長である。断片は、細胞の内側又は外側で消化される、より大きなポリペプチド配列の一部であり得る。したがって、長さが50アミノ酸のポリペプチドが細胞内で生産されてもよいが、細胞の内側又は外側でタンパク質分解されて長さが50アミノ酸未満のポリペプチドが生産されてもよい。これは、より大きなポリペプチドよりも組換え的に生産すること又は組換え的に生産した後に精製することが困難であり得る、約25アミノ酸より短いポリペプチドで特に重要である。本明細書において、「ペプチド」という用語は、短いポリペプチド又はオリゴペプチド、例えば、典型的には約50アミノ酸未満、より典型的には約30アミノ酸未満、又はより典型的には約15アミノ酸未満、例えば約10、9、8、7、6、5、4、若しくは3アミノ酸未満を含むものを指す。本明細書において、この用語は、構造的したがって生物学的機能を模倣するアナログ及び模倣物を包含する。

20

30

40

【0109】

「融合タンパク質」という用語は、異種アミノ酸配列に結合したポリペプチド又は断片を含むポリペプチドを指す。融合タンパク質は、2つ以上の異なるタンパク質に由来し得る2つ以上の所望の機能的要素を含むように構築できるので有用である。融合タンパク質は、目的のポリペプチドに由来する少なくとも10連続アミノ酸、少なくとも20若しくは30アミノ酸、少なくとも40、50、若しくは60アミノ酸、又は少なくとも75、100、若しくは125アミノ酸を含む。融合タンパク質中に含まれる異種ポリペプチドは通常、少なくとも6アミノ酸長、少なくとも8アミノ酸長、又は少なくとも15、20

50

、若しくは25アミノ酸長である。IgG Fc領域等のより大きなポリペプチド及び更には緑色蛍光タンパク質（「GFP」）発色団含有タンパク質等のタンパク質全体を含む融合物は特に有用である。融合タンパク質は、異なるタンパク質又はペプチドをコードする核酸配列とインフレームでポリペプチド又はその断片をコードする核酸配列を構築し、次いで融合タンパク質を発現させることにより、組換え的に生産することができる。あるいは、融合タンパク質は、ポリペプチド又はその断片を別のタンパク質に架橋結合することにより化学的に生産することができる。

【0110】

組成物、製剤、又は生産物は、意図される消費者にかなりの量の栄養分を与える場合、「栄養性」又は「栄養（的）」であり、すなわち消費者は組成物又は製剤の全部又は一部を細胞、器官、及び／又は組織に同化する。一般的に、そのような細胞、器官、及び／又は組織への同化は、例えば前記細胞、器官、及び／又は組織の健康及び／又は自然の機能を維持する又は向上させるので、消費者に有益又は有用である。本発明では、同化される栄養性組成物又は製剤を「栄養」と呼ぶ。非限定的な例として、ポリペプチドは、かなりの量のポリペプチド栄養分をその意図される消費者に与える場合、すなわち消費者がタンパク質の全部又は一部を、典型的には単一アミノ酸又は小ペプチドの形態で細胞、器官、及び／又は組織に同化する場合、栄養性である。「栄養」はまた、ヒト又は他の哺乳動物等の対象に栄養性の組成物、製剤、生産物、又は他の材料を提供するプロセスを意味する。栄養性生産物は「栄養的に完全」である必要はなく、すなわち、十分な量が消費された場合に、生産物が消費者の健康に必要な全ての炭水化物、脂質、必須脂肪酸、必須アミノ酸、条件付き必須アミノ酸、ビタミン、及びミネラルを提供する必要はない。更に、「栄養的に完全なタンパク質」は、必要な全タンパク質栄養（すなわち、生物が生理学的に正常な状態で必要とする量）を含むが、ビタミン及びミネラル等の微量栄養素、炭水化物、又は脂質は必ずしも含まない。

【0111】

好ましい実施形態では、組成物又は製剤は、「栄養的利益」を提供するのに十分な量の単一アミノ酸及び／又は小ペプチド（例えば、2アミノ酸、3アミノ酸、又は4アミノ酸、場合により最大10アミノ酸）へと分解（すなわち、しばしばタンパク質消化と呼ばれる、ペプチド結合の切断）可能なポリペプチドを提供する点で栄養性である。更に、ある特定の実施形態では、小ペプチド（例えば、単一アミノ酸より大きいが約10アミノ酸より小さい）又はより大きなペプチド、オリゴペプチド、若しくはポリペプチド（例えば、11アミノ酸超）として胃腸壁を通過して血流中に吸収される栄養性ポリペプチドが提供される。ポリペプチド含有組成物の栄養的利益は、複数の測定基準により実証及び場合により定量することができる。例えば、栄養的利益は、タンパク質の基準1日摂取値の少なくとも約0.5%以上、例えば基準1日摂取値の約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、又は約100%超の、消費生物にとっての利益である。あるいは、栄養的利益は、消費者による満腹の感覚及び／又は認識によって示される。別の実施形態では、栄養的利益は、消費者の細胞、器官、及び／又は組織中に組成物又は製剤のかなりの量のポリペプチド成分が取り込まれることにより示され、そのような取込みは通常、細胞内での新規ポリペプチド生産に単一アミノ酸又は短いペプチドが用いられることを意味する。「消費者」又は「消費生物」とは、栄養的利益を有する生産物を摂取できる任意の動物を意味する。典型的には、消費者は、健康なヒト、例えば健康な乳児、子供、成人、又は高齢者等の哺乳動物である。あるいは、消費者は、（i）適切な栄養の不足及び／又は（ii）本発明の栄養生産物によるその軽減を特徴とする疾患、障害、又は状態を発症するリスクがある又はそれに苦しむヒト（例えば、乳児、子供、成人、又は高齢者）等の哺乳動物である。「乳児（infant）」とは一般的に約1又は2歳未満のヒトであり、「子供」とは一般的に約18歳未満のヒトであり、「高齢者」とは約65歳以上のヒトである。

【0112】

本発明の一態様は、本明細書中で提供されるポリペプチドが、ポリペプチド中に含まれるペプチドが固有のアミノ酸組成を有することの実証を含む、分解可能なポリペプチドの提供を超える機能的利益を有することである。更に、天然全長ポリペプチド又はポリペプチドの混合物には見られないアミノ酸比率を有するポリペプチドが提供され、そのような比率は、単一アミノ酸及び小ペプチドを介して起こる代謝シグナル伝達を調節するポリペプチドの能力並びに消費生物の健康にとって重要な特異的な代謝反応を刺激するポリペプチド（及びそのアミノ酸成分）の能力の両方において有益である。本明細書において、アミノ酸の比率は、単一アミノ酸又は2以上のアミノ酸のポリペプチド中の組成を参照ポリペプチド又は参照ポリペプチド混合物のいずれかと比較することにより示すことができる。いくつかの実施形態では、そのような比較は、ポリペプチド中の1つのアミノ酸の含有量対参照ポリペプチド又は参照ポリペプチド混合物中の同じアミノ酸の含有量を含み得る。別の実施形態では、そのような比較は、ポリペプチド中の1つのアミノ酸の相対含有量対参照ポリペプチド又は参照ポリペプチド混合物中に存在するその他の全アミノ酸の含有量を含み得る。

10

【0113】

別の好ましい実施形態では、組成物又は製剤は、意図される消費者が加水分解可能な炭水化物を提供する点で栄養性である（「栄養性炭水化物」と呼ぶ）。炭水化物含有組成物の栄養的利益は複数の測定基準により実証及び場合により定量化することができる。例えば、栄養的利益は、消費生物にとって、炭水化物の基準1日摂取値の少なくとも約2%以上の利益である。

20

【0114】

別の好ましい実施形態では、組成物又は製剤は、意図される消費者による消化、取込み、変換、又は他の細胞的使用が可能な脂質を提供する点で栄養性である（「栄養性脂質」と呼ぶ）。脂質含有組成物における栄養的利益は複数の測定基準により実証及び場合により定量化することができる。例えば、栄養的利益は、消費生物にとって、脂質（すなわち、脂肪）の基準1日摂取値の少なくとも約2%以上の利益である。

【0115】

「農業由来食品」とは、土壌の耕作又は動物の飼育から得られる食品である。

【0116】

本明細書において、タンパク質をコードする核酸配列が、第2のタンパク質をコードする核酸配列と類似の配列を有する場合、タンパク質は第2のタンパク質に対して「相同性」を有する又はそれに「相同」である。あるいは、2つのタンパク質が類似するアミノ酸配列を有する場合、タンパク質は第2のタンパク質に対する相同性を有する（したがって、「相同タンパク質」という用語は、2つのタンパク質が類似したアミノ酸配列を有することを意味すると定義される）。本明細書において、（特に予想される構造的類似性に関連する）アミノ酸配列の2つの領域間の相同性は機能の類似性を意味すると解釈される。

30

【0117】

タンパク質又はペプチドに関して「相同な」が用いられる場合、同一でない残基位置が多くの場合保存的アミノ酸置換によって異なっていると認識される。「保存的アミノ酸置換」とは、同様な化学的特性（例えば、電荷又は疎水性）の側鎖（R基）を有する別のアミノ酸残基によってアミノ酸残基が置換されているものである。一般的に、保存的アミノ酸置換はタンパク質の機能的特性を実質的に変化させない。2以上のアミノ酸配列が保存的置換によって互いに異なる場合、置換の保存的性質について補正するために上方にパーセント配列同一性又は相同性の程度が調整され得る。この調整をするための手段は当業者に周知である。例えば、Pearson, 1994, Methods Mol. Biol. 24:307-31及び25:365-89を参照されたい。

40

【0118】

以下の6グループのそれぞれは、互いに保存的な置換であるアミノ酸を含む：（1）セリン、スレオニン；（2）アスパラギン酸、グルタミン酸；（3）アスパラギン、グルタミン；（4）アルギニン、リジン；（5）イソロイシン、ロイシン、メチオニン、アラニ

50

ン、バリン、及び（６）フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン。

【０１１９】

ポリペプチドの配列相同性は、パーセント配列同一性ともいい、通常、配列分析ソフトウェアを用いて測定される。例えば、ウィスコンシン大学バイオテクノロジーセンター、910 University Avenue, Madison, Wis. 53705のGenetics Computer Group (GCG)のSequence Analysis Software Packageを参照されたい。タンパク質分析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換を含む種々の置換、欠失、及び他の修飾に割り当てられた相同性の尺度を用いて類似の配列を整合する。例えば、GCGは、異なる生物種の相同なポリペプチド等の密接に関連するポリペプチド間又は野生型タンパク質とそのム

10

【０１２０】

種々の生物の多数の配列を含むデータベースと特定のポリペプチド配列を比較する時のアルゴリズムの例としては、コンピュータープログラムBLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Gish and States, Nature Genet. 3:266-272 (1993); Madden et al., Meth. Enzymol. 266:131-141 (1996); Altschul et al., Nu

20

cleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997); Zhang and Madden, Genome Res. 7:649-656 (1997))、特にblastp又はtblastn (Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997))が挙げられる。

【０１２１】

BLASTpのパラメーターの例は以下の通りである：Expectation value:10 (デフォルト)；Filter:seg (デフォルト)；Cost to open a gap:11 (デフォルト)；Cost to extend a gap:1 (デフォルト)；Max. Alignments:100 (デフォルト)；Word size:11 (デフォルト)；No. of descriptions:100 (デフォルト)；Penalty Matrix:BLOWSUM62。相同性について比較されるポリペプチド配列の長さは通常、少なくとも約16アミノ酸残基、少なくとも約20残基、少なくとも約24残基、少なくとも約28残基、又は約35残基超である。多数の異なる生物の配列を含むデータベースをサーチする場合、アミノ酸配列の比較が有用であり得る。アミノ酸配列を用いたデータベースサーチは、当該技術分野で公知のblastp以外のアルゴリズムで測定することができる。例えば、GCG Version 6.1のプログラムであるFASTAを用いてポリペプチド配列を比較することができる。FASTAは、クエリー配列とサーチ配列との間で最も重複する領域のアラインメント及びパーセント配列同一性を提供する。Pearson, Methods Enzy

30

mol. 183:63-98 (1990)。例えば、アミノ酸配列間のパーセント配列同一性は、参照により本明細書に援用するGCG Version 6.1に提供されるデフォルトのパラメーター (word size:2及びPAM250スコアリングマトリックス)でFASTAを用いて決定することができる。

40

【０１２２】

いくつかの実施形態では、重合体分子 (例えば、ポリペプチド配列又は核酸配列)は、配列が少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一である場合に互いに「

50

相同」であると見なされる。いくつかの実施形態では、重合体分子は、配列が少なくとも 25%、少なくとも 30%、少なくとも 35%、少なくとも 40%、少なくとも 45%、少なくとも 50%、少なくとも 55%、少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、又は少なくとも 99% 類似している場合に互いに「相同」であると見なされる。「相同な」という用語は、必然的に少なくとも 2 つの配列（ヌクレオチド配列又はアミノ酸配列）間の比較を指す。いくつかの実施形態では、2 つのヌクレオチド配列は、それらがコードするポリペプチドが、少なくとも約 20 アミノ酸の少なくとも一続き（stretch）について少なくとも約 50% 同一、少なくとも約 60% 同一、少なくとも約 70% 同一、少なくとも約 80% 同一、又は少なくとも約 90% 同一である場合、相同であると見なされる。いくつかの実施形態では、相同なヌクレオチド配列は、少なくとも 4~5 個の固有な特異的アミノ酸の一続きをコードする能力を特徴とする。ヌクレオチド配列が相同であると見なされるには、これらのアミノ酸の互いに対する近似的配置（approximate spacing）及び同一性の両方が考慮される必要がある。長さが 60 ヌクレオチド未満のヌクレオチド配列のいくつかの実施形態では、少なくとも 4~5 個の固有な特定のアミノ酸の一続きをコードする能力によって相同性が決定される。いくつかの実施形態では、2 つのタンパク質配列は、タンパク質が少なくとも約 20 アミノ酸の少なくとも一続きについて少なくとも約 50% 同一、少なくとも約 60% 同一、少なくとも約 70% 同一、少なくとも約 80% 同一、又は少なくとも約 90% 同一である場合、相同であると見なされる。

10

20

【0123】

本明細書において、「修飾誘導体」とは、参照ポリペプチド配列と一次構造配列が実質的に相同であるが、例えばインビボ又はインビトロで化学的及び生化学的修飾を含むか参照ポリペプチド中に見られないアミノ酸を取り込んでいるポリペプチド又はその断片を指す。そのような修飾としては、当業者に容易に理解されるように、例えばアセチル化、カルボキシル化、リン酸化、グリコシル化、ユビキチン化、例えば放射性核種を用いた標識、及び種々の酵素的修飾が含まれる。ポリペプチドを標識するための種々の方法及びそのような目的に有用な種々の置換基又は標識が当該技術分野で周知であり、¹²⁵I、³²P、³⁵S、及び³H等の放射性同位元素、標識されたアンチリガンド（antiligand）（例えば抗体）に結合するリガンド、フルオロフォア、化学発光剤、酵素、及び標識リガンドに対する特異的結合対メンバーとなり得るアンチリガンドが含まれる。標識の選択は、必要な感度、プライマーとのコンジュゲーションのし易さ、要求される安定性、及び利用可能な計測設備によって決まる。ポリペプチドを標識化する方法は当該技術分野で周知である。例えば、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992, and Supplements to 2002) を参照されたい。

30

【0124】

本明細書において、「ポリペプチド変異体」又は「ムテイン」とは、天然又は野生型タンパク質等の参照タンパク質又はポリペプチドのアミノ酸配列と比べて 1 又は複数のアミノ酸の挿入、複製、欠失、再編成、又は置換を配列が含むポリペプチドを指す。ムテインは、参照タンパク質の配列中で、ある位置の 1 個のアミノ酸が別のアミノ酸に変化している 1 若しくは複数のアミノ酸点置換、1 若しくは複数のアミノ酸が挿入若しくは欠失しているそれぞれ 1 若しくは複数の挿入及び／若しくは欠失、並びに／又はアミノ末端若しくはカルボキシ末端のいずれか若しくは両方におけるアミノ酸配列の切断を有し得る。ムテインは、参照タンパク質と比較して、同じ生物学的活性を有してもよく、異なる生物学的活性を有してもよい。

40

【0125】

いくつかの実施形態では、ムテインは、例えば、対応する参照タンパク質に対して少なくとも 85% の全体的配列相同性を有する。いくつかの実施形態では、ムテインは、野生

50

型タンパク質に対して少なくとも90%の全体的配列相同性を有する。別の実施形態では、ムテインは、少なくとも95%の配列同一性又は98%、99%、99.5%、若しくは99.9%の全体的配列同一性を示す。

【0126】

本明細書において、「アフィニティー精製のためのポリペプチドタグ」とは、第1の「タグ」ポリペプチドに融合した目的の第2のタンパク質又はポリペプチド配列を単離又は精製するために用いることができる結合相手を有する任意のポリペプチドである。いくつかの例が当該技術分野で周知であり、His-6タグ、FLAGエピトープ、c-mycエピトープ、Strept-TAG II、ビオチンタグ、グルタチオン5-トランスフェラーゼ(GST)、キチン結合タンパク質(CBP)、マルトース結合タンパク質(MBP)、又は金属親和性タグが含まれる。

10

【0127】

本明細書において、「ポリペプチド電荷」又は「タンパク質電荷」は、式1を用いてpH7でポリペプチド又はタンパク質について計算される。

【0128】

式1:

$$\text{電荷}_p = -0.002 - C * 0.045 - D * 0.999 - E * 0.998 + H * 0.091 + K * 1.0 + R * 1.0 - Y * -0.001$$

電荷_pは、ポリペプチド又はタンパク質の実効電荷である。

Cは、ポリペプチド又はタンパク質中のシステイン残基の数である。

20

Dは、ポリペプチド又はタンパク質中のアスパラギン酸残基の数である。

Eは、ポリペプチド又はタンパク質中のグルタミン酸残基の数である。

Hは、ポリペプチド又はタンパク質中のヒスチジン残基の数である。

Kは、ポリペプチド又はタンパク質中のリジン残基の数である。

Rは、ポリペプチド又はタンパク質中のアルギニン残基の数である。

Yは、ポリペプチド又はタンパク質中のチロシン残基の数である。

【0129】

本明細書において、「アミノ酸1個当たりの電荷」は、式2を用いてpH7のポリペプチド又はタンパク質について計算される。

【0130】

式2:

$$\text{電荷}_A = (-0.002 - C * 0.045 - D * 0.999 - E * 0.998 + H * 0.091 + K * 1.0 + R * 1.0 - Y * -0.001) / N$$

電荷_Aは、ポリペプチド又はタンパク質のアミノ酸1個当たりの実効電荷である。

C、D、E、H、K、R、及びYは式1におけるのと同じである。

Nは、ポリペプチド又はタンパク質中のアミノ酸の数である。

30

【0131】

本明細書において、「組換え型」とは、(1)天然環境から取り出されている、(2)自然界で遺伝子が見出されるポリヌクレオチドの全部又は一部が付随していない、(3)天然にはそれが連結していないポリヌクレオチドに機能可能に連結している、又は(4)天然に生じない生体分子、例えば遺伝子又はポリペプチドを指す。更に、「組換え型」は、組換え型生体分子又は非組換え型生体分子であり得る生体分子を含有、生産、及び／又は分泌する本明細書中で「組換え型単細胞生物」、「組換え型宿主」、又は「組換え型細胞」と呼ぶ単細胞生物等の細胞又は生物を指す。例えば、組換え型単細胞生物は、組換え型ポリペプチド又は非組み換え型ポリペプチドの生産及び／又は分泌を増強する組換え型核酸を含み得る。組換え型の細胞又は生物は更に、組換え型ベクター等の組換え型核酸が導入された細胞を指すことが意図される。「組換え型単細胞生物」は、組換え型微生物宿主細胞を含み、特定の対象細胞だけを指すだけでなく、そのような細胞の子孫も指す。変異又は環境の影響により次の世代で特定の修飾が起こり得るので、そのような子孫は事実上、親細胞と同一でないことがあるが、それでも本明細書中の用語の範囲に含まれる。

40

50

【0132】

「ポリヌクレオチド」、「核酸分子」、「核酸」、又は「核酸配列」という用語は、長さが少なくとも10塩基のヌクレオチドの重合体形態を指す。この用語は、DNA分子（例えば、cDNA又はゲノム若しくは合成DNA）及びRNA分子（例えば、mRNA又は合成RNA）、並びに非天然ヌクレオチドアナログ、非天然ヌクレオチド間結合、又は両方を含むDNA又はRNAのアナログを含む。核酸は任意の形態的コンホメーションであり得る。例えば、核酸は、一本鎖、二本鎖、三本鎖、四本鎖、部分的二本鎖、分岐鎖、ヘアピン、環状、又は錠型（padlocked）コンホメーションであり得る。

【0133】

「合成」RNA、DNA、又は混合重合体とは、細胞の外側で作成されたもの、例えば化学的に合成されたものである。

【0134】

本明細書において、「核酸断片」という用語は、全長参照ヌクレオチド配列と比べて欠失、例えば5'末端又は3'末端の欠失を有する核酸配列を指す。一実施形態では、核酸断片は、断片のヌクレオチド配列が天然配列中の対応する位置と同一である連続配列である。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも10、15、20、若しくは25ヌクレオチド長、又は少なくとも20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、若しくは150ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、核酸配列の断片はオープンリーディングフレーム配列の断片である。いくつかの実施形態では、そのような断片は、オープンリーディングフレームヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質のポリペプチド断片（本明細書で定義）をコードする。

【0135】

本明細書において、生物のゲノム中の内因性核酸配列（又はその配列にコードされるタンパク質生産物）は、異種配列が内因性核酸配列に隣接して配置され、その結果この内因性核酸配列の発現が変化している場合、本明細書中で「組換え型」と見なされる。この文脈で、異種配列とは、内因性核酸配列に天然には隣接していない配列であり、異種配列自体は内因性（同じ宿主細胞又はその子孫を起源とする）であってもよく、外因性（異なる宿主細胞又はその子孫を起源とする）であってもよい。例えば、宿主細胞のゲノム中の遺伝子の天然プロモーターを（例えば相同組換えにより）あるプロモーター配列に置換して、この遺伝子の発現パターンが変わるようにしてよい。この時、この遺伝子は、それに天然で隣接する配列の少なくとも一部から分離されているので、「組換え型」になる。

【0136】

核酸は更に、ゲノム中の対応する核酸に天然に起こらない任意の修飾を含む場合、「組換え型」と見なされる。例えば、内因性コード配列は、例えばヒトの介入により、人為的に導入された挿入、欠失、又は点変異を含む場合、「組換え型」と見なされる。「組換え型核酸」は更に、異種部位の宿主細胞染色体中に組み込まれた核酸及びエピソードとして存在する核酸コンストラクトを含む。「組換え型」という用語は更に、クローニングされたDNA単離物、化学合成されたポリヌクレオチドアナログ、又は異種の系により生物学的に合成されたポリヌクレオチドアナログ、並びにそのような核酸にコードされるポリペプチド及び／又はmRNAに言及しても用いられ得る。したがって、例えば、微生物に合成されるポリペプチドは、例えば細胞中に存在する組換え型の遺伝子又は他の核酸配列から転写されたmRNAからそれが生産される場合、組換え型である。

【0137】

本明細書において、参照核酸配列の「縮重変異体」という語句は、標準的な遺伝暗号に従って翻訳されて、参照核酸配列から翻訳されるのと同じアミノ酸配列を提供できる核酸配列を包含する。「縮重オリゴヌクレオチド」又は「縮重プライマー」という用語は、必ずしも配列が同一ではないが1又は複数の特定のセグメント内で互いに相同である標的核酸配列にハイブリダイズできるオリゴヌクレオチドを示すために使用される。

【0138】

核酸配列の文脈における「パーセント配列同一性」又は「同一」という用語は、対応が

10

20

30

40

50

最大となるようにアラインメントした時に同じである2つの配列中の残基を指す。配列同一性比較の長さは、少なくとも約9ヌクレオチド、一般的に少なくとも約20ヌクレオチド、より一般的には少なくとも約24ヌクレオチド、典型的には少なくとも約28ヌクレオチド、より典型的には少なくとも約32、更により典型的には少なくとも約36以上のヌクレオチドの一続きにわたり得る。ヌクレオチド配列同一性の測定に用いることができる複数の異なるアルゴリズムが当該技術分野で知られている。例えば、ポリヌクレオチド配列は、Wisconsin Package Version 10.0 (Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wis)に含まれるプログラムであるFASTA、Gap、又はBestfitを用いて比較することができる。FASTAは、クエリー配列とサーチ配列の間で最も重複する領域のアラインメント及びパーセント配列同一性を提供する。Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990)。例えば、核酸配列間のパーセント配列同一性は、参照により本明細書に援用するGCG Version 6.1に提供されているように、FASTAをデフォルトのパラメーター(word size:6、スコアリングマトリックスにNOPAMファクター)で用いて又はGapをデフォルトのパラメーターで用いて決定することができる。あるいは、コンピュータプログラムBLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Gish and States, Nature Genet. 3:266-272 (1993); Madden et al., Meth. Enzymol. 266:131-141 (1996); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997); Zhang and Madden, Genome Res. 7:649-656 (1997))、特にblastp又はtblastn (Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997))を用いて配列を比較することができる。

10

20

【0139】

核酸又はその断片に言及する時の「実質的相同性 (substantial homology)」又は「実質的類似性 (substantial similarity)」という用語は、適切なヌクレオチドの挿入又は欠失と共に別の核酸 (又はその相補鎖) とアラインした時に、前述したようなFASTA、BLAST、又はGap等の任意の周知の配列同一性のアルゴリズムによる測定で少なくとも約76%、80%、85%、又は少なくとも約90%、又は少なくとも約95%、96%、97%、98%、若しくは99%のヌクレオチド塩基においてヌクレオチド配列同一性があることを示している。

30

【0140】

あるいは、核酸又はその断片が、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、別の核酸、別の核酸の鎖、又はその相補鎖にハイブリダイズする時、実質的な相同性又は類似性が存在する。核酸ハイブリダイゼーション実験の文脈における「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」及び「ストリンジェントな洗浄条件」は、複数の異なる物理的パラメーターに依存する。当業者に容易に理解されるように、核酸ハイブリダイゼーションは、塩濃度、温度、溶媒、ハイブリダイズする分子種の塩基組成、相補的領域の長さ、及びハイブリダイズする核酸間のヌクレオチド塩基ミスマッチの数等の条件に影響される。当業者は、特定のストリンジェンシーのハイブリダイゼーションを実現するためのこれらのパラメーターの変更方法を知っている。

40

【0141】

一般的に、「ストリンジェントなハイブリダイゼーション」は、特定の組の条件下で特異的DNAハイブリッドの熱融点 (T_m) より約25℃低い温度で行われる。「ストリンジェントな洗浄」は、特定の組の条件下で特異的DNAハイブリッドの T_m より約5℃低い温度で行われる。 T_m は、完全にマッチするプローブと標的配列の50%がハイブリダイズする温度である。参照により本明細書に援用する Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual,

50

2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989), page 9. 51を参照されたい。本明細書中での目的のために、「ストリンジェントな条件」は、 $6\times\text{SSC}$ ($20\times\text{SSC}$ は 3.0M NaCl 及び 0.3M クエン酸ナトリウムを含む)、 $1\%\text{SDS}$ 中、 65°C で $8\sim 12$ 時間の水性ハイブリダイゼーション（すなわち、ホルムアミドを含まない）、次いで $0.2\times\text{SSC}$ 、 $0.1\%\text{SDS}$ 中、 65°C で20分間の洗浄2回としての液相ハイブリダイゼーションについて定義される。ハイブリダイズしている配列の長さ及びパーセント同一性を含む複数の因子に応じて 65°C でのハイブリダイゼーションは異なる速度で起こることが当業者には理解されよう。

【0142】

本明細書において、「発現調節配列」とは、それらが機能可能に連結されているコード配列の発現に影響を与えるのに必要なポリヌクレオチド配列を指す。発現調節配列は、核酸配列の転写、転写後事象、及び翻訳を調節する配列である。発現調節配列としては、適切な転写の開始配列、終結配列、プロモーター配列、及びエンハンサー配列；効率的なRNAプロセッシングシグナル、例えばスプライシング及びポリアデニル化シグナル；細胞質mRNAを安定化する配列；翻訳効率を高める配列（例えば、リボソーム結合部位）；タンパク質安定性を高める配列；及び、所望される場合、タンパク質の分泌を増大させる配列が含まれる。そのような調節配列の性質は宿主生物に応じて異なり、原核生物では、そのような調節配列としては通常、プロモーター、リボソーム結合部位、及び転写終結配列が含まれる。「調節配列」という用語は、最低限、発現にその存在が必須であるあらゆる成分を包含することが意図され、その存在が好ましい付加的成分、例えばリーダー配列及び融合パートナー配列を更に包含し得る。

【0143】

本明細書において、「機能的に連結した (operatively linked)」又は「作動可能に連結した (operably linked)」発現調節配列とは、目的の遺伝子を調節するための目的の遺伝子に発現調節配列が隣接している結合及び目的の遺伝子を調節するためにトランスに又は離れて作用する発現調節配列を指す。

【0144】

本明細書において、「ベクター」とは、それに連結された別の核酸を輸送できる核酸分子を指すことが意図される。ベクターの1種が「プラスミド」であり、これは通常、付加的なDNAセグメントがライゲーションされ得る環状二本鎖DNAループを指すが、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による増幅により又は環状プラスミドの制限酵素処理により得られるもの等の線状二本鎖分子も含む。他のベクターとしては、コスミド、バクテリア人工染色体 (BAC)、及び酵母人工染色体 (YAC) が含まれる。別の種類のベクターは、付加的DNAセグメントがウイルスゲノム中にライゲーションされ得るウイルスベクターである（以下に更に詳細に説明）。ある特定のベクターは、それらが導入された宿主細胞中で自律的に複製できる（例えば、宿主細胞中で機能する複製起源を有するベクター）。他のベクターは、宿主細胞への導入後に宿主細胞のゲノム中に組み込まれ得、それにより宿主ゲノムと共に複製される。更に、ある特定のベクターは、それらが機能可能に連結されている遺伝子の発現を導くことができる。そのようなベクターを本明細書中では「組換え型発現ベクター」（又は単に「発現ベクター」）と呼ぶ。

【0145】

本明細書において、「組換え型宿主細胞」（又は単に「組換え型細胞」又は「宿主細胞」という用語は、組換え型ベクター等の組換え型核酸が導入された細胞を指すことが意図される。場合によっては、「細胞」という語は、細胞の種類を特定する名前で置き換えられる。例えば、「組換え型微生物」とは、微生物宿主細胞である組換え型宿主細胞である。このような用語は、特定の対象細胞を指すだけでなく、そのような細胞の子孫も指すことが意図されると理解されるべきである。変異又は環境の影響のために次の世代で特定の修飾が起こり得るので、そのような子孫は、事実上、親細胞と同一でないことがあるが、それでも本明細書において、用語「組換え型宿主細胞」、「組換え型細胞」、及び「宿

主細胞」の範囲に含まれる。組換え型宿主細胞は、培養中で成長させた単離された細胞又は細胞株であってもよく、生きた組織又は生物中にある細胞であってもよい。

【0146】

本明細書において、「従属栄養性」という用語は、炭素を固定できず、成長に有機炭素を利用する生物を指す。

【0147】

本明細書において、「独立栄養性」という用語は、（光合成により）光からのエネルギーを用いて又は無機化学反応（化学合成）を用いて単純な無機分子から複雑な有機化合物（例えば炭水化物、脂肪、及びタンパク質）を生産する生物を指す。

【0148】

本明細書において、「筋肉量」とは、対象の身体における筋肉の重量を指す。筋肉量は、骨格筋、平滑筋（例えば心筋及び消化筋肉）及びこれらの筋肉に含まれる水分を含む。特定の筋肉の筋肉量は、二重エネルギーX線吸収法（DEXA）（Padden-Jones et al., 2004）を用いて測定することができる。全除脂肪体重（脂肪を除く）、全体重、及び骨塩量（bone mineral content）もDEXAで測定することができる。いくつかの実施形態では、対象の特定の筋肉の筋肉量の変化を例えばDEXAにより測定し、この変化を、対象の筋肉量の全変化の代わりとして用いる。したがって、例えば、対象が本明細書に開示の栄養タンパク質を消費して、期間中、特定の筋肉又は筋肉群における筋肉量の増加を経験した場合、対象は筋肉量の増加を経験したと結論付けることができる。筋肉量の変化は、タンパク質合成、筋線維合成速度（fractional synthetic rate）、及びmTor/mTorc等の特定の主要活性を含む種々の方法で測定することができる。一般的に、「除脂肪筋肉量（lean muscle mass）」とは、脂肪等のその他の組織が存在しない筋肉組織の質量を指す。

【0149】

本明細書において、「筋力」とは、1回の最大限の努力で筋肉が生み出すことができる力の量を指す。静的筋力及び動的筋力の2種類の筋力がある。静的筋力とは筋肉の等尺性収縮を指し、筋肉の長さが一定のまま且つ／又は関節を動かさずに筋肉が力を生み出す。例としては、物体の保持若しくは運搬又は壁を押すことが含まれる。動的筋力とは、運動を生じさせる力を生み出す筋肉を指す。動的筋力は等張性収縮であり得、筋肉は一定の負荷又は等運動性収縮下で短縮し、筋肉は一定の速度で収縮及び短縮する。動的強度には等慣性強度も含まれ得る。

【0150】

特に断りのない限り、「筋力」とは、最大動的筋力を指す。最大筋力は、「1最大反復回数（one repetition maximum）」（1RM）と呼ばれる。これは、失敗又は怪我なしに1回完全に動かす（持ち上げる、押す、又は引く）ことができる最大負荷（キログラム）の測定値である。この値は、直接測定することができるが、そのためには、対象が活動の完了に失敗するまで重量を増やしていく必要がある。あるいは、1RMは、対象が動かせる最大量より少ない負荷を用いて対象が行うことができる運動反復の最大数を数えることにより推定される。レッグエクステンション及びレッグフレクションがしばしば臨床試験で測定される（Borsheim et al., "Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly," Clin Nutr 2008; 27:189-195; Paddon-Jones, et al., "Essential amino acid and carbohydrate supplementation ameliorates muscle protein loss in humans during 28 days bed rest," J Clin Endocrinol Metab 2004; 89:4351-4358）。

【0151】

本明細書において、「機能的パフォーマンス」とは、日常の活動をシミュレートする機能試験を指す。「機能的パフォーマンス」は、任意の好適な認められている試験、例えば、時間測定踏み台試験 (timed-step test) (4インチ (約10.2センチメートル) のベンチをできるだけ速く5回昇降する)、時間測定フロア移動試験 (timed floor transfer test) (できるだけ早く1回、床の上で立位から仰臥位になり、その後再度立ち上がって立位になる)、及び身体能力バッテリー試験 (静的バランス試験、椅子試験、及び歩行試験) (Borsheim et al., "Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly," Clin Nutr 2008; 27:189-195) により測定される。

10

【0152】

本明細書において、「肥満度指数 (body mass index)」又は「BMI」又は「ケトレー指数」とは、メートルで表した対象の身長²の2乗で割った、キログラムで表した対象の体重である (kg/m^2)。

【0153】

成人では、個人の体重がその身長の人²の正常な又は望ましい体重からどれだけ離れているかを評価するためにBMIは頻繁に使用される。筋肉質等のその他の要因も有意にBMIに影響するが、体重の過多又は不足は、一部、体脂肪で説明され得る。世界保健機関は、18.5未満のBMIを低体重として、栄養不良、摂食障害、又は他の健康上の問題を示し得るものと見なしており、一方25を超えるBMIは過体重、30超は肥満と見なされる。(世界保健機関。BMIの分類)。本明細書において、「望ましい肥満度指数」は、約18.5~約25の肥満度指数である。したがって、対象のBMIが約18.5より低い場合、対象のBMIの増加が対象のBMIの望ましさの上昇である。逆に、対象のBMIが約25を超える場合、対象のBMIの減少が対象のBMIの望ましさの上昇である。

20

【0154】

本明細書において、「高齢」哺乳動物とは、肥満度指数及び筋肉量のうちの少なくとも1つの加齢性変化 (例えば、加齢性サルコペニア) を経験するものである。いくつかの実施形態では、「高齢」のヒトとは、少なくとも50歳、少なくとも60歳、少なくとも65歳、少なくとも70歳、少なくとも75歳、少なくとも80歳、少なくとも85歳、少なくとも90歳、少なくとも95歳、又は少なくとも100歳である。いくつかの実施形態では、高齢の動物、哺乳動物、又はヒトは、一生のピークの筋肉量から少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、又は少なくとも60%の筋肉量の喪失を経験したヒトである。肥満度指数及び筋肉量のうちの少なくとも1つの加齢性変化は加齢に関連することが知られているので、いくつかの実施形態では、高齢哺乳動物は単純に年齢に基づいて特定又は定義される。したがって、いくつかの実施形態では、「高齢」のヒトは、肥満度指数及び筋肉量の少なくとも1つの測定値に頼らず、単純に年齢が少なくとも60、少なくとも65歳、少なくとも70歳、少なくとも75歳、少なくとも80歳、少なくとも85歳、少なくとも90歳、少なくとも95歳、又は少なくとも100歳であるという事実によって特定又は定義される。

30

40

【0155】

本明細書において、「サルコペニア」とは、加齢に関連する骨格筋の量 (典型的には25歳を過ぎて1年に0.5~1%の喪失)、質、及び強度の変性損失 (degenerative loss) を指す。サルコペニアは虚弱症候群の構成要素である。高齢者のサルコペニアに関する欧州ワーキンググループ (European Working Group on Sarcopenia in Older People: EWGSOP) により、加齢性サルコペニアの実用的な臨床定義及びコンセンサス診断基準が作成され

50

た。ワーキンググループは、サルコペニアの診断に低い筋肉量及び低い筋肉機能（強度又はパフォーマンス）の両方の存在を用いることを提唱している。サルコペニアは第1に、筋肉組織の「質」の低下に加えて、脂肪による筋線維の置換、線維症の増加、筋肉代謝の変化、酸化ストレス、及び神経筋接合部の変性等の因子により生じる筋萎縮（筋肉サイズの減少）を特徴とする。合わさると、これらの変化は、筋肉機能を漸進的に喪失させ、最終的に虚弱にする。虚弱は、高齢者の健康及び機能が破局的に低下するリスクの上昇が具体化した一般的な老年性症候群である。虚弱の一因となるものとしては、サルコペニア、骨粗しょう症、及び筋力低下（muscle weakness）が含まれ得る。筋力低下は、筋疲労（又は「強度の不足」）としても知られ、骨格筋を用いて力を行使できないことを指す。低下はしばしば、病気の結果としての長期間の床上安静後等の活動の減少及び筋萎縮に続いて起こる。サルコペニアの結果として筋力低下が徐々に始まることもある。

10

【0156】

本明細書において、患者は、患者が医学的病気のために肥満度指数及び筋肉量のうちの少なくとも1つの変化（例えば、サルコペニア）を経験する場合、「医学的危篤状態」である。いくつかの実施形態では、患者は、起きている時間の少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%ベッドに拘束される。いくつかの実施形態では、患者は意識不明である。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、10日、2週間、3週間、4週間、5週間、10週間、又はそれより長く、本段落に記載されているようにベッドに拘束されている。

20

【0157】

本明細書において、「タンパク質エネルギー栄養不良」とは、不適切なタンパク質摂取がある栄養不良の形態を指す。種類としては、クワシオルコル（タンパク質の栄養不良が主）、消耗症（カロリー及びタンパク質栄養の両方の欠乏、）及び消耗性クワシオルコル（顕著なタンパク質欠乏及び顕著なカロリー不足の兆候の存在、最も重度な形態の栄養不良といわれることもある）が含まれる。

【0158】

本明細書において、「運動」とは、最も広義には、身体フィットネス並びに全体的な健康及びウェルネスを高める又は維持する任意の身体活動である。運動は、筋肉及び心血管系の強化、運動競技能力を磨くこと、体重の減少又は維持、及び楽しみ目的を含む種々の理由により行われる。

30

【0159】

本明細書において、「十分な量」とは、所望の効果を引き起こすのに十分な、本明細書に開示されているタンパク質又はポリペプチドの量である。例えば、筋肉量の増加が望まれる場合、十分な量は、ある期間にわたって対象の筋肉量の増加を引き起こす量である。十分な量のタンパク質又はポリペプチド断片は、直接、すなわちタンパク質又はポリペプチド断片を対象に投与することにより提供されてもよく、タンパク質又はポリペプチド断片を含む組成物の一部として提供されてもよい。投与形態については本明細書中で別に説明する。

40

【0160】

本明細書において、「哺乳動物」という用語は、分類学的クラス哺乳動物の任意のメンバー、例えば胎盤性哺乳動物及び有袋類哺乳動物を指す。したがって、「哺乳動物」は、ヒト、霊長類、家畜、及び実験哺乳動物を含む。哺乳動物の例としては、齧歯類、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウマ、ヤギ、ラマ、ウシ、霊長類、ブタ、及び任意の他の哺乳動物が含まれる。いくつかの実施形態では、哺乳動物は、トランスジェニック哺乳動物、遺伝子操作された哺乳動物、及びクローン化された動物の少なくとも1つである。

【0161】

本明細書において、「飽和」とは、食べている間に一杯になること又は食べたい願望の

50

低減である。これにより食事が停止又は減少する。

【0162】

本明細書において、「満腹（感）」とは、食後の食べない期間として現れる、食後に一杯のままであることである。

【0163】

本明細書において、「運動」とは、最も広義には、身体フィットネス並びに全体的な健康及びウェルネスを高める又は維持する任意の身体活動である。運動は、筋肉及び心血管系の強化、運動競技能力を磨くこと、体重の減少又は維持、及び楽しみ目的を含む種々の理由により行われる。

【0164】

「改善」という用語は、疾患状態の処置における任意の治療的に有益な結果を指し、例えばその予防、重症度若しくは進行の低下、寛解、又は治癒を含む。

【0165】

本明細書において、「インビトロ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、又は微生物）内でなく、人工的環境、例えば試験管又は反応容器中、細胞培養液中、ペトリ皿中等で起こる事象を指す。本明細書において、「エクスピボ（*ex vivo*）」という用語は、生物外部の環境中の組織中又は組織上で行われる実験を指す。

【0166】

「インサイチュー（*in situ*）」という用語は、生きた生物から離れて成長している、例えば組織培養物で成長している生きた細胞中で起こるプロセスを指す。

【0167】

「インビボ」という用語は、生きた生物中で起こるプロセスを指す。

【0168】

「十分な量」という用語は、所望の効果をもたらすのに十分な量、例えば、細胞中でのタンパク質凝集を調節するのに十分な量を意味する。

【0169】

「治療有効量」という用語は、疾患の症状を改善させるのに有効な量である。治療有効量は、予防を治療と見なすことができるので、「予防有効量」であり得る。

【0170】

本明細書において、「アミノ酸尤度」（「*AALike*」と略される）とは、参照タンパク質に関連して作成されたマルチプル配列アラインメント（*MSA*）の所与の位置に所与のアミノ酸が現れる頻度の尺度である。位置は、参照タンパク質のアミノ酸配列に対して定義される。参照タンパク質は、参照分泌タンパク質等の任意のタンパク質であり得る。*MSA*を作成した後、*MSA*中でタンパク質配列の各位置に各アミノ酸が現れる頻度を計算して、各位置のアミノ酸尤度が得られる。したがって、参照タンパク質の各アミノ酸位置について、最大20個の異なるアミノ酸尤度の値が計算され得る。

【0171】

所与のクエリータンパク質配列について、相同なタンパク質を用いて*MSA*が作成される。相同なタンパク質は、当該技術分野で公知の複数の方法のいずれかを用いて特定することができる。例えば、相同なタンパク質は、非重複タンパク質のNCBIライブラリーとのクエリーのローカル配列アラインメントを行うことにより特定され得る。最初のローカルアラインメントは、NCBIツールキット v. 2. 2. 26+の*blastp*プログラム（*Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., and Lipman D. J. "Basic Local Alignment Search Tool". J. Mol. Biol. (1990) 215: 403-410*）を以下から選択されるパラメーターで用いて行われ得る：

【0172】

e-value cutoff=1、*gap opening penalty=-1*、*gap extension penalty=-1*、及び*BLOSUM62 sc*

10

20

30

40

50

oring matrix;

【0173】

e-value cutoff=1、gap opening penalty=-15、gap extension penalty=-2、及びBLOSUM45 scoring matrix;

【0174】

e-value cutoff=1、gap opening penalty=-10、gap extension penalty=-1、及びBLOSUM80 scoring matrix;

【0175】

e-value cutoff=1、gap opening penalty=-10、gap extension penalty=-1、及びPAM70 scoring matrix;並びに

【0176】

e-value cutoff=1、gap opening penalty=-9、gap extension penalty=-1、及びPAM30 scoring matrix。

【0177】

得られたライブラリーのマルチプル配列アラインメントは、Discovery Studio v3.1 (Accelrys Software Inc., Discovery Studio Modeling Environment, Release 3.1, San Diego: Accelrys Software Inc., 2012) に実装されているAlign123アルゴリズムを用いて行った。DSCアルゴリズム (King R. D., Sternberg M. J. E. "Identification and application of the concepts important for accurate and reliable protein secondary structure prediction". Prot. Sci. (1996) 5: 2298-2310) をweight = 1で用いて残基二次構造を割り当てた。Smith and WatermanアルゴリズムをGap opening penalty=-10及びgap extension penalty=-0.1、並びにBLOSUM30スコアリングマトリックスで用いてペアワイズアラインメントを行った。高次のアラインメントでは、BLOSUM scoring matrix set、gap opening penalty=-10、gap extension penalty=-0.5、及びalignment delay identity cutoff (delay divergent parameter) = 40%を用いた。

【0178】

ローカルアラインメントの期待値が1未満の全タンパク質 (75~1000の固有のヒット) を特定し、アラインメントして、マルチプル配列アラインメント (MSA) を作成した。各MSAに用いたタンパク質を付録Cに示す。

【0179】

本明細書において、「アミノ酸タイプ尤度」(「AATLike」と略す) とは、参照タンパク質に関連して作成されたマルチプル配列アラインメント (MSA) の所与の位置に所与の種類のアミノ酸が現れる頻度の尺度である。アミノ酸タイプは、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) (Leu、Ile、及びVal)、疎水性アミノ酸 (Ala、Met、Ile、Leu、及びVal)、正電荷アミノ酸 (Arg、Lys、His)、負電荷アミノ酸 (Asp、Glu)、電荷アミノ酸 (Arg、Lys、His、Asp、Glu)、及び芳香族アミノ酸 (Phe、Tyr、Trp) から選択される。位置は、参照タンパク質のアミノ酸配列に対して定義される。参照タンパク質は、参照分泌タンパク質等の任意のタンパク質であり得る。MSAを作成した後、MSA中のタンパク質配列の各位置に各種

10

20

30

40

50

類のアミノ酸が現れる頻度を計算して、各位置のアミノ酸タイプ尤度を得る。

【0180】

本明細書において、「位置エントロピー」（「 S_{pos} 」と略す）とは、MSA中の位置におけるアミノ酸分布の広がり指標である。MSAは、全アミノ酸アルファベット、 $AA = [A, R, N, D, C, Q, E, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y, V]$ を用いて所与の参照アミノ酸配列中の各アミノ酸位置のエントロピーを計算するために用いられる：

【0181】

【数1】

$$S = -\sum_{j \in AA} p_j \ln p_j$$

10

【0182】

式中、 p_j は、アミノ酸 j をその位置で見る確率である。高度に可変性の位置はエントロピーが大きく（ある位置での最大エントロピーは、各アミノ酸が等しく可能性があることに相当し、この時のエントロピーは2.996となる）、高度に保存された位置のエントロピーは0に近い。

【0183】

本明細書において、「アミノ酸タイプ位置エントロピー」（ $S_{AA T pos}$ と略される）とは位置エントロピーの変動であり、位置エントロピーの計算に全アミノ酸アルファベットを用いる代わりに、以下のように生理化学的性質に基づいてアミノ酸がグループ化されている：疎水性 $[A, V, I, L, M]$ 、芳香族 $[F, Y, W]$ 、極性 $[S, T, N, Q]$ 、荷電 $[R, H, K, D, E]$ 、及び非分類 $[G, P, C]$ 。この生理化学的アルファベットを用いると、 p_j は今度は、位置 j に各アミノ酸タイプ（疎水性、芳香族、極性、荷電、又は非分類）を見る確率に相当する。これらのアミノ酸タイプ（ $AAType$ ）の確率は、その種の各アミノ酸を見る確率の和である。位置エントロピーの方程式は、理論的最大値が今回は1.609であるが、同じままである。

20

【0184】

A. 改変タンパク質

いくつかの実施形態では、タンパク質は、食用生産物中で天然に生じるタンパク質の断片又はタンパク質の誘導体若しくはムテインを含む又はからなる。そのようなタンパク質は「改変タンパク質」と呼ぶことができる。そのような実施形態では、天然タンパク質又はその断片は、「参照」タンパク質又はポリペプチドであり、改変タンパク質又はその第1のポリペプチド配列は、参照タンパク質又はポリペプチドのアミノ酸配列に対して少なくとも1つの配列修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態では、改変タンパク質又はその第1のポリペプチド配列は、少なくとも1つの参照タンパク質アミノ酸配列と少なくとも40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99.5%同一である。典型的には、改変タンパク質又はその第1のポリペプチド配列中に存在する全アミノ酸残基に対する分岐鎖アミノ酸残基、全アミノ酸残基に対する必須アミノ酸残基、及び全アミノ酸残基に対するロイシン残基の少なくとも1つの割合は、対応する参照タンパク質又はポリペプチド配列中に存在する全アミノ酸残基に対する分岐鎖アミノ酸残基、必須アミノ酸残基、及び全アミノ酸残基に対するロイシン残基の少なくとも1つの割合より大きい。

30

40

【0185】

いくつかの態様では、栄養ポリペプチドは、哺乳動物対象による消費後に実質的に消化可能である。好ましくは、栄養ポリペプチドは、少なくとも参照ポリペプチド若しくは参照ポリペプチド混合物又は消費対象の食事中にあるその他のポリペプチドの一部より消化され易い。本明細書において、「実質的に消化可能である」ことは、消費後の栄養ポリペプチドの半減期を測定することにより実証することができる。例えば、栄養ポリペプチド

50

は、ヒト対象の胃腸管中での半減期が60分未満、又は50、40、30、20、15、10、5、4、3、2分、若しくは1分未満である場合、より消化され易い。ある特定の実施形態では、栄養ポリペプチドは、向上した消化を提供する製剤中に提供され、例えば、栄養ポリペプチドは、他のポリペプチド又は他の材料を含まないで提供される。いくつかの実施形態では、栄養ポリペプチドは、1又は複数のエンドペプチダーゼの1又は複数の認識部位を含む。具体的な実施形態では、栄養ポリペプチドは、分泌リーダー（secretion leader又はsecretory leader）配列を含み、これは後で栄養ポリペプチドから切断される。本明細書において、栄養ポリペプチドは、シグナルペプチド及び／又は分泌リーダー配列を有する又は有さないポリペプチドを包含する。いくつかの実施形態では、栄養ポリペプチドは、1又は複数のエキソペプチダーゼによる切断を受け易い。 10

【0186】

いくつかの態様では、栄養ポリペプチドは、所望の密度の1又は複数の必須アミノ酸（EAA）を有するように選択される。対象の食事中に存在しない又は十分な量で存在しない1又は複数の必須アミノ酸の効果的な投与により、必須アミノ酸の欠乏を処置又は防止することができる。例えば、EAA密度は、全長参照栄養性ポリペプチド中に存在する必須アミノ酸の密度とほぼ同じであるか、それより高く、例えば、栄養ポリペプチド中のEAA密度は、農業由来食品中に存在するポリペプチド又は参照栄養性ポリペプチドより少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、200%、300%、400%、500%、又は500%超高い。 20

【0187】

いくつかの態様では、栄養ポリペプチドは、所望の密度の芳香族アミノ酸（「AAA」）、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン、ヒスチジン、及びチロキシンを含む）を有するように選択される。AAAは、例えば神経発達及び運動による疲労の防止に有用である。例えば、AAA密度は、全長参照栄養性ポリペプチド中に存在する必須アミノ酸の密度とほぼ同じであるかそれより高く、例えば、栄養ポリペプチド中のAAA密度は、農業由来食品中に存在するポリペプチド又は参照栄養性ポリペプチドより少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、200%、300%、400%、500%、又は500%超高い。 30

【0188】

いくつかの態様では、栄養ポリペプチドは、所望の密度の分岐鎖アミノ酸（BCAA）を有するように選択される。例えば、BCAA密度は、個々のBCAA又は全BCAAの含有量のいずれであれ、全長参照栄養性ポリペプチド中に存在する分岐鎖アミノ酸の密度とほぼ同じであるかそれより高く、例えば、栄養ポリペプチド中のBCAA密度は、農業由来食品中に存在するポリペプチド又は参照栄養性ポリペプチドより少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、200%、300%、400%、500%、又は500%超高い。栄養ポリペプチド中のBCAA密度は、EAA密度等の1又は複数の属性と組み合わせて選択することもできる。 40

【0189】

いくつかの態様では、栄養ポリペプチドは、所望の密度のアミノ酸アルギニン、グルタミン、及び／又はロイシン（RQLアミノ酸）を有するように選択される。例えば、RQLアミノ酸密度は、全長参照栄養性ポリペプチド中に存在する必須アミノ酸の密度とほぼ同じであるかそれより高く、例えば、栄養ポリペプチド中のRQLアミノ酸密度は、農業由来食品中に存在するポリペプチド又は参照栄養性ポリペプチドより少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、200%、300%、400%、500%、又は500%超高い。 50

【0190】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非スレオニン（Th r）アミノ酸残基の少なくとも1つのTh rアミノ酸残基置換を含む。

【0191】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非アルギニン（A r g）アミノ酸残基の少なくとも1つのA r gアミノ酸残基置換を含む。

【0192】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非ヒスチジン（H i s）アミノ酸残基の少なくとも1つのH i sアミノ酸残基置換を含む。

【0193】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は参照分泌タンパク質中の非リジン（L y s）アミノ酸残基の少なくとも1つのL y sアミノ酸残基置換を含む。

【0194】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非ロイシン（L e u）アミノ酸残基の少なくとも1つのL e uアミノ酸残基置換を含む。

【0195】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非イソロイシン（I l e）アミノ酸残基の少なくとも1つのI l eアミノ酸残基置換を含む。

【0196】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非バリン（V a l）アミノ酸残基の少なくとも1つのV a lアミノ酸残基置換を含む。

【0197】

別の態様では、単細胞生物から分泌されるように改変されており、それから精製された、天然ポリペプチド又はその変異体に相同なアミノ酸配列を含む栄養ポリペプチドが提供される。そのような相同なポリペプチドは、天然ポリペプチド又はその変異体と、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超類似してよく、又は70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超同一であってよい。そのような栄養ポリペプチドは、宿主細胞に内因性であっても外因性であってもよく、宿主細胞中に天然で分泌型であってもよく、その両方であってもよく、分泌されるように改変されていてもよい。

【0198】

本明細書中のいくつかの実施形態では、天然タンパク質の断片が選択され、場合により単離される。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも25アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも50アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも25アミノ酸からなる。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも50アミノ酸からなる。いくつかの実施形態では、単離された組換え型タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、タンパク質は、第1のポリペプチド配列を含み、第1のポリペプチド配列は、天然タンパク質の少なくとも25又は少なくとも50アミノ酸の断片を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は単離されている。いくつかの実施形態では、タンパク質は組換え型である。いくつかの実施形態では、タンパク質は天然タンパク質の少なくとも50アミノ酸の断片を含む第1のポリペプチド配列を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は単離された組換え型タンパク質である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される単離された組換え型タンパク質は、単離されていない且つ／又は非組換え型の形態で提供される。

【0199】

本明細書中、場合によっては、ポリペプチド、タンパク質、又は組成物中の特定の種類のアミノ酸部分が、対象となるポリペプチド、タンパク質、又は組成物中に存在するアミノ酸の総重量に対するその種類のアミノ酸の重量比に基づいて定量化される。この値は、ポリペプチド、タンパク質、又は組成物中の特定のアミノ酸の重量をポリペプチド、タン

10

20

30

40

50

パク質、又は組成物中に存在する全アミノ酸の重量で割ることにより計算される。

【0200】

別の場合には、目的のポリペプチド又はタンパク質中に存在するアミノ酸の総数に対するポリペプチド又はタンパク質中に存在する特定の種類のアミノ酸残基の割合が用いられる。この値は、ポリペプチド又はタンパク質の各分子中に存在する問題のアミノ酸の数をポリペプチド又はタンパク質の各分子中に存在するアミノ酸残基の総数で割ることにより計算される。当業者には、これら2つの方法に互換性があること及びポリペプチド又はタンパク質中に存在するある種類のアミノ酸の重量比をその特定のアミノ酸の割合に変換すること及びその逆が可能であることが理解される。

【0201】

いくつかの実施形態では、タンパク質は、10～5, 000アミノ酸、20～2, 000アミノ酸、20～1, 000アミノ酸、20～500アミノ酸、20～250アミノ酸、20～200アミノ酸、20～150アミノ酸、20～100アミノ酸、20～40アミノ酸、30～50アミノ酸、40～60アミノ酸、50～70アミノ酸、60～80アミノ酸、70～90アミノ酸、80～100アミノ酸、少なくとも10アミノ酸、少なくとも11アミノ酸、少なくとも12アミノ酸、少なくとも13アミノ酸、少なくとも14アミノ酸、少なくとも15アミノ酸、少なくとも16アミノ酸、少なくとも17アミノ酸、少なくとも18アミノ酸、少なくとも19アミノ酸、少なくとも20アミノ酸、少なくとも21アミノ酸、少なくとも22アミノ酸、少なくとも23アミノ酸、少なくとも24アミノ酸、少なくとも25アミノ酸、少なくとも30アミノ酸、少なくとも35アミノ酸、少なくとも40アミノ酸、少なくとも45アミノ酸、少なくとも50アミノ酸、少なくとも55アミノ酸、少なくとも60アミノ酸、少なくとも65アミノ酸、少なくとも70アミノ酸、少なくとも75アミノ酸、少なくとも80アミノ酸、少なくとも85アミノ酸、少なくとも90アミノ酸、少なくとも95アミノ酸、少なくとも100アミノ酸、少なくとも105アミノ酸、少なくとも110アミノ酸、少なくとも115アミノ酸、少なくとも120アミノ酸、少なくとも125アミノ酸、少なくとも130アミノ酸、少なくとも135アミノ酸、少なくとも140アミノ酸、少なくとも145アミノ酸、少なくとも150アミノ酸、少なくとも155アミノ酸、少なくとも160アミノ酸、少なくとも165アミノ酸、少なくとも170アミノ酸、少なくとも175アミノ酸、少なくとも180アミノ酸、少なくとも185アミノ酸、少なくとも190アミノ酸、少なくとも195アミノ酸、少なくとも200アミノ酸、少なくとも205アミノ酸、少なくとも210アミノ酸、少なくとも215アミノ酸、少なくとも220アミノ酸、少なくとも225アミノ酸、少なくとも230アミノ酸、少なくとも235アミノ酸、少なくとも240アミノ酸、少なくとも245アミノ酸、又は少なくとも250アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は、20～5, 000アミノ酸、20～2, 000アミノ酸、20～1, 000アミノ酸、20～500アミノ酸、20～250アミノ酸、20～200アミノ酸、20～150アミノ酸、20～100アミノ酸、20～40アミノ酸、30～50アミノ酸、40～60アミノ酸、50～70アミノ酸、60～80アミノ酸、70～90アミノ酸、80～100アミノ酸、少なくとも25アミノ酸、少なくとも30アミノ酸、少なくとも35アミノ酸、少なくとも40アミノ酸、少なくとも45アミノ酸、少なくとも50アミノ酸、少なくとも55アミノ酸、少なくとも60アミノ酸、少なくとも65アミノ酸、少なくとも70アミノ酸、少なくとも75アミノ酸、少なくとも80アミノ酸、少なくとも85アミノ酸、少なくとも90アミノ酸、少なくとも95アミノ酸、少なくとも100アミノ酸、少なくとも105アミノ酸、少なくとも110アミノ酸、少なくとも115アミノ酸、少なくとも120アミノ酸、少なくとも125アミノ酸、少なくとも130アミノ酸、少なくとも135アミノ酸、少なくとも140アミノ酸、少なくとも145アミノ酸、少なくとも150アミノ酸、少なくとも155アミノ酸、少なくとも160アミノ酸、少なくとも165アミノ酸、少なくとも170アミノ酸、少なくとも175アミノ酸、少なくとも180アミノ酸、少なくとも185アミノ酸、少なくとも190アミノ酸、少なくとも195アミノ酸、少なくとも200アミノ酸、少なくとも205

10

20

30

40

50

アミノ酸、少なくとも210アミノ酸、少なくとも215アミノ酸、少なくとも220アミノ酸、少なくとも225アミノ酸、少なくとも230アミノ酸、少なくとも235アミノ酸、少なくとも240アミノ酸、少なくとも245アミノ酸、又は少なくとも250アミノ酸からなる。いくつかの態様では、タンパク質又はその断片は、第1のドメイン及び第2のドメインの少なくとも2つのドメインを含む。2つのドメインの1つはタグドメインを含み得、これは所望であれば除去することができる。各ドメインの長さは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、又は25超のアミノ酸であり得る。例えば、第1のドメインは、長さ18アミノ酸の目的のポリペプチドであり得、第2のドメインは、長さ7アミノ酸のタグドメインであり得る。別の例として、第1のドメインは、長さ17アミノ酸の目的のポリペプチドであり得、第2のドメインは、長さ8アミノ酸のタグドメインであり得る。

10

【0202】

本明細書中のいくつかの実施形態では、天然タンパク質の断片が選択され、場合により単離される。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも25アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも50アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも25アミノ酸からなる。いくつかの実施形態では、断片は少なくとも50アミノ酸からなる。いくつかの実施形態では、単離された組換え型タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、タンパク質は第1のポリペプチド配列を含み、第1のポリペプチド配列は、天然タンパク質の少なくとも25又は少なくとも50アミノ酸の断片を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は単離されている。いくつかの実施形態では、タンパク質は組換え型である。いくつかの実施形態では、タンパク質は、天然タンパク質の少なくとも50アミノ酸の断片を含む第1のポリペプチド配列を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は単離された組換え型タンパク質である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される単離された組換え型タンパク質は、単離されていない且つ／又は非組換え型の形態で提供される。

20

【0203】

本開示は、参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも20アミノ酸の配列を含む改変タンパク質を提供する。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも25アミノ酸、少なくとも30アミノ酸、少なくとも35アミノ酸、少なくとも40アミノ酸、少なくとも45アミノ酸、少なくとも50アミノ酸、少なくとも60アミノ酸、少なくとも70アミノ酸、少なくとも80アミノ酸、少なくとも85アミノ酸、少なくとも90アミノ酸、少なくとも95アミノ酸、又は少なくとも100アミノ酸の配列を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質のアミノ酸配列と比べて変化したアミノ酸配列を含む少なくとも20～30アミノ酸、少なくとも20～40アミノ酸、少なくとも25～50アミノ酸、又は少なくとも50～100アミノ酸の配列を含む。本明細書において、「参照分泌タンパク質」とは、適合微生物中で発現した時にその微生物から分泌されるタンパク質である。「適合微生物」とは、分泌のためのタンパク質を合成及び処理するために必須の機構を含むものである。参照分泌タンパク質は、天然タンパク質（すなわち、生物中で天然に生じるタンパク質）であってもよく、非天然タンパク質（すなわち、生物中で天然に生じないタンパク質）であってもよい。天然の特定の参照分泌タンパク質のための適合微生物には、その中で参照分泌タンパク質が天然に生じる微生物が必ず含まれる。

30

40

【0204】

参照分泌タンパク質と改変タンパク質の配列間の変化は、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間で配列アラインメントを行い、異なっているアミノ酸位置を特定することにより定めることができる。いくつかの実施形態では、改変タンパク質中の変化したアミノ酸配列を含む少なくとも20アミノ酸の配列が、参照分泌タンパク質中の相同な配列と少なくとも40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%

50

、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99.5%相同である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質のアミノ酸配列は、参照分泌タンパク質と少なくとも40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99.5%相同である。

【0205】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合は、参照分泌タンパク質中に存在する全アミノ酸に対する必須アミノ酸の割合より高い。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の少なくとも1つの必須アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の少なくとも1つの分岐鎖アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非アルギニン (Arg) 又は非グルタミン (Glu) アミノ酸残基の少なくとも1つのアルギニン (Arg) 又はグルタミン (Glu) アミノ酸残基置換を含む。

【0206】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非Leu (Leu) アミノ酸残基の少なくとも1つのロイシンアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換は、Leu頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換は、Leu頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが0より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが0より大きいアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.1のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、Leuアミノ酸残基置換はアミノ酸1個当たりの位置エントロピーが少なくとも1.5のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下である。

【0207】

改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも2つの非ロイシン (Leu) アミノ酸残基が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基で置換されており、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下であり、各アミノ酸置換の全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0208】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、位置エントロピーが少なくとも1.5の位置において参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の少なくとも1つのLeuアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は0.5以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の少なくとも2つのLeuアミノ酸残基置換を含み、Leuアミノ酸残基置換それぞれからの、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への独立して考慮される寄与は0.5以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0209】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、Leu置換による全自由フォールディングエネルギーが0.5以下の位置において参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の少なくとも1つのLeuアミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の少なくとも2つのLeuアミ

ノ酸残基置換を含み、独立して考慮される L e u アミノ酸残基置換それぞれからの、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換の全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0210】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非バリン (V a l) アミノ酸残基の少なくとも 1 つの V a l アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、V a l 頻度スコアが 0 より高いアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、V a l 頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが 0 より大きいアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが 0 より大きいアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、V a l アミノ酸残基置換は、アミノ酸 1 個当たりの位置エントロピーが少なくとも 1.5 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下である。

【0211】

改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 2 つの非バリン (V a l) アミノ酸残基が、改変タンパク質中で V a l アミノ酸残基により置換されており、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0212】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、位置エントロピーが少なくとも 1.5 の位置において参照分泌タンパク質中の非 V a l アミノ酸残基の少なくとも 1 つの V a l アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 V a l アミノ酸残基の少なくとも 2 つの V a l アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される各 V a l アミノ酸残基置換の、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換で全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0213】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、V a l 置換による全自由フォールディングエネルギーが 0.5 以下の位置において参照分泌タンパク質中の非 V a l アミノ酸残基の少なくとも 1 つの V a l アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 V a l アミノ酸残基の少なくとも 2 つの V a l アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される V a l アミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換で全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0214】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非イソロイシン (I l e) アミノ酸残基の少なくとも 1 つの I l e アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、I l e 頻度スコアが 0 より大きいアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、I l e 頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが 0 より大きいアミノ酸位置である。いくつかの実施形

態では、I l e アミノ酸残基置換は、分岐鎖アミノ酸頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが 0 より大きいアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、疎水性アミノ酸頻度スコアが少なくとも 0.1 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、I l e アミノ酸残基置換は、アミノ酸 1 個当たりの位置エントロピーが少なくとも 1.5 のアミノ酸位置である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質の間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下である。

【0215】

改変タンパク質のいくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 2 つの非イソロイシン (I l e) アミノ酸残基が、改変タンパク質中で I l e アミノ酸残基により置換されており、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換について全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0216】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、位置エントロピーが少なくとも 1.5 の位置において参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 1 つの I l e アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差は 0.5 以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 2 つの I l e アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される I l e アミノ酸残基置換のそれぞれによる参照分泌タンパク質と改変タンパク質の間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換で全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0217】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、I l e 置換による全自由フォールディングエネルギーが 0.5 以下である位置において参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 1 つの I l e アミノ酸残基置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 2 つの I l e アミノ酸残基置換を含み、独立して考慮される I l e アミノ酸残基置換のそれぞれに由来する参照分泌タンパク質と改変タンパク質の間の全フォールディング自由エネルギーの差への寄与は 0.5 以下であり、各アミノ酸置換で全フォールディング自由エネルギーの主要エネルギー成分は異なる。

【0218】

本明細書において、「L e u 頻度スコア」等の「アミノ酸頻度スコア」は、相同なタンパク質の天然配列間の相同な位置で特定のアミノ酸又はアミノ酸タイプが生じる頻度の尺度である。したがって、参照分泌タンパク質について、マルチプル配列アラインメント (M S A) を用いて相同な配列のセットが特定され、配列がアラインメントされた場合、M S A 中の全ての配列にわたり各位置で各アミノ酸が現れる頻度を決定することができ、頻度スコアを各位置の各アミノ酸に割り当てることができる。あるいは、アミノ酸は、分岐鎖アミノ酸、必須アミノ酸、又は疎水性アミノ酸等の種類でグループ化され得、頻度スコアは、各位置での各種類の任意のメンバーの出現率に基づいて計算することができる (本明細書中では「アミノ酸タイプ頻度スコア」と呼ぶ)。アミノ酸頻度スコア及びアミノ酸タイプ頻度スコアを用いて、参照分泌タンパク質配列中のその位置に現れるアミノ酸と異なるアミノ酸による置換に耐性のある参照分泌タンパク質配列中のアミノ酸位置を特定することができる。例えば、L e u 以外のアミノ酸を有するが比較的高い L e u 頻度スコアを有する参照配列中の位置を L e u で置換して、L e u 含有量が高められた改変タンパク質を作製することができる。

【0219】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、N (「N」は任意のアミノ酸を意味する

40

50

40

50

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、必須アミノ酸頻度スコアが0より高い位置に少なくとも1つのアミノ酸N置換（「N」は任意のアミノ酸を意味する）を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、必須アミノ酸頻度スコアが少なくとも0.01の位置に少なくとも1つのアミノ酸N置換を含む。いくつかの実施形態では、改変タン

40

50

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質になされるアミノ酸置換は、置換の少なくとも1つについて、参照分泌タンパク質（置換なし）と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差が -0.5 、 -0.4 、 -0.3 、 -0.2 、 -0.1 、 0 、 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.4 、又は 0.5 以下であるように選択される。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質になされるアミノ酸置換は、参照分泌タンパ

ク質と改変タンパク質との間の全フォールディング自由エネルギーの差が -0.5 、 -0.4 、 -0.3 、 -0.2 、 -0.1 、 0 、 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.4 、又は 0.5 以下であるように選択される。

【0223】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質になされるアミノ酸置換は、置換の少なくとも1つについて、位置エントロピーが少なくとも 1.5 、少なくとも 1.6 、少なくとも 1.7 、少なくとも 1.8 、少なくとも 1.9 、少なくとも 2.0 、少なくとも 2.1 、少なくとも 2.2 、少なくとも 2.3 、少なくとも 2.4 、少なくとも 2.5 、少なくとも 2.6 、少なくとも 2.7 、少なくとも 2.8 、少なくとも 2.9 、又は少なくとも 3.0 であるように選択される。

10

【0224】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $5 \sim 50$ 個の非必須アミノ酸残基が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $10 \sim 50$ 個の非必須アミノ酸残基が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $25 \sim 50$ 個の非必須アミノ酸残基が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 35 、 40 、 45 、又は 50 個の非必須アミノ酸残基が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。

20

【0225】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $5 \sim 50$ 個の非分岐鎖アミノ酸残基が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $10 \sim 50$ 個の非分岐鎖アミノ酸残基が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $25 \sim 50$ 個の非分岐鎖アミノ酸残基が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 35 、 40 、 45 、又は 50 個の非分岐鎖アミノ酸残基が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。

30

【0226】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $5 \sim 50$ 個の非Leuアミノ酸残基が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $10 \sim 50$ 個の非Leuアミノ酸残基が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $25 \sim 50$ 個の非Leuアミノ酸残基が、改変タンパク質中で置換されたLeuアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 35 、 40 、 45 、又は 50 個の非Leuアミノ酸残基が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。

40

【0227】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $5 \sim 50$ 個の非Valアミノ酸残基が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $10 \sim 50$ 個の非Valアミノ酸残基が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の $25 \sim 50$ 個の非Valアミノ酸残基が、改変タンパク質中で置換されたValアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 35 、 40 、 45 、又は 50 個の非Valアミノ酸残基が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。

50

【0228】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の5～50個の非Ileアミノ酸残基が、改変タンパク質中でIleアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の10～50個の非Ileアミノ酸残基が、改変タンパク質中でIleアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の25～50個の非Ileアミノ酸残基が、改変タンパク質中で、置換されたIleアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50個の非Ileアミノ酸残基が、改変タンパク質中でIleアミノ酸残基によって置換されている。

10

【0229】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の10～50%が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の25～50%が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非必須アミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50%が、改変タンパク質中で必須アミノ酸残基によって置換されている。

20

【0230】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の10～50%が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の25～50%が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非分岐鎖アミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50%が、改変タンパク質中で分岐鎖アミノ酸残基によって置換されている。

30

【0231】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の10～50%が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の25～50%が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Leuアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50%が、改変タンパク質中でLeuアミノ酸残基によって置換されている。

40

【0232】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Valアミノ酸残基の5～50%が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Valアミノ酸残基の10～50%が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Valアミノ酸残基の25～50%が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非Valアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50%が、改変タンパク質中でValアミノ酸残基によって置換されている。

50

【0233】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の 5 ~ 50 % が、改変タンパク質中で I l e アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の 10 ~ 50 % が、改変タンパク質中で I l e アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の 25 ~ 50 % が、改変タンパク質中で I l e アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 I l e アミノ酸残基の少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は 50 % が、改変タンパク質中で I l e アミノ酸残基によって置換されている。

10

【0234】

いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 A r g アミノ酸残基の 5 ~ 50 % が、改変タンパク質中で A r g アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 A r g アミノ酸残基の 10 ~ 50 % が、改変タンパク質中で A r g アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 A r g アミノ酸残基の 25 ~ 50 % が、改変タンパク質中で A r g アミノ酸残基によって置換されている。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質中の非 A r g アミノ酸残基の少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は 50 % が、改変タンパク質中で A r g アミノ酸残基によって置換されている。

20

【0235】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、少なくとも 5、少なくとも 10、少なくとも 15、少なくとも 20、少なくとも 25、又は少なくとも 50 個のアミノ酸残基の挿入を含む少なくとも 1 つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つのアミノ酸挿入は、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は 100 % の必須アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つのアミノ酸挿入は、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は 100 % の分岐鎖アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つのアミノ酸挿入は、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は 100 % の疎水性アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つのアミノ酸挿入は、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は 100 % の L e u を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つのアミノ酸挿入は、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又

30

40

50

は100%のI l eを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸挿入は、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%のV a lを含む。

【0236】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸配列挿入は、改変タンパク質の末端に位置する。

【0237】

フェニルケトン尿症（PKU）は、肝臓酵素フェニルアラニンヒドロキシラーゼ（PAH）を非機能性にするその遺伝子中の変異を特徴とする常染色体劣性遺伝性の代謝性遺伝子性障害である。この酵素は、フェニルアラニンをチロシンに代謝するのに必要である。PAH活性が低下すると、フェニルアラニンが蓄積し、ビルビン酸フェニル（フェニルケトンとしても知られる）に変換され、尿中に検出される。非処置の子供は、出生時には正常であるが、発達初期の重要な段階を獲得できず、小頭症を発症し、脳機能の進行性の障害を示す。活動過多、EEGの異常及び痙攣、並びに重度の学習障害が人生でその後の主な臨床的問題となる。皮膚、髪、汗、及び尿の特徴的匂い（酢酸フェニルの蓄積による）；並びに色素脱失及び湿疹の傾向も観察される。全てのPKU患者はP h eの少ない特別食を守らなければならない。したがって、PKU患者による利用が意図される改変タンパク質はP h e残基が少ない又はこれを含まないべきである。これは、P h e残基をほとんど又は全く有さない参照分泌タンパク質を選択することによりなされ得る。あるいは、参照分泌タンパク質は1又は複数のP h e残基を含んでよく、そのようなP h e残基が、改変タンパク質中で非P h e残基に置換されてもよい。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質配列中に存在するP h e残基が、T y r等の非P h e残基で置換される。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質及び／又は改変タンパク質は、全アミノ酸残基に対するP h e残基の割合が5%、4%、3%、2%、又は1%以下である。いくつかの実施形態では、参照分泌タンパク質及び／又は改変タンパク質は、10個以下のP h e残基、9個以下のP h e残基、8個以下のP h e残基、7個以下のP h e残基、6個以下のP h e残基、5個以下のP h e残基、4個以下のP h e残基、3個以下のP h e残基、2個以下のP h e残基、又は1個のP h e残基を含むか、P h e残基を含まない。

【0238】

アルギニンは条件付き非必須アミノ酸であり、すなわち、ほとんどの場合、ヒトの体が生産でき、食事から直接得る必要がない。栄養不良の人、高齢者、又はある特定の健康状態（例えば、敗血症）の人は十分な量のアルギニンを生産しないことがあるので、アルギニンを含む食物の摂取を増やす必要がある。アルギニンは、傷害の治癒時間の短縮（特に骨）及び血圧、特にハイリスク妊娠（子癇前症）中の高血圧の低下を含む健康に有益な特性を有すると考えられている。更に、研究により、自然の子宮内発育遅延を患うブタの生殖能力の強化、乳で育った子ブタのタンパク質沈着及び出生後の成長の改善、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける血漿グルコースレベルの正常化、肥満のズッカー糖尿病肥満（ZDF）ラットの脂肪量の減少、並びに糖尿病ラットにおける血管機能の向上にL-アルギニンの食事補充が有益であることが示されている。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている改変タンパク質は、改変タンパク質中の全アミノ酸残基に対するアルギニン残基の割合が、3%以上、4%以上、5%以上、6%以上、7%以上、8%以上、9%以上、10%以上、11%以上、又は12%以上である。

【0239】

消化率は、改変タンパク質の栄養的利点及び有用性に関連するパラメーターである。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている改変タンパク質は、消化率を評価するためにスクリーニングされる。タンパク質の消化率は、当該技術分野で公知の任意の好適な方法で評価することができる。いくつかの実施形態では、Moreno et al.

10

20

30

40

50

に記載されている生理学的に関連する二相系を用いたインビトロでの胃及び十二指腸消化アッセイがこのために用いられる。Moreno, et al., "Stability of the major allergen Brazil nut 2S albumin (Ber e 1) to physiologically relevant in vitro gastrointestinal digestion." FEBS Journal, 341-352 (2005)。簡潔に述べると、実験タンパク質を順番に、人工胃液 (SGF) に120分間曝した後、人工十二指腸液 (SDF) に移して更に120分間消化する。消化の種々の段階のタンパク質試料 (例えば、2、5、15、30、60及び120分) を、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) により消化について分析する。各試料 (20 μ L) を10 μ Lの超純水及び10 μ Lの4 $\times$ NuPAGE LDS Sampleバッファーに加え、95 $^{\circ}$ Cで10分間加熱する。試料 (10 μ L) を15レーンの12%ポリアクリルアミド NuPAGE Novex Bis-Trisゲルにローディングし、200Vで35分間流した後、Simply Blue Safe Stainを用いて染色する。アッセイ中、経時的なタンパク質の消失はタンパク質が消化される速度を示している。このアッセイを用いて、相対的消化率又は絶対的消化率を評価することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている改変タンパク質の消化率は、乳清タンパク質より高い (すなわち、より速くアッセイの検出限界より低くまで消化される)。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は2分、5分、15分、30分、60分、又は120分までにアッセイで検出不能になる。

【0240】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質の消化率は、タンパク質アミノ酸配列中の消化プロテアーゼ認識部位の特定及び定量化により評価される。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、ペプシン認識部位、トリプシン認識部位、及びキモトリプシン認識部位から選択される少なくとも1つのプロテアーゼ認識部位を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質に少なくとも1つのプロテアーゼ認識部位を付加するために参照分泌タンパク質アミノ酸配列に少なくとも1つのアミノ酸変異がなされる。

【0241】

本明細書において、「ペプシン認識部位」とは、ペプシンにより切断されることが実験的に示されているポリペプチド配列中の任意の部位である。いくつかの実施形態では、これは、Phe、Trp、Tyr、Leu、Ala、Glu、及びGlnから選択されるアミノ酸残基の後 (すなわち下流) のペプチド結合であり、但し、続く残基は、Ala、Gly、及びValから選択されるアミノ酸残基ではない。

【0242】

本明細書において、「トリプシン認識部位」とは、トリプシンにより切断されることが実験的に示されているポリペプチド配列中の任意の部位である。いくつかの実施形態では、これは、Lys又はArgから選択されるアミノ酸残基の後のペプチド結合であり、但し、続く残基はプロリンではない。

【0243】

本明細書において、「キモトリプシン認識部位」とは、キモトリプシンにより切断されることが実験的に示されているポリペプチド配列中の任意の部位である。いくつかの実施形態では、これは、Phe、Trp、Tyr、及びLeuから選択されるアミノ酸残基の後のペプチド結合である。

【0244】

タンパク質中のジスルフィド結合されたシステイン残基は、ジスルフィド結合がない場合と比べてタンパク質の消化速度を低下させる傾向がある。したがって、ジスルフィド結合のより少ないタンパク質の消化率は、より多くのジスルフィド結合を有する同様なタンパク質より高い傾向がある。したがって、いくつかの実施形態では、存在するシステイン残基の数を特定して比較的少数のシステイン残基を含む改変タンパク質を選択できるように、本明細書中に開示されている改変タンパク質をスクリーニングする。いくつかの実施

形態では、改変タンパク質中の少なくとも1つのプロテアーゼ認識部位を除去するために参照分泌タンパク質アミノ酸配列に少なくとも1つのアミノ酸置換がなされる。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、全アミノ酸残基に対するCys残基の割合が5%、4%、3%、2%、又は1%以下である。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、10個以下のCys残基、9個以下のCys残基、8個以下のCys残基、7個以下のCys残基、6個以下のCys残基、5個以下のCys残基、4個以下のCys残基、3個以下のCys残基、2個以下のCys残基、又は1個のCys残基を含むか、Cys残基を含まない。

【0245】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は可溶性である。溶解度は、当該技術分野で公知の任意の方法により測定することができる。いくつかの実施形態では、遠心濃縮及びその後のタンパク質濃度アッセイにより溶解度が調べられる。20mM HEPES (pH 7.5) 中のタンパク質試料のタンパク質濃度を、Coomassie Plus (Bradford) Protein Assay (サーモサイエンティフィック社) 及び Bicinchoninic Acid (BCA) Protein Assay (シグマ アルドリッチ社) の2つの方法を用いてプロトコールに従いタンパク質濃度について試験する。これらの測定値に基づき、10mgのタンパク質をAmicon Ultra 3kDa遠心フィルター (ミリポア社) に加える。10,000×gで30分間の遠心により試料を濃縮する。この濃縮された最終試料を沈殿タンパク質について調べた後、Bradford及びBCAの2つの方法を用いて上記のようにタンパク質濃度について試験する。

【0246】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質の最終的な溶解限度 (solubility limit) は、生理学的pHで少なくとも5g/L、10g/L、20g/L、30g/L、40g/L、50g/L、又は100g/Lである。いくつかの実施形態では、改変タンパク質の溶解度は50%超、60%超、70%超、80%超、90%超、95%超、96%超、97%超、98%超、99%超、又は99.5%超であり、生理学的pHで5g/L、又は10g/L、又は20g/L、又は30g/L、又は40g/L、又は50g/L、又は100g/Lより高い濃度で沈殿タンパク質は観察されなかった。いくつかの実施形態では、改変タンパク質の溶解度は、乳清及びソイの溶解限度を調べた研究で通常報告されている溶解度 (それぞれ、12.5g/L; Pellegrine et al., Lebensm. -Wiss. U. -Technol. 38 (2005) 77-80及び10g/L; Lee et al., JAOCS 80 (1) (2003) 85-90) より高い。

【0247】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は安定性の向上を示す。本明細書において、「安定な」タンパク質とは、対象となるタンパク質の生物物理学的特徴 (例えば、溶解度)、生物学的特徴 (例えば、消化率)、又は組成的特徴 (例えば、ロイシンアミノ酸の割合) を変える変化 (例えば、アンフォールディング、酸化、凝集、加水分解等) に抵抗するものである。

【0248】

タンパク質の安定性は、当該技術分野で公知の種々のアッセイを用いて測定することができ、本明細書に開示されている改変タンパク質は閾値より高い安定性を有し得る。いくつかの実施形態では、乳清タンパク質に匹敵するかこれより良い熱安定性を示すタンパク質が選択される。いくつかの実施形態では、改変タンパク質試料の安定性は、極端な温度に曝した後に分子ふるいクロマトグラフィー (SEC) を用いて凝集形成をモニタリングすることにより決定される。試験対象のタンパク質試料は水中に10g/Lのタンパク質で調製され、十分に混合される。タンパク質溶液を90℃のヒートブロックに置き、0、1、5、10、30、及び60分後にSEC分析用の試料を取る。

【0249】

10

20

30

40

50

例えば、SEC分析は、20mM Na_2PO_4 及び130mM NaCl (pH7) を移動相としてAgilent 1100 HPLCを用いたSuperdex 75 5/150 GLカラム (GEヘルスケア社) を用いて行うことができる。加熱後、試料を2g/Lに希釈して10 μl をカラムに注入する。214nmの吸光度をモニタリングすることによりタンパク質を検出し、凝集体は、目的のタンパク質よりサイズの大きいピーク (より速く溶出する) を特徴とする。ピーク面積に全体的変化がないことは、熱処理中にタンパク質の沈殿がないことを示している。乳清タンパク質は、このアッセイで90℃に曝された時、約80%の凝集体を急速に形成する。いくつかの実施形態では、本開示の改変タンパク質は凝集に対する抵抗性を示し、例えば、80%未満の凝集、10%未満の凝集、又は検出不能な凝集を示す。

10

【0250】

ほとんどの実施形態で、改変タンパク質は不適切に高いアレルゲン性を示さないことが好ましい。したがって、いくつかの実施形態では、改変タンパク質の潜在的アレルゲン性が評価される。これは、当該技術分野で公知の任意の好適な方法で行うことができる。いくつかの実施形態では、アレルゲン性スコアが計算される。アレルゲン性スコアは、タンパク質が任意の既知のアレルゲンにどれだけ類似しているかを評価するためのWHOの勧告 (例えば、www.fao.org/ag/agn/food/pdf/allergygm.pdf 参照) に基づく一次配列に基づく測定基準であり、主な仮定は、標的と既知アレルゲンとの間のパーセント同一性高いと交差反応性の可能性があるというものである。所与のタンパク質について、アレルゲン性スコアは、全ての可能性のある連続80アミノ酸断片を調べ、FASTAアルゴリズムをBLOSUM50 substitution matrix、gap open penalty=10、gap extension penalty=2で用いて各断片を既知アレルゲン配列のデータベースとローカルアラインメントすることにより見出すことができる。任意の80アミノ酸窓の任意のアレルゲンとの最大のパーセント同一性を、目的のタンパク質の最終スコアとする。WHOの指針は35%の同一性カットオフを用いることを示唆している。いくつかの実施形態では、改変タンパク質のアレルゲン性スコアは35%未満である。いくつかの実施形態では、35%未満の同一性がカットオフとして用いられる。いくつかの実施形態では、30%~35%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、25%~30%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、20%~25%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、15%~20%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、10%~15%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、5%~10%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、0%~5%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、35%超の同一性がカットオフとして用いられる。いくつかの実施形態では、35%~40%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、40%~45%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、45%~50%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、50%~55%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、55%~60%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、65%~70%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、70%~75%同一性のカットオフが用いられる。いくつかの実施形態では、75%~80%同一性のカットオフが用いられる。

20

30

40

【0251】

当業者は、この目的のために既知アレルゲンの好適なデータベースを特定して利用することができる。いくつかの実施形態では、2つ以上のデータベース源からタンパク質を選択することによりデータベースが作成される。いくつかの実施形態では、カスタムデータベースは、Food Allergy Research and Resource Program (<http://www.allergenonline.org/>)、UNIPROTアノテーション (<http://www.uniprot.org/docs/allergen>)、及びStructural Database of Al

50

l e r g e n i c P r o t e i n s (S D A P , http://fermi.utmb.edu/SDAP/sdap_lnk.html) に収集されているプールされたアレルギーリストを含む。このデータベースは、International Union of Immunological Societies (IUIS、<http://www.allergen.org/>) による現在認められている全てのアレルギー及びまだ正式に命名されていない多数の更なるアレルギーを含む。

【0252】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質の様々な長さ（例えば、70、60、50、40、30、20、10、8、又は6アミノ酸窓）の連続アミノ酸窓の全て（又は選択されたサブセット）をアレルギーデータベースに対して調べ、100%の同一性、95%以上の同一性、90%以上の同一性、85%以上の同一性、80%以上の同一性、75%以上の同一性、70%以上の同一性、65%以上の同一性、60%以上の同一性、55%以上の同一性、又は50%以上の同一性の合致を有するペプチド配列を特定して、潜在アレルギー性について更に調べる。

【0253】

改変タンパク質の有用性を高めることができる特徴の1つは電荷（又はアミノ酸1個当たりの電荷）である。より荷電の大きい改変タンパク質は、いくつかの実施形態において、溶解度の上昇、安定性の向上、凝集への抵抗性、及び望ましい味の特性等の望ましい特徴を示すことができる。例えば、溶解度の上昇を示す荷電した改変タンパク質を、比較的小体積の溶液中に高濃度の改変タンパク質を含む飲料又は液体製剤に製剤化することができ、したがって、単位体積当たり高用量のタンパク質栄養を送達することができる。溶解度の上昇を示す荷電した改変タンパク質は、使用者（例えば、運動選手）が身体活動の前、最中、又は後にタンパク質を摂取したいスポーツドリンク又は回復ドリンクにおいて有用であり得る。溶解度の上昇を示す荷電した改変タンパク質は更に、対象（例えば、患者又は高齢者）がタンパク質栄養を必要とするが固形食物又は大量の液体を摂取できない臨床状況において特に有用であり得る。

【0254】

ある特定の遊離アミノ酸及び遊離アミノ酸混合物は、苦い又はその他の不快な味を有することが知られている。更に、一般的なタンパク質（例えば、乳清及びソイ）の加水分解産物はしばしば苦いか不快な味である。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示及び説明されている改変タンパク質は、苦い又はその他の不快な味を有さない。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示及び説明されている改変タンパク質は、遊離アミノ酸、遊離アミノ酸の混合物、及び／又はタンパク質加水分解産物の少なくとも1つより容認できる味を有する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示及び説明されている改変タンパク質は、乳清タンパク質及び乳清タンパク質加水分解産物の少なくとも1つに匹敵するかそれを超える味を有する。

【0255】

タンパク質は、甘味、酸味、苦味、塩味、及び旨味の5つの確立された味の種類を網羅する味を有することが知られている。特定のタンパク質（又はその不足）の味は、一次構造、荷電側鎖の存在、並びにタンパク質の電子的及びコンホメーション的特徴を含む複数の因子に起因し得る。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示及び説明されている改変タンパク質は、所望の味（例えば、甘味、塩味、旨味）を有するように又は望ましくない味（例えば、苦味、酸味）を有さないように設計される。この文脈において、「設計する」とは、例えば、所望の味特性を実現する特徴が具現化された天然タンパク質の選択及び所望の味プロファイルを有する天然タンパク質のムテインの創出を含む。例えば、改変タンパク質は、甘味受容体（T1R2-T1R3ヘテロダイマー）又は旨味受容体（T1R1-T1R3ヘテロダイマー、mGluR4、及び／又はmGluR1）等の特異的味受容体と相互作用するように設計され得る。更に、改変タンパク質は、苦味受容体（T2R受容体）等のその他の味受容体と相互作用しないように又は相互作用が減少するように設計され得る。

【0256】

本明細書に開示及び説明されている改変タンパク質は更に、摂取された時に口の中で異なる物理的感覚を生じさせることができ、これは「口当たり」とも呼ばれる。改変タンパク質の口当りは、一次構造、荷電側鎖の存在、並びにタンパク質の電子的及びコンホメーションの特徴を含む1又は複数の因子によるものであり得る。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は摂取された時にバター又は脂肪の様な口当たりを生じさせる。

【0257】

いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、20～5, 000アミノ酸、20～2, 000アミノ酸、20～1, 000アミノ酸、20～500アミノ酸、20～250アミノ酸、20～200アミノ酸、20～150アミノ酸、20～100アミノ酸、20～40アミノ酸、30～50アミノ酸、40～60アミノ酸、50～70アミノ酸、60～80アミノ酸、70～90アミノ酸、80～100アミノ酸、少なくとも25アミノ酸、少なくとも30アミノ酸、少なくとも35アミノ酸、少なくとも40アミノ酸、少なくとも2455アミノ酸、少なくとも50アミノ酸、少なくとも55アミノ酸、少なくとも60アミノ酸、少なくとも65アミノ酸、少なくとも70アミノ酸、少なくとも75アミノ酸、少なくとも80アミノ酸、少なくとも85アミノ酸、少なくとも90アミノ酸、少なくとも95アミノ酸、少なくとも100アミノ酸、少なくとも105アミノ酸、少なくとも110アミノ酸、少なくとも115アミノ酸、少なくとも120アミノ酸、少なくとも125アミノ酸、少なくとも130アミノ酸、少なくとも135アミノ酸、少なくとも140アミノ酸、少なくとも145アミノ酸、少なくとも150アミノ酸、少なくとも155アミノ酸、少なくとも160アミノ酸、少なくとも165アミノ酸、少なくとも170アミノ酸、少なくとも175アミノ酸、少なくとも180アミノ酸、少なくとも185アミノ酸、少なくとも190アミノ酸、少なくとも195アミノ酸、少なくとも200アミノ酸、少なくとも205アミノ酸、少なくとも210アミノ酸、少なくとも215アミノ酸、少なくとも220アミノ酸、少なくとも225アミノ酸、少なくとも230アミノ酸、少なくとも235アミノ酸、少なくとも240アミノ酸、少なくとも245アミノ酸、又は少なくとも250アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、20～5, 000アミノ酸、20～2, 000アミノ酸、20～1, 000アミノ酸、20～500アミノ酸、20～250アミノ酸、20～200アミノ酸、20～150アミノ酸、20～100アミノ酸、20～40アミノ酸、30～50アミノ酸、40～60アミノ酸、50～70アミノ酸、60～80アミノ酸、70～90アミノ酸、80～100アミノ酸、少なくとも25アミノ酸、少なくとも30アミノ酸、少なくとも35アミノ酸、少なくとも40アミノ酸、少なくとも2455アミノ酸、少なくとも50アミノ酸、少なくとも55アミノ酸、少なくとも60アミノ酸、少なくとも65アミノ酸、少なくとも70アミノ酸、少なくとも75アミノ酸、少なくとも80アミノ酸、少なくとも85アミノ酸、少なくとも90アミノ酸、少なくとも95アミノ酸、少なくとも100アミノ酸、少なくとも105アミノ酸、少なくとも110アミノ酸、少なくとも115アミノ酸、少なくとも120アミノ酸、少なくとも125アミノ酸、少なくとも130アミノ酸、少なくとも135アミノ酸、少なくとも140アミノ酸、少なくとも145アミノ酸、少なくとも150アミノ酸、少なくとも155アミノ酸、少なくとも160アミノ酸、少なくとも165アミノ酸、少なくとも170アミノ酸、少なくとも175アミノ酸、少なくとも180アミノ酸、少なくとも185アミノ酸、少なくとも190アミノ酸、少なくとも195アミノ酸、少なくとも200アミノ酸、少なくとも205アミノ酸、少なくとも210アミノ酸、少なくとも215アミノ酸、少なくとも220アミノ酸、少なくとも225アミノ酸、少なくとも230アミノ酸、少なくとも235アミノ酸、少なくとも240アミノ酸、少なくとも245アミノ酸、又は少なくとも250アミノ酸からなる。

【0258】

1. 参照分泌タンパク質の特定方法

如何なる理論にも限定されるものではないが、参照分泌タンパク質のアミノ酸配列を修飾してタンパク質の少なくとも1つの栄養的特徴を改善することは、有用な栄養的アミノ

酸組成のタンパク質を作製するための有用な方法であると考えられる。参照分泌タンパク質は生物によって天然に分泌されるので、いくつかの実施形態では、このアプローチを用いて、分泌される有用な栄養含有量のタンパク質を創出することができる。分泌はある特定の応用例における改変タンパク質の製造の助けとなり得るので、分泌栄養タンパク質は特定の実施形態において特に有用であり得る。

【0259】

この目的のために、いくつかの実施形態では、目的の生物のタンパク質の注釈付きデータベースをスクリーニングして、分泌型として特徴付けられているものを特定する。代替の又は更なる方法は、目的の生物のタンパク質に関する配列情報をスクリーニングして、分泌リーダー配列を含むタンパク質を特定することである。代替の又は更なる方法は、目的の生物のタンパク質をコードするcDNAを得、それらのcDNAを機能的にスクリーニングして、分泌タンパク質をコードするものを特定することである。ある生物についてこれらの方法又は任意の同等な方法の1又は複数により特定される得られたタンパク質のセットは、その生物のセクレトームと呼ばれる。いくつかの実施形態では、任意の分泌タンパク質が本開示の方法における参照分泌タンパク質として用いられる。

【0260】

いくつかの実施形態では、分泌タンパク質をスクリーニングして、タンパク質間結合相互作用を再改変するために以前の研究で用いられている構造的なドメイン及び／又はフォールドを含むものを特定する。NCBI Conserved Domain Database (Marchler-Bauer A., and Bryant, S. H. "CD-Search: protein domain annotations on the fly". *Nuc. Acid. Res.* (2004) 32: W327-W331)にそのようなタンパク質ドメインが含まれている。(Binz, KH, and Pluckthun, A. "Engineered proteins as specific binding reagents". *Curr. Op. Biotech.* (2005) 16: 459-469; Gebauer, M. and Skerra, A. "Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics". *Curr. Op. Chem. Biol.* (2009) 13: 245-255; Lehtio, J., Teeri T. T., and Nygren P. A. "Alpha-Amylase Inhibitors Selected From a Combinatorial Library of a Cellulose Binding Domain Scaffold". *Proteins: Struct., Func., Gene.* (2000) 41: 316-322;及びOlson CA and Roberts RW. "Design, expression, and stability of a diverse protein library based on the human fibronectin type III domain". *Prot. Sci.* (2007) 16: 476-484.)。したがって、データベースを用いて、既知の変異性の位置又は領域を有する強固で安定なフォールドを含むと予想されるタンパク質足場を特定することができ、そのような変異性の位置又は領域は、所望の全体的アミノ酸分布に合致するように調整することができる。いくつかの実施形態では、そのようなドメインを含む天然タンパク質を参照分泌タンパク質として用いる。いくつかの実施形態では、そのようなドメインを含む天然タンパク質の残りの部分の一部又は全部は、ドメインの誘導体を含む改変タンパク質中に含まれない。

【0261】

2. 改変タンパク質中で修飾される参照分泌タンパク質中のアミノ酸位置の特定方法

本開示では、別のアミノ酸による置換のための参照分泌タンパク質中のアミノ酸位置、例えば、Leuアミノ酸を用いた置換のための参照分泌タンパク質配列中のアミノ酸が非Leuである位置、を特定するために用いることができる6つの因子が特定される。6つ

の因子は、アミノ酸尤度 (A A L i k e)、アミノ酸タイプ尤度 (A A T L i k e)、位置エントロピー ($S_{p o s}$)、アミノ酸タイプ位置エントロピー ($S_{A A T p o s}$)、フォールディングの相対的自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{f o l d}$)、及び二次構造アイデンティティー (L o o p I D) である。これらの因子は、以下の式 3 を用いた置換のためのアミノ酸位置の特定に組み合わせられ得る。

式 3 : $((\alpha) A A L i k e + (\beta) A A T L i k e + (\gamma) S p o s + (\delta) S A A T p o s + (\varepsilon) \Delta \Delta G f o l d + (\zeta) L o o p I D) / (\alpha + \beta + \gamma + \delta + \varepsilon + \zeta)$

【0262】

式 3 中、係数 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ε 、及び ζ は、分泌タンパク質中の位置のセットを順位付ける時の各因子の相対的重要性を示す当業者によって選択されるスケーリング係数である。いくつかの実施形態では 1、2、3、4、又は 5 個の係数が 0 に設定される。

10

【0263】

B. 核酸

本明細書は更に、本明細書に開示される改変タンパク質をコードする核酸を提供する。いくつかの実施形態では、核酸は単離されている。いくつかの実施形態では、核酸は精製されている。いくつかの実施形態では、核酸は合成である。

【0264】

いくつかの実施形態では、核酸は、本明細書に開示される改変タンパク質のコード配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、本明細書に開示される改変タンパク質のコード配列からなる。いくつかの実施形態では、核酸は、コード配列に作動可能に連結した発現調節配列を更に含む。

20

【0265】

核酸のいくつかの実施形態では、核酸は、上記セクション A に開示されている改変タンパク質をコードする核酸配列を含む。核酸のいくつかの実施形態では、核酸は、上記セクション A に開示されている改変タンパク質をコードする核酸配列からなる。

【0266】

いくつかの実施形態では、核酸は、少なくとも 10 ヌクレオチド、少なくとも 20 ヌクレオチド、少なくとも 30 ヌクレオチド、少なくとも 40 ヌクレオチド、少なくとも 50 ヌクレオチド、少なくとも 60 ヌクレオチド、少なくとも 70 ヌクレオチド、少なくとも 80 ヌクレオチド、少なくとも 90 ヌクレオチド、少なくとも 100 ヌクレオチド、少なくとも 200 ヌクレオチド、少なくとも 300 ヌクレオチド、少なくとも 400 ヌクレオチド、少なくとも 500 ヌクレオチド、少なくとも 600 ヌクレオチド、少なくとも 700 ヌクレオチド、少なくとも 800 ヌクレオチド、少なくとも 900 ヌクレオチド、少なくとも 1,000 ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、栄養核酸は、10~100 ヌクレオチド、20~100 ヌクレオチド、10~50 ヌクレオチド、又は 20~40 ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、核酸は、栄養ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、天然タンパク質の断片をコードするオープンリーディングフレームからなり、オープンリーディングフレームは、完全な天然タンパク質をコードしない。いくつかの実施形態では、核酸は cDNA である。いくつかの実施形態では、天然核酸と少なくとも 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 99.9% 同一の配列を含む核酸分子が提供される。いくつかの実施形態では、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で少なくとも 1 つの参照核酸とハイブリダイズする核酸が提供される。

30

40

【0267】

C. ベクター

更に、本明細書中で更に説明されるように、本明細書に開示されている核酸分子の少なくとも 1 つを含むベクター、例えば発現ベクターが提供される。いくつかの実施形態では、ベクターは、本明細書に開示されている改変タンパク質をコードする少なくとも 1 つの単離された核酸分子を含む。別の実施形態では、ベクターは、1 又は複数の発現調節配列

50

に作動可能に連結したそのような核酸分子を含む。したがって、ベクターは、組換え型微生物宿主細胞中で少なくとも1つの組換え型タンパク質を発現させるために用いることができる。

【0268】

微生物中で核酸を発現させるための好適なベクターは当業者に周知である。シアノバクテリア中での使用に好適なベクターが例えばHeidorn et al., "Synthetic Biology in Cyanobacteria: Engineering and Analyzing Novel Functions," Methods in Enzymology, Vol. 497, Ch. 24 (2011)に記載されている。本明細書に開示されているシアノバクテリアの改変に用いることができる複製ベクターの例としてはpPMQAK1、pSL1211、pFC1、pSB2A、pSCR119/202、pSUN119/202、pRL2697、pRL25C、pRL1050、pSG111M、及びpPBH201が含まれる。

【0269】

本明細書に開示されている核酸配列を受けることができるpJB161等のその他のベクターも用いることができる。pJB161等のベクターは、特定の光合成微生物に内在性のプラスミド（例えば、特定のシネコッカスの種のプラスミドpAQ1、pAQ3、及びpAQ4）中に存在する配列と相同な配列を含む。そのようなベクター及びその使用方法の例は当該技術分野で公知であり、例えば参照により本明細書に援用するXu et al., "Expression of Genes in Cyanobacteria: Adaptation of Endogenous Plasmids as Platforms for High-Level Gene Expression in Synechococcus sp. PCC 7002," Chapter 21 in Robert Carpentier (ed.), "Photosynthesis Research Protocols," Methods in Molecular Biology, Vol. 684, 2011に記載されている。インビボでのpJB161と内在性プラスミドとの間の組換えにより、それらの内在性プラスミドから目的の遺伝子を発現する改変微生物が得られる。あるいは、宿主細胞染色体と組み換えるようにベクターを操作してもよく、あるいは、宿主細胞の内在性プラスミドのいずれか又は宿主細胞染色体とは独立して目的の遺伝子が複製及び発現するようにベクターを改変してもよい。

【0270】

組換え型タンパク質の生産に適したベクターの更なる例はpETシステム（ノバジェン社（登録商標））である。このシステムは、Escherichia coli及び他の微生物中での使用について広く特徴解析されている。このシステムでは、強力なバクテリオファージT7転写及び（場合により）翻訳シグナルの制御下でpETプラスミドに標的遺伝子をクローニングし、宿主細胞中でのT7 RNAポリメラーゼのソースを提供することにより発現を誘導する。T7 RNAポリメラーゼは、非常に選択的且つ活性であるので、完全に誘導された場合、ほとんど全ての微生物資源が標的遺伝子発現へと変換され、誘導から数時間後に全細胞タンパク質の50%超が所望の生産物で構成され得る。更に、単純に誘導物質の濃度を下げることで発現レベルを減弱することができる。発現レベルの低下は、一部の標的タンパク質の可溶性収量を高め得る。いくつかの実施形態では、このシステムは更に、転写的にサイレントな非誘導状態で標的遺伝子を維持することを可能にする。

【0271】

このシステムを用いるいくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼ遺伝子を含まない宿主を用いて標的遺伝子がクローニングされ、したがって、宿主細胞に毒性であり得るタンパク質の生産によるプラスミドの不安定性に関連する潜在的問題が軽減される。非発現宿主中での確立後、λpL及びpIプロモーターの制御下にT7 RNAポリメラーゼ遺伝子を保有するファージであるλCE6を宿主に感染させることにより又はlac

UV5制御下にT7 RNAポリメラーゼ遺伝子の染色体性コピーを含む発現宿主中にプラスミドを転移させることにより、標的タンパク質発現を開始させることができる。2番目のケースでは、細菌培養にIPTG若しくはラクトースを添加することにより又は自己誘導培地を用いて発現が誘導される。lacオペレーターにより制御されるが、T7 RNAポリメラーゼ遺伝子を必要とせず、Escherichia coliの天然RNAポリメラーゼに頼るその他のプラスミド系としてはpTrcプラスミドスイート(plasmid suite)(インビトロジェン社)又はpQEプラスミドスイート(キアゲン社)が含まれる。

【0272】

別の実施形態では、発現宿主中に直接クローニングすることができる。2種類のT7プロモーター及び基底発現レベルの抑制のストリンジェンシーが異なる複数の宿主が利用可能であり、幅広い標的遺伝子の発現を最適化する能力及び大きな柔軟性が提供される。

【0273】

本明細書に記載の組換え型遺伝子の発現に有用なプロモーターとしては、構成的及び誘導性/抑制性プロモーターの両方が含まれる。誘導性/抑制性プロモーターの例としては、ニッケル誘導性プロモーター(例えば、PnrsA、PnrsB;例えば、Lopez-Mauy et al., Cell (2002) v. 43: 247-256参照)及び尿素抑制性プロモーター、例えばPnirA(例えば、Qi et al., Applied and Environmental Microbiology (2005) v. 71: 5678-5684に記載)が含まれる。誘導性/抑制性プロモーターの更なる例としては、PnirA(硝酸塩によって誘導され、尿素によって抑制されるnirA遺伝子の発現を駆動するプロモーター)及びPsuf(鉄ストレスによって誘導されるsufB遺伝子の発現を駆動するプロモーター)が含まれる。

【0274】

構成的プロモーターの例としては、Pcpc(cpcオペロンの発現を駆動するプロモーター)、Prbc(rubiscoの発現を駆動するプロモーター)、PpsbAII(光化学系II反応中心のD1タンパク質の発現を駆動するプロモーター)、Pcro(croの発現を駆動するラムダファージプロモーター)が含まれる。別の実施形態では、PaphI及び/又はlacIq-Ptrcプロモーターを発現制御に用いることができる。改変微生物中で複数の組換え型遺伝子が発現される場合、異なる遺伝子は、異なるプロモーターによって制御されてもよく、別個のオペロン中にある同一のプロモーターによって制御されてもよく、又は2個以上の遺伝子の発現がオペロンの一部として単一のプロモーターによって制御されてもよい。

【0275】

誘導性プロモーターの更なる非限定的な例としては、限定されるものではないが、外因性タンパク質(例えば、T7 RNAポリメラーゼ、SP6 RNAポリメラーゼ)の発現により、小分子(例えば、IPTG、ガラクトース、テトラサイクリン、ステロイドホルモン、アブシジン酸)の存在により、低濃度の小分子(例えば、CO₂、鉄、窒素)又はその非存在により、金属又は金属イオン(例えば、銅、亜鉛、カドミウム、ニッケル)により、及び環境因子(例えば、熱、低温、ストレス、光、暗黒)により、及び増殖期により誘導されるものが含まれる。いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは、誘導の非存在下でプロモーターを介して転写が実質的に開始されないようにしっかりと制御されている。いくつかの実施形態では、プロモーターの誘導は、他のプロモーターを介した転写を実質的に変化させない。更に、一般的に、誘導性プロモーターを誘導する化合物又は条件は、発現させたい生物又は環境中に天然に存在しないものである。

【0276】

いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは、シアノバクテリア培養物へのCO₂供給の制限により誘導される。非限定的な例として、誘導性プロモーターは、cmp遺伝子、ntp遺伝子、ndh遺伝子、sbt遺伝子、chp遺伝子、及びrbc遺伝子又はその変異体若しくは断片等のCO₂制限条件下で上方調節されるSynechocyst

i s P C C 6 8 0 3 のプロモーター配列であり得る。

【0277】

いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは、鉄の飢餓により又は定常期に入ることにより誘導される。いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは、i s i A 等の F e 飢餓条件下で上方調節されるシアノバクテリア遺伝子のプロモーター配列の変異体配列又は i s i A、p h r A、s i g C、s i g B、及び s i g H 遺伝子等の培養が定常期に入った時に上方調節されるシアノバクテリア遺伝子のプロモーター配列の変異体配列又はその変異体若しくは断片であり得る。

【0278】

いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは金属又は金属イオンにより誘導される。非限定的な例として、誘導性プロモーターは、銅、亜鉛、カドミウム、水銀、ニッケル、金、銀、コバルト、及びビスマス又はそのイオンにより誘導され得る。いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは、ニッケル又はニッケルイオンにより誘導される。いくつかの実施形態では、誘導性プロモーターは、 Ni^{2+} 等のニッケルイオンにより誘導される。別の実施形態の例では、誘導性プロモーターは *Synechocystis* P C C 6 8 0 3 由来のニッケル誘導性プロモーターである。別の実施形態では、誘導性プロモーターは銅又は銅イオンにより誘導され得る。更に別の実施形態では、誘導性プロモーターは、亜鉛又は亜鉛イオンにより誘導され得る。更に別の実施形態では、誘導性プロモーターは、カドミウム又はカドミウムイオンにより誘導され得る。更にまた別の実施形態では、誘導性プロモーターは水銀又は水銀イオンにより誘導され得る。代替的实施形態では、誘導性プロモーターは金又は金イオンにより誘導され得る。別の代替的实施形態では、誘導性プロモーターは銀又は銀イオンにより誘導され得る。更に別の代替的实施形態では、誘導性プロモーターはコバルト又はコバルトイオンにより誘導され得る。更に別の代替的实施形態では、誘導性プロモーターはビスマス又はビスマスイオンにより誘導され得る。

【0279】

いくつかの実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーターを含む細胞を金属又は金属イオンに暴露することにより誘導される。細胞は、微生物成長培地に金属を加えることにより金属又は金属イオンに曝され得る。特定の実施形態では、微生物成長培地に添加される金属又は金属イオンは培地から効率的に回収され得る。別の実施形態では、回収後に培地中に残った金属又は金属イオンは下流での培地又は細菌遺伝子産物の処理を実質的に妨げない。

【0280】

構成的プロモーターの更なる非限定的な例としては、グラム陰性細菌に由来する又はグラム陰性細菌中で増殖するバクテリオファージに由来する構成的プロモーターが含まれる。例えば、高度に発現されるグラム陰性遺伝子産物をコードする遺伝子のプロモーター、例えば L p p、O m p A、r R N A、及びリボソームタンパク質のプロモーターが用いられ得る。あるいは、制御可能なプロモーターが、そのプロモーターに対する制御タンパク質を欠いた株において用いられ得る。例えば、P_{l a c}、P_{t a c}、及び P_{t r c} が、L a c I を欠いた株において構成的プロモーターとして用いられ得る。同様に、P_{2 2} の P_R 及び P_L が、ラムダ C 2 リプレッサータンパク質を欠いた株で用いられ得、ラムダ P_R 及び P_L が、ラムダ C 1 リプレッサータンパク質を欠いた株で用いられ得る。一実施形態では、構成的プロモーターはバクテリオファージに由来する。別の実施形態では、構成的プロモーターはサルモネラバクテリオファージに由来する。更に別の実施形態では、構成的プロモーターは藍藻類ファージに由来する。いくつかの実施形態では、構成的プロモーターは *Synechocystis* のプロモーターである。例えば、構成的プロモーターは、P p s b A 1 1 プロモーター又はその変異体配列、P r b c プロモーター又はその変異体配列、P c p c プロモーター又はその変異体配列、及び P r n p B プロモーター又はその変異体配列であり得る。

【0281】

10

20

30

40

50

D. 宿主微生物

更に、本明細書に開示されている核酸分子又はベクターで形質転換された宿主細胞及びその子孫が提供される。いくつかの実施形態では、宿主細胞は微生物細胞である。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、ベクター上の核酸配列を保有しているが、このベクターは、必ずではないが、自由に複製するベクターであり得る。別の実施形態では、核酸は宿主細胞のゲノム中及び／又は宿主細胞の内在性プラスミド中に組み込まれている。形質転換された宿主細胞は、例えば本明細書に開示されている組換え型改変タンパク質の生産に用いることができる。

【0282】

いくつかの実施形態では、タンパク質は、それを発現するために用いられる宿主細胞の内在性タンパク質である。すなわち、宿主細胞の細胞ゲノムが、組換え型タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを含む。いくつかの実施形態では、タンパク質の発現を上昇させるのに十分な制御配列が、宿主細胞ゲノム中に挿入され、制御配列が組換え型核酸からの組換え型タンパク質の過剰発現を駆動するように内在性オープンリーディングフレームに機能可能に連結する。いくつかの実施形態では、異種核酸配列をタンパク質の内在性オープンリーディングフレームに融合させ、組換え型タンパク質の細胞輸送を変化させる（例えばそれを細胞小器官又は分泌系路へと向ける）異種アミノ酸配列を含むタンパク質を合成させる。いくつかの実施形態では、内在性宿主細胞タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを、オープンリーディングフレームに機能可能に連結した制御配列を更に含むプラスミドに乗せて宿主細胞に導入する。いくつかの実施形態では、組換え型宿主細胞は、同様な条件下で成長させた同様な宿主細胞によって生産されるタンパク質の量より少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも30倍、少なくとも40倍、少なくとも50倍、又は少なくとも100倍多くの組換え型タンパク質を発現する。

【0283】

「微生物（microorganism）」は、古細菌、細菌、及び真核生物のドメインに由来する原核及び真核の微生物種を含み、後者は、酵母及び糸状菌類、原生動物、藻類、又は高等原生生物を含む。「微生物細胞」及び「微生物（microbe）」という用語は微生物（microorganism）という用語と交換可能に用いられる。

【0284】

種々の宿主微生物を、本明細書に開示されている核酸配列で形質転換することができ、これはいくつかの実施形態では、本明細書に開示されている組換え型の改変タンパク質を生産することができる。好適な宿主微生物には、独立栄養性及び従属栄養性の微生物の両方が含まれる。いくつかの応用例では、独立栄養微生物により、宿主微生物に導入される組換え型核酸配列にコードされる改変タンパク質を作成するために必要な化石燃料及び／又は電気のインプットを低減することができる。これにより、いくつかの応用例では、改変タンパク質を生産するコスト及び／若しくは環境影響が低減し、且つ／又は乳清、卵、ソイ等の別の栄養タンパク質の製造のコスト及び／若しくは環境影響と比べてコスト及び／又は環境影響が低減する。例えば、本明細書に開示されているように宿主微生物を用いて本明細書に開示されている改変タンパク質を作るコスト及び／又は環境影響は、いくつかの実施形態では、牛乳を加工することによりヒトの消費に適した形態の乳清タンパク質を作るコスト及び／又は環境影響より低い。

【0285】

光独立栄養微生物としては、真核生物の藻類並びに原核生物のシアノバクテリア、緑色硫黄細菌、緑色非硫黄細菌、紅色硫黄細菌、及び紅色非硫黄細菌が含まれる。

【0286】

好極限性細菌も好適な生物として企図される。そのような生物は、温度、放射線、圧力、重力、真空、乾燥、塩分、pH、酸素圧、及び化学物質等の種々の環境パラメーターに耐える。これらには、80℃以上で成長する *Pyrolobus fumarii* 等の超好熱菌；60～80℃で成長する *Synechococcus lividus* 等の好熱

菌；15～60℃で成長する中温菌；並びに *Psychrobacter* 及び一部の昆虫等の15℃以下で成長する好冷菌が含まれる。放射線耐性生物には *Deinococcus radiodurans* が含まれる。圧力耐性生物 (*pressure-tolerant organism*) には、130Mpaの圧力に耐える好圧性生物 (*piezophile*) が含まれる。重量耐性生物 (*weight-tolerant organism*) には好圧菌が含まれる。過重力 (例えば、>1g) 低重力 (例えば、<1g) 耐性生物も企図される。真空耐性生物には緩歩動物、昆虫、微生物、及び種子が含まれる。乾燥剤耐性 (*Dessicant tolerant*) 及び無水生物 (*anhydrobiotic organism*) には、*Artemia salina* 等の乾性動物；線形動物、微生物、真菌、及び地衣類が含まれる。耐塩性生物には、好塩菌 (例えば、2～5M NaCl) *Halobacteriaceae* 及び *Dunaliella salina* が含まれる。pH耐性生物には、*Natronobacterium*、*Bacillus firmus* OF4、*Spirulina* spp. 等の好アルカリ菌 (例えば、pH>9) 及び *Cyanidium caldarium*、*Ferroplasma* sp. 等の抗酸菌 (例えば、低pH) が含まれる。O₂ に耐えられない *Methanococcus jannaschii* 等の嫌気性菌；いくらかのO₂ に耐える *Clostridium* 等の微好気性菌；及びO₂ を必要とする好気性菌も企図される。純粋なCO₂ に耐えるガス耐性生物としては *Cyanidium caldarium* が含まれ、金属耐性生物には *Ferroplasma acidarmanus* (例えば、Cu、As、Cd、Zn)、*Ralstonia* sp. CH34 (例えば、Zn、Co、Cd、Hg、Pb) 等の金属耐性菌 (*metalotolerant*) が含まれる。Gross, Michael. *Life on the Edge: Amazing Creatures Thriving in Extreme Environments*. New York: Plenum (1998) and Seckbach, J. "Search for Life in the Universe with Terrestrial Microbes Which Thrive Under Extreme Conditions." In Cristiano Battagli Cosmovici, Stuart Bowyer, and Dan Wertheimer, eds., *Astronomical and Biochemical Origins and the Search for Life in the Universe*, p. 511. Milan: Editrice Compositori (1997)。

【0287】

藻類及びシアノバクテリアとしては、限定されるものではないが、以下の属が含まれる：*Acanthoceras*、*Acanthococcus*、*Acaryochloris*、*Achnanthes*、*Achnanthidium*、*Actinastrum*、*Actinochloris*、*Actinocyclus*、*Actinotaenium*、*Amphichrysis*、*Amphidinium*、*Amphikrikos*、*Amphipleura*、*Amphiprora*、*Amphithrix*、*Amphora*、*Anabaena*、*Anabaenopsis*、*Aneumastus*、*Ankistrodesmus*、*Ankyra*、*Anomoeoneis*、*Apatococcus*、*Aphanizomenon*、*Aphanocapsa*、*Aphanochaete*、*Aphanothece*、*Apiocystis*、*Apistonema*、*Arthrodesmus*、*Artherospira*、*Ascochloris*、*Asterionella*、*Asterococcus*、*Audouinella*、*Aulacoseira*、*Bacillaria*、*Balbiania*、*Bambusina*、*Bangia*、*Basichlamys*、*Batrachospermum*、*Binuclearia*、*Bitrichia*、*Blidingia*、*Botrydiopsis*、*Botrydium*、*Botryococcus*、*Botryosphaerella*、*Brachiomonas*、*Brachysira*、*Brachytrichia*、*Brebissonia*、B

ulbochaete, Bumilleria, Bumilleriopsis, Cal
 oneis, Calothrix, Campylodiscus, Capsosiphon,
 Carteria, Catena, Cavinula, Centritractus
 , Centronella, Ceratium, Chaetoceros, Chaeto
 chloris, Chaetomorpha, Chaetonella, Chaeton
 ema, Chaetopeltis, Chaetophora, Chaetosphae
 ridium, Chamaesiphon, Chara, Characiochlori
 s, Characiopsis, Characium, Charales, Chilom
 onas, Chlainomonas, Chlamydoblepharis, Chla
 mydocapsa, Chlamydomonas, Chlamydomonopsis 10
 , Chlamydomyxa, Chlamydonephris, Chlorangie
 lla, Chlorangiopsis, Chlorella, Chlorobotry
 s, Chlorobrachis, Chlorochytrium, Chlorococ
 cum, Chlorogloea, Chlorogloeopsis, Chlorogo
 nium, Chlorolobion, Chloromonas, Chlorophys
 ema, Chlorophyta, Chlorosaccus, Chlorosarci
 na, Choricystis, Chromophyton, Chromulina, C
 hroococcidiopsis, Chroococcus, Chroodactyl
 on, Chroomonas, Chrootheca, Chrysamoeba, Chr
 ysapsis, Chrysidiastrum, Chrysocapsa, Chrys 20
 ocapsella, Chrysochaete, Chrysochromulina,
 Chrysococcus, Chrysocrinus, Chrysolepidomo
 nas, Chrysolykos, Chrysonebula, Chrysophyta
 , Chrysopyxis, Chrysosaccus, Chrysophaerell
 a, Chrysostephanosphaera, Clodophora, Clast
 idium, Closteriopsis, Closterium, Coccomyxa
 , Cocconeis, Coelastrella, Coelastrum, Coelo
 sphaerium, Coenochloris, Coenococcus, Coeno
 cystis, Colacium, Coleochaete, Collodictyon
 , Compsogonopsis, Compsopogon, Conjugatophy 30
 ta, Conochaete, Coronastrum, Cosmarium, Cosm
 idoneis, Cosmocladium, Crateriportula, Crati
 cula, Crinalium, Crucigenia, Crucigeniella,
 Cryptoaulax, Cryptomonas, Cryptophyta, Cten
 ophora, Cyanodictyon, Cyanonephron, Cyanoph
 ora, Cyanophyta, Cyanotheca, Cyanothomonas,
 Cyclonexis, Cyclostephanos, Cyclotella, Cyl
 indrocapsa, Cylindrocystis, Cylindrospermu
 m, Cylindrotheca, Cymatopleura, Cymbella, Cy
 mbellonitzschia, Cystodinium Dactylococco 40
 psis, Debarya, Denticula, Dermatochrysis, De
 rmocarpa, Dermocarpella, Desmatractum, Desm
 idium, Desmococcus, Desmonema, Desmosiphon,
 Diacanthos, Diacronema, Diadesmis, Diatoma,
 Diatomella, Dicellula, Dichothrix, Dichotom
 ococcus, Dicranochaete, Dictyochloris, Dict
 yococcus, Dictyosphaerium, Didymocystis, Di
 dymogenes, Didymosphenia, Dilabifilum, Dimo
 rphococcus, Dinobryon, Dinococcus, Diplochlo
 ris, Diploneis, Diplostauron, Distrionella 50

、Docidium、Draparnaldia、Dunaliiella、Dysmorphococcus、Ecballocystis、Elakatothrix、Ellerbeckia、Encyonema、Enteromorpha、Entocladia、Entomoneis、Entophysalis、Epichrysis、Epiyxis、Epithemia、Eremosphaera、Euastropsis、Euastrum、Eucapsis、Eucocconeis、Eudorina、Euglena、Euglenophyta、Eunotia、Eustigmatophyta、Eutreptia、Fallacia、Fischerella、Fragilaria、Fragilariiforma、Franceia、Frustulia、Curcilla、Geminella、Genicularia、Glaucocystis、Glaucophyta、Glenodiniopsis、Glenodinium、Gloeocapsa、Gloeochaete、Gloeochrysis、Gloeococcus、Gloeocystis、Gloeodendron、Gloeomonas、Gloeoplax、Gloeotheca、Gloeotila、Gloeotrichia、Gloiodyctyon、Golenkinia、Golenkiniopsis、Gomontia、Gomphocymbella、Gomphonema、Gomphosphaeria、Gonatozygon、Gongrosia、Gongrosira、Goniochloris、Gonium、Gonyostomum、Granulochloris、Granulocystopsis、Groenbladia、Gymnodinium、Gymnozyga、Gyrosigma、Haematococcus、Hafniomonas、Hallassia、Hammatoidea、Hannaea、Hantzschia、Hapalosiphon、Haplotaenium、Haptophyta、Haslea、Hemidinium、Hemitoma、Heribaudiella、Heteromastix、Heterothrix、Hibberdia、Hildenbrandia、Hillea、Holopedium、Homoeothrix、Hormanthonema、Hormotila、Hyalobrachion、Hyalocardium、Hyalodiscus、Hyalogonium、Hyalotheca、Hydrianum、Hydrococcus、Hydrocoleum、Hydrocoryne、Hydrodictyon、Hydrosera、Hydrurus、Hyella、Hyemenomonas、Isthmochloron、Johannesbaptistia、Juranyiella、Karayevia、Kathablepharis、Katodinium、Kephyrion、Keratococcus、Kirchneriella、Klebsormidium、Kolbesia、Koliella、Komarekia、Korshikoviella、Kraskella、Lagerheimia、Lagynion、Lamprothamnium、Lemanea、Leptocinclis、Leptosira、Lobococcus、Lobocystis、Lobomonas、Luticola、Lyngbya、Malleochloris、Mallomonas、Mantoniella、Marssoniella、Martyana、Mastigocoleus、Gastogloia、Melosira、Merismopedia、Mesostigma、Mesotaenium、Micractinium、Micrasterias、Microchaete、Microcoleus、Microcystis、Microglena、Micromonas、Microspora、Microthamnion、Mischococcus、Monochrysis、Monodus、Monomastix、Monoraphidium、Monostroma、Mougeotia、Mougeotiopsis、Myochloris、Myromecia、Myxosarcina、Naegeliella、Nannochloris、Nautococcus、Navicula、Neglectella、Neidium、Nephroclamys、Nephrocystium、Nephrodiella、Nephroselmis、Netrium、N

itella, Nitellopsis, Nitzschia, Nodularia, Nostoc, Ochromonas, Oedogonium, Oligochaetophora, Onychonema, Oocardium, Oocystis, Opephora, Ophiocyttum, Orthoseira, Oscillatoria, Oxyneis, Pachycladella, Palmella, Palmodictyon, Pnadorina, Pannus, Paralia, Pascherina, Paulschulzia, Pedicellum, Pedinella, Pedinomonas, Pedinopera, Pelagodictyon, Penium, Peranema, Peridiniopsis, Peridinium, Peronia, Petroneis, Phacotus, Phacus, Phaeaster, Phaeoderma, Phaeophyta, Phaeosphaera, Phaeothamnion, Phormidium, Phycopeltis, Phyllariochloris, Phyllocardium, Phyllomitas, Pinnularia, Pitophora, Placoneis, Planctonema, Planktosphaeria, Planothidium, Plectonema, Pleodorina, Pleurastrium, Pleurocapsa, Pleurocladia, Pleurodiscus, Pleurosigma, Pleurosira, Pleurotaenium, Pocillomonas, Podohedra, Polyblepharides, Polychaetophora, Polyedrella, Polyedriopsis, Polygoniochloris, Polye- 20
 pidomonas, Polytaenia, Polytoma, Polytomella, Porphyridium, Posteriochromonas, Prasinochloris, Prasinocladus, Prasinophyta, Prasiola, Prochlorophyta, Prochlorothrix, Protodermis, Protosiphon, Provasoliella, Prymnesium, Psammodictyon, Psammothidium, Pseudanabae- 30
 na, Pseudenoclonium, Psuedocarteria, Pseudochate, Pseudocharacium, Pseudococcomyxa, Pseudodictyosphaerium, Pseudokephyrion, Pseudoncobyrsa, Pseudoquadrigula, Pseudosphaer- 40
 ocystis, Pseudostaurastrum, Pseudostaurosira, Pseudotetrastrium, Pteromonas, Punctastruata, Pyramichlamys, Pyramimonas, Pyrrophyta, Quadrichloris, Quadricoccus, Quadrigula, Radiococcus, Radiofilum, Raphidiopsis, Raphidocelis, Raphidonema, Raphidophyta, Peimeria, Rhabdoderma, Rhabdomonas, Rhizoclonium, Rhodomonas, Rhodophyta, Rhodocyclonema, Rhopalodia, Rivularia, Rosenvingiella, Rossithidium, Roya, Scenedesmus, Scherffelia, Schizochlamyde- 50
 lla, Schizochlamys, Schizomeris, Schizothrix, Schroederia, Scolioneis, Scotiella, Scotiellopsis, Scourfieldia, Scytonema, Selenastrum, Selenochloris, Sellaphora, Semiorbis, Siderocelis, Diderocystopsis, Dimonsenia, Siphononema, Sirocladium, Sirogonium, Skeletonema, Sorastrum, Spennatozopsis, Sphaerello- 60
 cystis, Sphaerellopsis, Sphaerodinium, Sphaeroplea, Sphaerosoma, Spiniferomonas, Spirogyra, Spirotaenia, Spirulina, Spon-

dylomorum, Spondylosium, Sporotetras, Spumella, Staurastrum, Stauerodesmus, Stauroneis, Staurosira, Staurosirella, Stenopterobia, Stephanocostis, Stephanodiscus, Stephanoporus, Stephanosphaera, Stichococcus, Stichogloea, Stigeoclonium, Stigonema, Stipitococcus, Stokesiella, Strombomonas, Stylochrysalis, Stylodinium, Styloxyis, Stylosphaeridium, Surirella, Sykidion, Symploca, Synechococcus, Synechocystis, Synedra, Synochromonas, Synura, Tabellaria, Tabularia, Teilingia, Temnogametum, Tetmemorus, Tetrachlorella, Tetracyclus, Tetradesmus, Tetraedriella, Tetraedron, Tetraselmis, Tetraspora, Tetrastrium, Thalassiosira, Thamniochaete, Thorakochloris, Thorea, Tolypella, Tolypothrix, Trachelomonas, Trachydiscus, Trebouxia, Trentepholia, Treubaria, Tribonema, Trichodesmium, Trichodiscus, Trochiscia, Tryblionella, Ulothrix, Uroglena, Uronema, Urosolenia, Urospora, Uva, Vacuolaria, Vaucheria, Volvox, Volvulina, Westella, Wołoszynskia, Xanthidium, Xanthophyta, Xenococcus, Zygnema, Zygnemopsis, 及び Zygonium。

【0288】

更なるシアノバクテリアとしては、以下の属のメンバーが含まれる：Chamaesiphon, Chroococcus, Cyanobacterium, Cyanobium, Cyanothece, Dactylococcopsis, Gloeobacter, Gloeocapsa, Gloeotheca, Microcystis, Prochlorococcus, Prochloron, Synechococcus, Synechocystis, Cyanocystis, Dermocarpella, Stanieria, Xenococcus, Chroococcidiopsis, Myxosarcina, Arthrospira, Borzia, Crinalium, Geitlerinema, Leptolyngbya, Limnothrix, Lyngbya, Microcoleus, Oscillatoria, Planktothrix, Prochlorothrix, Pseudanabaena, Spirulina, Starria, Symploca, Trichodesmium, Tychonema, Anabaena, Anabaenopsis, Aphanizomenon, Cyanospira, Cyndrospermopsis, Cyndrospermum, Nodularia, Nostoc, Scytonema, Calothrix, Rivularia, Tolypothrix, Chlorogloeopsis, Fischerella, Geitleria, Iyengarrella, Nostochopsis, Stigonema, 及び Thermosynechococcus。

【0289】

緑色非硫黄細菌としては、限定されるものではないが以下の属が含まれる：Chloroflexus, Chloronema, Oscillochloris, Heliothrix, Herpetosiphon, Roseiflexus, 及び Thermomicrobium。

【0290】

緑色硫黄細菌としては、限定されるものではないが以下の属が含まれる： Chlor

obium、Clathrochloris、及びProsthecochloris。
【0291】

紅色硫黄細菌としては、限定されるものではないが以下の属が含まれる：Allochromatium、Chromatium、Halochromatium、Isochromatium、Marichromatium、Rhodovulum、Thermochromatium、Thiocapsa、Thiorhodococcus、及びThiocystis。

【0292】

紅色非硫黄細菌としては、限定されるものではないが以下の属が含まれる：Phaeospirillum、Rhodobaca、Rhodobacter、Rhodomicrobium、Rhodopila、Rhodopseudomonas、Rhodothalassium、Rhodospirillum、Rhodovibrio、及びRoseospira。

【0293】

好気性化学合成無機栄養細菌としては、限定されるものではないが、硝化細菌、例えばNitrobacteraceae sp.、Nitrobacter sp.、Nitrospina sp.、Nitrococcus sp.、Nitrospira sp.、Nitrosomonas sp.、Nitrosococcus sp.、Nitrosospira sp.、Nitrosolobus sp.、Nitrosovibrio sp.；無色硫黄細菌、例えばThiovulum sp.、Thiobacillus sp.、Thiomicrospira sp.、Thiosphaera sp.、Thermothrix sp.；絶対的化学合成無機栄養水素細菌（obligately chemolithotrophic hydrogen bacteria）、例えばHydrogenobacter sp.、鉄及びマンガンの酸化及び／又は沈着細菌、例えばSiderococcus sp.、並びに磁性細菌、例えばAquaspirillum sp.が含まれる。

【0294】

古細菌としては、限定されるものではないが、メタン生成古細菌、例えばMethanobacterium sp.、Methanobrevibacter sp.、Methanothermobacter sp.、Methanococcus sp.、Methanomicrobium sp.、Methanospirillum sp.、Methanogenium sp.、Methanosarcina sp.、Methanobrevibacter sp.、Methanococcus sp.、Methanococcoides sp.、Methanoplanus sp.；高度好熱性硫黄代謝細菌（S-Metabolizers）、例えばThermoproteus sp.、Pyrodicticum sp.、Sulfolobus sp.、Acidianus sp.、並びにその他の微生物、例えばBacillus subtilis、Saccharomyces cerevisiae、Streptomyces sp.、Ralstonia sp.、Rhodococcus sp.、Corynebacteria sp.、Brevibacteria sp.、Mycobacteria sp.、及び油性酵母（oleaginous yeast）が含まれる。

【0295】

更に別の好適な生物としては、Venter et al. の米国特許出願公開第2007/0264688号に記載されているような合成細胞又は合成ゲノムにより生成された細胞及びGlass et al. の米国特許出願公開第2007/0269862号に記載されているような細胞様の系又は合成細胞が含まれる。

【0296】

更に別の好適な生物としては、Escherichia coli、Acetobacter acetii、Bacillus subtilis、酵母、及び真菌、例えばClostridium ljungdahlii、Clostridium therm

ocellum、Penicillium chrysogenum、Pichia pastoris、Saccharomyces cerevisiae、Schizosaccharomyces pombe、Pseudomonas fluorescens、又はZymomonas mobilisが含まれる。いくつかの実施形態では、これらの生物は、二酸化炭素を固定するように改変され、別の実施形態ではそのように改変されない。

【0297】

E. 組換え型改変タンパク質の生産

当業者には、本明細書に開示の組換え型改変タンパク質を生産（及び場合により分泌）するための組換え型細胞の培養並びに発現した改変タンパク質の精製及び／又は単離に利用可能な多くの好適な方法が知られている。タンパク質精製に選択される方法は、目的のタンパク質の特性、細胞内におけるその位置及び形態、ベクター、宿主株の背景、及び発現させるタンパク質の応用目的等の多くの変数によって決まる。培養条件も、所与の標的タンパク質の溶解度及び局在に影響を与え得る。本明細書に開示されているように組換え型微生物細胞中で発現させた標的タンパク質を精製するために多くのアプローチが利用でき、そのようなアプローチとしてはイオン交換及びゲル濾過が含まれるが、これらに限定されない。

【0298】

ほとんど全ての分泌細菌タンパク質及び他の単細胞宿主に由来するそれらのタンパク質は、シグナルペプチドとして知られるN末端配列を含むプレタンパク質として合成されることが一般に認識されている。これらのシグナルペプチドは、タンパク質の最終目的地及びそれらが輸送されるメカニズムに影響する。ほとんどのシグナルペプチドは、その移行メカニズム（例えば、Sec又はTatが仲介）及びプレタンパク質からシグナルペプチドを切断するために用いられるシグナルペプチダーゼの種類に基づき4つのグループのいずれかに分類することができる。更に、リポタンパク質シグナルペプチドを含むN末端シグナルペプチドも提供される。この種のシグナルを保有するタンパク質はSecトランスロカーゼを介して輸送されるが、それらのペプチドシグナルは通常のSecシグナルより短い傾向があり、それらは-3から+1位にリポボックス（lipobox）（L（AS）（GAC））として知られるCドメイン中の別個の配列モチーフを含む。+1位のシステインは、移行後に脂質修飾され、そこでII型シグナルペプチダーゼによりシグナル配列が切断される。更に、IV型又はプレピリンシグナルペプチドが提供され、IV型ペプチダーゼ切断ドメインは、他のシグナルペプチドに一般的なCドメイン中ではなくNドメインとHドメインとの間に位置する。

【0299】

本明細書において、組換え型栄養ポリペプチド配列を作製するために、栄養ポリペプチドを含む異種ポリペプチド配列（すなわち、シグナルペプチドが由来する又はそれが得られるタンパク質とは異なる）にシグナルペプチドを結合させてよい。あるいは、栄養ポリペプチドが宿主生物中で天然に分泌される場合、分泌に導く天然のシグナル配列又は種々のシグナル配列を用いることで充分であり得る。栄養ポリペプチドのいくつかの実施形態では、シグナルペプチドのカルボキシル末端に連結した異種栄養ポリペプチド配列は天然の真核生物タンパク質、そのムテイン若しくは誘導体、又はポリペプチド栄養性ドメインである。ポリペプチドの別の実施形態では、シグナルペプチドのカルボキシル末端に連結した異種栄養ポリペプチド配列は、天然の細胞内タンパク質、そのムテイン若しくは誘導体、又はポリペプチド栄養性ドメインである。

【0300】

栄養ポリペプチドの精製

【0301】

更に、培養培地から分泌栄養ポリペプチドを回収する方法を提供する。いくつかの実施形態では、分泌栄養ポリペプチドは、対数増殖期の間又は対数増殖期の後（例えば、プレ定常期又は定常期）に培養培地から回収される。いくつかの実施形態では、分泌栄養ポリ

10

20

30

40

50

ペプチドは、定常期に培養培地から回収される。いくつかの実施形態では、第1の時点で培養培地から分泌栄養ポリペプチドを回収し、微生物による組換え型栄養ポリペプチドの生産及び分泌に十分な条件下で培養を続け、第2の時点で培養培地から組換え型栄養ポリペプチドを回収する。いくつかの実施形態では、連続プロセスにより培養培地から分泌栄養ポリペプチドを回収する。いくつかの実施形態では、回分プロセスにより培養培地から分泌栄養ポリペプチドを回収する。いくつかの実施形態では、半連続プロセスにより培養培地から分泌栄養ポリペプチドを回収する。いくつかの実施形態では、流加培養法により培養培地から分泌栄養ポリペプチドを回収する。当業者には、本明細書に開示されているように組換え型栄養ポリペプチドを生産（及び場合により分泌）するための組換え型細胞の培養並びに発現させた組換え型ポリペプチドの精製及び／又は単離に利用可能な多くの好適な方法が知られている。ポリペプチド精製に選択される方法は、目的のポリペプチドの特性等の多くの変数によって決まる。ダイアフィリトレーション、沈殿、及びクロマトグラフィーを含む種々の精製方法が当該技術分野で公知である。

10

【0302】

いくつかの実施形態では、ペプチド融合タグが組換え型タンパク質に付加され、ペプチド融合タグを利用する種々のアフィニティー精製法を可能にする。いくつかの実施形態では、アフィニティー法を用いることで、1ステップでほぼ均質な標的タンパク質の精製が可能になる。精製は、例えばエンテロキナーゼ、第Xa因子、トロンビン、又はHRV 3Cプロテアーゼを用いた、融合タグの一部又は全部の切断を含み得る。いくつかの実施形態では、発現させた標的タンパク質の精製又は活性測定の前に、標的タンパク質の発現レベル、細胞局在、及び溶解度の予備分析が行われる。標的タンパク質は、以下の画分のいずれか又は全部において見出され得る：可溶性又は不溶性細胞質画分、周辺質（periplasm）、又は培地。意図される応用に応じて、いくつかの実施形態では比較的簡便な方法による迅速な精製のために、封入体、培地、又は細胞膜周辺腔（periplasmic space）への優先的局在が好ましいことがある。

20

【0303】

Escherichia coli が異種タンパク質発現のための強固な宿主と一般的に考えられているが、この宿主中における多くのタンパク質の過剰発現は不溶性封入体の形態での凝集が生じ易いことも広く知られている。封入体形成を救済するため又はタンパク質自体のタイターを向上させるための最も一般的に用いられる方法は、アミノ末端マルトース結合タンパク質（MBP）を含めること [Austin BP, Nallamsetty S, Waugh DS. Hexahistidine-tagged maltose-binding protein as a fusion partner for the production of soluble recombinant proteins in *Escherichia coli*. *Methods Mol Biol.* 2009; 498: 157-72] 又は目的のタンパク質への低分子ユビキチン様修飾因子（SUMO） [Saitoh H, Uwada J, Azusa K. Strategies for the expression of SUMO-modified target proteins in *Escherichia coli*. *Methods Mol Biol.* 2009; 497: 211-21; Malakhov MP, Mattern MR, Malakhova OA, Drinker M, Weeks SD, Butt TR. SUMO fusions and SUMO-specific protease for efficient expression and purification of proteins. *J Struct Funct Genomics.* 2004; 5(1-2): 75-86; Panavas T, Sanders C, Butt TR. SUMO fusion technology for enhanced protein production in prokaryotic and eukaryotic expression systems. *Methods Mol Biol.* 2009; 497: 303-17] 融合である。これら2つのタン

30

40

50

パク質は *Escherichia coli* 中で可溶性の形態で非常によく発現され、その結果、目的のタンパク質も可溶性形態で効率的に生産される。目的のタンパク質は、目的のタンパク質と融合タンパク質との間に部位特異的プロテアーゼ認識配列（例えばタバコエッチウイルス（TEV）プロテアーゼ）を設計することにより切断することができる[1]。

【0304】

いくつかの実施形態では、組換え型の改変タンパク質は最初、正しくフォールディングされていないか不溶性である。不溶性タンパク質のリフォールディングのための種々の方法が周知である。ほとんどのプロトコルは、遠心及びその後の変性条件下での可溶化による不溶性封入体の単離を含む。次いで、リフォールディングが起こる非変性バッファー中にタンパク質を透析又は希釈する。全てのタンパク質は固有のフォールディング特性を有するので、任意の所与のタンパク質の好ましいリフォールディングプロトコルは当業者によって実験的に決定され得る。好ましいリフォールディング条件は、例えば、タンパク質濃度、還元剤、酸化還元処理、二価カチオン等の変数を試験するマトリックスアプローチにより小規模で迅速に決定することができる。好ましい濃度が見つかった後、これを目的のタンパク質のより大規模な可溶化及びリフォールディングに応用することができる。

10

【0305】

いくつかの実施形態では、N-ラウロイルサルコシンと組み合わせたアルカリ性 pH の CAPS バッファーを用いて封入体を溶解した後、DTT 存在下で透析してリフォールディングを促進する。標的タンパク質、発現条件、及び意図される応用に応じて、洗浄した封入体から可溶化したタンパク質は、90%超均質であり得、更なる精製を必要としないこともある。His・Tag（登録商標）融合タンパク質及びHis・Bind（登録商標）固定化金属アフィニティークロマトグラフィー（Novogen（登録商標））を用いて、完全変性条件下での精製（リフォールディング前）が可能である。更に、6M尿素を用いて封入体から可溶化したS・Tag（商標）、T7・Tag（登録商標）、及びStrept・Tag（登録商標）II融合タンパク質を、2M尿素（S・Tag及びT7・Tag）又は1M尿素（Strept・Tag II）で希釈した後、適切な樹脂を用いてクロマトグラフィーを行うことにより、部分的変性条件下で精製することができる。リフォールディングされた融合タンパク質は、His・Tag、S・Tag、Strept・Tag II、及びその他の適切なアフィニティータグ（例えば、GST・Tag（商標）及びT7・Tag）（ノバジェン社（登録商標））を用いた未変性条件下でアフィニティー精製することができる。

20

30

【0306】

いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質は、組換え生産系を用いずに化学的に合成される。タンパク質合成は、当該技術分野で公知の技術を用いて液相系又は固相系で行われ得る（例えば、Atherton, E., Sheppard, R. C. (1989). Solid Phase peptide synthesis: a practical approach. Oxford, England: IRL Press; Stewart, J. M., Young, J. D. (1984). Solid phase peptide synthesis (2nd ed.). Rockford: Pierce Chemical Company 参照。ペプチド化学及び合成方法は当該技術分野で周知であり、本開示のタンパク質は当該技術分野で公知の任意の方法で作製することができる。そのような方法の非限定的な例としては、樹脂結合ペプチドの合成（アミノ酸を脱保護する方法、樹脂からペプチドを切断する方法、及びその精製方法を含む）が挙げられる。例えば、ペプチドの合成に用いることができるFmoc保護アミノ酸誘導体が、推奨される標準である：Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc

40

50

—His (Trt)—OH、Fmoc—Ile—OH、Fmoc—Leu—OH、Fmoc—Lys (BOC)—OH、Fmoc—Met—OH、Fmoc—Phe—OH、Fmoc—Pro—OH、Fmoc—Ser (tBu)—OH、Fmoc—Thr (tBu)—OH、Fmoc—Trp (BOC)—OH、Fmoc—Tyr (tBu)—OH、及び Fmoc—Val—OH (例えば、アナスペック社 (Anaspec)、バックム社 (Bachem)、アイリスバイオテック社 (Iris Biotech)、又はノババイオケム社から供給される)。樹脂結合ペプチド合成は、例えば、プロテイン・テクノロジー社 (Protein Technologies) (Tucson, Ariz. 85714 U. S. A.) の Preclude Solid Phase Peptide Synthesizer を用いて、Fmoc に基づく化学を用いて行われる。C 末端カルボン酸の調製に好適な樹脂は、ノババイオケム社から入手可能なプレローディングされた低負荷 (low-load) Wang 樹脂 (例えば、低負荷 fmoc—Thr (tBu)—Wang 樹脂、LL、0.27 mmol/g) である。C 末端アミドを有するペプチドの合成に好適な樹脂は、マトリックス—イノベーション社から入手可能な PAL—ChemMatrix 樹脂である。N 末端 α アミノ基は Boc で保護される。Fmoc 脱保護は、20% ピペリジンを含む NMP を用いて 2×3 分で達成することができる。カップリングの化学は NMP 中の DIC/HOAt/コリジンである。アミノ酸/HOAt 溶液 (NMP 中 0.3 M/0.3 M、3~10 倍のモル濃度過剰) を樹脂に加え、次いで同じモル当量の DIC (NMP 中 3 M)、次いでコリジン (NMP 中 3 M) を加える。例えば、以下のスケールの反応に 1 カップリング当たり以下の量の 0.3 M アミノ酸/HOAt 溶液が用いられる：スケール/ml、0.05 mmol/1.5 mL、0.10 mmol/3.0 mL、0.25 mmol/7.5 mL。カップリング時間は 2×30 分又は 1×240 分のいずれかである。合成後、樹脂を DCM で洗浄し、TFA/TIS/水 (95/2.5/2.5) で 2~3 時間処理することによりペプチドを樹脂から切断し、次いでジエチルエーテルで沈殿させる。沈殿をジエチルエーテルで洗浄する。粗ペプチドを、水/MeCN (4:1) 等の水及び MeCN の好適な混合物に溶解し、C18 シリカゲルを含むカラムを用いた逆相分取 HPLC (Waters Deltaprep 4000 又は Gilson) により精製する。0.1% TFA を含む MeCN 水溶液の上昇グラジエントを用いて溶出を行う。関連画分を分析用 HPLC 又は UPLC によりチェックする。純粋な標的ペプチドを含む画分を混合し、減圧下で濃縮する。得られた溶液を分析し (HPLC、LCMS)、化学発光窒素特異的 HPLC 検出器 (Antek 8060 HPLC—CLND) を用いて又は 280 nm の UV 吸収を測定することにより生産物を定量する。生成物をガラス製バイアルに分注する。バイアルをミリポア社製グラスファイバープレフィルターでキャップする。凍結乾燥により、ペプチドトリフルオロアセタートを白色固体として得る。得られたペプチドは、LCMS 及び/又は UPLC を用いて、例えば当該技術分野で公知の標準的方法を用いて、検出及び特徴解析することができる。LCMS は、マイクロマス社 (Micromass 製) の Waters Acquity UPLC システム及び LCT Premier XE 質量分析装置からなる設備を用いて行うことができる。UPLC ポンプは、(A) 0.1% ギ酸を含む水及び (B) 0.1% ギ酸を含むアセトニトリルを含む 2 つの溶離液リザーバーに連結される。分析は、適切な体積の試料 (好ましくは 2~10 µl) をカラムに注入して A 及び B のグラジエントを用いて溶離させることにより室温で行われる。UPLC 条件、検出器の設定、及び質量分析装置の設定は以下の通りである：カラム：Waters Acquity UPLC BEH、C—18、1.7 µm、2.1 mm×50 mm。グラジエント：リニア 5%—95% アセトニトリル、0.4 ml/min、4.0 分間 (あるいは 8.0 分間)。検出：214 nm (TUV (チューニング可能な UV 検出器) からのアナログアウトプット)。MS イオン化モード：API—ES Scan：100~2000 amu (あるいは 500~2000 amu)、ステップ 0.1 amu。UPLC 法は周知である。使用できる方法の非限定的な例が、例えば 2013 年 2 月 28 日に公開された米国特許出願公開第 2013/0053310 (A1) 号の 16~17 頁に記載されている。

10

20

30

40

50

【0307】

F. 組成物

本明細書に開示されている少なくとも1つの改変タンパク質を少なくとも1つの第2の成分と組み合わせて栄養組成物を形成することができる。いくつかの実施形態では、組成物のアミノ酸の唯一のソースが少なくとも1つの改変タンパク質である。そのような実施形態では、組成物のアミノ酸組成は少なくとも1つの改変タンパク質のアミノ酸組成と同じである。いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも1つの改変タンパク質及び少なくとも1つの第2のタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの第2のタンパク質は改変タンパク質であり、一方、別の実施形態では、少なくとも1つの第2のタンパク質は改変タンパク質ではない。いくつかの実施形態では、組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上の改変タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上の非改変タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上の改変タンパク質を含み、組成物は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上の非改変タンパク質を含む。

10

【0308】

いくつかの実施形態では、前の段落に記載の栄養組成物は、少なくとも1つのポリペプチド、少なくとも1つのペプチド、及び少なくとも1つの遊離アミノ酸の少なくとも1つを更に含む。いくつかの実施形態では、栄養組成物は、少なくとも1つのポリペプチド及び少なくとも1つのペプチドを含む。いくつかの実施形態では、栄養組成物は、少なくとも1つのポリペプチド及び少なくとも1つの遊離アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、栄養組成物は、少なくとも1つのペプチド及び少なくとも1つの遊離アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのポリペプチド、少なくとも1つのペプチド、及び／又は少なくとも1つの遊離アミノ酸は、(1)分岐鎖アミノ酸、(2)ロイシン、及び(3)必須アミノ酸から選択されるアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのポリペプチド、少なくとも1つのペプチド、及び／又は少なくとも1つの遊離アミノ酸は、(1)分岐鎖アミノ酸、(2)ロイシン、及び(3)必須アミノ酸から選択されるアミノ酸からなる。

20

30

【0309】

栄養組成物にポリペプチド、ペプチド、及び遊離アミノ酸のうちの少なくとも1つを加えることにより、組成物中に存在する全アミノ酸に対する分岐鎖アミノ酸、ロイシン、及び必須アミノ酸の少なくとも1つの割合を上昇させることができる。

【0310】

いくつかの実施形態では、組成物は少なくとも1つの炭水化物を含む。「炭水化物」とは、糖又は糖の重合体を指す。「サッカライド」、「多糖」、「炭水化物」、及び「オリゴ糖」という用語は交換可能に用いることができる。ほとんどの炭水化物は、多くのヒドロキシル基（通常は分子の各炭素原子に1つ）を有するアルデヒド又はケトンである。炭水化物は通常、分子式 $C_nH_{2n}O_n$ を有する。炭水化物は単糖、二糖、三糖、オリゴ糖、又は多糖であり得る。ほとんどの基本的な炭水化物は単糖、例えばグルコース、スクロース、ガラクトース、マンノース、リボース、アラビノース、キシロース、及びフルクトースである。二糖は、2つの連結された単糖である。二糖の例としては、スクロース、マルトース、セロビオース、及びラクトースが含まれる。典型的には、オリゴ糖は、3～6個の単糖単位を含み（例えば、ラフィノース、スタキオース）、多糖は、6個以上の単糖単位を含む。多糖の例としては、デンプン、グリコーゲン、及びセルロースが含まれる。炭水化物は、ヒドロキシル基が除去された2'-デオキシリボース、ヒドロキシル基がフッ素で置換された2'-フルオロリボース、グルコースの窒素含有形態であるN-アセチルグルコサミン（例えば、2'-フルオロリボース、デオキシリボース、及びヘキソース

40

50

）等の修飾サッカライド単位を含み得る。炭水化物は、多くの異なる形態、例えば配座異性体、環状形態、非環状形態、立体異性体、互変異性体、アノマー、及び異性体で存在し得る。

【0311】

いくつかの実施形態では、組成物は少なくとも1つの脂質を含む。本明細書において、「脂質」は、脂肪、油、トリグリセリド、コレステロール、リン脂質；遊離脂肪酸等の任意の形態の脂肪酸を含む。脂肪、油、及び脂肪酸は、飽和、不飽和（シス又はトランス）、一部不飽和（シス又はトランス）であり得る。いくつかの実施形態では、脂質は、ラウリン酸（12：0）、ミリスチン酸（14：0）、パルミチン酸（16：0）、パルミトレイン酸（16：1）、マルガリン酸（17：0）、ヘプタデセン酸（17：1）、ステアリン酸（18：0）、オレイン酸（18：1）、リノール酸（18：2）、リノレン酸（18：3）、オクタデカテトラエン酸（18：4）、アラキン酸（20：0）、エイコセン酸（20：1）、エイコサジエン酸（20：2）、エイコサテトラエン酸（20：4）、エイコサペンタエン酸（20：5）（EPA）、ドコサン酸（22：0）、ドコセン酸（22：1）、ドコサペンタエン酸（22：5）、ドコサヘキサエン酸（22：6）（DHA）、及びテトラコサン酸（24：0）から選択される少なくとも1つの脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも1つの修飾脂質、例えば調理により修飾された脂質を含む。

10

【0312】

いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも1つの補助的なミネラル又はミネラル源を含む。ミネラルの例としてはクロリド、ナトリウム、カルシウム、鉄、クロム、銅、ヨウ素、亜鉛、マグネシウム、マンガン、モリブデン、リン、カリウム、及びセレンが含まれるが、これらに限定されない。上記ミネラルのいずれかの好適な形態としては、可溶性ミネラル塩、わずかに可溶性のミネラル塩、不溶性のミネラル塩、キレート化ミネラル、ミネラル複合体、非反応性ミネラル、例えばカルボニルミネラル、及び還元されたミネラル、及びこれらの組合せが含まれる。

20

【0313】

いくつかの実施形態では、組成物は少なくとも1つの補助的なビタミンを含む。少なくとも1つのビタミンは脂溶性又は水溶性ビタミンであり得る。好適なビタミンとしては、限定されるものではないが、ビタミンC、ビタミンA、ビタミンE、ビタミンB12、ビタミンK、リボフラビン、ナイアシン、ビタミンD、ビタミンB6、葉酸、ピリドキシン、チアミン、パントテン酸、及びビオチンが含まれる。上記のいずれかの好適な形態は、ビタミンの塩、ビタミンの誘導体、ビタミンと同じ又は類似の活性を有する化合物、及びビタミンの代謝物である。

30

【0314】

いくつかの実施形態では、組成物は賦形剤（excipient）を含む。好適な賦形剤の非限定的な例としては、緩衝剤、保存剤、安定剤、結合剤、圧縮剤、滑沢剤、分散助剤、崩壊剤、香味剤、甘味剤、着色剤が含まれる。

【0315】

いくつかの実施形態では、賦形剤は緩衝剤である。好適な緩衝剤の非限定的な例としては、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、重炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、及び重炭酸カルシウムが含まれる。

40

【0316】

いくつかの実施形態では、賦形剤は保存剤を含む。好適な保存剤の非限定的な例としては、抗酸化剤、例えば α -トコフェロール及びアスコルビン酸、並びに抗菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、及びフェノールが含まれる。

【0317】

いくつかの実施形態では、組成物は賦形剤として結合剤を含む。好適な結合剤の非限定的な例としては、デンプン、アルファ化デンプン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロー

50

ス、ポリアクリルアミド、ポリビニルオキシアゾリドン、ポリビニルアルコール、 C_{12} - C_{18} 脂肪酸アルコール、ポリエチレングリコール、ポリオール、サッカライド、オリゴ糖、及びその組合せが含まれる。

【0318】

いくつかの実施形態では、組成物は賦形剤として滑沢剤を含む。好適な滑沢剤の非限定的な例としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、硬化植物油、ステロテックス (sterotex)、ポリオキシエチレンモノステアレート、タルク、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、及び軽油が含まれる。

【0319】

いくつかの実施形態では、組成物は賦形剤として分散助剤を含む。好適な分散剤の非限定的な例としては、デンプン、アルギン酸、ポリビニルピロリドン、グアーガム、カオリン、ベントナイト、精製木材セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、同形シリケート (isoamorphous silicate)、及び高HLB乳化界面活性剤としての微結晶性セルロースが含まれる。

【0320】

いくつかの実施形態では、組成物は賦形剤として崩壊剤を含む。いくつかの実施形態では、崩壊剤は非発泡性崩壊剤である。好適な非発泡性崩壊剤の非限定的な例としては、デンプン、例えばコーンスターチ、ジャガイモデンプン、そのアルファ化及び加工デンプン、甘味剤、クレイ、例えばベントナイト、微結晶性セルロース、アルギナート、デンプングリコール酸ナトリウム、ガム、例えば寒天、グアー、イナゴマメ、カラヤ、ペクチン (pectin)、及びトラガカントが含まれる。いくつかの実施形態では、崩壊剤は発泡性崩壊剤である。好適な発泡性崩壊剤の非限定的な例としては、クエン酸と組み合わせた重炭酸ナトリウム及び酒石酸と組み合わせた重炭酸ナトリウムが含まれる。

【0321】

いくつかの実施形態では、賦形剤は香味剤を含む。香味剤は、合成の香味油及び香味芳香族化合物 (flavoring aromatics)；天然油；植物、葉、花、及び果実の抽出物；及びその組合せから選択することができる。いくつかの実施形態では、香味剤は、シナモン油；ウィンターグリーン油；ペパーミント油；クローバー油；乾草油；アニス油；ユーカリ；バニラ；シトラス油、例えばレモン油、オレンジ油、グレープ及びグレープフルーツ油；並びにりんご、桃、西洋なし、苺、ラズベリー、さくらんぼ、西洋すもも (plum)、パイナップル、及び杏を含む果実の精油から選択される。

【0322】

いくつかの実施形態では、賦形剤は甘味剤を含む。好適な甘味剤の非限定的な例としては、グルコース (コーンシロップ)、デキストロース、転化糖、フルクトース、及びその混合物 (担体として用いられない時)；サッカリン及びその種々の塩、例えばナトリウム塩；ジペプチド甘味剤、例えばアスパルテム；ジヒドロカルコン化合物、グリチルリジン；ステビア (ステビオシド)；スクロースのクロロ誘導体、例えばスクラロース；及び糖アルコール、例えばソルビトール、マンニトール、シリトール (sylitol) 等が含まれる。更に、加水分解水添デンプン (hydrogenated starch hydrolysate) 及び合成甘味剤 3, 6-ジヒドロ-6-メチル-1, 2, 3-オキサチアジン-4-オン-2, 2-ジオキシド、特にカリウム塩 (アセスルファム-K)、並びにそのナトリウム及びカルシウム塩も企図される。

【0323】

いくつかの実施形態では、組成物は着色剤を含む。好適な着色剤の非限定的な例としては、食品、医薬品、化粧品の色素 (FD & C)、医薬品及び化粧品の色素 (D & C)、並びに外用薬 (external drug) 及び化粧品の色素 (Ext. D & C) が含まれる。着色剤は色素又はその対応するレーキとして用いることができる。

【0324】

製剤中の賦形剤又は賦形剤の組合せの重量の割合は通常、組成物中のタンパク質の総重

10

20

30

40

50

量の約 50 % 以下、約 45 % 以下、約 40 % 以下、約 35 % 以下、約 30 % 以下、約 25 % 以下、約 20 % 以下、約 15 % 以下、約 10 % 以下、約 5 % 以下、約 2 % 以下、又は約 1 % 以下である。

【0325】

本明細書に開示されている改変タンパク質及び栄養組成物は、種々の形態に製剤化して複数の異なる手段で投与することができる。組成物は、所望により従来の許容可能な担体、補助剤、及び賦形剤を含む製剤の形態で、経口、経直腸、又は非経口的に投与することができる。本明細書において、「非経口」という用語は、皮下、静脈内、筋肉内、又は胸骨内への注射及び注入技術を含む。代表的な実施形態では、改変タンパク質又は栄養組成物は経口投与される。

【0326】

経口投与のための固体製剤としては、カプセル剤、錠剤、カプレット剤、丸剤、トローチ剤、ロゼンジ剤、散剤、及び顆粒剤が含まれる。カプセル剤は通常、改変されたタンパク質又は組成物を含むコア材料及びコア材料を包むシェル壁を含む。いくつかの実施形態では、コア材料は、固体、液体、及びエマルションの少なくとも 1 つを含む。いくつかの実施形態では、シェルウォールの材料は軟ゼラチン、硬ゼラチン、及び重合体の少なくとも 1 つを含む。好適な重合体としては、限定されるものではないが、以下のものが含まれる：セルロース重合体、例えばヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC)、メチルセルロース、エチルセルロース、酢酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、トリメリト酸酢酸セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルローススクシナート、及びカルボキシメチルセルロースナトリウム；アクリル酸の重合体及びコポリマー、例えばアクリル酸、メタクリル酸、メチルアクリレート、アンモニオメチルアクリレート、エチルアクリレート、メチルメタクリレート、及び／又はエチルメタクリレートから形成されるもの（例えば、商標「オイドラギット」で販売されているコポリマー）；ビニルポリマー及びコポリマー、例えばポリビニルピロリドン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアセタートフタレート、ビニルアセタートクロトン酸コポリマー、及びエチレン酢酸ビニルコポリマー；及びセラック（精製ラック）。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つの重合体は味覚マスキング剤として機能する。

【0327】

錠剤、丸剤等は、圧縮されてよく、複合的に圧縮されてよく、複合的に積層されてよく、且つ／又はコーティングされてよい。コーティングは単一又は複数であり得る。一実施形態では、コーティング材料は、植物、真菌、及び微生物の少なくとも 1 つから抽出されたサッカライド、多糖、及び糖タンパク質の少なくとも 1 つを含む。非限定的な例としては、コーンスターチ、小麦デンプン、ジャガイモデンプン、タピオカデンプン、セルロース、ヘミセルロース、デキストラン、マルトデキストリン、シクロデキストリン、イヌリン、ペクチン、マンナン、アラビアゴム、イナゴマメガム、メスキートゴム、グアーガム、カラヤガム、ガッチゴム、トラガカントゴム、布海苔、カラギーナン、寒天、アルギナート、キトサン、又はジェランガムが含まれる。いくつかの実施形態では、コーティング材料はタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、コーティング材料は脂肪及び油の少なくとも 1 つを含む。いくつかの実施形態では、脂肪及び油の少なくとも 1 つは高温で融解する。いくつかの実施形態では、脂肪及び油の少なくとも 1 つは水素化されているか、部分的に水素化されている。いくつかの実施形態では、脂肪及び油の少なくとも 1 つは植物由来である。いくつかの実施形態では、脂肪及び油の少なくとも 1 つは、グリセリド、遊離脂肪酸、及び脂肪酸エステル of the 少なくとも 1 つを含む。いくつかの実施形態では、コーティング材料は少なくとも 1 つの食用ワックスを含む。食用ワックスは、動物、昆虫、又は植物に由来し得る。非限定的な例としては、蜜蝋、ラノリン、ベアベリ (bayberry) ワックス、カルナバワックス、及び米ぬかワックスが含まれる。錠剤及び丸剤は更に腸溶性コーティングを用いて調製することができる。

【0328】

あるいは、本明細書に開示されている改変タンパク質及び栄養組成物を具体化した散剤又は顆粒剤は食品に組み込まれてもよい。いくつかの実施形態では、食品は経口投与用の飲み物である。好適な飲み物の非限定的な例としては、フルーツジュース、フルーツドリンク、人工的に風味を付けた飲み物、人工甘味料入りの飲み物、炭酸飲料、スポーツドリンク、液体乳製品、シェーク、アルコール飲料、カフェイン含有飲料、調製粉乳等が含まれる。経口投与のためのその他の好適な手段としては、水性及び非水性の溶液、乳液、懸濁液、及び溶液、並びに／又は好適な溶媒、保存剤、乳化剤、懸濁化剤、希釈剤、甘味剤、着色剤、及び香味剤の少なくとも1つを含む非発泡性顆粒から再構成された懸濁液が含まれる。

【0329】

いくつかの実施形態では、食品は固体の食料品である。固体食料品の好適な例としては、限定されるものではないが、フードバー、スナックバー、クッキー、ブラウニー、マフィン、クラッカー、アイスクリームバー、フローズンヨーグルトバー等が含まれる。

【0330】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているタンパク質及び組成物は治療食に組み込まれる。いくつかの実施形態では、治療食は、一部又は全ての必須な主要栄養素及び微量栄養素を場合により含むすぐに食べられる食品である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているタンパク質及び組成物は、既存の食事に混ぜられるように設計された補助食中に組み込まれる。いくつかの実施形態では、補助食は、一部又は全ての必須な主要栄養素及び微量栄養素を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているタンパク質及び組成物は、食物のタンパク質栄養を強化するために既存の食物と混合されるかこれに加えられる。例としては、主食（穀物、塩、糖、料理油、マーガリン）、飲料（コーヒー、茶、ソーダ水、ビール、アルコール飲料（*liquor*）、スポーツドリンク）、スナック、スイーツ（*sweets*）、及びその他の食物が含まれる。

【0331】

本明細書に開示されている組成物は、例えば、筋肉の量、強度、及び身体機能、熱産生、代謝支出、満腹感、ミトコンドリアバイオジェネシス、体重又は脂肪の低減、並びに除脂肪身体組成の少なくとも1つを向上させる方法において利用することができる。

【0332】

製剤は、製剤中に100キロカロリー当たり約25g（25g／100kcal）まで栄養ポリペプチドを含み得、これは製剤中に存在するエネルギーの全部又は本質的に全部が栄養ポリペプチドの形態であることを意味する。より典型的には、製剤中に存在するエネルギーの約99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、又は5%未満が栄養ポリペプチドの形態である。他の製剤では、栄養ポリペプチドは、ポリペプチドの基準1日摂取値の少なくとも約0.1%以上の栄養的利益を与えるのに十分な量で存在する。タンパク質の好適な基準1日摂取値は当該技術分野で周知である。例えば、Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids, Institute of Medicine of the National Academies, 2005, National Academies Press, Washington DC参照。タンパク質の基準1日摂取値は、タンパク質及び単離されたアミノ酸によって1日のカロリーの10～35%が提供される範囲である。年齢に基づく別の基準1日摂取値が、1日当たりのタンパク質のグラム数として提供される：1～3歳の子供：13g、4～8歳の子供：19g、9～13歳の子供：34g、14～18歳の少女：46、14～18歳の少年：52、19～70歳+の女性：46、19～70歳+の男性：56。別の製剤では、栄養ポリペプチドは、タンパク質栄養不良又はタンパク質栄養不良を特徴とする疾患、障害、若しくは状態に苦しむヒト対象に栄養的利益を提供するのに十分な量で存在する。タンパク質栄養不良

は通常、出生前又は子供の状態である。エネルギー摂取が適切であるタンパク質栄養不良はクワシオルコル又は低アルブミン血症栄養不良と名付けられており、不適切なタンパク質摂取を含む全ての形態の不適切なエネルギー摂取は消耗症と名付けられている。適切に栄養を与えられた個体が、タンパク質消費が少なすぎるか、栄養アミノ酸の不足したタンパク質の消費により、サルコペニアを発症することがある。本明細書に記載の栄養ポリペプチドを妊婦に投与することにより出生前タンパク質栄養不良を防止、処置、又は低減することができ、本明細書に記載の栄養ポリペプチドを授乳中の母親に投与することにより新生児タンパク質栄養不良を防止、処置、又は低減することができる。成人では、タンパク質栄養不良は通常、癌、慢性腎疾患に続発的に及び高齢者で生じる。更に、タンパク質栄養不良は慢性のこともあり、急性のこともある。急性タンパク質栄養不良の例は、敗血症等の急性の病気又は疾患中に又は手術等の外傷、火傷等の熱傷、若しくは実質的な組織再構築を生じる同様な事象からの回復中に生じる。本明細書に記載の方法及び組成物により処置可能なその他の急性の病気としては、サルコペニア、悪液質、糖尿病、インスリン抵抗性、及び肥満が含まれる。

10

【0333】

製剤は、ヒト対象によって消費された時に満腹感を提供するのに十分な量の栄養ポリペプチドを含み得、これは、対象の空腹感が低下するか無くなるか、食べることへの要求が低下することを意味する。そのような製剤は通常、同じカロリーベースで高炭水化物食より満腹指数が高い。

【0334】

製剤は、栄養ポリペプチド濃度（例えば、重量／重量ベース）に基づく量で、栄養ポリペプチドが製剤の重量の最大100%を占めるように栄養ポリペプチドを含み得、これは、製剤中に存在する物質の全部又は本質的に全部が栄養ポリペプチドの形態であることを意味する。より典型的には、製剤中に存在する重量の約99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、又は5%未満が栄養ポリペプチドの形態である。いくつかの実施形態では、製剤は、10mg、100mg、500mg、750mg、1g、2g、3g、4g、5g、6g、7g、8g、9g、10g、15g、20g、25g、30g、35g、40g、45g、50g、60g、70g、80g、90g、100g、又は100g超の栄養ポリペプチドを含む。

20

30

【0335】

好ましくは、本明細書で提供される製剤は非食用生産品を実質的に含まない。非食用生産品は、酵母、細菌、藻類、昆虫、哺乳動物、又は他の発現系から生産される先行技術の組換え型タンパク質の製造においてしばしば見られる。非食用生産物の例としては、界面活性剤、ポリビニルアルコール、プロピレングリコール、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルピロリドン、非食用のポリ酸若しくはポリオール、脂肪アルコール、アルキルベンジルスルホナート、アルキルグルコシド、又はメチルパラベンが含まれる。

【0336】

態様では、提供される製剤は、味覚物質、栄養性炭水化物、及び／又は栄養性脂質等のその他の材料を含む。更に、製剤は、増量剤、調質剤、及び充填剤を含み得る。

40

【0337】

好ましい実施形態では、本明細書で提供される栄養ポリペプチドは、単離されており且つ／又は実質的に精製されている。本明細書で提供される栄養ポリペプチド、組成物、及び製剤は、非タンパク質成分を実質的に含まない。そのような非タンパク質成分は通常、ポリペプチドと複合体を形成して胃腸管中でのタンパク質消化を遅らせ且つ不完全にするかなりの量の炭水化物及び脂質を含む乳清、カゼイン、卵、及びソイ標品等のタンパク質標品中に存在する。そのような非タンパク質成分にはDNAも含まれ得る。したがって、栄養ポリペプチド、組成物、及び製剤は、食物由来のポリペプチド及びポリペプチド混合物と比べた消化率の向上及びアレルゲン性の低下を特徴とする。いくつかの実施形態では、消化率の向上とは、消費されるか別の方法でヒト対象の胃腸管中に投与された時の消化

50

速度がより速いことを意味する。別の実施形態では、例えばヒトがタンパク質吸収能力障害に苦しむ状況において、消化率の向上とは、消費されるか別の方法でヒト対象の胃腸管中に投与された時の消化速度がより遅いことを意味する。更に、これらの製剤及び組成物は、時間に対する消化率及び／又は所与の単位時間ベースでの消化生成物の再現性がより高いことを特徴とする。特定の実施形態では、栄養ポリペプチドは、参照ポリペプチド又は参照ポリペプチド混合物と比べて、脂質及び／又は炭水化物並びに場合により消化率を低下させ且つ／又はアレルギー性を高める 1 又は複数のその他の材料が少なくとも 10 % 低減しており、例えば 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、99 %、又は 99 % 超低減している。特定の実施形態では、栄養製剤は、消化率及び／又はアレルギー性低下のために選択される栄養性炭水化物及び／又は栄養性脂質を含む。

10

【0338】

本明細書に開示される組成物は、例えば、筋肉量、強度、及び身体機能、熱産生、代謝支出、満腹感、ミトコンドリアバイオジェネシス、体重又は脂肪の低減、並びに除脂肪身体組成のうちの少なくとも 1 つを向上させる方法において利用することができる。

【0339】

G. 使用方法

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているタンパク質及び組成物は、患者又は使用者（まとめて「対象」と呼ぶこともある）に投与される。本明細書において、「投与する」及び「投与」は、1 人の人が別の人にタンパク質又は組成物を特定の方法及び／又は特定の目的で消費するように指導する実施形態並びに第 2 の人から受けた指示とは無関係に又はそれと矛盾するように使用者がタンパク質又は組成物をある特定の方法及び／又は特定の目的で使用する状況も包含する。1 人の人が別の人にタンパク質又は組成物を特定の方法及び／又は特定の目的で消費するように指導する実施形態の非限定的な例としては、医師があるコースの行為及び／又は処置を患者に処方する時、トレーナーが使用者（例えば、運動選手）に特定のコースの行為及び／又は処置に従うように助言する時、及び製造者、販売業者、又はマーケティング担当者が、例えば製品の販売又はマーケティングに関連して提供されるパッケージング又はその他の資料上のラベリング又は広告により、末端使用者に使用状態を推奨する時が含まれる。

20

【0340】

いくつかの実施形態では、タンパク質又は組成物は投薬形態で提供される。いくつかの実施形態では、投薬形態は、本明細書に開示されている少なくとも 1 つのタンパク質の投与のために設計され、投与されるタンパク質の総量は、0.1 ~ 1 g、1 ~ 5 g、2 ~ 10 g、5 ~ 15 g、10 ~ 20 g、15 ~ 25 g、20 ~ 40 g、25 ~ 50 g、及び 30 ~ 60 g から選択される。いくつかの実施形態では、投薬形態は、本明細書に開示されている少なくとも 1 つのタンパク質の投与のために設計され、投与されるタンパク質の総量は、約 0.1 g、0.1 g ~ 1 g、1 g、2 g、3 g、4 g、5 g、6 g、7 g、8 g、9 g、10 g、15 g、20 g、25 g、30 g、35 g、40 g、45 g、50 g、55 g、60 g、65 g、70 g、75 g、80 g、85 g、90 g、95 g、及び 100 g から選択される。

30

40

【0341】

いくつかの実施形態では、投薬形態は、本明細書に開示されている少なくとも 1 つのタンパク質の投与のために設計され、投与される必須アミノ酸の総量は、0.1 ~ 1 g、1 ~ 5 g、2 ~ 10 g、5 ~ 15 g、10 ~ 20 g、及び 1 ~ 30 g から選択される。いくつかの実施形態では、投薬形態は、本明細書に開示されている少なくとも 1 つのタンパク質の投与のために設計され、投与されるタンパク質の総量は、約 0.1 g、0.1 ~ 1 g、1 g、2 g、3 g、4 g、5 g、6 g、7 g、8 g、9 g、10 g、15 g、20 g、25 g、30 g、35 g、40 g、45 g、50 g、55 g、60 g、65 g、70 g、75 g、80 g、85 g、90 g、95 g、及び 100 g から選択される。

【0342】

50

いくつかの実施形態では、タンパク質又は組成物は、1日0.1～1g、1日1～5g、1日2～10g、1日5～15g、1日10～20g、1日15～30g、1日20～40g、1日25～50g、1日40～80g、1日50～100g、それ以上の速度で消費される。

【0343】

いくつかの実施形態では、対象による全タンパク質摂取量のうち、食事期間中に対象による全タンパク質摂取量の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は約100%が、本開示に係る少なくとも1つのタンパク質で構成される。いくつかの実施形態では、対象による全タンパク質摂取量のうち、食事期間中の対象による全タンパク質摂取量の5～100%、対象による全タンパク質摂取量の5～90%、対象による全タンパク質摂取量の5～80%、対象による全タンパク質摂取量の5～70%、対象による全タンパク質摂取量の5～60%、対象による全タンパク質摂取量の5～50%、対象による全タンパク質摂取量の5～40%、対象による全タンパク質摂取量の5～30%、対象による全タンパク質摂取量の5～20%、対象による全タンパク質摂取量の5～10%、対象による全タンパク質摂取量の10～100%、対象による全タンパク質摂取量の10～100%、対象による全タンパク質摂取量の20～100%、対象による全タンパク質摂取量の30～100%、対象による全タンパク質摂取量の40～100%、対象による全タンパク質摂取量の50～100%、対象による全タンパク質摂取量の60～100%、対象による全タンパク質摂取量の70～100%、対象による全タンパク質摂取量の80～100%、又は対象による全タンパク質摂取量の90～100%が、本開示に係る少なくとも1つのタンパク質で構成される。いくつかの実施形態では、本開示の少なくとも1つのタンパク質は、食事期間中の対象のカロリー摂取量の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、又は少なくとも50%を占める。

【0344】

いくつかの実施形態では、本開示に係る少なくとも1個のタンパク質は、本開示の少なくとも2個のタンパク質、本開示の少なくとも3個のタンパク質、本開示の少なくとも4個のタンパク質、本開示の少なくとも5個のタンパク質、本開示の少なくとも6個のタンパク質、本開示の少なくとも7個のタンパク質、本開示の少なくとも8個のタンパク質、本開示の少なくとも9個のタンパク質、本開示の少なくとも10個のタンパク質、又はそれ以上を含む。

【0345】

いくつかの実施形態では、食事期間は、1食、2食、3食、少なくとも1日、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、少なくとも4週間、少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月、又は少なくとも1年である。いくつかの実施形態では、食事期間は、1日～1週間、1週間～4週間、1ヶ月～3ヶ月、3ヶ月～6ヶ月、又は6ヶ月～1年である。

【0346】

臨床研究により、タンパク質が加齢又は床上安静による筋肉喪失を防止する証拠が得られている。具体的には、研究により、タンパク質補充が、長期床上安静中の筋線維合成速度(FSR)を上昇させること、長期床上安静中の脚の質量及び強度を維持すること、除脂肪体重を増加させること、歩行運動及びバランスの機能的測定値を向上させること、並びに非移動性又は長期床上安静によるサルコペニアのリスクがある個体にとっての実行可能な介入となり得ることが示されている。例えば、Paddon-Jones D, et al. J Clin Endocrinol Metab 2004, 89:4

351-4358; Ferrando, A et al. Clinical Nutrition 2009 1-6; Katsanos C et al. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006, 291: 381-387 参照。

【0347】

運動選手における筋肉タンパク質同化の増強に関する研究により、タンパク質を運動後に与えると、運動のみにより達成されるよりも大きく筋肥大が促進されることが示されている。更に、運動後に与えられるタンパク質は、タンパク質分解を増加させずにタンパク質合成を助けることが示されており、これにより正味で正のタンパク質バランス及び筋肉量増大が達成される。筋肉タンパク質合成は必須アミノ酸の補充に対して用量反応的に反応するようであるが、全てのタンパク質が筋肉の構築において同等であるわけではない。例えば、アミノ酸ロイシンは、筋肉タンパク質合成の刺激の重要な因子である。例えば、Borscheim E et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 2002, 283: E648-E657; Borscheim E et al. Clin Nutr. 2008, 27: 189-95; Esmarck B et al J Physiol 2001, 535: 301-311; Moore D et al. Am J Clin Nutr 2009, 89: 161-8) 参照。

【0348】

別の態様では、本開示は、対象の筋肉量、筋力、及び機能的パフォーマンスのうちの少なくとも1つを維持又は増大する方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、充分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物を対象に提供することを含む。いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、医学的危篤状態、及びタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいるのうちの少なくとも1つである。いくつかの実施形態では、充分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は、運動の実行とともに対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は、経口、経腸、又は非経口経路により対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は経口経路で対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は、経腸経路で対象によって消費される。

【0349】

別の態様では、本開示は、対象において望ましい肥満度指数を維持又は達成する方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、充分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物を対象に提供することを含む。いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、医学的危篤状態、及びタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいるの少なくとも1つである。いくつかの実施形態では、充分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は、運動の実行とともに対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は、経口、経腸、又は非経口経路により対象によって消費される。

【0350】

別の態様では、本開示は、タンパク質エネルギー栄養不良の対象にタンパク質を与える方法を開示する。いくつかの実施形態では、方法は、充分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物を対象に与えることを含む。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は経口、経腸、又は非経口経路で対象によって消費される。

【0351】

癌患者及び悪液質に苦しむ他の患者において必須アミノ酸補充の必要性が示唆されてい

る。マウスにおける食事研究により、必須アミノ酸を用いた食事介入による、悪液質性癌を有するマウスの生存的及び機能的な利益が示されている。癌以外に、必須アミノ酸補充は、慢性閉塞性肺疾患、慢性心不全、HIV、及びその他の疾患状態等の運動が困難なその他の疾患に苦しむ、したがって筋肉の劣化に苦しむ患者における筋肉機能の向上及び筋肉増加等の利益も示す。

【0352】

研究により、悪液質の管理に特定のアミノ酸が有益であることが示されている。食事の比較的高い含有量のBCAA及びLeuは、翻訳増加、インスリン放出増強、及びタンパク質分解阻害のシグナルを伝達することで全タンパク質合成を促進することにより悪液質に良い影響を与えると考えられている。したがって、より多くの食事性BCAA全般及び／又は特にLeuを消費することは、悪液質の影響の低減又は逆転にとって良い方向に寄与する。悪液質の根本的原因に逆らうには窒素バランスが重要であるので、より多くの食事性グルタミン及び／又はアルギニンの消費は悪液質の影響の低減又は逆転に良い方向に寄与すると考えられる。例えば、Op den Kamp C, Langen R, Haegens A, Schols A. "Muscle atrophy in cachexia: can dietary protein tip the balance?" *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2009, 12:611-616; Poon RT-P, Yu W-C, Fan S-T, et al. "Long-term oral branched chain amino acid s in patients undergoing chemoembolization for hepatocellular carcinoma: a randomized trial." *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19:779-788; Tayek JA, Bistrian BR, Hehir DJ, Martin R, Moldawer LL, Blackburn GL. "Improved protein kinetics and albumin synthesis by branched chain amino acid-enriched total parenteral nutrition in cancer cachexia." *Cancer*. 1986; 58:147-57; Xi P, Jiang Z, Zheng C, Lin Y, Wu G "Regulation of protein metabolism by glutamine: implications for nutrition and health." *Front Biosci*. 2011 Jan 1; 16:578-97 参照。

【0353】

したがって、本発明は更に、対象における悪液質を処置する方法を提供する。いくつかの実施形態では、悪液質を有する対象にとっての充分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物は、人によって摂取される本開示のタンパク質の量が代謝的必要性（しばしば高まっている）を満たす又は超えるような量である。体重1kg当たり1日1.5g又は全カロリー摂取量の15～20%のタンパク質摂取量が、悪液質を有する人にとっての適切な標的であると考えられる。いくつかの実施形態では、対象によって消費されるタンパク質の全部が本開示に係るタンパク質である。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質は、対象の全タンパク質摂取量を提供するために他のタンパク質及び／又は遊離アミノ酸の源と組み合わせられる。いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、医学的危篤状態、及びタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいるうちの少なくとも1つである。いくつかの実施形態では、対象は、運動を困難にする、したがって筋肉劣化を生じさせる疾患、例えば慢性閉塞性肺疾患、慢性心不全、HIV、癌、及びその他の疾患状態に苦しんでいる。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質、本開示に係る組成物、又は本開示に係る方法により作製される組成物は、運動の実行とともに対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示に係

るタンパク質、本開示に係る組成物、又は本開示に係る方法により作製された組成物は、経口、経腸、又は非経口経路により対象によって消費される。

【0354】

サルコペニアとは、加齢に関連した骨格筋の量（典型的には、25歳を過ぎてから1年に0.5～1%の減少）、質、及び強度の変性喪失である。サルコペニアは虚弱症候群の1つである。高齢者のサルコペニアに関する欧州ワーキンググループ（EWG SOP）により、加齢性サルコペニアの実用的な臨床定義及びコンセンサス診断基準が作成された。ワーキンググループは、サルコペニアの診断に低い筋肉量及び低い筋肉機能（強度又はパフォーマンス）の両方の存在を用いることを提唱している。サルコペニアは第1に、筋肉組織の「質」の低下に加えて、脂肪による筋線維の置換、線維症の増加、筋肉代謝の変化、酸化ストレス、及び神経筋接合部の変性等の因子により生じる筋萎縮（筋肉サイズの減少）を特徴とする。合わさると、これらの変化は、筋肉機能を漸進的に失わせ、最終的に虚弱にする。虚弱は、高齢者の健康及び機能が破局的に低下するリスクの上昇が具体化した一般的な老年性症候群である。虚弱の一因となるものとしては、サルコペニア、骨粗しょう症、及び筋力低下が含まれ得る。筋力低下は、筋疲労（又は「強度の不足」）としても知られ、骨格筋を用いて力を行使できないことを指す。筋力低下はしばしば、病気の結果としての長期間の床上安静等の活動の減少及び筋萎縮に続いて起こる。サルコペニアの結果として筋力低下が徐々に始まることもある。

10

【0355】

本開示のタンパク質は、対象において発症した後のサルコペニア又は虚弱の処置又はリスク群のメンバーである対象におけるサルコペニア又は虚弱の発症の防止に有用である。いくつかの実施形態では、対象によって消費される全タンパク質が、本開示に係るタンパク質である。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質は、その他のタンパク質及び／又は遊離アミノ酸のソースと組み合わせられて、対象の全タンパク質摂取量を提供する。いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、医学的危篤状態、及びタンパク質エネルギー栄養不良に苦しんでいるうちの少なくとも1つである。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質、本開示に係る組成物、又は本開示に係る方法により作製された組成物は、運動の実行とともに消費者に消費される。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質、本開示に係る組成物、又は本開示に係る方法により作製された組成物は、経口、経腸、又は非経口経路で対象によって消費される。

20

30

【0356】

肥満は、高血圧、2型糖尿病、脂質異常症、冠動脈心疾患、脳卒中、癌（例えば、子宮内膜、乳、及び結腸）、変形性関節症、睡眠時無呼吸、及び呼吸器系の問題を含む多数の共存症と関連する多因子疾患である。肥満度指数 $>30\text{ kg/m}^2$ として定義される肥満の発生率は、米国で15%（1976～1980）から33%（2003～2004）へと劇的に上昇しており、上昇し続けている。肥満の一因となるメカニズムは複雑であり、行動的要素とホルモンのプロセス、遺伝子的プロセス、及び代謝のプロセスとの相互作用を含むが、肥満は主に、過剰なエネルギー摂取及び不十分な身体活動の2つを主な原因とする生活習慣依存的状态と考えられている。エネルギー摂取に関して、全エネルギー摂取量を調節しながら食事のタンパク質の割合を適度に増やすことで、身体組成が改善され、脂肪減少が促進され、減量後の体重維持が改善され得るという証拠がある。食事性タンパク質の増加に関連する良い結果は主に、満腹感の上昇に関連したより低いエネルギー摂取量、エネルギー効率の低下及び／又は熱産生の増大、身体組成（特に除脂肪筋肉量）への良い効果、並びに血糖コントロールの向上によるものと考えられる。

40

【0357】

食事性タンパク質は、等カロリーの炭水化物又は脂肪の摂取より、食後エネルギー消費の増大により効果的である（例えば、Dauncey M, Bingham S. "Dependence of 24 h energy expenditure in man on composition of the nutrient intake." Br J Nutr 1983, 50: 1-13; Karst H e

50

t al. "Diet-induced thermogenesis in man: thermic effects of single proteins, carbohydrates and fats depending on their energy amount." *Ann Nutr Metab.* 1984, 28: 245-52; Tappy L et al "Thermic effect of infused amino acids in healthy humans and in subjects with insulin resistance." *Am J Clin Nutr* 1993, 57 (6): 912-6 参照)。この特性は、他の特性（満腹感の誘導；除脂肪体重の保存）と共に、タンパク質を体重管理のための食事の魅力的な成分にしている。このような食事によるエネルギー消費の増加は、一部、タンパク質の消化及び代謝のエネルギーコストが他のカロリー源より高いことによるものであり得る。タンパク質合成を含むタンパク質の代謝回転はエネルギーを消費するプロセスである。更に、高タンパク質食は、肝臓及び褐色脂肪中での脱共役タンパク質を上方調節し得、これはエネルギー消費の増加に正に相関する。種々のタンパク質がエネルギー消費に固有の影響を与え得ると理論付けられている。

10

【0358】

研究により、タンパク質、特に高EAA及び／又はBCAA含有量のタンパク質の摂取は、熱産生及びエネルギー消費に異なる影響を与えることが示唆されている（例えば、Mikkelsen P. et al. "Effect of fat-reduced diets on 24 h energy expenditure: comparisons between animal protein, vegetable protein and carbohydrate." *Am J Clin Nutr* 2000, 72:1135-41; Acheson K. et al. "Protein choices targeting thermogenesis and metabolism." *Am J Clin Nutr* 2011, 93:525-34; Alfenas R. et al. "Effects of protein quality on appetite and energy metabolism in normal weight subjects" *Arg Bras Endocrinol Metabol* 2010, 54 (1): 45-51; Lorenzen J. et al. "The effect of milk proteins on appetite regulation and diet-induced thermogenesis." *J Clin Nutr* 2012 66 (5): 622-7 参照)。更に、L-チロシンは、熱産生において役割を果たすアミノ酸として特定されている（例えば、Belza A. et al. "The beta-adrenergic antagonist propranolol partly abolishes thermogenic response to bioactive food ingredients." *Metabolism* 2009, 58 (8):1137-44 参照)。更なる研究により、ロイシン及びアルギニン補充が、基質を脂肪組織ではなく除脂肪体重へと導くことによりエネルギー代謝を変えるようであることが示唆されている（Dulloo A. "The search for compounds that stimulate thermogenesis in obesity management: from pharmaceuticals to functional food ingredients." *Obes Rev* 2011 12: 866-83)。

20

30

40

【0359】

総合すると、文献は、異なるタンパク質タイプが熱産生に対して異なる効果をもたらすことを示唆している。Tyr、Arg、及びLeuのうちの少なくとも1つ、EAA、並びに／又はBCAAが豊富なタンパク質又はペプチドは、熱産生を刺激する効果があると考えられているので、及び熱産生の刺激は体重管理に良い効果をもたらすと考えられているので、本開示は更に、熱産生を刺激し且つ／又は体重管理全般に良い効果をもたらすの

50

に有用な生産物及び方法を提供する。

【0360】

より具体的には、本開示は、対象において熱産生を増大させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、十分な量の本開示のタンパク質、本開示の組成物、又は本開示の方法により作製された組成物を対象に与えることを含む。いくつかの実施形態では、対象は肥満である。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質、本開示に係る組成物、又は本開示に係る方法により作製された組成物は、運動の実行とともに対象によって消費される。いくつかの実施形態では、本開示に係るタンパク質、本開示に係る組成物、又は本開示に係る方法により作製された組成物は、経口、経腸、又は非経口経路で対象によって消費される。

10

【0361】

基本的に、過体重状態の発生の理由はエネルギー摂取量とエネルギー消費量との不均衡によるものである。任意の特定の機会及び食べる機会の間の食物を減らそう（それぞれ、飽和及び満腹）という試みが近年の研究の主な焦点になっている。食事中に満足を感じるか食事後に満腹であると感じることによるカロリー摂取量の減少は、内部及び外部のシグナルの複雑な相互作用によるものである。種々の栄養研究により、エネルギー密度、含有量、食感、及び味等の食物の特性の変化は飽和及び満腹の両方に影響することが示されている。

【0362】

エネルギーを届ける3つの主要栄養素、すなわち脂肪、炭水化物、及びタンパク質がある。1グラムのタンパク質又は炭水化物は4カロリーを提供し、1グラムの脂肪は9カロリーを提供する。タンパク質は通常、炭水化物又は脂肪より大きく満腹感を増大させるので、カロリー摂取量の低下を容易にし得る。しかし、満腹感の誘導にタンパク質の種類が問題であることを示すかなりの証拠がある（例えば、W. L. Hall, et al. "Casein and whey exert different effects on plasma amino acid profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite." Br J Nutr. 2003 Feb, 89(2):239-48; R. Abou-Samra, et al. "Effect of different protein sources on satiation and short-term satiety when consumed as a starter." Nutr J. 2011 Dec 23, 10:139; T. Akhavan, et al. "Effect of premeal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults." Am J Clin Nutr. 2010 Apr, 91(4):966-75, Epub 2010 Feb 17; MA Veldhorst "Dose-dependent satiating effect of whey relative to casein or soy" Physiol Behav. 2009 Mar 23, 96(4-5):675-82 参照）。証拠は、ロイシンが豊富なタンパク質が満腹感の誘導に特に効果的であることを示している（例えば、Fromentin G et al "Peripheral and central mechanisms involved in the control of food intake by dietary amino acids and proteins." Nutr Res Rev 2012 25: 29-39 参照）。

20

30

40

【0363】

満腹感の誘導に食事性タンパク質が役割を果たすので、本明細書に開示されている改変タンパク質及び栄養組成物は、ヒト等の哺乳動物において満腹反応を誘導するために用いることができる。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、全アミノ酸残基に対する

50

分岐鎖アミノ酸残基の割合が、乳清タンパク質、卵タンパク質、及びソイタンパク質の少なくとも1つに存在する全アミノ酸残基に対する分岐鎖アミノ酸残基の割合以上である。

【0364】

いくつかの実施形態では、本開示の少なくとも1つの改変されたタンパク質又は栄養組成物を対象の食事に組み込むことは、食後満腹感の誘導（空腹感の抑制によるものを含む）、熱産生の誘導、血糖反応の低減、エネルギー消費及び除脂肪体重へのプラスの効果、過食により生じる体重増加の低減、並びにエネルギー摂取量の低減から選択される少なくとも1つの効果を有する。いくつかの実施形態では、本開示の少なくとも1つの改変されたタンパク質又は栄養組成物を対象の食事に組み込むことは、より大幅な体脂肪の減少、より少ない除脂肪組織減少、より良好な脂質プロファイル、並びに耐糖性及びインスリン感受性の向上から選択される少なくとも1つの効果を有する。

10

【0365】

いくつかの実施形態では、対象は、1日0.1～1g、1日1～5g、1日2～10g、1日5～15g、1日10～20g、1日15～30g、1日20～40g、1日25～50g、1日40～80g、1日50～100g、又はそれ以上の割合で改変タンパク質を消費する。いくつかの実施形態では、改変タンパク質は、1食、1日、2日、3日、4日、5日、1週間、2週間、3週間、1ヶ月、1～3ヶ月、2～6ヶ月、6～12ヶ月、又はそれ以上の期間にわたる対象のカロリー摂取量の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、又は少なくとも50%を占める。

20

【実施例】

【0366】

本明細書に記載されている技術及びプロトコルの例はRemington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. (ed), 1980に見出すことができる。

【0367】

以下に本発明を実施するための具体的な実施形態の例を示す。実施例は説明のみを目的として提供されるものであり、本発明の範囲を何ら限定するものではない。使用される数字（例えば、量、温度等）に関して正確性を確実にするよう努力したが、当然ながら、いくらかの実験的な誤差及び偏差が考慮されるべきである。

30

【0368】

本発明の実施には、特に断りのない限り、当該技術分野の技術に含まれるタンパク質化学、生化学、組換えDNA技術、及び薬理学の従来の方法が用いられる。そのような技術は文献に十分に説明されている。例えばT. E. Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (W. H. Freeman and Company, 1993); A. L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd Edition, 1989); Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg Advanced Organic Chemistry 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B (1992) 参照。

40

【0369】

実施例1：タンパク質ライブラリーの構築

UniProtデータベースにより定義される選択された微生物の注釈付きプロテオーム

50

ム中に参照分泌タンパク質を特定した。具体的には、種々の細胞原形質膜の外側に存在することが観察されている及び／又はそのように注釈されているタンパク質を特定した。この方法を、属 *Acremonium*、*Aspergillus*、*Chrysosporium*、*Corynebacterium*、*Fusarium*、*Penicillium*、*Pichia pastoris*、*Rhizopus*、*Synechocystis*、*Synechococcus*、*Trametes*、及び *Trichoderma* の全ての種、並びに *Bacillus subtilis*、*Escherichia coli*、及び *Saccharomyces cerevisiae* に適用してタンパク質ライブラリーを構築した。各属（種）の選択されたタンパク質をそれらの UniProt ID を用いて付録 A に記載する。

10

【0370】

タンパク質及びタンパク質の断片の非限定的な例を以下の実施例中に示す。

【0371】

実施例 2：改変のための参照分泌タンパク質の選択

NCBI Conserved Domain Database (Marchler-Bauer A., and Bryant, S. H. "CD-Search: protein domain annotations on the fly". *Nuc. Acid. Res.* (2004) 32: W327-W331) には、タンパク質間結合相互作用を再改変するための過去の研究で用いられたタンパク質ドメイン及び／又はフォールドが含まれている。(Binz, KH, and Pluckthun, A. "Engineered proteins as specific binding reagents". *Curr. Op. Biotech.* (2005) 16: 459-469; Gebauer, M. and Skerra, A. "Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics". *Curr. Op. Chem. Biol.* (2009) 13: 245-255; Lehtio, J., Teeri T. T., and Nygren P. A. "Alpha-Amylase Inhibitors Selected From a Combinatorial Library of a Cellulose Binding Domain Scaffold". *Proteins: Struct., Func., Gene.* (2000) 41: 316-322; and Olson CA and Roberts RW. "Design, expression, and stability of a diverse protein library based on the human fibronectin type III domain". *Prot. Sci.* (2007) 16: 476-484)。したがって、データベースは、公知の変異性の位置又は領域を有する強固で安定なフォールドを含むことが予想されるタンパク質足場の特定に用いることができ、そのような変異性の位置又は領域は、所望の全体的アミノ酸分布に一致するように合わせることができる。

20

30

【0372】

本実験では、この分析に選択されたフォールド／ドメインは、アンキリンリピート、ロイシンリッチリピート、テトラトリコペプチドリピート、アルマジロリピート、フィブロネクチン III 型ドメイン、リボカリン様ドメイン、ノッチン、セルロース結合ドメイン、炭水化物結合ドメイン、プロテイン Z フォールド、PDZ ドメイン、SH3 ドメイン、SH2 ドメイン、WW ドメイン、チオレドキシン、ロイシンジッパー、植物ホメオドメイン、tudor ドメイン、及びヒドロホビンであった。

40

【0373】

各タイプのフォールド／ドメインを含む代表的タンパク質を付録 B に示す。

【0374】

Aspergillus、*Trichoderma*、*Penicillium*、*Chr*

50

ysosporium、Trametes、及びRhizopus 真菌属に属する種によって分泌されると考えられる又は分泌されることが知られているタンパク質中の候補フォールド／ドメインを特定するために、NCBI Blast ツールキット v 2. 2. 26 + (Marchler-Bauer 2004, Altschul 1997) に実装されている逆位置特異的blast (reverse position specific blast: rpsblast) アルゴリズムを用いて可能性のある保存ドメインを特定した。以下のデフォルトパラメーターを用いて、付録Aに記載されている属のセクレトームタンパク質をスクリーニングした: gap opening penalty = -11、gap extension penalty = -1、e-value cutoff = 1、及びBLOSUM62のscoring matrix。

10

【0375】

この方法を用いて、目的のフォールド／ドメインの少なくとも1つを含むタンパク質を特定した。RPSblast アルゴリズムを用いて配列のデータベースをサーチした時、ヒットは、フォールド／ドメイン及びフォールド／ドメインと最もマッチする配列範囲の両方により定義された。これらの配列ブックエンドはしばしばフォールドの範囲全体をカバーしないことが確認されているので、タンパク質配列をチェックし、フォールドがどこで始まり且つ／又は終わるかについてのよりクリアな画像を通常提供した結晶構造を参照してドメインを拡張又は短縮した。

【0376】

セルロース結合ドメイン、炭水化物結合モジュール、フィブロネクチンIII型ドメイン、及びヒドロホビンを含む特定されたタンパク質を4つの表に記載する。

20

【0377】

【表 1】

セルロース結合ドメイン：

ヒット名	UniProt受け入れ番号（結合ドメイン位置の開始：終了）
アセチルキシランエステラーゼ A	Q4WBW4 (339:371), Q99034 (270:302), A1DBP9 (335:368), Q8NJP6 (349:382)
1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼ B	A1CU44 (507:539), B0Y8K2 (500:532), Q4WM08 (500:532), Q0CMT2 (509:541), Q8NK02 (494:526), A1DNL0 (498:530)
1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼ C	A1CCN4 (24:54), B0XWL3 (22:55), Q4WFK4 (22:55), A2QYR9 (21:53), Q0CFP1 (23:54), Q5B2E8 (22:55), A1DJQ7 (22:55)
エンド-β-1, 4-グルカナーゼ D	A1C4H2 (318:351), B0Y9G4 (316:347), B8MXJ7 (332:365), Q4WBU0 (316:347), Q96WQ9 (372:405), A2R5N0 (378:409), Q2US83 (332:365), Q0CEU4 (327:358), Q5BCX8 (324:355), A1DBS6 (315:346)
フェルロイルエステラーゼ B	Q9HE18 (320:353)
エンドグルカナーゼ-4	O14405 (311:343)
エキソグルカナーゼ 1 及び 2	P62694 (481:513), Q06886 (506:537), P13860 (485:516), Q9P8P3 (472:505), P62695 (481:513), P07987 (30:62)
マンナンエンド-1, 4-β-マンノシダーゼ F	A1C8U0 (21:54), B0Y9E7 (21:54), B8NIV9 (21:54), Q4WBS1 (21:54), Q2U2I3 (21:54), Q5AR04 (20:53), A1DBV1 (21:54)

10

20

【0378】

【表 2】

炭水化物結合モジュール：

ヒット名	UniProt受け入れ（結合モジュール位置の開始：終了）
α-ガラクトシダーゼ D(CBM35)	B0YEK2 (497:646), B8N7Z0 (505:654), A4DA70 (497:646), A2R2S6 (508:658), Q2UI87 (507:656), Q0CVX4 (504:653), Q5AX28 (506:657), A1D9S3 (497:646)
α-グルクロニダーゼ A(CBM6)	A1CC12 (698:833), B0Y2K1 (698:833), Q4WW45 (698:833), Q5AQZ4 (705:840), Q99024 (709:840)
キチナーゼ 1 及び 2 (CBD19)	P29026 (353:398), P29027 (355:400)
グルコアミラーゼ(CBM20)	P69328 (547:639), P69327 (543:634), P36914 (513:603), P23176 (542:638), P22832 (542:638), A2QHE1 (543:639)

40

【0379】

【表 3】

フィブロネクチン I I I 型ドメイン：

ヒット名	UniProt 受け入れ番号 (結合モジュール位置の開始：終了)
β -グルコシダーゼ A	A1CR85(786:854), B0XPE1(792:860), B8NRX2 (780:848), Q4WJJ3 (792:860), P87076 (779:847), A2RAL4 (779:847), Q2UUD6 (780:848), D0VKF5 (780:848), Q0CTD7 (780:848), Q5B5S8 (782:850), A1D451 (792:860)
β -グルコシダーゼ D	B8NJF4 (668:737), A2QPK4 (670:739), Q2UNR0 (668:737), Q5AUW5 (728:797)
β -グルコシダーゼ F	B0Y7Q8 (781:853), B8NP65 (777:850), Q4WMU3 (781:853), Q2UN12 (777:850), Q0CI67 (778:851), Q5B6C6 (779:852), A1DMR8 (781:853)
β -グルコシダーゼ G	B8NMR5 (731:801), Q2U325 (731:801), Q0CUC1 (731:801), Q5B0F4 (735:805), A1DC16 (731:801)
β -グルコシダーゼ H、I、J	A1CUR8 (742:809), B0XM94 (742:809), B8NPL7 (738:807), Q4WL79 (742:809), Q2U9M7 (738:807), Q5B6C7 (742:811), A1DPG0 (742:809), A1CA51 (748:815), B0Y3M6 (748:815), B8NDE2 (749:809), Q4WU49 (748:815), A2R989 (728:795), Q2USY5 (749:816), Q0CAF5 (749:816), Q5BB53 (749:816), A1DFA8 (748:815), B0Y8M8 (772:844), Q4WLY1 (772:844), Q5AV15 (758:826), A1DNN8 (771:843)
β -グルコシダーゼ K	Q5BA18 (746:818)
β -グルコシダーゼ L、M、N、O	B0YB65 (654:724), Q4WGT3 (654:724), Q0CEF3 (655:725), Q5B9F2 (656:726), A1DCV5 (654:724), B0XPB8 (692:758), B8N5S6 (691:757), Q4WR62 (692:758), A5ABF5 (688:754), Q2UDK7 (691:757), Q0C7L4 (705:771), Q5AWD4 (695:761), A1D122 (692:758), Q5B681 (587:656), Q5BG51 (477:516)
エキソ-1, 4- β -キシロシダーゼ b x 1 B	A1CCL9 (674:740), Q0CB82 (666:732), Q5ATH9 (666:732)
エキソ-1, 4- β -キシロシダーゼ b x 1 D	Q4AEG8 (728:776), B0XP71 (695:758), B8MYV0 (700:763), Q4WRB0 (695:758), A2QA27 (728:776), O00089 (728:776), Q2UR38 (701:764), Q0CMH8 (695:758), Q5BAS1 (692:755)
キチナーゼ 1 及び 2	P29026 (34:304), P29027 (34:299)
4.2 kDa エンドキチナーゼ	P48827 (43:291)
アルカリプロテアーゼ 1	A1CIA7 (186:363), B0Y708 (153:363), P35211 (187:364), B8N106 (153:360), P28296 (153:363), P12547 (153:360), Q00208 (152:359), A1CWF3 (153:363)

10

20

30

40

【 0 3 8 0 】

【表 4】

ヒドロホビン：

ヒット名	UniProt受け入れ番号（ヒドロホビン位置の開始：終了）
ヒドロホビン _{dewA}	P52750
ヒドロホビン-1、2	P52754 (29:94), P79073 (18:82)
細胞壁タンパク質 _{qid3}	P52755 (73:123)
ヒドロホビン	P41746 (58:156)
Rodletタンパク質	P28346 (59:154)

10

【0381】

実施例 3：置換のための参照分泌タンパク質のアミノ酸位置の特定：方法

位置アミノ酸尤度、位置エントロピー、相対的フォールディング自由エネルギーに対する変異の影響、及び二次構造の種類を分析することにより、栄養アミノ酸による置換のための参照分泌タンパク質中の位置を特定した。

【0382】

20

位置アミノ酸尤度

【0383】

所与のクエリータンパク質配列について、クエリーとNCBIの非重複タンパク質ライブラリーとのローカル配列アラインメントを行うことにより、相同なタンパク質を特定した。NCBIツールキットv. 2. 2. 26+のblastpプログラム(Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., and Lipman D. J. "Basic Local Alignment Search Tool". J. Mol. Biol. (1990) 215: 403-410)を、 $e\text{-value cutoff}=1$ 、 $\text{gap opening penalty}=-11$ 、 $\text{gap extension penalty}=-1$ 、及びBLOSUM62 scoring matrixで用いて、最初のローカルアラインメントを行った。得られたライブラリーのマルチプル配列アラインメントを、Discovery Studio v3.1 (Accelrys Software Inc., Discovery Studio Modeling Environment, Release 3.1, San Diego: Accelrys Software Inc., 2012)に実装されているAlign123アルゴリズムを用いて行った。DSCアルゴリズム(King R. D., Sternberg M. J. E. "Identification and application of the concepts important for accurate and reliable protein secondary structure prediction". Prot. Sci. (1996) 5: 2298-2310)をweight=1で用いて残基二次構造を帰属させた。Smith及びWatermanアルゴリズムを、 $\text{Gap opening penalty}=-10$ 及び $\text{gap extension penalty}=-0.1$ 、並びにBLOSUM30 scoring matrixで用いて、ペアワイズアラインメントを行った。より高次のアラインメントでは、BLOSUM scoring matrix set、 $\text{gap opening penalty}=-10$ 、 $\text{gap extension penalty}=-0.5$ 、及びalignment delay identity cutoff (delay divergent parameter) = 40%を用いた。

30

40

【0384】

50

ローカルアラインメント期待値が1未満の全タンパク質（75～1000の個別ヒット）を特定し、アラインメントしてマルチプル配列アラインメント（MSA）を作成した。各MSAに用いたタンパク質を付録Cに示す。

【0385】

このMSAから、タンパク質配列中の各位置に各アミノ酸（又はアミノ酸のグループのメンバー）が観察される確率を、MATLAB 2012aソフトウェアを用いて計算した。所与の位置について、任意の所与のアミノ酸（又はアミノ酸のグループ）の尤度は、MSA中の全配列にわたってそのアミノ酸（又はアミノ酸のグループ）が観察される確率に等しい。このデータから、各所与のアミノ酸置換に耐えられることが期待される位置の順位付けされたリストをそのタンパク質について作成した。次いで、順位付けされた表を分析して、栄養アミノ酸含有量の所与の増加を達成するために必要な置換数を評価した。

10

【0386】

本明細書に開示されている実施例では、参照タンパク質配列中の非Leuアミノ酸のLeuによる置換を調べた。すなわち、参照タンパク質中の非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換した。当業者に理解されるように、このアプローチは任意のアミノ酸又はアミノ酸のグループ（例えば、必須アミノ酸、分岐鎖アミノ酸、又は特定の分岐鎖アミノ酸Ile若しくはVal）に広く応用することができる。

【0387】

順位付けされた表を用いて、Leu尤度スコアが少なくとも所与の閾値である位置に現れる1又は複数の非Leu残基がLeuアミノ酸で置換された参照タンパク質の改変バージョンを作製することができる。以下に示す実施例では、全ての可能な閾値を調べ、結果をグラフで示している。例えば、Leu尤度閾値0.6に対応する参照タンパク質の改変バージョンを作製するためには、Leu尤度スコアが少なくとも0.6である参照タンパク質中の非Leuアミノ酸を特定し、Leuで置換して、より多くのLeuアミノ酸を含む改変タンパク質配列を作製する。

20

【0388】

如何なる特定の理論にも限定されるものではないが、Leuアミノ酸を有さないが、相同なタンパク質中でLeuアミノ酸に対応する、参照タンパク質中の位置は、Leuアミノ酸を用いた非Leuアミノ酸の置換におそらく耐えられると考えられる。あるいは、参照タンパク質中の各アミノ酸位置の分岐鎖アミノ酸（BCAA）尤度スコアを上記のように計算することができ、その後、Leuアミノ酸を有さないが相同なタンパク質中で特定の発生頻度の任意のBCAAに対応する参照タンパク質中の位置を特定してLeuで置換することができる。別の戦略では、参照タンパク質中の各アミノ酸位置の疎水性アミノ酸尤度スコア（疎水性アミノ酸は、Ala、Met、Ile、Leu、及びValからなる）を上記のように計算し、その後、Leuアミノ酸を有さないが相同なタンパク質中で特定の発生頻度の任意の疎水性アミノ酸に対応する参照タンパク質中の位置を特定してLeuで置換することができる。

30

【0389】

位置エントロピー

【0390】

更に、マルチプル配列アラインメントを用いて、全アミノ酸のアルファベット、AA=[A、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y、V]を用いて、所与の参照アミノ酸配列中の各アミノ酸位置のエントロピーを計算した：

40

【0391】

【数2】

$$S = -\sum_{j \in AA} p_j \ln p_j$$

【0392】

式中、 p_j は、その位置にアミノ酸 j を見る確率である。上記の等式を用いて、MAT

50

L A B 2 0 1 2 a 中で実行される組織内部コードを用いて、各位置のエントロピーを計算した。これは、アミノ酸分布の広がり の 尺度である。可変性の高い位置ではエントロピーが大きく（ある位置における最大エントロピーは、各アミノ酸の可能性が等しいことに相当し、これは 2.996 のエントロピーとなる）、高度に保存された位置のエントロピーは 0 に近い。

【0393】

次いで、計算されたエントロピーに基づいて、タンパク質中の各アミノ酸残基を順位付けして、種々の置換に耐えると考えられる位置を見出した。所望のアミノ酸濃縮のために、重量を基準として所与のアミノ酸の割合又は栄養含有量（例えば、必須アミノ酸含有量又は分岐鎖アミノ酸含有量）を達成するために必要な変異の数及び最も起こりにくい変異の確率を決定した。

10

【0394】

この方法の変法では、同じ分析を行うが、位置エントロピーの計算に全アミノ酸アルファベットを用いる代わりに、以下のように生理化学的特性に基づいてアミノ酸をグループ化した：疎水性 [A、V、I、L、M]、芳香族 [F、Y、W]、極性 [S、T、N、Q]、荷電 [R、H、K、D、E]、及び非分類 [G、P、C]。前述のように、その後、計算されたエントロピーに基づいてタンパク質中の各アミノ酸残基を順位付けして種々の置換に耐える可能性が高い位置を見出した。所望のアミノ酸濃縮について、重量を基準として所与のアミノ酸の割合又は栄養含有量（例えば、必須アミノ酸含有量又は分岐鎖アミノ酸含有量）を達成するために必要な変異の数及び最も起こりにくい変異の確率を決定した。この生理化学的アルファベットを用いると、今度は p_j は位置 j に各アミノ酸タイプ（疎水性、芳香族、極性、荷電、又は非分類）を見る確率に対応する。これらのアミノ酸タイプ (A A T y p e) の確率は、その種類の各アミノ酸を見る確率の和である。位置エントロピーの等式は、理論的最大値がこの場合は $\ln(5) = 1.6$ であるが、同じである。

20

【0395】

相対的フォールディング自由エネルギー

【0396】

如何なる特定の理論にも限定されるものではないが、本明細書に記載の方法に従って改変された所与の分泌タンパク質は、それが変異後に機能的な分泌リーダー配列を有しており且つ安定で類似な構造的フォールドを維持している限り、分泌され続けると考えられる。したがって、その栄養特性を修飾するためのアミノ酸置換を参照分泌タンパク質に行うことの相対的フォールディング自由エネルギーの影響を分析するために、既知の構造的ホモログの構造に基づいてタンパク質の全原子構造モデルを構築した。全構造モデル及び自由エネルギーの計算は、Discovery Studio v3.1 (Accelrys Software Inc., Discovery Studio Modeling Environment, Release 3.1, San Diego: Accelrys Software Inc., 2012) を用いて行った。可能な場合、タンパク質データバンク (H. M. Berman, K. Henrick, H. Nakamura. "Announcing the worldwide Protein Data Bank Nature Structural Biology". Nat. Struct. Biol. (2003) 10: 98) からタンパク質構造モデルを得た。タンパク質データベースでタンパク質モデルが利用可能でなかった場合、Discovery Studio v3.1 (Accelrys Software Inc., Discovery Studio Modeling Environment, Release 3.1, San Diego: Accelrys Software Inc., 2012) に実装されている相同性モデリングソフトウェア MODELLER (Eswar, N.; Eramian, D.; Webb, B.; Shen, M. Y.; Sali, A. "Protein structure modeling with MODELLER". Meth

30

40

50

ods Mol. Biol. (2008) 426: 145-159) を用いて最も近い利用可能な構造的ホモログを用いてモデルを構築した。全てのエネルギーは、Discovery Studio v3.1 (Accelrys 2012) に実装されているCHARMMソフトウェアパッケージ (Brooks, B. R.; Brooks, C. L. 3rd; Mackerell, A. D. Jr.; Nilsson, L.; Petrella, R. J.; Roux, B.; Won, Y.; Archontis, G.; Bartels, C.; Boresch, S.; Caflisch, A.; Caves, L.; Cui, Q.; DINNER, A. R.; Feig, M.; Fischer, S.; Gao, J.; Hodosscek, M.; Im, W.; Kuczera, K.; Lazaridis, T.; Ma, J.; Ovchinnikov, V.; Paci, E.; Pastor, R. W.; Post, C. B.; Pu, J. Z.; Schaefer, M.; Tidor, B.; Venable, R. M.; Woodcock, H. L.; Wu, X.; Yang, W.; York, D. M.; Karplus, M. "CHARMM: the biomolecular simulation program". J. Comput. Chem. (2009) 30: 1545-1614) 及びCHARMM極性水素力場を用いて、generalized born 静電モデル (Spasov V. Z., Yan L., and Szalma S. "Introducing an Implicit Membrane in Generalized Born/Solvent Accessibility Continuum Solvent Models". J. Phys. Chem. B. (2002) 106: 8726-8738) 及び経験的配置エントロピーモデル (empirical configurational entropy model) (Abagyan R. and Totrov M. "Biased Probability Monte Carlo Conformational Searches and Electrostatic Calculations for Peptides and Proteins". J. Mol. Biol. (1994) 235: 983-1002) を用いて計算された。

【0397】

各位置について、野生型フォールディング自由エネルギーに対する、全ての可能な単一アミノ酸変異のフォールディングの自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) を計算した。次いで、フォールディングの安定性に与える予想される影響に基づいて各アミノ酸置換を順位付けした。本発明者らは更に各 $\Delta \Delta G_{fold}$ を、ファンデルワールス、静電的、及び熱力学的エントロピー的自由エネルギーの変化からの寄与に分解した。全ての可能な変異の組合せで $\Delta \Delta G_{fold}$ を有さない場合、各変異が各自由エネルギー成分にどのように影響するかを知ることにより、インシリコ予測を用いてあり得る誤差を低減する方法が得られる。単一タンパク質の作製に複数の変異を選択する場合、考慮すべき事項の1つは $\Delta \Delta G_{fold}$ を最小化することであるが、しかし、場合によっては、 $\Delta \Delta G_{fold}$ の変化が同等である複数の変異が利用可能である。インシリコモデルにおいてあり得る欠点を考えると、所与のタンパク質について、計算されるエネルギー変化の1成分は別の成分より予測性が高くなり得る。したがって、様々な方法で自由エネルギー変化に影響する組合せを選択することにより、成功する変異体の組合せを見出す可能性が上がる。

【0398】

二次構造の種類

【0399】

ループ残基は、特定の主鎖水素結合パターンの一部でなく (すなわち、二次構造がない)、しばしばかなりの構造的変性を示す (Shehu, A.; Kavraki, L. E. Modeling Structures and Motions of Loops in Protein Molecules. Entropy 2012

, 14, 252-290) ので、所与のタンパク質の構造モデルを考慮して、DSC アルゴリズム (King R. D., Sternberg M. J. E. "Identification and application of the concepts important for accurate and reliable protein secondary structure prediction". Prot. Sci. (1996) 5: 2298-2310) を用いてこれらの残基を特定した。更に、これらの部位はしばしば、タンパク質間又はタンパク質-リガンド間の相互作用における機能的可変性の原因となり (Lehtio, J., Teri T. T., and Nygren P. A. "Alpha-Amylase Inhibitors Selected From a Combinatorial Library of a Cellulose Binding Domain Scaffold". Proteins: Struct., Func., Gen., (2000) 41: 316-322; Bloom L. and Calabro V. "FN3: a new protein scaffold reaches the clinic". Drug Disc. Today (14): 949:955; Hackel B. J., Kapila A., and Witttrup K. D. "Picomolar Affinity Fibronectin Domains Engineered Utilizing Loop Length Diversity, Recursive Mutagenesis, and Loop Shuffling". J. Mol. Biol. (2008) 381: 1238-1252; 及び Olson CA and Roberts RW. "Design, expression, and stability of a diverse protein library based on the human fibronectin type III domain". Prot. Sci. (2007) 16: 476-484)、これらの残基の部位特異的突然変異誘発は安定性に顕著な影響を与えずに結合特異性を変えることができる。したがって、これらの位置の一次及び三次構造の可塑性のため、これらの位置は栄養含有量を向上させるための配列変化への優先順位が高くなる。

【0400】

実施例 4: A. niger グルコアミラーゼタンパク質 (配列番号 1) における置換のためのアミノ酸位置の特定 30

A. niger (配列番号 1) のグルコアミラーゼは、7.4 重量%の Leu、17.4 重量%の分岐鎖アミノ酸、及び 42.2 重量%の必須アミノ酸を含む。

【0401】

図 1 A は、0~1 の種々の Leu 尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置にある全非 Leu アミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質の (重量による) アミノ酸含有量を分析している。具体的には、配列番号 1 中の Leu、BCAA、及び EAA の重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値が X 軸に示されている。したがって、例えば、X 軸上の値 0.6 は、Leu 尤度スコアが少なくとも 0.6 である配列番号 1 中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非 Leu アミノ酸を Leu アミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要な Leu 置換後のタンパク質中の Leu、BCAA、及び EAA の重量による割合が Y 軸に示されている。下のパネルでは、Y 軸は、X 軸上の所与の Leu 尤度スコアを有する全アミノ酸位置を改変タンパク質中で Leu アミノ酸が占めた場合にタンパク質になされる Leu 置換の総数を示している。図 1 B の上及び下のパネルは、0~0.3 の Leu 尤度スコアのデータ (すなわち、図 1 A に示すグラフの左側部分) のクローズアップ図を示している。 40

【0402】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するために Leu 尤度を計算する代わりに BCAA 尤度 (図 1 C) 及び疎水性アミノ酸尤度 (図 1 D) を計算し 50

、特定された位置の全非 L e u アミノ酸を L e u アミノ酸で置換した。予想された通り、これら 2 つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非 L e u アミノ酸が L e u で置換される。

【0403】

次いで、L e u による置換のためのアミノ酸位置の順位付けにアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図 2 A に示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図 2 B に示す。

【0404】

配列番号 1 における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対する、配列番号 1 中の非 L e u アミノ酸の L e u への全ての可能な単一アミノ酸変異についてのフォールディングの自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) を計算した。次いで、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて各アミノ酸置換を順位付けした。結果を図 3 A、上のパネルに示す。本発明者らは更に、各 $\Delta \Delta G_{fold}$ を、ファンデルワールス、静電的、及び熱力学的エントロピー的自由エネルギーの変化に由来する寄与に分解した (図 3 A、下側の 3 つのパネル)。全ての変異が好ましいフォールディング自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold} < 0$) をもたらすと予想されたとすると、21% が VDW エネルギー変化、76% が静電エネルギー変化、3% がエントロピー的自由エネルギー変化により推進 (drive) される。したがって、変異の大部分は好ましい vdw 変化を介して安定性を向上させると予想されるが、静電変化により多くが推進され、バランスのとれたヘッジングされたアプローチは、vdw 及び静電エネルギーを向上させる変異体の選択を伴う。

【0405】

配列番号 1 中の各アミノ酸について、ループ I D (1 = ループ; 0 = 非ループ)、L e u 尤度、B C A A 尤度、E A A 尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) (L e u による置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (L e u による置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (L e u による置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (L e u による置換の) を計算した。結果を付録 D の表 1 に示す。

【0406】

実施例 5 : A. n i g e r のエンド- β -1, 4-グルカナーゼタンパク質 (配列番号 2) 中における置換のためのアミノ酸位置の特定

A. n i g e r のエンド- β -1, 4-グルカナーゼ (配列番号 2) は、6. 2 重量% の L e u、16. 5 重量% の分岐鎖アミノ酸、及び 45. 6 重量% の必須アミノ酸を含む。

【0407】

図 4 A は、0 ~ 1 の種々の L e u 尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非 L e u アミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量 (重量を基準) を分析している。具体的には、配列番号 2 中の L e u、B C A A、及び E A A の重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値が X 軸に示されている。したがって、例えば、X 軸上の値 0. 6 は、L e u 尤度スコアが少なくとも 0. 6 の配列番号 2 中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非 L e u アミノ酸を L e u アミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要な L e u 置換を行った後のタンパク質中の L e u、B C A A、及び E A A の重量による割合が Y 軸に示されている。下のパネルでは、Y 軸は、X 軸上の所与の L e u 尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中で L e u アミノ酸で占められた場合にタンパク質になされる L e u 置換の総数を示している。図 4 B の上及び下のパネルは、図 4 A に示されているグラフの左端 (0 ~ 0. 3 の L e u 尤度スコア) のクロ

ーズアップ図である。

【0408】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにL e u尤度を評価する代わりにM S Aデータ中のB C A A尤度及び疎水性アミノ酸尤度を用いてアミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置の全非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換した。結果を図4 C (B C A A確率) 及び図4 D (位置エントロピー) に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非L e uアミノ酸がL e uアミノ酸で置換される。

【0409】

L e uによる置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図5 Aに示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図5 Bに示す。

【0410】

更に、配列番号2における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対して、配列番号2中の非L e uアミノ酸のL e uへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) を計算した。次いで、各アミノ酸置換について、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図6に示す。

【0411】

配列番号2中の各アミノ酸について、ループI D (1 = ループ; 0 = 非ループ)、L e u尤度、B C A A尤度、E A A尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) (L e uによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (L e uによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (L e uによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (L e uによる置換の) を計算した。結果を付録Dの表2に示す。

【0412】

実施例5: A. n i g e r の1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼタンパク質 (配列番号3) 中における置換のためのアミノ酸位置の特定

A. n i g e r の1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼ (配列番号3) は、5. 5重量%のL e u、13. 1重量%の分岐鎖アミノ酸、及び37. 7重量%の必須アミノ酸を含む。

【0413】

図7 Aは、0~1の種々のL e u尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非L e uアミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量 (重量を基準) を分析している。具体的には、配列番号3中のL e u、B C A A、及びE A Aの重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値がX軸に示されている。したがって、例えば、X軸上の値0. 6は、L e u尤度スコアが少なくとも0. 6の配列番号3中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要なL e u置換を行った後のタンパク質中のL e u、B C A A、及びE A Aの重量による割合がY軸に示されている。下のパネルでは、Y軸は、X軸上の所与のL e u尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中でL e uアミノ酸で占められた場合にタンパク質になされるL e u置換の総数を示している。図7 Bの上及び下のパネルは、図7 Aに示されているグラフの左端 (0~0. 3のL e u尤度スコア) のクローズアップ図を示している。

【0414】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにL e u尤度を評価する代わりにM S Aデータ中のB C A A尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置の全非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換した。結果を図7 C (B C A A尤度) 及び図7 D (疎水性アミノ酸尤度) に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非L e uアミノ酸がL e uアミノ酸で置換される。

【0415】

L e uによる置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図8 Aに示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図8 Bに示す。

10

【0416】

更に、配列番号3における野生型のフォールディングの自由エネルギーと比べた、配列番号3中の非L e uアミノ酸のL e uへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) を計算した。各アミノ酸置換について、フォールディングの安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図9に示す。

【0417】

配列番号3中の各アミノ酸について、ループI D (1 = ループ; 0 = 非ループ)、L e u尤度、B C A A尤度、E A A尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) (L e uによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (L e uによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (L e uによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (L e uによる置換の) を計算した。結果を付録Dの表3に示す。

20

【0418】

実施例6: A. *n i g e r*のエンドー1, 4- β -キシラナーゼタンパク質 (配列番号4) 中における置換のためのアミノ酸位置の特定

30

A. *n i g e r*のエンドー1, 4- β -キシラナーゼ (配列番号4) は、2. 2重量%のL e u、12. 6重量%の分岐鎖アミノ酸、及び37. 4重量%の必須アミノ酸を含む。

【0419】

図10 Aは、0~1の種々のL e u尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非L e uアミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量 (重量を基準) を分析している。具体的には、配列番号4中のL e u、B C A A、及びE A Aの重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値がX軸に示されている。したがって、例えば、X軸上の値0. 6は、L e u尤度スコアが少なくとも0. 6の配列番号4中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要なL e u置換を行った後のタンパク質中のL e u、B C A A、及びE A Aの重量による割合がY軸に示されている。下のパネルでは、Y軸は、X軸上の所与のL e u尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中でL e uアミノ酸で占められた場合にタンパク質になされるL e u置換の総数を示している。図10 Bの上及び下のパネルは、図10 Aに示されているグラフの左端 (0~0. 3のL e u尤度スコア) のクローズアップ図を示している。

40

【0420】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにL e u尤度を評価する代わりにM S Aデータ中のB C A A尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してア

50

ミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置のまさにその非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換した。結果を図10C（BCAA尤度）及び図10D（疎水性アミノ酸尤度）に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非L e uアミノ酸がL e uで置換される。

【0421】

L e uによる置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図11Aに示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図11Bに示す。

【0422】

更に、配列番号4における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対して、配列番号4中の非L e uアミノ酸のL e uへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー（ $\Delta \Delta G_{fold}$ ）を計算した。各アミノ酸置換について、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図12に示す。

【0423】

配列番号4中の各アミノ酸について、ループID（1＝ループ；0＝非ループ）、L e u尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー（ $\Delta \Delta G_{fold}$ ）（L e uによる置換の）、フォールディングの全自由エネルギーへのファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与（ $\Delta \Delta G_{fold} \text{ VDW}$ ）（L e uによる置換の）、フォールディングの全自由エネルギーへの静電自由エネルギー変化の寄与（ $\Delta \Delta G_{fold} \text{ Elec}$ ）（L e uによる置換の）、及びフォールディングの全自由エネルギーへの熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与（ $\Delta \Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$ ）（L e uによる置換の）を計算した。結果を付録Dの表4に示す。

【0424】

実施例7：A. n i g e rのセルロース結合ドメイン1タンパク質（配列番号5）中における置換のためのアミノ酸位置の特定

A. n i g e r（配列番号5）のセルロース結合ドメイン1は、3.0重量%のL e u、5.6重量%の分岐鎖アミノ酸、及び23.8重量%の必須アミノ酸を含む。

【0425】

図13Aは、0～1の種々のL e u尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非L e uアミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量（重量を基準）を分析している。具体的には、配列番号5中のL e u、BCAA、及びEAAの重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値がX軸に示されている。したがって、例えば、X軸上の値0.6は、L e u尤度スコアが少なくとも0.6である配列番号5中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要なL e u置換を行った後のタンパク質中のL e u、BCAA、及びEAAの重量による割合がY軸に示されている。下のパネルでは、Y軸は、X軸上の所与のL e u尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中でL e uアミノ酸で占められた場合にタンパク質になされるL e u置換の総数を示している。図13Bの上及び下のパネルは、図13Aに示されているグラフの左端（0～0.3のL e u尤度スコア）のクローズアップ図を示している。

【0426】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにL e u尤度を評価する代わりにMSAデータ中のBCAA尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、特定された位置の全非L e uアミノ酸をL e uアミノ酸で置換した。結果を図13C（BCAA尤度）及び図13D（疎水性アミノ酸尤度）に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより

10

20

30

40

50

多くの非 L e u アミノ酸が L e u で置換される。

【0427】

L e u による置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図 14 A に示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図 14 B に示す。

【0428】

更に、配列番号 5 における野生型のフォールディングの自由エネルギーと比べた、配列番号 5 中の非 L e u アミノ酸の L e u への全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) を計算した。各アミノ酸置換について、

10

【0429】

配列番号 5 中の各アミノ酸について、ループ I D (1 = ループ; 0 = 非ループ)、L e u 尤度、B C A A 尤度、E A A 尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta \Delta G_{fold}$) (L e u による置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (L e u による置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (L e u による置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta \Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (L e u による置換の) を計算した。結果を付録 D の表 5 に示す。

20

【0430】

実施例 8 : A. n i g e r の炭水化物結合モジュール 20 タンパク質 (配列番号 6) 中における置換のためのアミノ酸位置の特定

A. n i g e r の炭水化物結合モジュール 20 タンパク質 (配列番号 6) は、5.7 重量%の L e u、17.2 重量%の分岐鎖アミノ酸、及び 44.6 重量%の必須アミノ酸を含む。

【0431】

図 16 A は、0 ~ 1 の種々の L e u 尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非 L e u アミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量 (重量を基準) を分析している。具体的には、配列番号 6 中の L e u、B C A A、及び E A A の重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値が X 軸に示されている。したがって、例えば、X 軸上の値 0.6 は、L e u 尤度スコアが少なくとも 0.6 の配列番号 6 中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非 L e u アミノ酸を L e u アミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要な L e u 置換後のタンパク質中の L e u、B C A A、及び E A A の重量による割合が Y 軸に示されている。下のパネルでは、Y 軸は、X 軸上の所与の L e u 尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中で L e u アミノ酸で占められた場合にタンパク質になされる L e u 置換の総数を示している。図 16 B の上及び下のパネルは、図 16 A に示されているグラフの左端 (0 ~ 0.3 の L e u 尤度スコア) のクローズアップ図を示している。

30

40

【0432】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するために L e u 尤度を評価する代わりに M S A データ中の B C A A 尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、特定された位置の全非 L e u アミノ酸を L e u アミノ酸で置換した。結果を図 16 C (B C A A 尤度) 及び図 16 D (疎水性アミノ酸尤度) に示す。予想された通り、これら 2 つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非 L e u アミノ酸が L e u で置換される。

【0433】

50

非 L e u 残基を L e u 残基で置換すると、参照分泌タンパク質の L e u 含有量並びに B C A A 及び E A A 含有量が増える。B C A A 及び E A A 含有量を同時に増やす別の方法は、参照分泌タンパク質の V a l 又は I l e 含有量を増やすことである。V a l 又は I l e 含有量が増えた改変タンパク質を作製するために、V a l 尤度又は I l e 尤度に基づいて炭水化物結合モジュール 20 タンパク質中のアミノ酸位置を特定した。図 17 A は、0 ~ 1 の種々の I l e 尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置にある全非 I l e アミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量（重量を基準）を分析している。具体的には、配列番号 6 中の I l e、B C A A、及び E A A の重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値が X 軸に示されている。したがって、例えば、X 軸上の値 0.6 は、I l e 尤度スコアが少なくとも 0.6 の配列番号 6 中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非 I l e アミノ酸を I l e アミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要な I l e 置換を行った後のタンパク質中の I l e、B C A A、及び E A A の重量による割合が Y 軸に示されている。下のパネルでは、Y 軸は、X 軸上の所与の I l e 尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中で I l e アミノ酸で占められた場合にタンパク質になされる I l e 置換の総数を示している。図 17 B の上及び下のパネルは、図 17 A に示されているグラフの左端（0 ~ 0.3 の I l e 尤度スコア）のクローズアップ図を示している。

10

【0434】

図 17 C 及び 17 D は、V a l 置換の対応する分析を示している。図 17 C は、0 ~ 1 の種々の V a l 尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置にある全非 V a l アミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量（重量を基準）を分析している。具体的には、配列番号 6 中の V a l、B C A A、及び E A A の重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値が X 軸に示されている。したがって、例えば、X 軸上の値 0.6 は、V a l 尤度スコアが少なくとも 0.6 の配列番号 X 中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非 V a l アミノ酸を V a l アミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要な V a l 置換を行った後のタンパク質中の V a l、B C A A、及び E A A の重量による割合が Y 軸に示されている。下のパネルでは、Y 軸は、X 軸上の所与の V a l 尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中で V a l アミノ酸で占められた場合にタンパク質になされる V a l 置換の総数を示している。図 17 D の上及び下のパネルは、図 17 C に示されているグラフの左端（0 ~ 0.3 の I l e 尤度スコア）のクローズアップ図を示している。

20

30

【0435】

一部の使用では、改変分泌タンパク質中で非 B C A A 及び場合によっては非 E A A の割合を増やすことが望ましいことがある。アルギニンは条件付きの非必須アミノ酸であり、すなわち、ほとんどの場合、これはヒトの体が生産でき、食事から直接得る必要はない。アミノ酸アルギニンは多くの健康上の利点を有することが知られている。Wu et al. "Arginine metabolism and nutrition in growth health, and disease". Amino Acids (2009) 37:153-168. AND Wu, G. "Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health" Adv. Nutr. (2010) 1: 31-37 参照。炭水化物結合モジュール 20 タンパク質の A r g 含有量を増やすために同様なアプローチを適用した。図 18 A は、0 ~ 1 の種々の A r g 尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非 A r g アミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量（重量を基準）を分析している。具体的には、配列番号 6 中の A r g、B C A A、及び E A A の重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値が X 軸に示されている。したがって、例えば、X 軸上の値 0.6 は、A r g 尤度スコアが少なくとも 0.6 の配列番号 6 中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに

40

50

現れる全非 A r g アミノ酸を A r g アミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要な A r g 置換を行った後のタンパク質中の A r g、B C A A、及び E A A の重量による割合が Y 軸に示されている。下のパネルでは、Y 軸は、X 軸上の所与の A r g 尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中で A r g アミノ酸で占められた場合にタンパク質になされる A r g 置換の総数を示している。図 1 8 B の上及び下のパネルは、図 1 8 A に示されているグラフの左端（0 ～ 0. 3 の A r g 尤度スコア）のクローズアップ図を示している。

【0 4 3 6】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するために A r g 尤度を評価する代わりに、M S A データ中の正電荷アミノ酸（R、K、H）尤度及び荷電アミノ酸（R、K、H、D、E）尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置の全非 A r g アミノ酸を A r g アミノ酸で置換した。結果を図 1 8 C（正電荷アミノ酸尤度）及び図 1 8 D（荷電アミノ酸尤度）に示す。予想された通り、これらの 2 つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非 A r g アミノ酸が A r g アミノ酸で置換される。

【0 4 3 7】

L e u による置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、L e u 置換分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図 1 9 A に示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図 1 9 B に示す。

【0 4 3 8】

更に、配列番号 6 における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対して、配列番号 6 中の非 L e u アミノ酸の L e u への全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー（ $\Delta \Delta G_{fold}$ ）を計算した。各アミノ酸置換について、フォールディングの安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図 2 0 に示す。

【0 4 3 9】

以下のリストは、フォールディングの相対的自由エネルギーに好ましい影響を与えると予想されるロイシン、バリン、イソロイシン、又はアルギニンへの変異のファンデルワールス（v d w）、静電的（e l e c）、及びエントロピー的自由エネルギー変化により推進されるパーセンテージを示している：

L e u：7 5. 0 % v d w、1 1. 3 % e l e c、1 3. 7 % エントロピー的自由エネルギー；

V a l：4 5. 1 % v d w、2 1. 0 % e l e c、3 3. 9 % エントロピー自由エネルギー；

I l e：7 2. 0 % v d w、1 2. 0 % e l e c、1 6. 0 % エントロピー自由エネルギー；及び

A r g：8 6. 3 % v d w、1 0. 0 % e l e c、3. 7 % エントロピー自由エネルギー。

【0 4 4 0】

任意の所与のアミノ酸変異で及び種々のアミノ酸への変異間で、主な自由エネルギー成分にかなりの変動性があることは興味深い。ほとんどの変異は、v d w フォールディングエネルギーが改善されるため好ましいが、特にバリンの場合、少なからぬ数の変異が、静電的及びエントロピー的自由エネルギーの好ましい変化のため、好ましいと予想される。このことは、フォールディングの相対的自由エネルギー成分に異なる影響を与えることにより、より高いバリン濃度への最適化を試みる場合により多くの戦略が利用可能であることを示唆している。この場合、全体的なフォールディングの相対的自由エネルギーへのエントロピー的自由エネルギーの寄与の重要性は、各アミノ酸側鎖中に存在する回転可能な結合の数（L e u = 2、V a l = 1、I l e = 2、A r g = 4）を考慮して予想されるも

の一致する。高度に可動性 (flexible) のアミノ酸をより可動性の低いアミノ酸で置換すると、フォールディングのエントロピー的自由エネルギーの好ましい相対的变化が得られる。

【0441】

更に、配列番号6における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対して、配列番号6中の非Ileアミノ酸のIleへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) を計算した。各アミノ酸置換について、その後、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図21に示す。

【0442】

更に、配列番号6における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対して、配列番号6中の非Valアミノ酸のValへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) を計算した。各アミノ酸置換について、その後、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図22に示す。

【0443】

更に、配列番号6における野生型のフォールディングの自由エネルギーに対して、配列番号6中の非Argアミノ酸のArgへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) を計算した。各アミノ酸置換について、その後、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図23に示す。

【0444】

配列番号6中の各アミノ酸について、ループID (1=ループ; 0=非ループ)、Leu尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) (Leuによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (Leuによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (Leuによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (Leuによる置換の) を計算した。結果を付録Dの表6Aに示す。

【0445】

配列番号6中の各アミノ酸について、ループID (1=ループ; 0=非ループ)、Ile尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) (Ileによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (Ileによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (Ileによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (Ileによる置換の) を計算した。結果を付録Dの表6Bに示す。

【0446】

配列番号6中の各アミノ酸について、ループID (1=ループ; 0=非ループ)、Val尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) (Valによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (Valによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (Valによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (Valによる置換の) を計算した。結果を付録Dの表6Cに示す。

10

20

30

40

50

) (Valによる置換の)を計算した。結果を付録Dの表6Cに示す。

【0447】

配列番号6中の各アミノ酸について、ループID (1=ループ; 0=非ループ)、Arg尤度、正電荷AA尤度、荷電AA尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) (Argによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ VDW}$) (Argによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ Elec}$) (Argによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$) (Argによる置換の)を計算した。結果を付録Dの表6Dに示す。

10

【0448】

実施例9: A. nigerのグルコシダーゼフィブロネクチンIII型ドメインタンパク質 (配列番号7) 中における置換のためのアミノ酸位置の特定

A. nigerのグルコシダーゼフィブロネクチンIII型ドメイン (配列番号7) は、9.9重量%のLeu、21.5重量%の分岐鎖アミノ酸、及び44.5重量%の必須アミノ酸を含む。

【0449】

図24Aは、0~1の種々のLeu尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非Leuアミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量 (重量を基準) を分析している。具体的には、配列番号7中のLeu、BCAA、及びEAAの重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値がX軸に示されている。したがって、例えば、X軸上の値0.6は、Leu尤度スコアが少なくとも0.6の配列番号7中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要なLeu置換を行った後のタンパク質中のLeu、BCAA、及びEAAの重量による割合がY軸に示されている。下のパネルでは、Y軸は、改変タンパク質中でX軸上の所与のLeu尤度スコアを有する全アミノ酸位置がLeuアミノ酸で占められた場合にタンパク質になされるLeu置換の総数を示している。図24Bの上及び下のパネルは、図24Aに示されているグラフの左端 (0~0.3のLeu尤度スコア) のクローズアップ図を示している。

20

30

【0450】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにLeu尤度を評価する代わりにMSAデータ中のBCAA尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置の全非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換した。結果を図24C (BCAA尤度) 及び図24D (疎水性アミノ酸尤度) に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非Leuアミノ酸がLeuで置換される。

【0451】

Leuによる置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図25Aに示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図25Bに示す。

40

【0452】

更に、配列番号7における野生型のフォールディングの自由エネルギーと比べた、配列番号7中の非Leuアミノ酸のLeuへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$) を計算した。各アミノ酸置換について、フォールディングの安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図26に示す。

【0453】

50

配列番号7中の各アミノ酸について、ループID（1＝ループ；0＝非ループ）、Leu尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー（ $\Delta\Delta G_{fold}$ ）（Leuによる置換の）、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与（ $\Delta\Delta G_{fold} \text{ VDW}$ ）（Leuによる置換の）、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与（ $\Delta\Delta G_{fold} \text{ Elec}$ ）（Leuによる置換の）、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与（ $\Delta\Delta G_{fold} \text{ エントロピー}$ ）（Leuによる置換の）を計算した。結果を付録Dの表7に示す。

【0454】

10

実施例10：T. ReeseiのヒドロホビンIタンパク質（配列番号8）中における置換のためのアミノ酸位置の特定

T. ReeseiのヒドロホビンIタンパク質（配列番号8）は、10.5重量%のLeu、22.5重量%の分岐鎖アミノ酸、及び35.2重量%の必須アミノ酸を含む。

【0455】

図27Aは、0～1の種々のLeu尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非Leuアミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量（重量を基準）を分析している。具体的には、配列番号8中のLeu、BCAA、及びEAAの重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値がX軸に示されている。したがって、例えば、X軸上の値0.6は、Leu尤度スコアが少なくとも0.6の配列番号8中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要なLeu置換を行った後のタンパク質中のLeu、BCAA、及びEAAの重量による割合がY軸に示されている。下のパネルでは、Y軸は、X軸上の所与のLeu尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中でLeuアミノ酸で占められた場合にタンパク質になされるLeu置換の総数を示している。図27Bの上及び下のパネルは、図27Aに示されているグラフの左端（0～0.3のLeu尤度スコア）のクローズアップ図を示している。

20

【0456】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにLeu尤度を評価する代わりにMSAデータ中のBCAA尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置の全非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換した。結果を図27C（BCAA尤度）及び図27D（疎水性アミノ酸尤度）に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非Leuアミノ酸がLeuで置換される。

30

【0457】

Leuによる置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図28Aに示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図28Bに示す。

40

【0458】

更に、配列番号8における野生型のフォールディングの自由エネルギーと比べた、配列番号X中の非Leuアミノ酸のLeuへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー（ $\Delta\Delta G_{fold}$ ）を計算した。次いで、各アミノ酸置換について、フォールディング安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図29に示す。

【0459】

配列番号8中の各アミノ酸について、ループID（1＝ループ；0＝非ループ）、Leu尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー（ $\Delta\Delta G_{fold}$ ）

50

d) (Leuによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold}^{VDW}$) (Leuによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold}^{Elec}$) (Leuによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold}^{エントロピー}$) (Leuによる置換の)を計算した。結果を付録Dの表8に示す。

【0460】

実施例11: T. ReeseiのヒドロホビンIIタンパク質(配列番号9)中における置換のためのアミノ酸位置の特定

T. ReeseiのヒドロホビンIIタンパク質(配列番号9)は、11.0重量%のLeu、25.6重量%の分岐鎖アミノ酸、及び49.2重量%の必須アミノ酸を含む。

【0461】

図30Aは、0~1の種々のLeu尤度閾値を用いて特定されるアミノ酸位置の全非Leuアミノ酸を置換することにより作製される改変タンパク質のアミノ酸含有量(重量を基準)を分析している。具体的には、配列番号9中のLeu、BCAA、及びEAAの重量の割合が示されている。上のパネルでは、アミノ酸置換を行う尤度閾値がX軸に示されている。したがって、例えば、X軸上の値0.6は、Leu尤度スコアが少なくとも0.6の配列番号9中の全アミノ酸位置を特定し、それらの位置のいずれかに現れる全非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換することにより作製される改変タンパク質配列を表す。上のパネルでは、必要なLeu置換を行った後のタンパク質中のLeu、BCAA、及びEAAの重量による割合がY軸に示されている。下のパネルでは、Y軸は、X軸上の所与のLeu尤度スコアを有する全アミノ酸位置が改変タンパク質中でLeuアミノ酸で占められた場合にタンパク質になされるLeu置換の総数を示している。図30Bの上及び下のパネルは、図30Aに示されているグラフの左端(0~0.3のLeu尤度スコア)のクローズアップ図を示している。

【0462】

この分析を繰り返した。但し、変異のためのアミノ酸位置を特定するためにLeu尤度を評価する代わりにMSAデータ中のBCAA尤度及び疎水性アミノ酸尤度を測定してアミノ酸位置を特定し、その後、特定された位置の全非Leuアミノ酸をLeuアミノ酸で置換した。結果を図30C(BCAA尤度)及び図30D(位置エントロピー)に示す。予想された通り、これら2つのより厳密性の低いスクリーニングでは、各尤度カットオフでより多くの非Leuアミノ酸がLeuで置換される。

【0463】

Leuによる置換のためのアミノ酸位置の順位付けに生のアミノ酸尤度の代わりに位置エントロピーを用いて、同じ分析を繰り返した。各位置の各アミノ酸の頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図31Aに示し、各位置のアミノ酸タイプの頻度を用いて位置エントロピーを計算した場合に得られた結果を図31Bに示す。

【0464】

更に、配列番号9における野生型のフォールディングの自由エネルギーと比べた、配列番号9中の非Leuアミノ酸のLeuへの全ての可能な単一アミノ酸変異についてフォールディングの自由エネルギー($\Delta\Delta G_{fold}$)を計算した。各アミノ酸置換について、フォールディングの安定性への予想される影響に基づいて位置を順位付けした。結果を図32に示す。

【0465】

配列番号9中の各アミノ酸について、ループID(1=ループ; 0=非ループ)、Leu尤度、BCAA尤度、EAA尤度、疎水性アミノ酸尤度、アミノ酸位置エントロピー、アミノ酸タイプ位置エントロピー、フォールディングの全自由エネルギー($\Delta\Delta G_{fold}$) (Leuによる置換の)、フォールディングの全自由エネルギーへの、ファンデルワールス自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold}^{VDW}$) (Leuによる置換の)、

フォールディングの全自由エネルギーへの、静電的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold}^{Elec}$) (Leuによる置換の)、及びフォールディングの全自由エネルギーへの、熱力学的エントロピー的自由エネルギー変化の寄与 ($\Delta\Delta G_{fold}^{Entropie}$) (Leuによる置換の) を計算した。結果を付録Dの表9に示す。

【0466】

実施例12：アミノ酸選択アルゴリズム

位置アミノ酸尤度、位置エントロピー、相対的フォールディング自由エネルギーへの変異の影響、及び二次構造の種類の分析を組み合わせ、Leu等のより栄養的なアミノ酸タイプへと変異させるための参照分泌タンパク質中のアミノ酸をスクリーニング及び特定することができる。事実上、選択及び順位付けの方法は多目的最適化問題である。これらの因子、すなわち高いアミノ酸尤度 (AALike)、高いアミノ酸タイプ尤度 (AATLike)、高い位置エントロピー (S_{pos})、高いアミノ酸タイプ位置エントロピー (S_{AATpos})、低いフォールディングの相対的自由エネルギー ($\Delta\Delta G_{fold}$)、及び二次構造アイデンティティ (LoopID) を用いて改変タンパク質を設計することにより複数の異なる目的を達成することができる。目的の全部又はサブセットを同時に最大化する位置を選択することもできる。その目的のために、個々の目的スコアに基づいて各変異をスコア化する総和目的関数を構築した。所与のタンパク質の可能な変異部位を順位付けする場合、2つの目的関数を直接比較するため及び／又は調整された重み付けを用いてそれらを加え合わせるために、最小値を0にシフトして最大値で全ての値を標準化することにより、範囲 [0~1] 上に値の分布をマッピングした。 $\Delta\Delta G_{fold}$ の場合には、最小値を1にマッピングし (負の値が好ましいため)、検討対象を $\Delta\Delta G_{fold} < 1$ の位置に限定するためのカットオフとして、最大値が1となるように定義したことに留意されたい。全ての単一目的関数に加えて、11個の代表的な総和目的関数は以下の通りである。

【0467】

【数3】

$$(1) \quad \frac{1}{2} AALike + \frac{1}{2} \Delta\Delta G_{fold}$$

【0468】

【数4】

$$(2) \quad \frac{1}{2} AATLike + \frac{1}{2} \Delta\Delta G_{fold}$$

【0469】

【数5】

$$(3) \quad \frac{1}{3} AALike + \frac{1}{3} AATLike + \frac{1}{3} \Delta\Delta G_{fold}$$

【0470】

【数6】

$$(4) \quad \frac{1}{2} S_{pos} + \frac{1}{2} \Delta\Delta G_{fold}$$

【0471】

【数7】

$$(5) \quad \frac{1}{2} S_{AATpos} + \frac{1}{2} \Delta\Delta G_{fold}$$

【0472】

【数8】

$$(6) \quad \frac{1}{2} LoopID + \frac{1}{2} \Delta\Delta G_{fold}$$

【0473】

【数9】

$$(7) \frac{1}{3} \text{AAl like} + \frac{1}{3} \Delta \Delta G_{\text{fold}} + \frac{1}{3} \text{LoopID}$$

【0474】

【数10】

$$(8) \frac{1}{4} \text{AAl like} + \frac{1}{4} \text{AATlike} + \frac{1}{4} \Delta \Delta G_{\text{fold}} + \frac{1}{4} \text{LoopID}$$

【0475】

【数11】

$$(9) \frac{1}{3} \text{AATlike} + \frac{1}{3} \Delta \Delta G_{\text{fold}} + \frac{1}{3} \text{LoopID}$$

【0476】

【数12】

$$(10) \frac{1}{3} S_{\text{pos}} + \frac{1}{3} \Delta \Delta G_{\text{fold}} + \frac{1}{3} \text{LoopID}$$

【0477】

【数13】

$$(11) \frac{1}{3} S_{\text{AATpos}} + \frac{1}{3} \Delta \Delta G_{\text{fold}} + \frac{1}{3} \text{LoopID}$$

【0478】

最初の6個の関数は、フォールディング安定性への好ましい影響及び高いアミノ酸尤度〔(1)、(2)、及び(3)〕、高い位置エントロピー〔(4)及び(5)〕、又は構造的に可塑性のループ位置(6)のいずれかを有する位置を選択する。7～11番目の目的関数は、好ましい相対的フォールディングエネルギー及び高いアミノ酸尤度〔(7)、(8)、及び(9)〕又は位置エントロピー〔(10)及び(11)〕のいずれかを有するループ位置を選択する。特定のアミノ酸を分泌タンパク質中に濃縮するために、所望の目的関数1～11に従い高く順位付けられた上位の位置セットを選択し、それらのアミノ酸を変異させて改変タンパク質を作製する。

【0479】

以下は、標的アミノ酸としてロイシンを、アミノ酸タイプとして分岐鎖アミノ酸を用いて目的関数3に従い全36個の位置を順位付けしたセルロース結合ドメイン1(CBD1)(配列番号5)変異の配列例である。

【0480】

【数14】

$$\frac{1}{3} \text{Leu like} + \frac{1}{3} \text{BCAAl like} + \frac{1}{3} \Delta \Delta G_{\text{fold}}$$

【0481】

前述のように共通範囲〔0, 1〕上に全ての値を再度マッピングし、総和目的関数に従い並べて、表10に示される順位付けされたリスト($\Delta \Delta G_{\text{fold}} > 1 \text{ kcal/mol}$ の全位置又は分子内ジスルフィド結合に関わるシステイン残基を除く)が得られる。

【0482】

10

20

30

40

【表 5】

表 10

位置	スコア 3
36	0.773
28	0.443
4	0.421
6	0.333
20	0.268
30	0.223
27	0.221
26	0.202
29	0.194
24	0.192
18	0.186
7	0.176
1	0.174
31	0.173
32	0.168
11	0.161
5	0.147
17	0.118
3	0.118
16	0.117
14	0.107
23	0.107
33	0.102
9	0.101
21	0.101
34	0.042

10

20

30

【0483】

最上位のヒット（位置 36）は既にロイシンであるので、この部位には変異を行う必要がないことに留意されたい。したがって、ロイシン濃度を約 11%（天然配列は約 3% ロイシン）に上昇させるためには、3 個の変異が必要であり、この分析は位置 E 28、A 4、及び G 6 を示唆している。得られる改変タンパク質は配列番号 10 の配列を有する。

【0484】

ロイシン濃度を約 22% に上昇させるためには、7 個の変異が必要であり、この分析は位置 E 28、A 4、G 6、V 20、A 30、Y 27、及び T 26 を示唆している。得られる改変タンパク質は配列番号 11 の配列を有する。

40

【0485】

ロイシン濃度を約 31% に上昇させるためには、10 個の変異が必要であり、この分析は位置 E 28、A 4、G 6、V 20、A 30、Y 27、T 26、N 29、T 24、及び T 18 を示唆している。得られる改変タンパク質は配列番号 12 を有する。

【0486】

最後に、ロイシン濃度を約 42% に上昇させるためには 14 個の変異が必要であり、この分析は位置 E 28、A 4、G 6、V 20、A 30、Y 27、T 26、N 29、T 24、T 18、Q 7、A 1、Y 31、及び Y 32 を示唆している。得られる改変タンパク質は配

50

列番号 13 の配列を有する。

【0487】

表 11、12、及び 13 に、標的アミノ酸としてロイシン、アミノ酸タイプとして分岐鎖アミノ酸、及び上記の目的関数 1～11 を用いた時に得られる同等な順位付けされたリストを示す。ロイシン濃度を約 11% に上昇させるためには、CBD1（配列番号 5）中で既にロイシンでない表 11、12、及び 13 の位置リストの上位 3 個の位置が選択され得る。したがって、好ましいフォールディングの相対的自由エネルギー及び高いアミノ酸尤度を有する位置を選択するには、目的関数 1、2、又は 3 の順位を用いることが適切であると考えられる。好ましいフォールディングの相対的自由エネルギー及び高い位置エントロピー又はループ位置を有する位置を選択するには、目的関数 4、5、又は 6 の順位を用いることが適切であると考えられる。好ましい相対的フォールディングエネルギーと高いアミノ酸尤度又は位置エントロピーのいずれかとを有する位置を選択するためには、それぞれ目的関数 7、8、若しくは 9 の順位又は目的関数 10 若しくは 11 の順位を用いることが適切であると考えられる。

【0488】

【表 6】

表 11：CBD1 の更なる目的関数順位（1～4）

位置	スコア1	位置	スコア2	位置	スコア3	位置	スコア4
36	0.660	36	0.660	36	0.773	4	0.866
6	0.500	4	0.513	28	0.443	28	0.788
4	0.485	28	0.512	4	0.421	6	0.712
28	0.456	6	0.500	6	0.333	30	0.711
30	0.331	20	0.402	20	0.268	18	0.654
29	0.291	30	0.335	30	0.223	27	0.647
7	0.265	27	0.319	27	0.221	20	0.637
20	0.261	26	0.301	26	0.202	26	0.620
31	0.259	29	0.291	29	0.194	3	0.588
32	0.249	24	0.287	24	0.192	11	0.553
24	0.246	18	0.269	18	0.186	24	0.552
5	0.220	7	0.265	7	0.176	16	0.521
18	0.215	1	0.262	1	0.174	23	0.487
27	0.196	31	0.260	31	0.173	31	0.475
26	0.194	32	0.250	32	0.168	21	0.447
17	0.176	11	0.225	11	0.161	14	0.415
16	0.174	5	0.221	5	0.147	29	0.407
3	0.172	17	0.177	17	0.118	5	0.400
14	0.158	3	0.174	3	0.118	1	0.370
33	0.152	16	0.173	16	0.117	36	0.361
9	0.152	14	0.160	14	0.107	33	0.328
21	0.148	33	0.152	23	0.107	17	0.322
23	0.132	9	0.152	33	0.102	32	0.316
11	0.119	21	0.150	9	0.101	7	0.291
1	0.113	23	0.114	21	0.101	9	0.159
34	0.062	34	0.061	34	0.042	12	0.141

【0489】

【表 7】

表 1 2 : C B D 1 の更なる目的関数順位 (5 ~ 8)

位置	スコア5	位置	スコア6	位置	スコア7	位置	スコア8
30	0.803	6	1.000	36	0.773	36	0.830
6	0.797	4	0.866	6	0.667	28	0.582
4	0.784	30	0.831	4	0.657	4	0.566
3	0.669	28	0.804	28	0.637	6	0.500
18	0.651	7	0.765	30	0.554	20	0.451
28	0.646	20	0.761	7	0.510	30	0.417
20	0.618	31	0.759	20	0.507	27	0.416
16	0.605	32	0.748	31	0.506	26	0.401
26	0.578	24	0.744	32	0.500	24	0.394
27	0.565	5	0.720	24	0.497	18	0.390
24	0.560	18	0.706	5	0.480	7	0.382
21	0.502	26	0.691	18	0.477	1	0.381
11	0.483	27	0.684	27	0.464	31	0.380
29	0.385	3	0.669	26	0.462	32	0.376
23	0.376	36	0.660	3	0.448	5	0.361
33	0.365	33	0.652	33	0.435	3	0.338
1	0.330	21	0.647	21	0.432	23	0.330
17	0.321	1	0.613	23	0.421	33	0.326
31	0.311	23	0.586	1	0.409	21	0.325
7	0.308	34	0.560	34	0.375	34	0.282
32	0.283	22	0.436	22	0.292	22	0.220
14	0.263	29	0.291	29	0.194	29	0.146
5	0.237	17	0.176	17	0.117	11	0.120
12	0.200	16	0.171	16	0.116	17	0.089
9	0.164	14	0.158	14	0.105	16	0.087
36	0.161	9	0.152	9	0.101	14	0.080

【 0 4 9 0 】

【表 8】

表 1 3 : C B D 1 の更なる目的関数順位 (9 ~ 1 1)

位置	スコア9	位置	スコア10	位置	スコア11
36	0.773	4	0.911	30	0.868
4	0.675	28	0.859	6	0.865
28	0.675	6	0.808	4	0.856
6	0.667	30	0.807	3	0.779
20	0.601	18	0.770	18	0.767
30	0.556	27	0.765	28	0.764
27	0.546	20	0.758	20	0.746
26	0.534	26	0.746	26	0.718
24	0.525	3	0.725	27	0.710
18	0.513	24	0.701	24	0.706
7	0.510	23	0.658	21	0.668
1	0.508	31	0.650	23	0.584
31	0.506	21	0.631	33	0.576
32	0.500	5	0.600	1	0.553
5	0.481	1	0.580	31	0.541
3	0.449	36	0.574	7	0.538
33	0.435	33	0.552	32	0.522
21	0.433	32	0.544	5	0.491
23	0.410	7	0.527	36	0.441
34	0.374	34	0.417	16	0.403
22	0.291	22	0.393	34	0.402
29	0.194	11	0.369	22	0.328
11	0.150	16	0.348	11	0.322
17	0.118	14	0.277	29	0.257
16	0.115	29	0.271	17	0.214
14	0.107	17	0.215	14	0.175

【 0 4 9 1 】

実施例 1 3 . B a c i l l u s s u b t i l i s に由来する改変分泌タンパク質の選択及び設計

アミノ酸含有量が濃縮された分泌ポリペプチドの改変を実証するために、本発明者らは、高レベルでタンパク質を分泌することが知られている微生物 B a c i l l u s s u b t i l i s を選択した。B a c i l l u s s u b t i l i s 中での主な分泌タンパク質として S E Q I D - 4 5 0 0 1 が特定された。S E Q I D - 4 5 0 0 1 の配列保存及び結晶構造データを用いて、タンパク質の構造安定性及び／又は宿主生物がタンパク質を分泌する能力に負の影響を与えない、変異に耐えられると予想された各タンパク質内の連続領域を特定した。

【 0 4 9 2 】

本発明者らは、構造的タンパク質データバンクのエントリー 1 U A 7 に報告されている S E Q I D - 4 5 0 0 1 の二次構造を分析した。本発明者らは、 α ヘリックス又は β シートの一部でない、タンパク質配列内の 1 9 個のループ領域を特定した。これらのループ領域は以下のアミノ酸残基により定義される：7 3 ~ 7 6、1 3 0 ~ 1 3 3、1 4 7 ~ 1 5 2、1 5 7 ~ 1 6 1、1 8 9 ~ 1 9 2、2 2 2 ~ 2 2 7、2 3 9 ~ 2 4 4、2 8 3 ~ 2 8 6、2 9 1 ~ 2 9 8、3 0 5 ~ 3 0 8、3 1 8 ~ 3 2 3、3 3 6 ~ 3 4 0、3 5 6 ~ 3 6

0、365～368、387～392、417～421、428～432、437～442、及び464～466。長さが4アミノ酸未満のループ領域は変異の対象として考慮しなかった。

【0493】

構造安定性及び分泌能を維持する改変を受け入れられる位置の特定に、進化空間 (evolutionary space) での配列の保存も考慮した。相同配列のファミリー内でさほど保存されていない位置は本質的に可変性であり、本質的に構造に関係する活性への影響なしに変異をより受け入れ易い。さほど保存されていない位置を見つけるために、本発明者らは、NCBI Conserved Domain Databaseから、SEQ ID-45001触媒ドメインを含む31個のタンパク質配列を含むpfam00128のアラインメントをダウンロードした (Marchler-Bauer A., Zheng C., Chitsaz F., Derbyshire M. K., Geer L. Y., Geer R. C., Gonzales N. R., Gwadz M., Hurwitz D. I., Lanczycki C. J., Lu F., Lu S., Marchler G. H., Song J. S., Thanki N., Yamashita R. A., Zhang D., and S. H. Bryant. Nucleic Acids Res. (2013) 41:D348-52)。本発明者らは更に、SEQ ID-45001を用いてNCBIタンパク質参照配列データベースのPSI-BLASTサーチを行い (Pruitt K. D., Tatusova T., and D. R. Maglott. Nucleic Acids Res. (2005) 33:D501-504)、SEQ ID-45001に相同な500個の配列を得た。どちらの場合も、BLOSUM62 position specific scoring matrix、gap penalty=-11、gap extension penalty=-1、及びalignment inclusion e-value cutoff=0.005を用いて1回実行した (Altschul S. F., Nucleic Acids Res. (1997) 25:3389-3402)。全てのタンパク質配列アラインメントを用いて、PSI-BLASTサーチの一部として、各クエリー配列に特異的な位置特異的重み行列 (PSSM) を作成した。PSSMから、本発明者らは、各ループ内の各位置で正のPSSMスコアに関連する異なるアミノ酸の数のカウント並びに各位置の必須アミノ酸置換のためのPSSMスコアの和及び平均により、変異に耐えられると仮定される領域を特定した。更に、PSI-BLASTサーチから得られた各マルチプル配列アラインメントから、本発明者らは、以下の式で定義される各位置のアミノ酸エントロピーを計算した。

【0494】

【数15】

$$S_j = - \sum_{i \in A.A} p_i \ln p_i$$

式中、 S_j は位置 j のエントロピーであり、 p_i は位置 j にアミノ酸 i を観察する確率である。

【0495】

変異耐性のこれらの測定値を用いて、本発明者らは、必須アミノ酸への変異に耐えられると予想される4個のループ領域を特定した。特定された領域に必須アミノ酸を濃縮するために、本発明者らは、任意の選択された位置がF、I、L、V、若しくはM (Zと表記) 又はR、K、T、I、若しくはM (Xと表記) のいずれかとなり得るコンビナトリアルコドンライブラリーを用いた。必須アミノ酸への変異に選択されたループ領域のそれぞれにおいて、各可変位置に、(各PSSM値に基づいて) 疎水性残基への相対的耐性に応じてZ又はXを割り当てた。疎水性残基に耐性であった位置にZを割り当て、これにコドンNTNを用いて遺伝子コードした。親水性残基により耐性の位置にXを割り当て、これにコドンANRを用いて遺伝子コードした。SEQ ID-45001の特定された可変領域

の1つ（147～153）において、この領域のコンホメーションの柔軟性を増大させる試みでループの中央にグリシン残基を挿入したことを述べておく。SEQID-45001で特定された領域の配列を以下の表に要約する。

【0496】

【表9】

開始残基番号	元	縮重
148	YAAI	XXGXX
240	NTSA	ZXXZ
291	SHYASD	XZYXXZ
389	QPEE	XPZZ

X=NTN；F、L、I、M、Vをコードする

Z=ANR；I、M、T、K、Rをコードする

【0497】

ライブラリーの設計及び構築

可変領域の特定に基づいて、図33に示されているように各可変領域を増幅できるプライマーを設計した。例えば、4個の可変領域がある場合、4個の可変性断片を作製するために4対のプライマーが必要である。ステップ1では、鑄型として、pGracプロモーターの下流でN末端AmyQシグナルペプチドと融合したSEQID-45001を含むpES1205を用いた。pES1205はベクターpHT43（MoBiTec社）の派生物であり、B. subtilis由来のamyE遺伝子をコードする1905bpのDNA断片（AmyEシグナルペプチドをコードする最初の93bpが抜けている）及びC末端1XFLAGタグを含む。amyE：：1XFL：AG配列を、pHT43上にコードされるSamyQ配列とフレームを合わせてクロニングした。断片1、2、3、4では、フォワードPRIMERID-45053、PRIMERID-45054、PRIMERID-45055、及びPRIMERID-45056は可変領域の前の25塩基の一定配列と、それに続く可変領域を表す縮重配列及び可変領域の下流の25塩基の一定配列を含む。断片1、2、3では、逆プライマーPRIMERID-45061、PRIMERID-45062、及びPRIMERID-45063はそれぞれ、次の可変領域の上流に25塩基の逆方向相補配列を含む。断片4では、逆プライマーのPRIMERID-45064は可変領域4から任意の距離にある25塩基の逆方向相補配列を含む。4つの別個のPCR増幅を、Phusion DNAポリメラーゼ（ニュー・イングランド・バイオラボ社、ビバリー、マサチューセッツ州）及びメーカー推奨の反応パラメーターを用いて行った。別個の反応として、鑄型としてのpES1205、並びにPRIMERID-45057&PRIMERID-45061、PRIMERID-45058&PRIMERID-45062、PRIMERID-45059&PRIMERID-45063、及びPRIMERID-45060&PRIMERID-45064のプライマー対を用いて4個の野生型断片、それぞれWT-frag-1、WT-frag-2、WT-frag-3、及びWT-frag-4を作製した。全てのPCR断片をゲル精製した。ステップ2では、2つの別個のPCR反応を設定した。第1のPCR反応は、等モル比の断片1及び2を鑄型として、PRIMERID-45057及びPRIMERID-45062をプライマーとして含む。第2のPCR反応は、等モル比の断片3及び4並びにプライマーとしてPRIMERID-45059及びPRIMERID-45064を含む。両方の反応において、各可変断片中に存在するライブラリーメンバーのモル比でそれぞれの野生型断片を加えた。断片5及び6をゲル精製し、ステップ3において等モル比で鑄型として用いる。PCR反応で用いるプライマーにはPRIMERID-45057及びPRIMERID-45064が含まれる。pES1205及びプライマー対PRIMERID-45065及びPRIMERID-45066を用いてベクターPCR産物を作製した。断片7及びベクターPCR産物の両方をゲル精製し、Gibso

10

20

30

40

50

n Assembly Master Mix (ニュー・イングランド・バイオラボ社、ビバリー、マサチューセッツ州)を用いて一緒にクローニングし、メーカーの指示書に従いクローニング宿主 *Escherichia coli* Turbo (ニュー・イングランド・バイオラボ社) に形質転換した。50個のコロニーをシーケンシングしてライブラリーの多様性を決定した。次いで、寒天プレート上のコロニーをLB培地に懸濁し、プラスミド精製のために回収した。同様に、変異体の設計で特定された全部の可変位置で9個の特異的アミノ酸 F、L、I、M、V、T、K、R、W で変化させた S E Q I D - 4 5 0 0 1 の9個の特異的変異体を作製した。特異的変異体プライマーをアミノ酸の名称の一字表記で示す。全てのプライマーを以下の表 P R I M E R I D に記載する。

【0498】

10

【表10-1】

表PRIMERID	プライマー配列
PRIMERID-45053	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATNTNNTNNGGCNTNNTNTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45054	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAA NRNTNNTNANRGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45055	TCGTAATCTGGGCGTGTCGAATATCNTNANRTATNTNNTNANRGTTGTCT GCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45056	GATTTTACAATGTGATGGCTGGANTNCCTANRANRCTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45057	GGTCATCAATCATACCACCAGTG
PRIMERID-45058	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCAC
PRIMERID-45059	TCGTAATCTGGGCGTGTCG
PRIMERID-45060	GATTTTACAATGTGATGGCTGG
PRIMERID-45061	TGTGATATTCGGCCAAAATTGACTG
PRIMERID-45062	GATATTCGACACGCCAGATTACG
PRIMERID-45063	TCCAGCCATCACATTGTGAAATC
PRIMERID-45064	ATCTGCACGCAAGGTAATCGTCAG
PRIMERID-45065	CTGACGATTACCTTGCGTGCAG
PRIMERID-45066	CACTGGTGGTATGATTGATGACC
PRIMERID-45067	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATCTTCTGGGCCTTCTGTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45068	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATATTATCGGCATTATCTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45069	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATGTTGTGGGCGTTGTGTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45070	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATTTTTTCGGCTTTTTCTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45071	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATTGGTGGGGATGGTGGTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45072	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATATGATGGGCATGATGTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG

20

30

40

【表 1 0 - 2】

PRIMERID-45073	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATACAACGGGCACAACGTCCAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45074	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATTATAAGAAAGGCAAGAAAAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45075	GGTCATCAATCATACCACCAGTGATTATCATCATGGCCATCACAATGA GGTTAAGAGTATTCCAAACTGG
PRIMERID-45076	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGCTTCTGGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45077	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGATTATCGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45078	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGGTTGTGGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45079	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGTTCTTTGGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45080	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGTGGTGGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45081	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGATGATGGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45082	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGACGACAGGCGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45083	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACAAAGAAAGGAGCAGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45084	CAGTCAATTTTGGCCGAATATCACACATCATGGAGCAGAGTTCCAATA CGGAGAAATCCTGC
PRIMERID-45085	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCCTTCACTATCTTCTGGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45086	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCATTCACTATATCATTGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45087	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCGTTCCTATGTTGTGGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC

10

20

30

【表 10-3】

PRIMERID-45088	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCTTCCACTATTTCTTTGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45089	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCTGGCACTATTGGTGGGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45090	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCATGCACTATATGATGGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45091	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCACACACTATACAACGGATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45092	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCTCCAAGTATAAAGCAAAGGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45093	TCGTAATCTGGGCGTGTCTGAATATCTCCCATTATCACGCACATGTGTC TGCGGACAAGCTAGTGAC
PRIMERID-45094	GATTTTACAATGTGATGGCTGGACTTCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45095	GATTTTACAATGTGATGGCTGGAATTCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45096	GATTTTACAATGTGATGGCTGGAGTTCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45097	GATTTTACAATGTGATGGCTGGATTCCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45098	GATTTTACAATGTGATGGCTGGATGGCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45099	GATTTTACAATGTGATGGCTGGAATGCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45100	GATTTTACAATGTGATGGCTGGAACACCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45101	GATTTTACAATGTGATGGCTGGAAGCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC
PRIMERID-45102	GATTTTACAATGTGATGGCTGGACATCCTGAGGAACTCTCGAACCCGA ATGGAAAC

10

20

30

【0499】

枯草菌株の構築

B. subtilis 株 WB800N (MöbiTec 社、ゲッティンゲン、ドイツ) を本研究の発現宿主として用いた。WB800N はよく研究されている株 (B. subtilis 168) の派生物であり、8 個の細胞外プロテアーゼ (nprE、aprE、epr、bpr、mpr、nprB、vpr 及び wprA) をコードする遺伝子の欠失により分泌タンパク質のプロテアーゼ分解が低減するように改変されている。B. subtilis の形質転換をメーカーの指示書に従って行った。SEQID-45001 変異体コンストラクトの約 5 µg のライブラリーで WB800N を形質転換し、5.0 µg/ml のクロラムフェニコール (Cm5) を含む LB 寒天にプレーティングして 37 °C でシングルコロニーを選択した。9 個の特異的変異体について、1 µg の特異的 SEQID-45001 変異体で WB800N を形質転換し、5.0 µg/ml のクロラムフェニコール (Cm5) を含む LB 寒天にプレーティングして 37 °C でシングルコロニーを選択した。

40

【0500】

Bacillus subtilis ライブラリーのスクリーニング

B. subtilis SEQID-45001 ライブラリーの約 800 個の個々の

50

形質転換体を、深型ウェルブロック（角形96ウェル）中のCm5を含む2×MAL培地（20g/l NaCl、20g/lトリプトン、及び10g/l酵母エキス、75g/lマルトース）の1ml培養液に個々に接種した。ライブラリーの株に加えて、AmyE及びSamyQリーダーペプチドを有するプラスミドを含む株を陽性対照として接種し、目的の遺伝子を有さないプラスミドを含む株を陰性対照として接種した。培養ブロックを多孔質の接着性プレートシールで覆い、微小発現チャンバー（micro-expression chamber）（Glass-Cell社、テレホート、インディアナ州）中、37℃、880rpmで一晩インキュベートした。一晩培養物を用いて、深型ウェルブロック中の新鮮な2×MAL、Cm5培養液に開始OD600=0.1で接種した。

【0501】

発現培養物を37℃、880rpmでOD600=1.0まで（約4時間）インキュベートし、この時点でイソプロピルβ-D-1-チオガラクトピラノシド（IPTG）を終濃度1mMで加えてインキュベートを4時間続けることにより誘導した。4時間後、各培養液の細胞密度を測定し（OD600）、遠心（3000rpm、10分、RT）により細胞を回収した。遠心後、培養上清を慎重に除去し、新しいブロックに移し、細胞ペレットを-80℃で凍結した。分泌タンパク質のレベルを決定するために、最初に0.45μmのフィルター、次いで0.22μmのフィルターを用いて、0.5ml分の培養上清をろ過した。次いで、ろ液をアッセイして、チップ電気泳動システムにより目的の分泌タンパク質（POI）のレベルを決定し、ベースのコンストラクトの分泌レベルと比較した。簡潔に述べると、2μlの試料を7μlの試料バッファーに加え、95℃で5分間加熱した後、35μlの水を加えることにより試料を調製した。HT Low MW Protein Express LabChip（登録商標）Kit又はHT Protein Express LabChip（登録商標）Kit（メーカーのプロトコールに従う）を用いて分析を完了した。分子量決定（kDa）及び定量化（ng/μl）のためにタンパク質ラダーを12試料毎に流した。ヒット番号3の分泌を示す電気泳動図の例を図34（A）に陰性対照及びラダーと共に示す。この方法を用いてライブラリーからスクリーニングしたSEQID-45001の23個の異なる変異体の分泌の例を図34（B）に示す。

【0502】

目的のゲルバンドのLC/MS/MSによりヒット番号11及び27が確認された。選択されたヒットを、5%β-メルカプトエタノールを含むインビトロジェン社のLDS Sample Bufferと混合し、沸騰させ、Novex（登録商標）NuPAGE（登録商標）10% Bis-Trisゲル（ライフテクノロジーズ社（Life Technologies））にローディングした。ランの後、SimplyBlue（登録商標）SafeStain（ライフテクノロジーズ社）を用いてゲルを染色し、所望のバンドを切り出し、分析に供した。ゲルバンドを洗浄、還元、及びアルキル化し、次いでトリプシンで4時間消化した後、ギ酸でクエンチした。次いで、サーモフィッシャー社製Q Exactiveに接続したウォーターズ社製NanoAcquity HPLCシステムを用いたナノLC/MS/MSにより消化物を分析した。ペプチドをトラップカラムにローディングし、350nL/minで75μmの分析カラムで溶出した（どちらのカラムにもJupiter Proteo樹脂（フェノメネックス社（Phenomenex））が充填された）。質量分析装置をデータ依存モード（data-dependent mode）で作動させ、MS及びMS/MSを、それぞれ70,000FWHM分解能及び17,500FWHM分解能でOrbitrapを用いて行った。15個の最も多いイオンをMS/MSに選択した。得られたペプチドデータを、関連する変異体タンパク質配列を付加して、関連宿主データベースに対してMascotを用いてサーチした。

【0503】

希釈した一晩培養物を、Cm5を含むLBブロス培養液への接種に用いた。これらの培養液を37℃で対数期に達するまで成長させた。これらの培養液の一定分量をグリセロール（20%終濃度）と混合し、-80℃で凍結した。次いで、Instageneマトリ

10

20

30

40

50

ックス（バイオラッド社、米国）を用いて上位30ヒットを精製し、PRIMERID-45103 CTTGAAATTGGAAGGGAGATTTC及びPRIMERID-45104 GTATAA ACTTTTTCAGTTG CAGACを用いて増幅し、同じプライマーを用いてシーケンシングして、SEQID-45001変異体配列を特定した。

【0504】

Bacillus subtilis 分泌ライブラリー分析

SEQID-45001の全ての分泌変異体（SEQID45002～45028）を分析して、最初の遺伝子ライブラリー中に存在する予想される位置特異的な偏りと比べて分泌変異体中に存在するアミノ酸中に位置特異的な偏りがあるかどうかを決定した。この目的のために、各位置の各アミノ酸について正確二項検定を行い、観察される各アミノ酸の数が偶然により予想されるより有意（ $p < 0.05$ ）に多いか少ない可能性を決定した。表13aは、この片側検定のp値を示しており、強調されている要素はp値が0.05未満である。全てで予想されるより有意に高かった野生型の値は別として、他の全ての有意に異なるアミノ酸頻度は予想されるより低かった。予想される位置特異的なアミノ酸の偏りが表13bに示されており、これらはライブラリーを構築して*Escherichia coli*に形質転換した後にランダムに選択された47個の変異体をシーケンシングすることにより見出された。Xであるように設計された全ての位置で、L、I、V、F、及びMコドンの同じ分布から効果的にサンプリングされた（すなわち、全てのX位について、位置特異的なアミノ酸の偏りはなかった）と仮定した。したがって、観察された各アミノ酸の数を位置全体で総計し、全てのX位について予想されるアミノ酸尤度を決定した。Zであるように設計した全ての位置についても同様に仮定した。表13aに見られるように、各位置での野生型配列への強い偏りに加え、予想されるより有意に少なく観察された複数の異なるアミノ酸があり、これは、分泌型ライブラリーにおいてその位置でそれらのアミノ酸から離れる偏りを示している。このデータは、各位置に特異的な変異を有する特異的な合理的に設計された変異体の設計についての更なる情報を提供する。例えば、分泌変異体でロイシンを濃縮するためには、位置241及び291はより望ましくない選択であり得る。あるいは、分泌変異体でバリンを濃縮するためには位置149、241、242、291、294、295、及び389はより望ましくない選択であり得る。

【0505】

【表11】

表13a: SEQID-450001の分泌変異体における位置特異的なアミノ酸の偏りを評価する片側二項検定のp値

位置	148	149	150	151	240	241	242	243	291	292	294	295	296	389	391	392
L	0.40	0.25	0.07	0.25	-	7.8E-05	0.22	-	0.03	-	0.07	0.19	-	0.21	-	-
I	0.14	0.43	0.15	0.03	0.48	0.19	0.42	0.06	0.17	0.29	0.36	0.17	0.08	0.31	0.21	0.43
V	0.45	0.04	0.35	0.18	-	0.04	9.2E-03	-	1.4E-03	-	0.05	0.02	-	0.03	-	-
F	0.15	0.55	0.09	0.55	-	0.32	0.51	-	0.51	-	0.16	0.51	-	0.43	-	-
M	0.20	0.20	0.22	0.56	0.03	0.11	0.26	0.25	0.51	0.17	0.22	0.24	0.04	0.04	0.48	0.10
T	-	-	-	-	0.22	-	-	0.22	-	0.04	-	-	0.30	-	0.08	0.07
K	-	-	-	-	0.42	-	-	4.0E-03	-	0.05	-	-	0.32	-	0.39	0.54
R	-	-	-	-	2.5E-03	-	-	0.03	-	0.42	-	-	0.14	-	3.8E-05	1.3E-03
wt	3.4E-07	3.4E-07	3.1E-06	3.4E-07	2.1E-13	1.5E-14	1.2E-11	4.4E-12	2.9E-14	2.0E-10	6.0E-14	2.3E-11	2.0E-10	2.3E-13	4.5E-13	4.6E-14

【0506】

【表 12】

表13b：構築したSEQID-450001ライブラリ中の位置特異的な予想アミノ酸尤度

	X	Z
L	30.2%	—
I	12.3%	9.7%
V	36.4%	—
F	6.7%	—
M	10.7%	12.2%
T	—	18.3%
K	—	17.9%
R	—	36.2%
Wt	3.7%	5.7%

10

【0507】

特異的変異体の *Bacillus subtilis* による発現試験

B. subtilis 発現株の3個の別個のコロニーを、深型ウェルブロック（角形96ウェル）中の1mlのCm5を含む2×MAL培地（20g/l NaCl、20g/lトリプトン、及び10g/l酵母エキス、75g/lマルトース）に接種した。培養ブロックを多孔質の接着性プレートシールで覆い、微小発現チャンバー（Glass-Coll社、テレホート、インディアナ州）中、37℃、880rpmで一晩インキュベートした。一晩培養物を、深型ウェルブロック中の新鮮な2×MAL、Cm5培養液に開始OD600=0.1で接種した。これらの発現培養物を37℃、880rpmでOD600=1.0まで（約4時間）インキュベートし、その時点で、イソプロピルβ-D-1-チオガラクトピラノシド（IPTG）を終濃度0.1Mを加え、4時間インキュベートを続けることにより、誘導した。4時間後、各培養液の細胞密度を測定し（OD600）、遠心（3000rpm、10分、RT）により細胞を回収した。遠心後、培養上清を慎重に除去し、新しいブロックに移し、細胞ペレットを−80℃で凍結した。分泌タンパク質のレベルを決定するために、最初に0.45μmのフィルター、次いで0.22μmのフィルターを用いて、0.5ml分の培養上清をろ過した。次いで、ろ液をアッセイして、チップ電気泳動システムにより目的の分泌タンパク質（POI）のレベルを決定した。簡潔に述べると、2μlの試料を7μlの試料バッファーに加え、95℃で5分間加熱した後、35μlの水を加えることにより試料を調製した。HT Low MW Protein Express LabChip（登録商標）Kit又はHT Protein Express LabChip（登録商標）Kit（メーカーのプロトコールに従う）を用いて分析を完了した。分子量決定（kDa）及び定量化（ng/μl）のためにタンパク質ラダーを12試料毎に流した。それぞれメチオニン、スレオニン、リジン、及びヒスチジンを濃縮したSEQID-45001の変異体の分泌の例を図34（B）に示した。

20

30

【0508】

目的のゲルバンドのLC/MS/MSによりSEQID-45025、SEQID-45026、SEQID-45027、及びSEQID-45028が確認された。選択されたヒットを、5%β-メルカプトエタノールを含むインビトロジェン社製LDS Sample Bufferと混合し、沸騰させ、Novex（登録商標）NuPAGE（登録商標）10% Bis-Trisゲル（ライフテクノロジーズ社）にローディングした。ラン後、SimplyBlue（商標）SafeStain（ライフテクノロジーズ社）を用いてゲルを染色し、所望のバンドを切り出し、分析に供した。ゲルバンドを洗浄、還元、及びアルキル化し、次いでトリプシンで4時間消化した後、ギ酸でクエンチした。次いで、サーモフィッシャー社製Q Exactiveに接続したウォーターズ社製NanoAcquity HPLCシステムを用いたナノLC/MS/MSにより消化

40

50

物を分析した。ペプチドをトラップカラムにローディングし、350 nL/minで75 μ mの分析カラムで溶出した。両方のカラムにはJupiter Proteo樹脂（フェノメネックス社製）を充填した。質量分析装置をデータ依存モードで作動させ、MS及びMS/MSを、それぞれ70,000 FWHM分解能及び17,500 FWHM分解能でOrbitrapを用いて行った。15個の最も多いイオンをMS/MSに選択した。得られたペプチドデータを、関連する変異体タンパク質配列を付加して、関連する宿主データベースに対してMascotを用いてサーチした。

【0509】

実施例14. *Aspergillus niger*に由来する改変分泌タンパク質の選択及び設計

アミノ酸含有量が濃縮された分泌ポリペプチドの改変を実証するために、本発明者らは、産業規模でタンパク質を分泌することが知られている微生物、すなわち*Aspergillus niger*を選択した。野生型*Aspergillus niger*中での主な分泌タンパク質として分泌ポリペプチドSEQ ID-45029が特定された。SEQ ID-45029の配列保存及び結晶構造データを用いて、タンパク質の構造安定性及び／又は宿主生物がタンパク質を分泌する能力に負の影響を与えず、変異に耐えられると予想された各タンパク質内の近接領域を特定した。

【0510】

本発明者らは、構造的タンパク質データベース3EQAに報告されているようにSEQ ID-45029の二次構造を分析した。本発明者らは、 α ヘリックス又は β シートの一部でない、タンパク質配列内の13個のループ領域を特定した。これらのループ領域は以下のアミノ酸残基で定義される：48～76、114～125、131～148、195～209、253～268、280～286、309～312、318～333、364～370、380～390、417～438、455～461、467～486。長さが4アミノ酸未満のループ領域は変異の対象として考慮しなかった。

【0511】

分泌能を維持しつつ改変を受けられる位置を特定するために進化空間での配列の保存も考慮した。相同配列のファミリー内でさほど保存されていない位置は本質的に可変性であり、本質的に構造に関係する活性への影響なしに、変異をより受け入れ易い。さほど保存されていない位置を見つけるために、本発明者らは、SEQ ID-45029を用いてNCBIタンパク質参照配列データベースのPSI-BLASTサーチを行い（Pruitt K. D., Tatusova T., and D. R. Maglott. *Nucleic Acids Res.* (2005) 33:D501-504）、SEQ ID-45029に相同な500個の配列を得た。どちらの場合も、BLOSUM62 position specific scoring matrix、gap penalty=-11、gap extension penalty=-1、及びalignment inclusion e-value cutoff=0.005を用いて1回実行した（Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., and D. J. Lipman. *J. Mol. Biol.* (1990) 215:403-410; Madden T. L., Tatusov R. L., and Zhang, J., *Meth. Enzymol.* (1996) 266:131-141; Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., and Lipman D. J. *Nucleic Acids Res.* (1997) 25:3389-3402)。全てのタンパク質配列アラインメントを用いて、PSI-BLASTサーチの一部として各クエリー配列に特異的な位置特異的重み行列（PSSM）を作成した。PSSMから、本発明者らは、各ループ内の各位置で正のPSSMスコアに関連する異なるアミノ酸の数のカウント並びに各位置の必須アミノ酸置換のためのPSSMスコアの和及び平均により、変異に耐えられると仮定される領域を特定した。更に、各PSI-BLASTから得られた

10

20

30

40

50

マルチプル配列アラインメントから、本発明者らは、以下の式で定義される各位置のアミノ酸エントロピーを計算した。

【0512】

【数16】

$$S_j = - \sum_{i \in A A} p_i \ln p_i$$

式中、 S_j は位置 j のエントロピーであり、 p_i は位置 j にアミノ酸 i を観察する確率である。

【0513】

変異耐性のこれらの測定値を用いて、本発明者らは、必須アミノ酸への変異に耐えられると予想される4個のループ領域を特定した。特定された領域に必須アミノ酸を濃縮するために、本発明者らは、任意の選択された位置がF、I、L、V、若しくはM（Zと表記）又はR、K、T、I、若しくはM（Xと表記）のいずれかとなり得るコンビナトリアルコドンライブラリーを用いた。必須アミノ酸への変異に選択されたループ領域のそれぞれにおいて、各可変位置に、（それらの各PSSM値に基づいて）疎水性残基への相対的耐性に応じてZ又はXを割り当てた。疎水性残基に耐性であった位置にZを割り当て、これをコドンNTNを用いて遺伝子コードした。親水性残基により耐性の位置にXを割り当て、これをコドンANRを用いて遺伝子コードした。SEQ ID-45029で特定された領域の配列を以下の表に要約する。

【0514】

【表13】

開始残基番号	オリジナル	縮重
121	DLSSGA	ZLZZGZ
320	SDSE	ZZXZ
429	SDGEQ	XZGXX
474	AATSA	XXTSX

X=NTN；F、L、I、M、Vをコードする

Z=ANR；I、M、T、K、Rをコードする

【0515】

ライブラリーの設計及び構築

可変領域の特定に基づいて、本発明者らは、図33に示されているように各可変領域を増幅できるプライマーを設計した。例えば、4個の可変領域がある場合、4個の可変性断片を作製するために4対のプライマーが必要である。ステップ1では、本発明者らは、鋳型として、glbAプロモーターの下でSEQ ID-45029及びC末端3X FLAGタグとそれに続くAspergillus nidulansのTrpCターミネーターを含むpES1962（BCCM/LMBP、ゲント大学から得たHIL6が3×FLAGタグで置換されたLMBP2236の派生物）を用いた。断片1、2、3、4では、順PRIMER ID-45105、PRIMER ID-45106、PRIMER ID-45107、及びPRIMER ID-45108は、可変領域の前の25塩基の一定配列と、それに続く可変領域を表す縮重配列及び可変領域の下流にある25塩基の一定配列を含む。断片1、2、3では、逆プライマーのPRIMER ID-45113、PRIMER ID-45114、及びPRIMER ID-45115は、それぞれ次の可変領域の上流の25塩基の逆方向相補配列を含む。断片4では、逆プライマーPRIMER ID-45116は、可変領域4から任意の距離にある25塩基の逆方向相補配列を含む。4つの別個のPCR増幅を、推奨されるメーカーのプロトコルを用いてPhusion DNAポリメラーゼ（ニュー・イングランド・バイオラボ社、ビバリー、マサチューセッツ州）を用いて行った。別個の反応として、鋳型としてPES1205 PES1962を、プライマー対としてPRIMER ID-45109 & PRIMER ID-45113、P

10

20

30

40

50

R I M E R I D - 4 5 1 1 0 & P R I M E R I D - 4 5 1 1 4、P R I M E R I D - 4 5 1 1 1 & P R I M E R I D - 4 5 1 1 5、及び P R I M E R I D - 4 5 1 1 2 & P R I M E R I D - 4 5 1 1 6 をそれぞれ用いて、4つの野生型断片、W T - f r a g - 1、W T - f r a g - 2、W T - f r a g - 3、及び W T - f r a g - 4 を作製した。全ての断片をゲル精製した。ステップ2では、2つの別個の P C R 反応を設定した。第1の P C R 反応は、鋳型として等モル比の断片1及び2を、プライマーとして P R I M E R I D - 4 5 1 0 9 及び P R I M E R I D - 4 5 1 1 4 を含む。第2の P C R 反応は、等モル比の断片3及び4並びにプライマーとして P R I M E R I D - 4 5 1 1 1 及び P R I M E R I D - 4 5 1 1 6 を含む。両方の反応において、各可変断片中に存在するライブラリーメンバーのモル比でそれぞれの野生型断片を加えた。断片5及び6をゲル精製し、ステップ3において等モル比で鋳型として用いる。P C R 反応に用いたプライマーには P R I M E R I D - 4 5 1 0 9 及び P R I M E R I D - 4 5 1 1 6 が含まれる。p E S 1 2 0 5 p E S 1 9 6 2 及びプライマー対 P R I M E R I D - 4 5 1 1 7 及び P R I M E R I D - 4 5 1 1 8 を用いてベクター P C R 産物を作製した。断片7及びベクター P C R 産物の両方をゲル精製し、G i b s o n A s s e m b l y M a s t e r M i x (ニュー・イングランド・バイオラボ社、ビバリー、マサチューセッツ州)を用いて一緒にクローニングし、メーカーの指示書に従いクローニング宿主 E . c o l i T u r b o (ニュー・イングランド・バイオラボ社)に形質転換した。50個のコロニーをシークエンシングしてライブラリーの多様性を決定した。次いで、寒天プレート上のコロニーを L B 培地に懸濁し、プラスミド精製のために回収した。同様に、本発明者らは、変異体の設計で特定された全部の可変位置で9個の特異的アミノ酸 F、L、I、M、V、T、K、R、W で変化させた S E Q I D - 4 5 0 2 9 の9個の特異的変異体を作製した。特異的変異体プライマーをアミノ酸の名称の一文字表記で示す。全てのプライマーを以下の表 P R I M E R I D 1 に記載する。

10

20

【0516】

【表 1 4 - 1】

表PRIMERID1	プライマー配列
PRIMERID-45105	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTANRCTGANRANRGGCANRGGTCTCGGTGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45106	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCANRANRNTNANRGCTGTTGCGGTGGGTCGG
PRIMERID-45107	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGNTNANRGGCNTNNTNCTTTCCGCTCGCGACCTG
PRIMERID-45108	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTNTNNTNACATCTNTNATTGGTACCTACAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45109	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGG
PRIMERID-45110	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTC
PRIMERID-45111	CTCCATGTCCGAGCAATACGAC
PRIMERID-45112	TGCCAGCAGCGTGCCCG
PRIMERID-45113	GAGACCATCGTTGAGGGTATAGATTGAG
PRIMERID-45114	CTTGTCGTATTGCTCGGACATGG
PRIMERID-45115	ACAGGTGCCGGGCACGC
PRIMERID-45116	GATCGATCCGACCAGGTAGATGTTC
PRIMERID-45117	GAACATCTACCTGGTCCGATCGATC
PRIMERID-45118	ACCAGAGGGGTACTGATACCCTG
PRIMERID-45119	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTCTCCTGCTCCTGGGCCTCGGTCCTCGGTGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45120	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTatcCTGattatcGGCattGGTCTCGGTGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45121	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTgtcCTGgtggtcGGCgtgGGTCTCGGTGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45122	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTttcCTGttcttcGGCttcGGTCTCGGTGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45123	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTtggCTGtgggtgGGCtggGGTCTCGGTGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45124	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTatgCTGatgatgGGCatgGGTCTCGGTGAACCCAAGTTC

10

20

30

【表 1 4 - 2】

PRIMERID-45125	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTaccCTGactaccGGCactGGTCTCGGT GAACCCAAGTTC
PRIMERID-45126	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTaagCTGaagaagGGCaagGGTCTCGG TGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45127	CCAGGGTATCAGTAACCCCTCTGGTcacCTGcaccacGGCcacGGTCTCGG TGAACCCAAGTTC
PRIMERID-45128	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCCTCCTGCTCCTGGCTGTTGC GGTGGGTCGG
PRIMERID-45129	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCatcattatcattGCTGTTGCGGTGG GTCGG
PRIMERID-45130	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCgtcgtggcgtgGCTGTTGCGGTG GGTCGG
PRIMERID-45131	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCttcttcttcttcGCTGTTGCGGTGG GTCGG
PRIMERID-45132	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCtgggtgggtggGCTGTTGCGGTG GGTCGG
PRIMERID-45133	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCatgatgatgatGCTGTTGCGGTG GGTCGG
PRIMERID-45134	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCaccactaccactGCTGTTGCGGTG GGTCGG
PRIMERID-45135	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCaagaagaagaagGCTGTTGCGGTG GGTCGG
PRIMERID-45136	CTCAATCTATACCCTCAACGATGGTCTCcaccaccaccacGCTGTTGCGGTG GGTCGG
PRIMERID-45137	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGctcctgGGCctcctgCTTTCCGCTCGC GACCTG
PRIMERID-45138	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGatcattGGCatcattCTTTCCGCTCGC GACCTG
PRIMERID-45139	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGgtcgtgGGCgtcgtgCTTTCCGCTCGC GACCTG

10

20

30

【表 1 4 - 3】

PRIMERID-45140	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGttcttcGGCttcttcCTTTCCGCTCGC GACCTG
PRIMERID-45141	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGtggtggGGCtggtggCTTTCCGCTCGC GACCTG
PRIMERID-45142	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGatgatgGGCatgatgCTTTCCGCTCGC GACCTG
PRIMERID-45143	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGaccactGGCaccactCTTTCCGCTCGC GACCTG
PRIMERID-45144	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGaagaagGGCaagaagCTTTCCGCTCGC CGACCTG
PRIMERID-45145	CTCCATGTCCGAGCAATACGACAAGcaccacGGCcaccacCTTTCCGCTCGC CGACCTG
PRIMERID-45146	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTCTCCTGACATCTCTCATTGGTA CCTACAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45147	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTatcattACATCTatcATTGGTACCTA CAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45148	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTgtcgtgACATCTgtcATTGGTACCTA CAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45149	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTttcttcACATCTttcATTGGTACCTA CAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45150	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTtggtggACATCTtggtATTGGTACCTA CAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45151	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTatgatgACATCTatgATTGGTACCTA CAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45152	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTaccactACATCTaccATTGGTACCTA CAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45153	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTaagaagACATCTaagATTGGTACCT ACAGCAGTGTGACTGTCAC
PRIMERID-45154	TGCCAGCAGCGTGCCCGGCACCTGTcaccacACATCTcacATTGGTACCT ACAGCAGTGTGACTGTCAC

10

20

30

【0 5 1 7】

Aspergillus niger 株の構築

Aspergillus niger MGG029のΔaamA、pyrE派生物 (Conesa et al., Applied and Environmental Microbiology, 2000) を本研究に用いた。標準的なプロトプラスト形質転換法 (Punt et al., Methods in Enzymology, 1992) を用いて、Aspergillus niger 由来のマーカー pyrE をコードするベクターと共に発現ベクターを同時形質転換した。プロトプラストを、5 μg の発現ベクター及び pyrE をコードする 1 μg のベクターで形質転換した。1.2 M ソルビトールを補充した最小培地 (1.5 % バクトアガー、10 g / l グルコース、4 g / l 硝酸ナトリウム、20 ml / l 塩溶液 (26.2 g / l 塩化カリウム及び 74.8 g / l 第 1 リン酸カリウムを pH 5.5 で含む) 及び 1 ml / l の金属溶液 (20 g / l 硫酸亜鉛七水和物 (ZnSO₄ · 7H₂O)、11 g / l ホウ酸 (H₃BO₃)、5 g / l 塩化マンガン (II) 四水和物 (MnCl₂ · 4H₂O)、5 g / l 硫酸鉄 (II) 七水和物 (FeSO₄ · 7H₂O)、1.7 g / l 塩化コバルト (II) 六水和物 (CoCl₂ · 6H₂O)、1.6 g / l 硫酸銅 (II) 五水和物 (CuSO₄ · 5H₂O)、1.5 g / l モリブデン酸ナトリウム二水和物 (NaMoO₄ · 2H₂O)、及び 5.0 g /

40

50

1 EDTA二ナトリウム塩二水和物 ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) を pH 6.5 で含む) で形質転換体を選択した。プレートを 30℃ で 4 日間、コロニーの大部分が目に見える分生子柄を有するまでインキュベートした。

【0518】

Aspergillus niger 発現試験

滅菌した爪楊枝を用いて個々のコロニーから分生子を拾い、40mM MES で pH 7 に調整して SigmaFast Protease Inhibitor Cocktail EDTA-Free (1錠/100mL、シグマ アルドリッチ社) を補充した 800μL の完全培地 (5.0g/1酵母エキス、2.0g/1カザミノ酸、10g/1マルトース、4g/1硝酸ナトリウム、20ml/1塩溶液 (26.2g/1塩化カリウム及び 74.8g/1第1リン酸カリウムを pH 5.5 で含む)、1ml/1の金属溶液 (20g/1硫酸亜鉛七水和物 ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、11g/1ホウ酸 (H_3BO_3)、5g/1塩化マンガン (II) 四水和物 ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、5g/1硫酸鉄 (II) 七水和物 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、1.7g/1塩化コバルト (II) 六水和物 ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、1.6g/1硫酸銅 (II) 五水和物 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、1.5g/1モリブデン酸ナトリウム二水和物 ($\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、及び 5.0g/1 EDTA二ナトリウム塩二水和物 ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) を pH 6.51 で含む)、及び 1ml/1 ビタミン溶液 (100mg/1 塩酸ピリドキシン、150mg/1 塩酸チアミン、750mg/1 4-アミノ安息香酸、2.5g/1 ニコチン酸、2.5g/1 リボフラビン、20g/1 塩化コリン、及び 30mg/1 ビオチンを含む) の入った 96 ウェル角底深型ウェルブロックに直接接種した。培養ブロックを多孔質の接着性プレートシールで覆い、微小発現チャンバー (micro-expression chamber) (Glas-Coll社、テレホート、インディアナ州) 中、30℃、1000rpm で振盪しながら 48 時間インキュベートした。成長期の後、最初に 25μm/0.45μm の 2 段階フィルター、次いで 0.22μm のフィルターを用いて、500μL 分の培養上清をろ過した。次いで、ろ液をアッセイして目的の分泌タンパク質のレベルを決定した。

【0519】

Aspergillus niger の配列決定分析

96 ウェル深型ウェルブロックの個々のウェルから真菌組織を回収し、先端の細い (fine-tipped) ゲル充填ピペットチップを用いて残りの上清を吸引した。ZRFungal/Bacterial DNA Miniprep キット (ザイモリサーチ社 (Zymo Research)) を用いて DNA を抽出した。PRIMERID-45155 (GAGAGCCTGAGCTTCAATC) 及び PRIMERID-45156 (CACCAACGATCTTATATCCAGATTTC) を用いた PCR の鋳型として約 5ng のゲノム DNA を用いて、発現カセット全体を増幅した。PCR 反応物を、Zymo clean Gel DNA 回収キット (ザイモリサーチ社) を用いて精製し、PRIMERID-45155、PRIMERID-45156、及び PRIMERID-45157 (AGCAGAGCTAACCCGC) を用いて配列決定した。ランダム化された部位で多形を示すゲノム DNA プレップを pCRBlunt II TOPO (ライフテクノロジーズ社) にサブクロニングし、PRIMERID-45155、PRIMERID-45156、及び PRIMERID-45157 を用いて 15 個のコロニーを配列決定した。

【0520】

抗 FLAG ドットプロット分析

ドットプロット法を用いて細胞外タンパク質を定量した。タンパク質結合が正規化されるようにし且つタグが確実に露出するように、0.2μm のフィルターでろ過した 110μl の試料を 110μl の 8.0M 塩酸グアニジン、0.1M リン酸ナトリウム (変性バッファー) と混合した。アミノ末端 FLAG-BAP (商標) Fusion Protein (シグマ社) の標準曲線を、2μg から始めて 0.0313μg までの 2 倍段階希

釈で試料と同じマトリックス中に調製した。インビトロジェン社製0.45 μmニトロセルロースメンブレンを1×PBSバッファー中で5分間予め濡らした後、バイオ・ラッド社製ドットプロット装置にローディングした。メンブレンを更に濡らすために、300 μlのPBSを吸引した。次に、200 μlの1:1=試料:変性バッファー混合物を各ウェルにローディングし、ドットプロット装置を介して重力により30分間、徐々に排出させた(drain)。次に、減圧することにより300 μl PBSで全てのウェルを洗浄し、次いでミリポア社製Block CH Noise Cancelling試薬をローディングし、60分間インキュベートした。ブロッキング後、メンブレンを300 μlの1×PBS+0.1% Tween 20で洗浄した。次に、2.4 μlのシグマ社製Monoclonal ANTI-FLAG (登録商標) M2-Peroxidase (HRP) 抗体を12 mlのミリポア社製Block CH Noise Cancelling試薬に加えることで抗体溶液を調製した(1:5000希釈)。得られた抗体溶液の100 μlを各ウェルに加え、重力により30分間インキュベートした。抗体インキュベート後、300 μlの1×PBS+0.1% Tween 20を用いた減圧による最後の洗浄を3回行った。洗浄後、ニトロセルロースメンブレンを取り出し、試薬トレイの中に置いた。20 mlのミリポア社製Luminata Classico Western HRP基質を加え、1分間インキュベートした。インキュベート後、膜をGel Doc (商標) XR+ System (バイオ・ラッド社)のイメージングトレイに入れ、化学発光プロトコルを用いて画像取得した。図35は、Aspergillus nigerのSEQ ID-45029変異体の分泌を示す抗FLAGドットプロットとの例を示す図である。

【0521】

LC/MS/MSによるタンパク質特定

目的のゲルバンドのLC/MS/MSにより分泌変異体のタンパク質配列を更に確認する。選択されたヒットを、5%β-メルカプトエタノールを含むインビトロジェン社製LDS Sample Bufferと混合し、沸騰し、Novex (登録商標) NuPAGE (登録商標) 10% Bis-Tris gel (ライフテクノロジーズ社)にローディングする。ラン後、SimplyBlue (商標) SafeStain (ライフテクノロジーズ社)を用いてゲルを染色し、所望のバンドを切り出し、分析に供する。ゲルバンドを洗浄、還元、及びアルキル化した後、トリプシンで4時間消化し、次いでギ酸でクエンチする。次いで、サーモフィッシャー社製Q Exact iveに接続したウォーターズ社製NanoAcquity HPLCシステムを用いたナノLC/MS/MSにより消化物を分析する。ペプチドをトラップカラムにローディングし、350 nL/minで75 μmの分析カラムで溶出する(どちらのカラムにもJupiter Proteo樹脂(フェノメネックス社製)が充填されている)。質量分析装置をデータ依存モードで作動させ、MS及びMS/MSを、それぞれ70,000 FWHM分解能及び17,500 FWHM分解能でOrbitrapを用いて行う。15個の最も多いイオンがMS/MSに選択される。得られたペプチドデータは、関連する変異体タンパク質配列を付加されて、関連する宿主データベースに対してMascotを用いてサーチされる。

【0522】

結果

8個の特異的SEQ ID-45029変異体(pES2009、pES2010、pES2012、pES2013、pES2014、pES2015、pES2016、pES2017、pES1962)でAspergillus niger株を形質転換した。初代の形質転換体を最小培地プレート上で選択し、約10個の個々のコロニーの分生子を、完全培地を含む96ウェル深型ウェルブロックに接種した。培養物を48時間インキュベートし、その後、上清を、抗FLAGドットプロット分析を用いて目的のタンパク質についてアッセイした。特異的変異体について、野生型SEQ ID-45029をコードするpES1962及びポリリジン置換SEQ ID-45029配列をコードするpES2016での形質転換のみが、上清中にFLAGシグナルを示した(図35A、B)。

【0523】

Aspergillus niger 株（方法参照）を SEQ ID-45029 発現ベクターライブラリー（表1参照）で形質転換した。初代形質転換体を最小培地プレート上で選択し、43個の個々のコロニーからの分生子を、完全培地を含む96ウェル深型ブロックに接種（2連（in duplicate））した。培養物を48時間インキュベートし、その後、上清を、抗FLAGドットプロット分析を用いて目的のタンパク質についてアッセイした。単離株18及び27の上清分析が、上清中でバックグラウンドより高いFLAGシグナルを生じた（図35C、D）。

【0524】

本発明者らは、単離株18及び27からDNAを単離し、SEQ ID-45029発現カセットを増幅した。PCR産物を完全に配列決定して、細胞中に見られる特異的DNA配列を特定した。単離株18及び27のDNA配列は、4つの可変位置の全てで多形を示し、これは、各単離株が複数の別個の発現ベクターを有することを示している。PCR産物を pCRBlut I I T O P O ベクターにサブクロニングし、E. coli に形質転換し、15個のサブクローンを配列決定して、発現ベクターの多様性を決定した（図36）。単離株18について、本発明者らは、野生型配列と同一の可変領域を有さない11個の固有の発現カセットを特定した。単離株18-1及び18-3は、エキソン3及びエキソン4にまたがる同じ247塩基対の欠失を含んでいた。単離株27について、本発明者らは12個の固有の発現カセットを特定し、その1つ、27-14は、可変位置2、3、及び4において野生型配列と同一であったが、可変位置1において野生型配列とは異なっていた。15個の単離株間における多数の固有の発現カセットは、各初代単離株が複数（例えば、1以上、例えば2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、又は15以上）の組込み事象を有したこと又は各単離株がクローンコロニーでなく複数の初代形質転換体を含んでいたことを示唆している。これらの発現カセットの1又は複数がドットプロットでの陽性FLAGシグナルに寄与する可能性がある。上清の質量分析又は特定された全発現カセットの再形質転換を用いて、どのアミノ酸強化変異体が容易に分泌されるか確認する。

【0525】

実施例15

15A. 消化プロテアーゼ切断部位が増加するように改変された *Bacillus* 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45009、SEQ ID-45014、及びSEQ ID-45027は全て、消化プロテアーゼの認識部位が濃縮されている。タンパク質分解の部位を付加することにより、ポリペプチドは、より小さなペプチドへと更に分解されて腸で吸収されるまで連続的にタンパク質分解される。タンパク質消化における3つの主なプロテアーゼはペプシン、トリプシン、及びキモトリプシンである。ペプシン認識部位は、Phe、Trp、Tyr、Leu、Ala、Glu、及びGlnから選択されるアミノ酸残基の後（すなわち、下流）のポリペプチド配列中の任意の部位であり、但し、後に続く残基はAla、Gly、及びValから選択されるアミノ酸残基ではない。トリプシン認識部位は、Lys又はArgから選択されるアミノ酸残基の後のポリペプチド配列中の任意の部位であり、但し、続く残基はプロリンではない。キモトリプシン認識部位は、Phe、Trp、Tyr、及びLeuから選択されるアミノ酸残基の後のポリペプチド配列中の任意の部位である。

【0526】

SEQ ID-45009は、アルギニンが4.7%から5.3%に濃縮されており、これはアルギニン含有量の13.8%の増加であり、したがって、ポリペプチドにトリプシン切断部位が濃縮されている。SEQ ID-45014はロイシンが5.5%から6.3%に濃縮されており、これはロイシン含有量の14.3%の増加であり、したがって、ポリペプチドにペプシン及びキモトリプシンの両方の切断部位が濃縮されている。SEQ ID-45027は、リジンが6.2%から8.0%に濃縮されており、これはリジン含有

量の28.9%の増加であり、したがって、ポリペプチドにトリプシン切断部位が濃縮されている。野生型SEQID-45001及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Aに示す。

【0527】

改変分泌変異体の消化率は、電気泳動、HPLC、及びLC-MS/MSによる分析と組み合わせた、インビトロでの人工消化アッセイ (simulated digestion assay) により測定することができる。インビトロ消化系は、胃及び腸を通過する間の、生物利用可能なペプチド及びアミノ酸へのポリペプチドの分解をシミュレートするために用いられてきた歴史がある (Kopff-Bolz, K. A. et al., The Journal of nutrition 2012; 142: 245-250, Hur, S. J. et al., Food Chemistry 2011; 125: 1-12)。消化率から更に、消化プロテアーゼに対するポリペプチドの抵抗性は腸での吸収及び感作につながり得るので、潜在的にアレルギー性の配列が予測される (Astwood et al., Nature Biotechnology 1996; 14: 1269-1273)。

【0528】

消化率を測定するために、ポリペプチドを最初に2 g/Lの濃度で、人工胃液 (0.03 M NaCl、HClでpH 1.5に滴定。最終的なペプシン：ポリペプチドの比率は1:20 (w/w)) を用いて37℃で処理する。種々の時点で反応液からサンプリングし、0.2 M Na₂CO₃を加えることによりクエンチする。人工胃液中で120分後、残りの反応液を、人工腸液と50:50で混合し (15 mM ナトリウムグリコデオキシコラート、15 mM タウロコール酸、18.4 mM CaCl₂、50 mM MES (pH 6.5))。最終的なトリプシン：キモトリプシン：基質の比率は1:4:400 (w/w)、NaOHでpH 6.5に中和する。種々の時点で反応液からサンプリングし、120分までトリプシン／キモトリプシン阻害剤溶液を加えることによりクエンチする。その後、サンプリングした時点をチップ電気泳動、逆相HPLC、及びLC-MS/MSにより分析することができる。

【0529】

チップ電気泳動 (Labchip GX II) を用いてインタクトなタンパク質の消化速度 (半減期) を評価する。HT Low MW Protein Express LabChip (登録商標) Kit (メーカーのプロトコールに従う) を用いて試料を分析し、分子量決定 (kDa) 及び定量化のためにタンパク質ラダーを12試料毎にローディングする。各時点のポリペプチド濃度 (検出された場合) は、消化の半減期を算出するためにプロットされ、タンパク質消化速度を表す。プロテアーゼ認識部位を増やすことにより、インタクトなタンパク質は、インタクトなタンパク質のタンパク質分解における初期のステップを増やす露出された切断配列を有する可能性が高くなる。

【0530】

逆相HPLCによる消化の分析では、アジレント社のアプリケーションノート、Henderson et al. "Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids" Agilent (2000) に従い、試料が、オーフタルアルデヒド (OPA) で自動的に誘導体化され、UV-Vis及び蛍光検出を用いたRP-HPLCにより直列的 (in-line) に分析される。標準的なアミノ酸及びペプチドの混合物と比較することによりアミノ酸及び小ペプチドが検出及び定量化される。消化物試料中のアミノ酸の量は、タンパク質が小さな生物利用可能な成分に消化される効率を表す。より多くのプロテアーゼ切断部位を付加することにより、より多くのアミド結合が分解され、タンパク質がアミノ酸に分解される効率が上昇する。

【0531】

LC-MS/MSにより消化ペプチドを分析するために、トリフルオロ酢酸 (TFA) で試料pHをpH 3に調整し、HLB固相抽出カートリッジ (ウォーターズ社) を用いて

ペプチドを抽出する。次いで、溶出したペプチドをカラムにローディングし、ナノLC／MS／MSで分析する。Mascotを用いて適切なデータベースに対してデータをサーチしてペプチドを特定する。この方法を用いることで、消化に抵抗性である大きなペプチドを検出することができる。消化に抵抗性である配列スペースにプロテアーゼ認識部位を付加することで、ポリペプチドは更にしっかりと小さなペプチド及びアミノ酸へと分解され得る。

【0532】

必須アミノ酸含有量が増加するように改変されたBacillus由来の分泌タンパク質
必須アミノ酸にはヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、及びバリンが含まれる。これらの炭素骨格は代謝必要量を満たすように体によって新規に合成されないもので、これらは食物として取る必要がある。改変分泌ポリペプチドSEQID-45009、SEQID-45010、SEQID-45014、SEQID-45024、SEQID-45025、SEQID-45026、SEQID-45028、及びSEQID-45027は、野生型と比べて必須アミノ酸含有量が1.1～2.5%増加している。特に、SEQID-45014は必須アミノ酸含有量が野生型の42.1%から43.7%に増加しており、これは3.8%の増加である。更に、これらの変異体は全て、全ての必須アミノ酸の完全なセットを含む。これらの栄養ポリペプチドの投与により、対象の食事中に存在しない又は必須アミノ酸不足を処置若しくは防止するのに不十分な量で存在する必須アミノ酸を提供することができる。野生型SEQID-45001及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Aに示す。

【0533】

PDCAAS（タンパク質消化吸収率補正アミノ酸スコア）が上昇するように改変されたBacillusに由来する分泌タンパク質

PDCAASは、タンパク質含有量の質について主張する際に、Nutrition Labeling and Education Act of 1990（NLEA）により公表された米国食品医薬品局（US-FDA）の表示規制によって要求される。方法は、食糧農業機関／世界保健機関（FAO／WHO）によって1991年に説明されており、その使用が推奨されている（FAO／WHO. Protein Quality Evaluation; Report of a Joint FAO／WHO Expert Consultation, United Nations; Rome, Italy, 1991）。PDCAASは、真の糞便消化率（true fecal digestibility percentage）により標準化した参照タンパク質に対する制限アミノ酸の比率を評価することによる、ヒトの好ましいアミノ酸必要量及びそれらの消化能に基づくタンパク質品質の尺度である。変異体SEQID-45009、SEQID-45010、SEQID-45024、及びSEQID-45026は、野生型と比べてPDCAASスコアが上昇しており、特にSEQID-45009はPDCAASスコアが0.92から1.04に上昇しており、これは13%の上昇である。より高いPDCAASスコアのポリペプチドは、優れた比率で重要なアミノ酸を体へ送達することができる。野生型SEQID-45001及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Aに示す。

【0534】

リジン含有量が増加するように改変されたBacillus由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体SEQID-45027は野生型タンパク質と比べてリジン含有量が濃縮されている。SEQID-45027では、リジンが6.2%から8.0%に増加しており、これはリジン含有量の28.9%の増加である。分泌タンパク質にリジンを濃縮することにより、合成できない必須アミノ酸の含有量が増加し、成長及び健康に更なる有用性を有する重要なアミノ酸が付加された。野生型SEQID-45001及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Aに示す。

【0535】

10

20

30

40

50

メチオニン含有量が増加するように改変された *Bacillus* 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45010 及び SEQ ID-45026 は、野生型タンパク質と比べてメチオニン含有量が濃縮されている。SEQ ID-45010 では、メチオニンが 1.9% から 2.4% に増加しており、これはメチオニン含有量の 29.3% の増加である。SEQ ID-45026 では、メチオニンが 1.9% から 3.5% に増加しており、これはメチオニン含有量の 89.0% の増加である。分泌タンパク質中にメチオニンを濃縮することにより、合成できない必須アミノ酸の含有量が増加し、成長及び健康に更なる有用性を有する重要なアミノ酸が付加された。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0536】

ヒスチジン含有量が増加するように改変された *Bacillus* 由来の分泌タンパク質

変異体変異体 SEQ ID-45028 はヒスチジンアミノ酸含有量が 3.1% から 4.9% に増加しており、野生型と比べてヒスチジンが 55% 増加している。分泌タンパク質にヒスチジンを濃縮することにより、合成できない必須アミノ酸の含有量が増加し、成長及び健康に更なる有用性を有する重要なアミノ酸が付加された。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0537】

アルギニン含有量が増加するように改変された *Bacillus* 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45009 及び SEQ ID-45010 は、野生型と比べてアルギニン含有量が濃縮されている。SEQ ID-45009 では、アルギニンが 4.7% から 5.3% に増加しており、これは 13.8% のアルギニン含有量の増加である。SEQ ID-45010 では、4.7% から 5.3% に増加しており、これは 13.7% のアルギニン含有量の増加である。分泌タンパク質にアルギニンを濃縮することにより、成長及び健康に有用性を有する重要な非必須アミノ酸が付加された。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0538】

スレオニン含有量が増加するように改変された *Bacillus* 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45025 は野生型タンパク質と比べてスレオニン含有量が濃縮されている。SEQ ID-45025 では、スレオニンが 6.9% から 8.2% に増加しており、これは 18.6% のスレオニン含有量の増加である。分泌タンパク質のスレオニンを濃縮することにより、合成できない必須アミノ酸の含有量が増加し、成長及び健康に更なる有用性を有する重要なアミノ酸が付加された。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0539】

BCAA 含有量が増加するように改変された *Bacillus* 由来の分泌タンパク質

本発明者らは、SEQ ID-45009、SEQ ID-45010、SEQ ID-45014、SEQ ID-45024 変異体が容易に分泌され、野生型 SEQ ID-45001 と比べて分岐鎖アミノ酸が増加していることを示した。SEQ ID-45009、SEQ ID-45010、SEQ ID-45014、SEQ ID-45024 は、野生型 SEQ ID-45001 と比べて分岐鎖アミノ酸が 7.2%、6.4%、9.7%、及び 8.1% 増加している。分泌タンパク質に BCAA を濃縮することにより、必須アミノ酸の含有量及び重要なファミリーのアミノ酸を増加させた。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0540】

分岐鎖アミノ酸は、休止中のヒト筋肉中でのタンパク質合成速度を速め且つタンパク質分解速度を遅らせることにより、タンパク質代謝に同化的影響を与えることが示されている。更に、BCAA は、持久運動後の回復中にヒト筋肉中で同化的な効果を示すことが示されている。これらの作用は、mTOR のリン酸化、70 kD S6 タンパク質キナーゼ (p70 kD S6) の連続的活性化、及び真核生物開始因子 4E 結合タンパク質 1 により仲介される。P70 kD S6 は、細胞サイクル進行、細胞サイズ、及び細胞生存の調

10

20

30

40

50

節における役割が知られている。マイトジェン刺激に反応した p70 S6 活性化は、リボソーム生合成を上方調節し、細胞の翻訳能力を増大させる (W-L An, et al., Am J Pathol. 2003 August; 163 (2): 591-607; E. Blomstrand, et al., J. Nutr. January 2006 136: 269S-273S)。真核生物開始因子 4E 結合タンパク質 1 は、40S リボソームサブユニットを mRNA の 5' 末端にリクルートするマルチサブユニット複合体の制限的成分である。p70 S6 キナーゼの活性化、及びその後のリボソームタンパク質 S6 のリン酸化は、特異的 mRNA の翻訳増加に関連する。

【0541】

1 セッションの四頭筋抵抗運動の最中及び後に対象に与えられた BCAA は mTOR、p70 S6 キナーゼの増加を示し、運動後の回復期に S6 リン酸化が見られた。しかし、BCAA は Akt 又はグリコーゲンシンターゼキナーゼ 3 (GSK-3) に対してはそのような効果を示さなかった。BCAA 摂取のない運動では、酵素活性化のない p70 S6 キナーゼの部分的リン酸化が起こり、Akt リン酸化が低減し、GSK-3 は変化しない。BCAA の注入も、安静時の対象において Akt 非依存的に p70 S6 キナーゼリン酸化を増加させる。ロイシンは更に、細胞特異的に mTOR1 リン酸化を刺激する一次シグナル伝達分子であることが知られている。これは、細胞タンパク質代謝回転 (代謝回転) を制御し、組織間のタンパク質合成開始のためのインテグリン様成長シグナルを統合する。この生物作用は、骨格筋中の除脂肪組織量の生合成、肥満及びインスリン抵抗性の疾患状態の代謝シフト、並びに加齢に直接関連付けられている。

【0542】

ロイシン含有量が増加するように改変された Bacillus 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45009、SEQ ID-45010、SEQ ID-45014、及び SEQ ID-45024 は、野生型タンパク質と比べてロイシン含有量が濃縮されている。SEQ ID-45009 では、ロイシンが 5.5% から 6.1% に増加しており、これは 11.3% のロイシン含有量の増加である。SEQ ID-45010 では、ロイシンが 5.5% から 6.0% に増加しており、これは 8.3% のロイシン含有量の増加である。SEQ ID-45014 では、ロイシンが 5.5% から 6.3% に増加しており、これは 14.3% のロイシン含有量の増加である。SEQ ID-45024 では、ロイシンが 5.5% から 5.8% に増加しており、これは 5.6% のロイシン含有量の増加である。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0543】

イソロイシン含有量が増加するように改変された Bacillus 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45009、SEQ ID-45010、及び SEQ ID-45014 は野生型と比べてロイシン含有量が濃縮されている。SEQ ID-45009 では、ロイシンが 5.5% から 6.1% に増加しており、これは 11.3% のロイシン含有量の増加である。SEQ ID-45010 では、ロイシンが 5.5% から 6.0% に増加しており、これは 8.3% のロイシン含有量の増加である。SEQ ID-45014 では、ロイシンが 5.5% から 6.3% に増加しており、これは 14.3% のロイシン含有量の増加である。SEQ ID-45024 では、ロイシンが 5.5% から 5.8% に増加しており、これは 5.6% のロイシン含有量の増加である。野生型 SEQ ID-45001 及び変異体のアミノ酸含有量及び PDCAAS スコアを表 15A に示す。

【0544】

バリン含有量が増加するように改変された Bacillus 由来の分泌タンパク質

本発明者らは、SEQ ID-45009、SEQ ID-45010、SEQ ID-45014、SEQ ID-45024 変異体が容易に分泌され、野生型 SEQ ID-45001 と比べて多くのバリンを含むことを実証した。SEQ ID-45009、SEQ ID-45010、SEQ ID-45014、SEQ ID-45024 は、野生型 SEQ ID-

45001と比べて15.6%、9.1%、9.2%、及び25.5%多くバリンを含む。野生型SEQID-45001及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Aに示す。

【0545】

活性が低減するように改変された*Bacillus*由来の分泌タンパク質

場合によっては、改変分泌タンパク質は酵素であるか、酵素活性を有する。活性は栄養の質に必ずしも重要ではないので、酵素活性を不活性化又は低減することが望ましいことがある。SEQID-45001の活性部位は、触媒ドメインの中心にある酸性残基である残基D217及びE249であると予想されている。酵素活性がなく、栄養及び健康に重要なアミノ酸が濃縮されたポリペプチドを作製するために、それら2つの部位を変異させてSEQID-45001の触媒活性を攪乱することができる。SEQID-45001中のD217及びE249は、それらのリガンドと水素結合を形成するための求核剤及びプロトンの供与体又は受容体として働き得るので、両方の残基をアラニン又は必須アミノ酸に変異させて活性を破壊することができる。アラニン、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、及びメチオニンはその側鎖に酸素又は窒素原子がなく、リガンドとの求核剤又はプロトン供与体として働くことができない。スレオニン、リジン、及びアルギニンは、生理学的pH下での変化並びにそれらのサイズ及び形状がグルタミン酸及びアスパラギン酸とは異なる。

【0546】

【表 1 5】

名称	EAA	BCAA	PDCAAS	L	Q	R	C	F	W	Y	A	D	E	G	H	I	K	M	N	P	S	T	V
SEQID-45001	42.1%	15.5%	0.92	5.5%	5.1%	4.7%	0.1%	4.6%	3.7%	6.8%	5.2%	8.2%	4.2%	4.4%	3.1%	5.5%	6.2%	1.9%	9.0%	3.3%	6.7%	6.9%	4.5%
SEQID-45009	43.5%	16.8%	1.04	6.1%	4.9%	5.3%	0.1%	4.6%	3.7%	6.5%	4.8%	8.0%	3.9%	4.5%	2.9%	5.5%	6.4%	2.2%	8.8%	3.3%	6.3%	6.8%	5.2%
SEQID-45010	43.5%	16.5%	1.01	6.0%	4.9%	5.3%	0.1%	4.6%	3.7%	6.5%	4.8%	8.0%	3.9%	4.5%	2.9%	5.6%	6.6%	2.4%	8.8%	3.3%	6.3%	6.8%	4.9%
SEQID-45014	43.7%	17.0%	0.92	6.3%	4.9%	5.1%	0.1%	4.8%	3.7%	6.5%	4.8%	8.0%	3.9%	4.5%	2.9%	5.8%	6.4%	1.9%	8.8%	3.3%	6.3%	6.9%	4.9%
SEQID-45024	43.6%	16.8%	0.99	5.8%	4.9%	5.1%	0.1%	4.6%	3.7%	6.5%	4.8%	8.0%	3.9%	4.5%	2.9%	5.3%	6.4%	2.1%	8.8%	3.3%	6.3%	7.1%	5.7%
SEQID-45025	43.4%	15.5%	0.83	5.7%	4.9%	4.7%	0.1%	4.6%	3.7%	6.5%	4.8%	8.2%	4.2%	4.6%	3.1%	5.3%	6.4%	1.7%	8.8%	3.3%	6.3%	8.2%	4.5%
SEQID-45026	43.6%	15.5%	0.96	5.6%	4.9%	4.7%	0.1%	4.6%	3.7%	6.5%	4.8%	8.2%	4.2%	4.5%	3.1%	5.3%	6.4%	3.5%	8.8%	3.3%	6.3%	6.8%	4.5%
SEQID-45027	43.3%	15.5%	0.83	5.6%	4.9%	4.7%	0.1%	4.6%	3.7%	6.7%	5.0%	8.0%	4.2%	4.6%	2.9%	5.3%	8.0%	1.7%	8.8%	3.3%	6.3%	6.8%	4.5%
SEQID-45028	43.3%	15.5%	0.83	5.6%	4.9%	4.7%	0.1%	4.6%	3.7%	6.7%	5.0%	8.0%	4.2%	4.5%	4.9%	5.3%	6.2%	1.7%	8.8%	3.3%	6.3%	6.8%	4.5%

【 0 5 4 7 】

消化プロテアーゼ切断部位が増加するように改変された *Aspergillus* 由来の分泌タンパク質

改変分泌変異体 SEQ ID-45052 は消化プロテアーゼの認識部位が濃縮されている。タンパク質分解の部位を付加することにより、ポリペプチドは腸で吸収されるまで連続的タンパク質分解でより小さなペプチドへと更に分解される。タンパク質消化の3つの主なプロテアーゼはペプシン、トリプシン、及びキモトリプシンである。ペプシン認識部位は、Phe、Trp、Tyr、Leu、Ala、Glu、及びGlnから選択されるアミノ酸残基の後（すなわち、下流）のポリペプチド配列中の任意の部位であり、但し、それに続く残基はAla、Gly、及びValから選択されるアミノ酸残基ではない。トリプシン認識部位は、Lys又はArgから選択されるアミノ酸残基の後のポリペプチド配列中の任意の部位であり、但し、それに続く残基はプロリンではない。キモトリプシン認識部位は、Phe、Trp、Tyr、及びLeuから選択されるアミノ酸残基の後のポリペプチド配列中の任意の部位である。SEQ ID-45052 はリジンが3.0%が5.8%に濃縮されており、これは92.4%のリジン含有量の増加であり、したがって、ポリペプチドにトリプシンの切断部位が濃縮されている。野生型 SEQ ID-45029 及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Bに示す。改変分泌変異体の消化率は、前述のように（消化プロテアーゼ切断部位が増加するように改変されたBacillus由来の分泌タンパク質）、電気泳動、HPLC、及びLC-MS/MSによる分析と組み合わせた、インビトロでの人工消化アッセイにより測定することができる。

【0548】

必須アミノ酸含有量が増加するように改変されたAspergillus由来の分泌タンパク質

必須アミノ酸には、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、及びバリンが含まれる。これらの炭素骨格は代謝必要量を満たすように体によって新規に合成されないもので、これらは食物として取る必要がある。改変分泌ポリペプチド SEQ ID-45029 は必須アミノ酸含有量が野生型の41.9%から44.4%に増加しており、これは6.0%の増加である。更に、この変異体は全ての必須アミノ酸の完全なセットを含む。これらの栄養ポリペプチドの投与により、対象の食事中に存在しない又は必須アミノ酸不足を処置若しくは防止するのに不十分な量で存在する必須アミノ酸を提供することができる。野生型 SEQ ID-45029 及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Bに示す。

【0549】

アミノ酸は、正常な細胞機能性に用いられ、単一アミノ酸の利用可能率を変化させることによる代謝のシフトは、体全体の恒常性及び成長に影響し得る。更に、アミノ酸は、維持、成長、生殖、免疫に用いられる主な代謝経路のシグナル伝達分子及び制御因子として機能する。どのように非荷電tRNAがアロステリックにGCN2を活性化し、それにより真核生物における脂質生成、タンパク質合成、及び多くの生合成経路に関係する転写因子（後述するSREBP-1c、eIF2a、及びGCN4p）が下流でリン酸化されるかについての機構が理解されている。必須アミノ酸を欠いた食事は顕著に、食事摂取後数分以内にこのシグナル伝達の引き金を引く（Hao et al., science 2005）。SREBP-1cを介したシグナル伝達は、脂質生成に関連する遺伝子を抑制することにより脂質貯蔵の動員にインビボで劇的な影響を与えることが示されている。SREBP-1cは、肝臓脂質合成、脂肪肝表現型を生じさせる能力、及び内臓脂肪量の増加に特異的に作用することが示されている（Knebel, B. et al. Liver-Specific Expression of Transcriptionally Active SREBP-1c Is Associated with Fatty Liver and Increased Visceral Fat Mass. PLoS, 2012）。必須アミノ酸の欠乏は、GCN2への作用を介して、SREBP-1c並びに肝臓重量の生理学的指標（及び脂肪肝表現型）、脂肪組織重量、コレステロール／トリグリセリド含有量、及び食物摂取量の低減に影響を与える。非脂肪量（lean mass）を維持しつつ、脂肪量を減少させることで、肥満、糖尿病、及び心血管系の健康等の領域における治療機会が提供される。

【0550】

タンパク質消化吸収率補正アミノ酸スコアPDCAAS（タンパク質消化吸収率補正アミノ酸スコア）が上昇するように改変されたAspergillus由来の分泌タンパク質PDCAASは、タンパク質含有量の質について主張する際に、Nutrition Labeling and Education Act of 1990（NLEA）により公表された米国食品医薬品局（US-FDA）の表示規制によって要求される。方法は、食糧農業機関／世界保健機関（FAO／WHO）によって1991年に説明されており、その使用が推奨されている（FAO／WHO, Protein Quality Evaluation; Report of a Joint FAO／WHO Expert Consultation, United Nations; Rome, Italy, 1991）。PDCAASは、真の糞便消化率で標準化した参照タンパク質に対する制限アミノ酸の比率を評価することによる、ヒトのアミノ酸必要量及びその消化能に基づくタンパク質品質の尺度である。変異体SEQID-45052は野生型と比べてPDCAASスコアが上昇しており、0.67から0.78に上昇しており、これは16%の上昇である。野生型SEQID-45029及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Bに示す。より高いPDCAASスコアのポリペプチドは、優れた比率で重要なアミノ酸を体へ送達することができる。

【0551】

リジン含有量が増加するように改変されたAspergillus由来の分泌タンパク質
改変分泌変異体SEQID-45052は野生型タンパク質と比べてリジン含有量が濃縮されている。SEQID-45052では、リジンが3.0%から5.8%に増加しており、これは92.4%のリジン含有量の増加である。分泌タンパク質にリジンを濃縮することにより、合成できない必須アミノ酸の含有量が増加し、成長及び健康に更なる有用性を有する重要なアミノ酸が付加された。野生型SEQID-45029及び変異体のアミノ酸含有量及びPDCAASスコアを表15Bに示す。

【0552】

活性が低減するように改変されたAspergillus由来の分泌タンパク質
場合によっては、改変分泌タンパク質は酵素であるか、酵素活性を有する。活性は栄養の質に必ずしも重要ではないので、酵素活性を不活性化又は低減することが望ましいことがある。SEQID-45029の活性部位は、残基D200及びE203であると予想されており、これらは全て触媒ドメインの中心にある酸性残基である。酵素活性のない栄養性ポリペプチドを作製するために、それら2つの部位を変異させてSEQID-45029の触媒活性を破壊することができる。SEQID-45029中のD200及びE203は、それらのリガンドと水素結合を形成するための求核剤及びプロトンの供与体又は受容体として働き得るので、両方の残基をアラニン又は必須アミノ酸に変異して活性を破壊することができる。アラニン、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、及びメチオニンはその側鎖に酸素又は窒素原子がなく、リガンドとの求核剤又はプロトン供与体として働くことができない。スレオニン、リジン、及びアルギニンは、生理学的pH下での変化並びにそれらのサイズ及び形状がグルタミン酸及びアスパラギン酸とは異なる。

【0553】

【表 1 6】

表 1 5 B. 野生型 SEQ ID-4 5 0 2 9 及び変異体のアミノ酸含有量及び P D C A A S スコア

名称	EAA	BCAA	P D C A A S	L	Q	R	C	F	W	Y	A	D	E	G	H	I	K	M	N	P	S	T	V
SEQ ID-45029	41.9%	16.9%	0.67	7.1%	3.2%	4.1%	1.4%	4.5%	5.2%	7.1%	6.5%	9.2%	4.9%	3.8%	1.2%	4.0%	3.0%	0.4%	4.0%	3.1%	10.7%	10.8%	5.8%
SEQ ID-45052	44.4%	16.7%	0.78	7.1%	3.0%	4.1%	1.3%	4.5%	5.1%	7.1%	6.1%	8.7%	4.5%	3.8%	1.2%	3.9%	5.3%	0.4%	4.0%	3.1%	10.0%	10.7%	5.7%

【 0 5 5 4 】

10

20

30

40

【表 17-1】

非公式の配列表

グルコアミラーゼ (A. n i g e r) (配列番号1)	
ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNDYFYTWTRDSGLVLK TLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGDLSSGAGLGEPKFNVDETAYTGSWGRPQ RDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTYGDLWEEVNG SSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDSSRSGKD ANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVD SFRSIYTLNDGLSDSEAVAVGRYP EDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDAATGTYSSES STYSSIVDAVKTFADG FVSIVETHAASNGSMSEQYDKSDGEQLSARDLTWSYAALLTANNRR NSVVPASWGETSASSVPGTCAATSAIGTYSSVTVT SWPSIVATGGTTTTATPTGSGSVTSTSK TTATASKTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGDWETSDGIALSADK YTSSDPLWYVTVTL PAGESFEYKFIRIESDDSV EWESDPNREYTVPQACGTSTATVTD TWR	10
エンド-β-1, 4-グルカナーゼ (A. n i g e r) (配列番号2)	
VPHGSGHKKRASVFEWFGSNESGA EFGTNIPGVWGT DYIFDPSTISTLIGKGMNFFRVQFM MERLLPDSMTGSYDEEYLANLT TVVKAVTDGGAHALIDPHNYGRYNGEIISSTSDFQTFWQ NLAGQYKDNDLVMFDTNNEYDMDQDLVLNLNQAANGIRAAGASQYIFVEGNSWTGAW TWVDVNDNMKNLTD PEDKIVYEMHQYLDSDGSGTSETCVSGTIGKERITDATQWLKDNKK VGFIGEYAGGSNDVCRSAVSGMLEYMANNTDVWKGASWWAAGPWWGDYIFSLEPPDGTA YTGMLDILETYL	20
1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼ (A. n i g e r) (配列番号3)	
QQVGYTTTETHPSLTWQTCTSDGSC TTN DGEVVIDANWRWVHSTSSATNCYT GNEWDTSI CTDDVTCAANCALDGATYEATYGVTTSGSELRLNFVTQGSSKNIGSRLYLMSDDSNYELFK LLGQEFTFDVDVSNLPCGLNGALYFVAMDADGGTSEYSGNKAGAKYGTGYCDSQCPRDL KFINGEANC DGWEPSSNNVNTGVGDHGS CCAEMDVWEANSISNAFTAHPCDSVSQTMCD GDSCGGTY SASGDRYSGTCDPDGCDYNPYRLGNTDFYGPGLTVDTNSPFTVVTQFITDDG TSSGTLTEIKRLYVQNGEVIANGASTYSSVNGSSITS AFCESEKTLFGDENVFDKHGGLEG M GEAMAKGMVLVLSLWDDYAADMLWLDSDYPVNSSASTPGVARGTCSTDSGVPATVEAES P NAYVTYSNIKFGPIGSTYSSGSSSGSGSSSSSSSTTTKATSTTLKTTSTTSSGSSSTSAAQAYGQ CGGQGWGTGPTTCVSGYTCTYENAYYSQCL	30
エンド-1, 4-β-キシラナーゼ (A. n i g e r) (配列番号4)	
SAGINYVQNYNGNLGDFTYDESAGTFSMYWEDGVSSDFVVG LGWTTGSSKAITYSAEYSAS GSSSYLAVYGWVNYPQAEYYIVEDYGDYNPCSSATSLGTVYSDGSTYQVCTDTRTNEPSITG TSTFTQYFSVRESTRTSGTVTVANHFNFWAQHGFNSDFNYQVMAVEAWSGAGSASVTIS S	
セルロース結合ドメイン1 (A. n i g e r) (配列番号5)	
AAQAYGQCGGQGWGTGPTTCVSGYTCTYENAYYSQCL	
炭水化物結合モジュール20 (A. n i g e r) (配列番号6)	
CTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTL P AGESFEYKFIRIESDDSV EWESDPNREYTVPQACGTSTATVTD TWR	40

【表 17-2】

グルコシダーゼファミリープロテクチン III 型ドメイン (A. n i g e r) (配列番号 7)
PAGGGAGGNPRLYDELIRVSVTIKNTGKVAGDEVPQLYVSLGGPNEPKIVLRQFERITLQPS KETQWSTTLTRRDLANWNVETQDWEITSYPKMVFAGSSSRKLPLRASLPTVH
ヒドロホビン I (T. R e e s e i) (配列番号 8)
SNGNGNVCPPGLFSNPQCCATQVLGLIGLDCKVPSQNVYDGTDFRNVCAKTGAQPLCCV APVAGQALLCQTAVGA
ヒドロホビン II (T. R e e s e i) (配列番号 9)
AVCPTGLFSNPLCCATNVLDLIGVDCKTPTIAVDGTGAIFQAHCASKGSKPLCCVAPVADQA LLCQKAIGTF
改変セルロース結合ドメイン 1 (配列番号 10)
AAQLYLQCGGQGWTGPTTCVSGYTCTYLNAYYSQCL
改変セルロース結合ドメイン 1 (配列番号 11)
AAQLYLQCGGQGWTGPTTCLSGYTCLLLNLYYSQCL
改変セルロース結合ドメイン 1 (配列番号 12)
AAQLYLQCGGQGWTGPTLCLSGYLCLLLLLLYYSQCL
改変セルロース結合ドメイン 1 (配列番号 13)
LAQLYLLCGGQGWTGPTLCLSGYLCLLLLLLLLSQCL

10

20

【 0 5 5 5 】

【表 18-1】

表 SEQ ID

SEQ ID	完全配列
SEQID-45001	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFN TLKHN MKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSN WY WLYQPTSYQIGNRYLGTEQE F KEMCAA AEEYGIKVIVDAVINHTTSDYAAISN EVKSIPNWTHGNTQIKNWS DRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDGA DGFRFDA AKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTASN YGH SIRSALKNRNLGVS NISHYASDV SADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRLGW AVIASRSGSTPLFFSRPEG GNGVRFP GK SQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNV MAGQPE ELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDGK LTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFL ENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQINN GPETA FKDG DQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQN PNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNNGS AQVPGQNQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK
SEQID-45002	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFN TLKHN MKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSN WY WLYQPTSYQIGNRYLGTEQE F KEMCAA AEEYGIKVIVDAVINHTTSDYAAISN EVKSIPNWTHGNTQIKNWS DRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDGA DGFRFDA AKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTFAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGH SIRSALKNRNLGVS NISHYASDV SADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRLG WAVIASRSGSTPLFFSRPEG GNGVRFP GK SQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNV MAGLP EELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDG KLGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFL ENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NGPETAFKDG DQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK
SEQID-45003	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFN TLKHN MKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSN WY WLYQPTSYQIGNRYLGTEQE F KEMCAA AEEYGIKVIVDAVINHTTSDYAAISN EVKSIPNWTHGNTQIKNWS DRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDGA DGFRFDA AKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTASN YGH SIXSALKNRNLGVS NISHYASDV SADKLVTWVEWMSDDDIRLGWAVIASRSGSTPLFF SRPEG GNGVRFP GK SQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNV MAGQPEELSNPNGNNQIFM NQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDGKLGTINARSVAVL YPDDIAKAPHVFL ENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQINNGPETAFKDG DQF TIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQNP NHWSQVNAYIYK HDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNNGSAQVPGQNQPGFD YVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK

10

20

30

【表 18-2】

SEQID- 45004	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGKIVVDVINHTTSDVVGIMS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWFDWRDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKILTEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHHSIRSALKNRNLGVSNIPTYVLTVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAAGV PETLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45005	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGKIVVDVINHTTSDVVGFM SNEVKSIPNWTHGNTQIKNWSDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVT ASNYGHHSIRSALKNRNLGVSNIHYASDVSAADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIR LGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAAG QPEELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVN DGKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQ INNGPETAFKDGQDQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45006	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGKIVVDVINHTTSDMVGVGM SNEVKSIPNWTHGNTQIKNWSDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVT ASNYGHHSIRSALKNRNLGVSNIHYAFDVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIR LGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAAG QPVELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVN DGKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQ INNGPETAFKDGQDQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18-3】

SEQID- 45007	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWYWLYQPTSQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGKIVVDVINHTTSDYAVISN EVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDGA DGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTXAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHSIRSALKNRNLGVSNIQYAXEVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRLG WAVIASRSGSTPLFFSRPEGNGVRFPGKSIQIDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAGLP EELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDG KLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NGPETAFKDGQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYTYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45008	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWYWLYQPTSQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGKIVVDVINHTTSDLLGVLS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHSIRSALKNRNLGVSNIHYASDVSAADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRLG WAVIASRSGSTPLFFSRPEGNGVRFPGKSIQIDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAQGP EELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDG KLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NGPETAFKDGQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYTYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45009	ETANKXNELTAPSIKSGTIXHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQG DKSMSNWYWLYQPTSQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGKIVVDVINHTTSDLVGV LSNEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALN DGADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITRVVMEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDV TASNYGHSIRSALKNRNLGVSNIVMYILRVSAADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDI RLGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGNGVRFPGKSIQIDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMA GLPKRLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQV NDGKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVY QINNGPETAFKDGQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIG YQNPNHWSQVNAYTYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIF NNGSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18-4】

SEQID- 45010	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGKIVVDVINHTTSDVIGMVS NEVKSIPNWITHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITRLVMEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHISIRSALKNRNLGVSNIIMRYLLKVSADKLVTWVESHDITYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAIGI PKRLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45011	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGKIVVDVINHTTSDLLGVLS NEVKSIPNWITHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITFTEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHISIRSALKNRNLGVSNIIRYLLRVSADKLVTWVESHDITYANDDEESTWMSDDDIRLG WAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAGLP TKLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDG KLTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NNGPETAFKDGQDQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45012	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAXEEYGKIVVDVINHTTSDLFGVVS NEVKSIPNWITHGNTQIKNWCDRWDVTQNSLLGVYDWNTQNTQAQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITGDNEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHISIRSALKNRNLGVSNIIVKYLVRVSADKLVTWVESHDITYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAIGF PKILSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDG KLTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NNGPETAFKDGQDQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18 - 5】

SEQID- 45013	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWWYLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIKVIVDAVINHTTSDVLGVV SNEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVT ASNYGHSIRSALKNRNLGVSNIHYASDVSAADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIR LGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVIMAG QPEELSNPNNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVN DGKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTTTLRADANTTKAVYQ INNGPETAFKDGQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45014	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWWYLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIKVIVDAVINHTTSDLLGLVS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITTVFREFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHSIRSALKNRNLGVSNIHYLVKVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRLG WAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVIMAGIPII LSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDGKL TGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTTTLRADANTTKAVYQINNG PETAFKDGQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQNPN HWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNNGSA QVPGQNQPGFDYVLNGLYNDGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45015	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWWYLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIKVIVDAVINHTTSDYAAISN EVKSIPNWTHGNTQIKNWCDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRLLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTFAEFQYGEILQNRNLGVSNIHYASDVSA DKLVTWVEWMSDDDIRLGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFE DQAITAVNRFHNVIMAGQPEELSNPNNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLP DGRYDNKAGAGSFQVNDGKL TGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQ LTTTLRADANTTKAVYQINNGPETAFKDGQFTIGKGDPPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTE KYSFVKRDPASAKTIGYQNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTL TLPADTDTTNAKVIFNNGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18-6】

SEQID- 45016	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDVIGLLS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTXREFQYGEILQNRNLGVSNISLSAFGVSAD KLVTWVESHDITYANDDEESTWMSDDDIRLGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFP KSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAGLPXELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAG SSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDGKLTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFL ENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQINNGPETAFKDGQDQFTIGKGD PFGKTYTIM LKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPG KPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNNGSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGS LPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45017	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDVIGVLS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKIMEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHISIRSALKNRNLGVSNISHYASDVSAADKLVTWVESHDITYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMA GVPMMLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFLNYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45018	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDLFGLVS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITNTSAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHISIRSALKNRNLGVSNISHYASDVSAADKLVTWVESHDITYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMA GQPEELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSVAVLYPDDIAKAPHVFLNYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NGPETAFKDGQDQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18-7】

SEQID- 45019	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDLIGVFS NEVKSIPNWTGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITRVLREFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHSIRSALKNRNLGVSNIIFYVITVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRLG WAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAAGVP MKLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVNDG KLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQIN NGPETAFKDGQDQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGYQ NPNHWSQVNAYYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFNN GSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45020	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDLFGMV SNEVKSIPNWTGNTQIKNWFDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITIVITEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHSIRSALKNRNLGVSNILRYVLRVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAAGL PMKLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45021	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDVLGLLS NEVKSIPNWTGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITIIMREFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTAS NYGHSIRSALKNRNLGVSNILRYMMTVSADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAAGV PKTLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGD PFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYND SGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18 - 8】

SEQID- 45022	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGKIVVDVINHTTSDIVGFVS NEVKSIPNWITHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKVLMEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHHSIRSALKNRNLGVSNIHYASDVSAKLVTVWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAQQ PEELSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGDQFPGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45023	ETANKSNELTAPSIKSGTIXHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGKIVVDVINHTTSDVIGFFS NEVKSIPNWITHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKVLREFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHHSIRSALKNRNLGVSNIHYIVRVSAKLVTVWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAQL PRRLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGQDQFTIGKGDQFPGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45024	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTEQEFKEMCAAEEYGKIVVDVINHTTSDVILGVV SNEVKSIPNWITHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITTVVMEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVT ASNYGHHSIRSALKNRNLGVSNIHYVVRVSAKLVTVWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIR LGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPKGSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAQ VPTKLSNPNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVN DGKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLENYKTGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQ INNGPETAFKDGQDQFTIGKGDQFPGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18 - 9】

SEQID- 45025	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSyQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDTTGTTS NEVKSIPNWTHGNTQIKNWSDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALNDG ADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKTTGEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVTA SNYGHsIRsALKNRNLGVSNIHYTTDVSADKLVTWVESHDYANDDEESTWMSDDDIRL GWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAgT PEELSNPNNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVND GKLTGTINARsVAVLYPDDIAKAPHVFLenyKtGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQI NNGPETAFKDGdQFTIGKGDpFGKTYtIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPnHWSQVNAYIYKHdGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45026	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSyQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDMMGM MSNEVKSIPNWTHGNTQIKNWSDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALN DGADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKMMGEFQYGEILQDSASRDAAYANYMD VTASNYGHsIRsALKNRNLGVSNIHYMMDVADKLVTWVESHDYANDDEESTWMSD DDIRLGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNV MAGMPEELSNPNNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSF QVNDGKLTGTINARsVAVLYPDDIAKAPHVFLenyKtGVTHSFNDQLTITLRADANTTK AVYQINNGPETAFKDGdQFTIGKGDpFGKTYtIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASA KTIGYQNPnHWSQVNAYIYKHdGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNA KVIFNNGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	20
SEQID- 45027	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMSNWyWLYQPTSyQIGNRYLGTEQEFKEMCAAAEEYGIVKVIDAVINHTTSDYKKGK KNEVKSIPNWTHGNTQIKNWSDRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITKKGAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVT ASNYGHsIRsALKNRNLGVSNIKYKAKVSADKLVTWVESHDYANDDEESTWMSDDDIR LGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGGNGVRFPGKSQIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNVMAg KPEELSNPNNGNNQIFMNQRGSHGVVLANAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVN DGKLTGTINARsVAVLYPDDIAKAPHVFLenyKtGVTHSFNDQLTITLRADANTTKAVYQ INNGPETAFKDGdQFTIGKGDpFGKTYtIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPnHWSQVNAYIYKHdGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	30

【表 18 - 10】

SEQID- 45028	ETANKSNELTAPSIKSGTILHAWNWSFNTLKHNMKDIHDAGYTAIQTSPINQVKEGNQGD KSMNSWYWLYQPTSYQIGNRYLGTQEFGKEMCAAAEEYGKIVVDVINHTTSDYHHGH HNEVKSIPNWITHGNTQIKNWSRWDVTQNSLLGLYDWNTQNTQVQSYLKRFLDRALND GADGFRFDAAKHIELPDDGSYGSQFWPNITHGAEFQYGEILQDSASRDAAYANYMDVT ASNYGHSIRSALKNRNLGVSINISHYHAHVSAADKLVTWVESHDTYANDDEESTWMSDDDIR LGWAVIASRSGSTPLFFSRPEGGNGVRFPGKSGIGDRGSALFEDQAITAVNRFHNV MAG HPEELSNPNNGNNQIFMNQRGSHGVVLNAGSSSVSINTATKLPDGRYDNKAGAGSFQVN DGKLTGTINARSAVLYPDDIAKAPHVFLNENYKTGVTHSFNDQLTTTLRADANTTKAVYQ INNGPETAFKDGQFTIGKGDPFGKTYTIMLKGTNSDGVTRTEKYSFVKRDPASAKTIGY QNPNHWSQVNAYIYKHDGSRVIELTGSWPGKPMTKNADGIYTLTLPADTDTTNAKVIFN NGSAQVPGQNPQPGFDYVLNGLYNDSGLSGSLPHDYKDDDDK	10
SEQID- 45029	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISQAIVQGISNPSGDLSSGAGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLSDSEA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKSDGEQLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCAATSAIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSIQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTPQA CGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45030	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISQAIVQGISNPSGRLLIIGRGLGEPKFNVDETAYTGSWGR PQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSFWTGSFILANFDSRSRGK DANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKMKVAVAV GRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDAATG TYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKMRGLLSARDLTWSYAAL LTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVLTSHIIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTATPTGS GSVTSTSKTTATASKTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSIQLGDWET SDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTPQACGT STATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	30

【表 18 - 11】

SEQID- 45031	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGTLRTGMGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTMLIA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFAADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKVKGVVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCFVTSLIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVESDPNREYTPVQA CGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45032	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGRLLIIGRGLGEPKFNVDETAYTGSWGR PQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSFWTGSFILANFDSSRSGK DANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKMKVAVAV GRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDAATG TYSSSSSTYSSIVDAVKTFAADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKVKGVVLSARDLTWSYAAL LTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCFVTSLIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTATPTG SGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGDWE TSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVESDPNREYTPVQACG TSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45033	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGMLKKGMGLGEPKFNVDETAYTGSW GRPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDL WEEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANF DSSRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKM MTAVAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKAL YSDAATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFAADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKVKGIVLSARDL TWSYAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLVTSFIGTYSSVTVTWPSIVATGGTT TTATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSIS QLGDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVESDPNREYT VPQACGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	30

【表 1 8 - 1 2】

SEQID- 45034	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGTLTTGMGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTKIRA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKMRGLVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVLTSVIGTYSSVTVTSWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRESDDSVIEWESDPNREYTPQA CGTSTATVTDTWRDYGKDHGDKDHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45035	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGTLRTGMGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTMLIA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKVRGLVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLVTSMIGTYSSVTVTSWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRESDDSVIEWESDPNREYTPQ ACGTSTATVTDTWRDYGKDHGDKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45036	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLMGTGTGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLITFKA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKLTGLLLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLFTSIIGTYSSVTVTSWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRESDDSVIEWESDPNREYTPQA CGTSTATVTDTWRDYGKDHGDKDHDIDYKDDDDK	30

【表 18 - 13】

SEQID- 45037	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGTLMRGKGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLRRLRA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTADFVGSIVETHAASNGSMSEQYDKLRGVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLVTSMIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVESDPNREYTPVQ ACGTSTATVTDTWDRDYKDHGDYKDHHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45038	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLIIGRGLGEPKFNVDETAYTGSWGR PQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSFWTGSFILANFDSRSGK DANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLMMVKAVAV GRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDAATG TYSSSSSTYSSIVDAVKTADFVGSIVETHAASNGSMSEQYDKMRGLVLSARDLTWSYAAL LTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVMTSIIIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTATPTG SGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGDWE TSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVESDPNREYTPVQACG TSTATVTDTWDRDYKDHGDYKDHHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45039	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGTLTTGMGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKRFX AVAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSD AATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTADFVGSIVETHAASNGSMSEQYDKXXGVXLSARDLTWS YAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCXXTSXIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVESDPNREYTPVQ ACGTSTATVTDTWDRDYKDHGDYKDHHDIDYKDDDDK	30

【表 1 8 - 1 4】

SEQID- 45040	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLMGTGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLRRLRA VAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKLRGVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLVTSMIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSCITPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTPVQ ACGTSTATVTDTWRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45041	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLTRGIGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLRKVT AVAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSD AATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKFKGIFLSARDLTWS YAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVFTSFIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSCITPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTPVQ ACGTSTATVTDTWRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45042	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGRLKKGRGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTRVRA VAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKMRGLVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVLT SVIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSCITPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTPVQA CGTSTATVTDTWRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	30

【表 18 - 15】

SEQID- 45043	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLRTGKGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKIFRA VAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKFMGVVLSARDLTWS YAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLMTSVIGTYSSVTVTWSPSIVATGGTTTT ATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQL GDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRIESDDSVESDPNREYTV QACGTSTATVTD TWRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45044	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLKRGTLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTKVR AVAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSD AATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKVKGFMLSARDLTW SYAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVLTSVIGTYSSVTVTWSPSIVATGGTTTT ATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQL GDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRIESDDSVESDPNREYTV QACGTSTATVTD TWRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45045	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGRLMMGKGLGEPKFNVDETAYTGSW GRPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDL WEEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANF DSSRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKKI RAVAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYS DAATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKLKGMMMLSARDLT WSYAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVITSLIGTYSSVTVTWSPSIVATGGTTTT TATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQ LGDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRIESDDSVESDPNREYTV PQACGTSTATVTD TWRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	30

【表 18 - 16】

SEQID- 45046	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGRLKTGRGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTKITA VAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFAFGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKLRGVVLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLITSVIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTVPQA CGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45047	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGTLRRGTGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLRMMT AVAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSD AATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFAFGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKLTGLFLSARDLTWS YAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLLTSLIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTVPQ ACGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45048	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGSWGRPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTA TDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLWEEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSC SWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDSRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCS PRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLTKVRAVAVGRYPEDTYYNGNPWFLCTLAAAEQLYD ALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDAATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFAFGFVSIVET HAASNGSMSEQYDKWFLSARDLTWSYAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCVIT SLIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTSTCTTPTA VAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESF EYKFIRIESDDSVEWESDPNREYTVPQACGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK	30
SEQID- 45049	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGN	

【表 18 - 17】

SEQID- 45050	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGRLKKGKGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLMKITA VAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKLXGXMLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCLXTSXIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRESDDSVESDPNREYTVPQA CGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	10
SEQID- 45051	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLKKGKGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLSDSEA VAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSDA ATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKSDGEQLSARDLTWSY AALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCAATSAIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTAT PTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLGD WETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRESDDSVESDPNREYTVPQA CGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	20
SEQID- 45052	ATLDSWLSNEATVARTAILNNIGADGAWVSGADSGIVVASPSTDNPDYFYTWTRDSGLVL KTLVDLFRNGDTSLLSTIENYISAQAIVQGISNPSGKLKKGKGLGEPKFNVDETAYTGSWG RPQRDGPALRATAMIGFGQWLLDNGYTSTATDIVWPLVRNDLSYVAQYWNQTGYDLW EEVNGSSFFTIAVQHRALVEGSAFATAVGSSCSWCDSQAPEILCYLQSFWTGSFILANFDS SRSGKDANTLLGSIHTFDPEAACDDSTFQPCSPRALANHKEVVDSFRSIYTLNDGLKKKK AVAVGRYPEDTYNGNPWFCLTLAAAEQLYDALYQWDKQGSLEVTDVSLDFFKALYSD AATGTYSSSSSTYSSIVDAVKTFADGFVSIVETHAASNGSMSEQYDKKKGKKLSARDLTWS YAALLTANNRRNSVVPASWGETSASSVPGTCKKTSKIGTYSSVTVTWPSIVATGGTTTTA TPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSTCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLVGSISQLG DWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESEYKFIRESDDSVESDPNREYTVPQ ACGTSTATVTDTWDRDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK	30

【0556】

付録 A

Acremonium セクレトーム

P32470, P82288, 093837, A7WNT9, G2R5G6, G2R8G4, G2RD75, G2QWC4, G2QWI7, G2QXZ3,
G2RG80, G2QRD2, G2QWT6, G2R0I7, G2R5V4, G2QZD9, G2R7J8, G2RB73, G2QW39, G2QZK6,
G2R286, G2R8A1, G2R1U0, G2RB43, G2RCT3, G2QUW5, G2R1E6, G2REH9, G2QRL1, G2R8K6,
G2R087, G2R7N0, G2R5H0, G2QVH7, G2R0M5, G2RAE6, G2R600, G2RCS2, G2REK8, G2QZ90,
G2R7W4, G2R5Y0

40

【0557】

Aspergillus セクレトーム

P69328, Q9P8F4, Q96X54, B8NKA3, Q8NK90, A2Q7E0, Q2U790, Q0CTV2, Q5BA89, Q9C4B1,
A1CGD1, B8N7I7, Q4WL66, Q8NK89, A2R511, Q2UIM2, Q0CEE5, 074288, A1CQC3, B0XQB2,
B8NIX4, Q4WTB3, A2QQ94, Q0D1I6, Q5BDV3, Q9HFS9, A1CLG4, B0XZW5, B8NDL1, Q4WYX7,
A2QT85, Q2U8C6, Q0CS14, Q5BA96, A1D5W1, B0XTS5, B8N803, Q4X0A5, Q2UI74, Q0CY27,

50

Q5AZC8, A1DHW8, A1CN18, B0YDT3, B8NMD3, Q4W930, A5AAG2, Q2U1X8, Q0CRJ6, Q5AUM3,
 A1DKY5, Q4WHK3, Q5BBH7, A2R797, Q2USL3, Q5AU81, P17737, C8VJZ7, A1CBW8, B8MWJ5,
 Q4WVZ3, A2QL72, P28351, Q2UT06, Q0CPK2, A1DDD8, A1C5D3, B0Y224, B8N306, Q4WE86,
 A2QEJ9, Q9Y865, Q2UJ97, Q5AVQ6, A1D0A3, B8NWX6, Q2TW69, Q0CVH2, Q5AU92, B0YEK2,
 B8N7Z0, A4DA70, A2R2S6, Q2UI87, Q0CVX4, Q5AX28, A1D9S3, Q0CEF5, Q5ARP5, A1CNK4,
 B0XNL6, B8MZ41, Q4WRH9, Q2UQV7, Q0CMA7, Q5AWI5, A1D1E6, A1CC12, B0Y2K1, B8NGU1,
 Q4WW45, A2R3X3, Q96WX9, Q2UFP4, Q0CJP9, 042814, Q5AQZ4, A1DD80, 060022, P79017,
 060024, Q8NK92, Q92194, A1CSZ8, Q96W96, A9JPE6, B8NBI2, Q4WBW4, A2QZI3, Q75P26,
 Q0C8Z1, Q5B037, A1DBP9, Q5B9Z8, Q5AUX2, A2QFV9, P79019, Q2U7D2, Q9UVX6, Q0C8B3,
 P79021, B0XMP7, B8N6V7, Q4WS33, A2QAN3, Q2UCU3, Q4ZHV7, Q5BFC4, A1D1Z9, B0XNY2, 10
 B8NKI4, Q4WRD3, A2QA64, Q2U6P1, Q0CMF3, Q5BEQ0, A1D199, A1CE56, B0Y752, B8N2I5,
 Q4WNE4, A2QL84, Q2UMD5, A1DM65, B0XXE7, Q4WG05, A1DJ58, A1CR85, B0XPE1, B8NRX2,
 Q4WJJ3, P87076, A2RAL4, Q2UUD6, D0VKF5, Q0CTD7, Q5B5S8, A1D451, B8NGU6, Q2UFP8,
 Q5BCC6, B8NJF4, A2QPK4, Q2UNR0, Q5AUW5, B0Y7Q8, B8NP65, Q4WMU3, Q2UN12, Q0CI67,
 Q5B6C6, A1DMR8, B8NMR5, Q2U325, Q0CUC1, Q5B0F4, A1DC16, A1CUR8, B0XM94, B8NPL7,
 Q4WL79, Q2U9M7, Q5B6C7, A1DPG0, A1CA51, B0Y3M6, B8NDE2, Q4WU49, A2R989, Q2U8Y5,
 Q0CAF5, Q5BB53, A1DFA8, B0Y8M8, Q4WLY1, Q5AV15, A1DNN8, B0YBJ3, Q4WA69, Q5BA18,
 B0YB65, Q4WGT3, Q0CEF3, Q5B9F2, A1DCV5, B0XPB8, B8N5S6, Q4WR62, A5ABF5, Q2UDK7,
 Q0C7L4, Q5AWD4, A1D122, Q5B681, Q5BG51, A1C499, B0Y9Q9, B8MXP5, Q4WC60, Q2US39,
 Q0CEX9, Q5BD29, A1DBG6, A1CCL9, B0Y0I4, B8NYD8, Q4WFI6, Q2TYT2, Q0CB82, Q5ATH9, 20
 042630, Q92405, Q877A8, A1CE97, B0Y793, B8N7G5, Q4WNA2, A2QPG2, Q9UVS9, Q2UBM3,
 Q0CRF7, Q5B2Q4, A1DMA5, 059843, A1CU44, B0Y8K2, Q4WM08, A2QAI7, Q9UVS8, Q0CMT2,
 Q8NK02, A1DNL0, A1CCN4, B0XWL3, Q4WFK4, A2QYR9, Q0CFP1, Q5B2E8, A1DJQ7, A1CG87,
 B0YBX0, B8NW70, Q4WAJ6, Q2TX26, Q0CC84, Q5B7R2, A1D932, A1CH57, Q5B4S6, Q8J0P4,
 A1CSZ4, B0XRY3, B8MVS3, Q4X1N0, A2R2W3, P52956, Q0CD01, Q5B2C1, A1DGN0, B0Y537,
 B8NBB2, Q4WQV2, A5ABE6, Q2TZY7, Q0CES4, Q5AVY9, A1CVT3, A1C9G0, B0YEP5, B8NCM8,
 Q4W9Z4, Q2U199, Q0CNE3, Q5AX00, A1D9W1, Q0CW01, Q0CRP4, P52750, A1CHP1, B0Y6C5,
 B8N970, Q4WPH9, Q2UH35, Q5AZ42, A1CX29, A1CSW4, B0XRV0, B8NBM3, P0C959, A2QZF1,
 Q3LS63, Q9Y8E3, Q0C8V9, Q5BA58, A1CQP0, B0XPZ4, B8NL00, A2QEP2, Q2U5K2, Q0C7M4,
 Q5AT95, A1D3K3, Q5BDU5, B8MW97, Q96WQ8, A2QPC3, 074706, Q2UPQ4, Q1HFS8, A1DME8, 30
 A1CD22, B0XXF8, Q4WG16, A2QH21, Q2UUZ1, Q0C7P6, Q5AUT0, A1DJ47, A1C4H2, B0Y9G4,
 B8MXJ7, Q4WBU0, Q96WQ9, A2R5N0, Q2US83, Q0CEU4, Q5BCX8, A1DBS6, P46075, A1CRV0,
 B0XN12, B8N151, Q4WK60, A2RAR6, Q7Z9L3, Q0CR35, Q5B5X8, A1D4Q5, B0XRX9, B8NBJ4,
 Q4X1N4, Q2TZQ9, Q0C8Z0, Q5B6Q3, A1DGM6, Q9P979, B8NIB8, A2QSY5, 042807, Q2UNW5,
 Q0CBM7, 042815, B0YDW9, B8NPA4, Q4W8Z9, Q2UP89, Q0CVS2, A1DKV3, B0Y7U1, B8NPT0,
 Q4WMR0, Q2UMX6, Q0CI21, A1DMV3, A1CTK4, A2R0Z6, Q8WZ18, Q5BCF8, A1C9D4, A1CC33,
 B0XU32, B8N7Z6, A4D9B6, A2QYU7, Q2UI81, Q0CDX2, Q5B2G3, A1DI08, Q4X0I8, Q2UF96,
 Q5AZQ5, Q2UMY4, Q0CI32, A1DMU2, Q2TXI3, Q0CZ00, A1CYD8, A1CTL5, Q4WMS0, A2QWW3,
 Q5BCH7, B0XPR3, B8NNI2, Q4WJ80, A2RB93, Q8X168, Q2UN61, Q0CTQ7, Q9Y7F8, Q5B153,
 A1D3T4, Q4WN24, Q2UM43, Q5B5L3, P13006, P22669, B0XZT4, P86036, Q4WZ11, A1CQ80, 40
 B0XQF6, Q4WT68, A2QQE8, Q0D1F8, A1D345, 094220, 000105, A1CQR5, B0XPW9, Q4WJ21,
 A2QPN9, Q2UBH0, Q0C7Y1, Q5B2V8, A1D3M8, P17489, A1C948, B0YED6, Q5VJG6, B8NYX1,
 Q4W9P4, A2R2G1, Q2PIT3, Q8J2N2, Q5AXE5, A1D9K5, Q4WFX9, Q2ULM2, Q2U1F3, Q0CCD0,
 Q0CUG5, Q00012, A1CGC6, B8NVK8, A2QKT4, Q2TXJ2, Q5B7X2, A1D8Y6, 074168, A1CTM5,
 B0Y7S2, B8NP78, Q4WMS9, A2QWU9, Q9UUZ3, Q2UN00, Q0CI48, Q5BCI8, A1DMT2, A1CGA8,
 B0YBU9, B8NW36, Q4WAH4, A2QYN2, Q2TXB7, Q0CCA0, Q5B7W2, A1D911, Q5B833, Q0C8J3,
 Q5AZ53, Q5AVP1, Q5AWB7, A1C8U0, B0Y9E7, B8NIV9, Q4WBS1, Q2U2I3, Q5AR04, A1DBV1,
 A1CRK9, Q4WJW8, A2Q898, Q2UKB8, Q0CRD8, Q5BG98, A1D4H0, A1CBT0, B0Y240, B8NM08,
 Q4WVV6, A2R3N6, Q2U5V7, Q0CJH2, Q8J0L4, A1DDI7, A1CNY1, B0XN24, B8MZJ8, Q4WRX2,
 A2QAU8, Q2UQG9, Q0CZL5, Q5BF59, A1D1T8, A1CHU1, B0Y6I4, B8N0Q7, Q4WPP2, A2QJH4, 50

Q2UJF5, Q0CZY7, Q5BBM5, A1CWW9, A1CBP8, Q4WVS4, A2R3Z3, Q2U5Z8, Q0CJD8, Q5AXW3,
 A1DDL6, B0XPZ1, B8NC58, Q4WJ01, Q2UBF0, Q09016, B8NMK3, A1C4M2, B0Y9E2, A2Q7V4,
 Q0CFJ0, A1DBW0, A1C7E9, Q4X0B5, A2QCV4, Q2UFN3, Q0CY37, Q5AZB4, A1DHW1, A1CIU4,
 B0YEV0, B8NJB2, Q4WQR6, Q2UP30, Q0CMZ3, Q5AUR8, A1DA48, B0Y4X9, B8NWE1, Q5B7T7,
 A1CVX6, Q4WA45, Q2U1N5, Q2U1G7, A1CIA7, B0Y708, P35211, B8N106, P28296, P12547,
 Q00208, A1CWF3, A1CE70, B0Y766, B8NPN0, Q4WNC9, A2RBC2, Q2U9N9, Q0CTS9, Q5B131,
 A1DM79, A1CAX3, B8N4P0, Q2UMC1, A1CFS2, B0XT36, B8N6W5, Q4WV10, A2R3I1, Q01172,
 Q2TXM4, Q0CYL8, Q5BAU9, A1CYC2, B0YCL3, Q4WIS6, A2QFN7, Q00205, Q2TWM1, Q5BA61,
 A2QW65, Q5MBK3, Q2UCT7, Q5BEB9, B8NVB7, A2RBL2, P22864, Q2TXS4, Q5AQJ1, B3GQR3,
 Q0CFF7, Q0CZD4, B0Y0L8, B8N316, A2R6A1, Q8NJK6, Q2UJA7, Q5B3J8, A1DEH0, P55749, 10
 P17946, A1CBR4, B0Y1V8, B8NLY9, P41748, A2R3L3, P55325, Q06902, Q12567, 093885,
 A1DDK1, 074213, A1CIV8, B8N8M2, A2QAH3, P26213, Q2UHL4, Q0CMU3, Q70HJ4, Q9P359,
 Q8NK98, A2R5S4, P26214, P19805, Q9P358, B0Y4Z4, P41749, Q4WQT2, Q8NK99, A2R8F8,
 Q9P4W4, P49575, A1CVV8, B0YAH0, P41750, B8N7Z8, Q4WBE1, Q1HAY5, A2QCV8, Q9P4W3,
 P35335, Q5B508, A1DAQ2, Q70HJ3, A2QL39, Q12554, B8MW78, A2QTU0, Q9P4W2, Q2UT29,
 Q5AYH4, A1DBR6, A2QBB6, 042809, B0YDE8, B8NG16, Q4WCZ8, A2R060, Q27UB3, Q0CGP0,
 Q00293, A1DLC1, B0XPA1, Q4WR80, Q5ATQ3, A1D145, Q5ASG9, Q5ARN5, A2QW66, Q27UB2,
 B0YAA4, B8NX60, Q4WBK6, A2QHG0, Q27UB1, Q2TW03, Q0C7H7, Q873X6, A1DAX2, B0XYC4,
 B8MZZ6, Q4WX94, A2QEW2, Q27UB0, Q2UQ40, Q0CXI3, A1D7I1, P34724, 000085, 000100,
 P34753, 000092, P34752, Q9C1T1, Q0CLV1, B0XT32, B8NE46, Q4WIT0, A2QV36, Q9C2Z0, 20
 Q2U8R6, Q5AVN4, A1CYB8, B8NBC2, Q2TZY0, Q0CBV0, Q00645, B0XMA2, B8NQ7, Q4WL88,
 Q2UB83, Q0CLG7, Q5B297, A1DPF0, B0YB89, Q4WGV9, Q0CJ49, Q5BA88, A1DCY5, A1C4B8,
 B0Y9M8, B8NX10, Q4WC29, Q2TW49, Q5B7Z3, A1DBJ7, B0Y953, B8NJZ7, Q4WKV8, Q0CCF8,
 Q5B024, A1D5E3, Q0CJ20, Q5AY82, Q5ATC7, B0Y9F9, B8NPS7, Q4WBT5, A2QK82, Q2UBD9,
 Q5B7U0, A1DBT4, Q12535, P17872, Q12546, Q00019, A1C995, B0YEH9, B8NCU7, Q4W9T6,
 A2R2L1, Q8NJK5, Q2U0Q1, Q0CVU1, Q5AX45, A1D9P9, B0XPA2, B8N5T6, Q4WR79, A5ABH4,
 Q2UDJ8, Q0C7K7, Q5AZ85, A1D144, Q2U5P7, Q5B5P1, B8NJB0, A2QBB4, Q2EQQ2, Q2UP32,
 A2QG68, A2RAY7, A1D415, Q00001, B8NK45, A2QYE5, P87160, Q2U293, Q5ARE6, B0Y0Q3,
 Q4WV23, A2R3G4, P87161, Q2TWN8, Q0CFC7, A1DED1, B8NGP8, A2QLQ5, Q2UFD2, A2QWT2,
 B8NKB9, A2QXE8, Q1ZZM3, Q2U7A4, Q7M515, P00655, P00652, P0CL71, P0CL70, P67875, 30
 P67876, P41746, P28346, Q70DX9, Q70J59, Q70GH4, Q4WQU0, Q4WGU1, A1CTH7, Q0CHZ1,
 A1DMY0, Q5BD38, A1DAU0, 094218, A1CRJ0, B0XNQ1, B8N3L3, Q4WJU8, A2Q877, A1XP58,
 Q2UK93, Q0CRC9, Q5BG78, A1D4F1, B0Y9F8, B8NPS8, Q4WBT4, A2QK83, Q2UBD8, Q9UUZ2,
 Q5B7U1, A1DBT5, P33557, Q12550, A2R4D1, Q12549, Q6QJ75, 059859, P55328, A1CCU0,
 B0XXF3, B8NKE9, Q4WG11, P33559, P55329, Q9HFA4, Q0CFS3, P55331, P55332, A1DJ52,
 A1CU59, B0Y8Q8, B8NJ86, Q4WLV2, P48824, A2Q7I0, P55330, P87037, P55333, A1DNU5,
 A1CHQ0, B0Y6E0, Q0H904, A2QFV7, C5J411, Q4JHP5, Q0CBM8, Q00177, A1CX14, C0STH4,
 Q4AEG8, A1CND4, B0XP71, B8MYV0, Q4WRB0, B6EY09, A2QA27, 000089, Q2UR38, Q0CMH8,
 Q5BAS1, A1DJS5, B8NER4, 094163, B8NXJ2, Q96VB6, Q4WFS2, Q4WZS3, Q8TGF0, Q5AQA6,
 Q5BG31, Q5AWC9, Q5B0J3, Q5BEH2, Q5B319, F1DGF5, F1DGF4, D4AHU7, A1C5Q9, A1C8S4, 40
 A1CCD3, A1CFN9, A1CU43, A1CUK2, A1CT06, A1CSI8, A1CTF0, A1CC72, A1CIY4, A1CS91,
 A1C6U9, A1CIY3, A1CD34, A1CN15, A1CPM7, A1CCD2, 074169, 074170, A2R8E0, A2QAI8,
 A2Q907, A2R5J9, A2R313, A2QPD0, A2QVV3, A2QKG4, A2QM67, A2QFN0, A2QR73, A2Q7T5,
 A2R6C1, A5ABR1, A2QBP1, F2ZCA5, G7XJV9, G7XK24, G7XXU2, G7XE10, G7XEC6, G7XS16,
 G7XL33, G7X9D4, G7XMH5, G7XTX7, G7XI4, G7XJ51, G7XZ33, G7XVU2, G7XUQ9, G7XKW3,
 G7XXD7, G7XHD4, G7X559, G7XYE1, G7X9W2, G7XC15, G7XHV5, G7XNS8, G7XQJ0, G7XKW4,
 G7XQ80, G7XV87, G7X9R8, G7Y0V7, Q0CMT1, Q0CPJ4, Q0CSC4, Q0C8K9, Q0CNK4, Q0CNM5,
 Q0CNM6, Q0D0V1, Q0CEG4, Q0CWM0, Q0CHH6, Q0C7F5, Q0CMK3, Q0CBA9, Q0CKB2, Q0CIS6,
 Q0CSA7, Q0CEY6, Q0CQ24, Q0CC79, Q0CM88, G3XNR5, G3XUK0, G3XV47, G3Y7V8, G3Y315,
 G3YGW0, G3XQZ4, G3XYB6, G3XYE5, G3XSF3, G3YCF0, G3YBD6, G3XQY4, G3XTZ7, G3XPC9, 50

G3YD73, G3Y6I0, G3Y8E4, G3XQZ3, G3Y249, G3XSF0, G3XMN6, G3XW55, G3YCQ5, G3XY89,
 G3YAL1, G3Y6I9, G3XVM1, G3XX59, G3XP44, G3XR32, G3YHA1, G3XSP5, G3YE92, G3Y192,
 G3XR11, Q4X1L7, Q4WLG5, Q4WM09, Q4WMK9, Q4WIR4, Q4WW98, Q4WSL6, Q4WG03, Q4WAB1,
 Q4WF08, Q4WKL6, Q4W9V8, Q4WIV6, Q4WCM9, Q4WGZ2, Q4X078, Q4X259, Q4WD28, Q4W933,
 E3V047, C6KLC9, Q8TFP1, Q1ZZM2, Q1ZZM4, F6KST3, Q5G1M1, Q5G1M0, E5Q901, B0XM69,
 B0XRZ6, B0Y8K1, B0XW55, B0XZE1, B0XRG8, B0YDB9, B0XU21, B0XXE4, B0XR07, B0YEV5,
 B0Y7Z8, B0YDR8, B0Y7H7, B0YBC5, B0YBN3, B0YEK4, B0XT48, B0Y9I8, B0Y8Y8, B0XST8,
 B8NXT6, B8N971, B8NM34, B8N1P0, B8NSR5, B8MYK3, B8N4F6, B8NAI8, B8NBF4, B8NYH4,
 B8NPW1, B8NFT5, B8NMG4, B8NC02, B8N7P9, B8MXB7, B8N2Q5, B8NJH9, B8NGU9, B8N1N9,
 A1DGP1, A1DP82, A1DNK9, A1DAP7, A1DON7, A1D557, A1CYD5, A1DJ63, A1DHZ6, A1DG74,
 A1D9S5, A1DD18, A1DAP8, A1CYD6, A1CY85, A1DKL1, A1DLF3, A1D2I6, A1DAI9, A1DMI9,
 A1CV43, A1DBY5, A1DKY9, A1DN02, A1D8U2, C8VMJ7, C8VJF5, C8VAC1, C8V085, C8VTT0,
 Q5BB74, Q5BGH2, Q5B9E7, Q5B0W2, Q96WR0, Q9P960, Q6E3L3, Q2USD5, Q2U1V1, Q2UB25,
 Q2TZU7, F2YWP6, Q2UPF5, Q2UNN4, Q2U104, Q2U2C9, Q2UE27, Q2TYW2, Q2UKQ6, Q2U5C5,
 Q2UKQ5, Q2UL72, Q2UFQ1, Q2UIR7, Q2UIH1, Q2TZA5

10

【 0 5 5 8 】

Bacillus Subtilisセクレトーム

P94522, P00691, P68569, P39824, P82243, 031982, P24282, P25152, 032150, 007921,
 P25959, P0CY50, P0CY51, P45453, P54507, Q02113, P24808, Q06320, P50864, P54450,
 P42249, P40767, P08750, P35150, P39844, P38422, P96600, P39597, P37869, P37957,
 Q79F14, P02968, P39810, P96501, P39738, P63186, P54422, P04957, Q9R5C6, P83878,
 P83879, Q797B3, 034952, Q02114, P39848, P54421, 007532, 032083, 005512, P55278,
 P39790, P39899, P68735, P68736, 034313, P42983, 034819, P94449, P96740, Q59HN7,
 031097, P42094, 034310, P39116, P05655, P05656, 007623, 034344, 031422, P26936,
 P26937, 031687, P16396, P16397, P35835, P00783, P04189, P29141, P68577, P27620,
 Q8RK17, Q07833, P54423, P54327, P39800, 034391, Q6YK37, Q45070, Q45071, P37548,
 P37558, P37559, 034538, 034621, P94421, 005497, 031526, 031527, 007544, 007545,
 034725, 034551, 035012, 031737, 031803, 034918, 034669, P54396, P54483, P54484,
 P54496, 032041, C0H3P8, 032065, 032123, 032206, P39603, P94576, P96729, P42111,
 P94356, B9W6G0, D4FVQ0, D4G4T0, D4G064, D4FW61, D4FVQ1, D4FY04, D4G5S8, D4G1Y8,
 D4FZ80, D4G6V4, D4G1L2, D4G4S9, D4FVC2, G4NWQ6, G4NSV4, G4NZC3, G4NZK8, G4NTR5,
 G4NV58, G4NZ41, G4NV57, G4P0V9, G4NUL6, G4NXT8, G4NTR4, G4NR54, G4NYF5, G4NRV1,
 G4P175, G4P1N9, G4EPM5, G4ESB8, G4EWT0, G4EX88, G4ET86, G4EP68, G4ER43, G4EXL2,
 G4EXY5, G4EP69, G4EZI6, G4EX87, G4F0C2, G4F0C1, G4EQT7, G4EYI2, G4EUK0, G4P942,
 G4P5H8, G4PA12, G4P5X6, G4P677, G4P3G0, G4P430, G4PCR4, G4P447, G4P9D9, G4PA11,
 G4PAK0, G4P8V2, G4P5H7, G4P5D4, D5MVJ2, D5N2A8, D5MVJ3, D5MZH6, D5N2W0, D5N539,
 D5N6H4, D5MXN2, D5MYF4, D5MW30, D5MXD6, D5N0R6, D5N6H3, D5N2V9, D5N3K3, A7UAM1,
 C1KF31, E3WEB8, F6M2H1, Q1L026, E9P1A2, A7UAM2, 085500, Q4QZ38, Q0Q2G5, D0FHB6,
 A7BJC1, E8VIU5, E8VIU6, E8VH09, E8VGY1, E8VKL3, E8VAN5, E8VK94, E8VFH3, E8VB97,
 E8VBU7, E8VA72, E8VF12, E8VI51, E8VK93, E8VDT7, E0U1J3, E0U2I9, E0U168, E0U2J0,
 E0TXA6, E0U3Z0, E0TTG2, E0TU07, E0TWZ7, E0TWV4, E0U0E6, E0TTG3, E0U3M0, E0U1J2,
 E0U2U6

20

30

40

【 0 5 5 9 】

Chrysosporiumセクレトーム

Q01738, P13860, Q6QWR1, Q02567, P78733, P19136, Q9URB1, Q9HEZ1, Q7LIJ0, Q0PQY8,
 G0ZCU2, Q9HEZ2, Q66NB7, Q9HEY9, 042639, A9CSH7, B7SIW2, H2ESB9, H3K419, Q7LH12,
 Q66NB8, Q0PQY7, 042638, Q53UG9, Q02321, Q8NJI9, Q8TGC6, 074203, 042640, Q9HEZ0,
 Q9URP5, Q01763, B7SIW1, Q09431, G3FAQ8, G4XKN3, G3FAQ9, F2X2G0, G3FAR0, G4XKN6

【 0 5 6 0 】

Corynebacteriumセクレトーム

50

P0C1D6, P0C1D7, C3PFA7, Q6NI61, Q8FQS7, A4QCV0, Q8NRS1, Q4JU51, C4LHL7, B1VFL0,
 Q8NRF6, A4QD57, A4QFQ3, Q8NNK6, H2HX71, B0I1U1, Q6YIX8, F1ALY2, F1T1U0, G5EKG4,
 H2H973, H2HBP4, H2HC44, H2HC06, H2HBD3, G0CP36, G0CPK6, G0CPX3, C2GIM3, C2GIP5,
 C2GIE6, H2HZV2, H2I0Y8, H2I323, H2I1Q9, H2HXU2, E2S4T5, E2S1Q2, E2S512, E2S586,
 H2FRK8, H2FRE0, H2FQT2, H2FRA0, C0WKM1, C0WFB5, C0WEX2, C0WGJ7, C0WF61, H2G8D7,
 H2G8H5, H2G7X9, H2G5J2, H2G4H1, H2G8A2, G2ERC5, G2EQE5, G2EQM4, G2EN73, D7WEC5,
 D7WE77, E2MYZ0, D7WFD4, E2MWD6, D7W9Y2, D7WB83, D7WET8, E2MXZ5, E2MYW5, G4QUP7,
 E0DIN6, E0DJ19, E0DIT1, G4QU50, G4QUL7, G4QUD6, H6M2G3, H6M3W7, H6M7L6, H6M3T4,
 Q5PY51, Q6KE85, G7HYM5, G7HZ63, G7HZF3, H2HIC5, H2HIN4, H2HFW4, H2HHX0, H2HIG2,
 G7U374, G7U2W3, G7U2R6, G7U3H9, Q2XUR0, H2GU79, H2GVD2, H2GXV6, H2GXB3, H2GXR9,
 H2GY15, G0I169, G0I5S0, G0I2D9, H2GP87, H2GT91, H2GNW1, H2GPB9, H2GPF6, H2GMX9,
 F1ALY5, Q5IL09, F1ALY4, Q6YIX9, C5IC92, C0VST9, C0VT14, C0VT37, D5NW71, D5P0Z8,
 D5NVU0, D5NVY8, H2GFR7, H2GFZ1, H2GG28, H2GKR1, H2GIT9, H2G9F2, H2G9B4, H2G8V1,
 H2G957, H2GCV5, C0XQ38, C0XQC5, C0XRS1, C0XRQ4, C8NRK5, C8NN44, C6RAI5, C6RB66,
 C6R9W3, C6RB16, H2HS69, H2HX45, H2HRK8, H2HV07, H2HS31, C2CLU3, C0E7U3, C2CNW1,
 C0E7P4, C2CM09, C0E837, C2CRT5, C2CRT6, C2CMA7, E0MYK5, E0MWE4, E0MWN3, E0MWT6,
 G6X0I9, G6WVM5, G6WY21, G6WXN8, G6WZU0, H2I6G9, H2I756, H2HJM3, H2I7Q6, H2HMX5,
 H2I6L1, H2I888, H2HQL9, H2I9P5, H2HQA2, H2HJA9, C8RQL1, C8RQF3, H2H4X4, H2H280,
 H2H4E2, H2H4U7, C8RVK7, C8RQC4, H2H1K3, C8RW05, H2H560, G4QX80, G4QXR9, G4QXP1,
 G4QXH3, Q6M6W5, Q8NQR4, Q6M6N7, Q6M8Q4, Q8FR70, Q8FQZ6, E4WK9, E4WIK2, E4WK8,
 E4WEE8, E4WEK6, E4W8J6, E4WI09, E4WKG6, E4WCS8, E4WEC1, E4WDQ3, E4WK01, E4WEE7,
 D8K6, D8KLP1, D8KLC1, D8KPZ8, B1VDZ6, B1VIE3, B1VFI3, F8E0P4, F8E0I0, F8E0K9,
 F8DXE4, D9QCP2, D9Q954, D9Q9G9, D9Q9D7, E3F7V5, E3F8A7, E3F8D8, E3F9F2, D5UT63,
 D5UTV3, D5UUQ7, D5UVN6, D5UVH0, C3PF42, C3PF82, C3PEV1, G0HA45, G0HFB5, G0HD10,
 G0HHC3, G0HJ2, C4LHA5, C4LHJ2, Q6NK15, Q6NIK0, Q6NGB0, Q6NIA3, Q6NF04, Q8FUC0,
 Q8NU49, A4QA87, Q8NRY2, Q8NS60, Q6M5J8, A4QCN9, A4QDW6, Q4JX84, Q4JX39, Q4JU22,
 Q4JYA7, G0CXQ6, G0CYT9, G0CY79, G0CYK0, D9Q7C9, D9Q7G0, D9Q4S8, D9Q742

10

20

【 0 5 6 1 】

Escherichia coli セクレトーム

P53516, P53517, P39180, P46005, P46004, P19926, Q03155, A7ZP70, B7UFR4, B7MG19,
 B7LAR7, Q8XDZ8, B5YX43, B7NNT1, B7MXD4, B7M5T4, C4ZU94, B1X8W5, A8A2B9, A1ADA4,
 Q0TFJ0, Q8FFM4, B1IXT5, P45565, B7N5L7, B6I7J5, B1LLK6, Q1R9G3, P39265, P36548,
 P26365, P63884, P63883, P75820, P46883, P00811, P25718, P0AE22, P02924, P09551,
 P30859, P30860, P25549, P28249, P00805, B7URT6, B7M9V0, B7L5E9, Q8X783, B7NUP2,
 B7MV44, B7LZY9, C4ZY59, B1XF62, Q0THN1, Q8CW15, B1IQZ3, P36560, B7NB47, B6IB31,
 A7ZHR7, B7UIM2, B7MBF8, B7LGN8, P0A942, B5Z0F6, B7NID9, B7MP37, B7M1Y0, C4ZRR9,
 B1XD46, A7ZWC3, A1A7M1, Q0TLF6, P0A941, B1IQG4, P0A940, B7N844, B6HZF1, B1LGX9,
 Q1RG12, P77774, P0A903, P0AC04, P0AC03, P0AC02, P0A938, P0A937, Q9S142, Q47068,
 A7ZTS5, B1X9U9, A8A6I1, A1AHQ2, Q0TAY9, Q8CVJ9, B1IX18, P26218, Q1R4L6, P33363,
 P0AB42, P0AB41, P0AB40, P0A902, P0A901, A7ZUI6, Q8X714, A8A774, A1AIE8, Q0TA90,
 Q8CVJ0, P06129, Q93SE0, Q1R3U1, P06610, Q8X8Z0, Q8CWD2, P37028, P0ABE8, Q8CVG7,
 P0ABE7, Q46668, Q46669, Q46670, Q47500, Q47125, Q47502, P22522, P04479, A2TJI4,
 P25733, P13656, P75733, P17315, Q05433, P08331, P0AE86, P0AE85, P15483, P15484,
 P15484-2, P15484-3, P15484-4, P15484-5, B7MII3, A1A9U1, P52107, B7NAR8, P53518,
 P53519, P53512, P53513, Q8X947, P36649, Q8XBY3, Q8CWA4, P77211, Q8XBY2, Q8CWA3,
 P77214, P16700, P24228, P0AEE1, P76128, P77790, P39099, P0AEE4, P0AEE3, P0AEE6,
 P0AEE5, P23847, P0A4L6, P0AEG5, P0A4L5, P0AEG4, P0AEG7, P0AEG6, P58320, P77202,
 P0A4L7, P13810, P13812, P43528, P43529, O31000, P19809, P43261, Q84GK0, A7ZP31,
 B7UFM3, B7MFC2, B7LAN3, Q8XE46, B5YX01, B7NN20, B7MXP0, B7M5Q0, C4ZU52, B1X8A5,
 A8A271, Q0TFN2, Q8CVW3, B1IY63, P23827, B7N5H1, B6I1A7, B1LKV6, Q1R9K8, P33128,

30

40

50

Q8XAS4, A1A9S3, Q0TJ48, Q8CW71, P31545, Q1RDJ8, Q8XAS6, A1A9S2, Q0TJ49, Q8FJ35,
 P0AB24, Q1RDJ9, P43530, P06717, D0Z6T1, P0CK94, P32890, Q8XDD1, P75857, Q8X5E4,
 P75856, B7UQ77, B7MK90, B7LGV3, Q8XDJ7, B5YXL7, B7NUV4, B7MTX1, B7LXA7, C4ZTN4,
 B1XAN4, A1AAB6, Q0TII2, P59243, B1IU99, P0C960, B7N3Z9, B1LHX3, Q1RCQ2, P25736,
 A7ZQM2, B7UJH5, B7MLA0, B7LEJ8, P0A6Q1, B5Z3E3, B7NV69, B7MZ75, B7LXJ5, C4ZZT2,
 B1XDI9, A8A3R4, A1AEW7, Q0TE80, P0A6Q0, B1IU62, P0A6P9, B7N715, B6I6H5, B1LQB2,
 Q1R7R4, P37690, P39176, P0DJ88, P0DJ89, Q9EZE7, Q8X482, C6UYI3, Q7BSW5, 032591,
 Q8XC�6, Q8CVU7, P10384, P06970, P25401, P12050, P25402, P46000, P24183, P32176,
 P13036, P15028, P23485, P05825, P0AEL7, P0AEL6, P06971, P07822, P16869, P59590,
 P31697, P30130, Q8X7W7, Q8CW90, P75780, Q1REC0, P65765, P65764, P45523, P0A9L3, 10
 P75933, A7ZKI4, B7UP93, B7MJ67, B7LG13, P0A6S1, B5YVU9, B7NL55, B7MTL0, B7M955,
 C4ZS19, B1X9J2, A7ZZ37, Q8CW55, P0A6S0, B6I9F5, A7ZKI5, B7UP94, B7MJ68, B7LG14,
 P58203, B5YVV0, B7MTL1, B7M956, C4ZS20, B1X9J3, A7ZZ38, A1A9X5, Q0TIZ4, Q8CW54,
 P0A6S3, B6I9F6, Q1RD77, P58231, P75942, P33235, P29744, P04949, P58297, P24216,
 P0AEN0, P0AEM9, P62610, P62609, P46009, P26648, P0A933, P0A932, P18956, P0AEQ5,
 P0AEQ4, P0AEQ3, P09394, P37902, Q8X6V9, A1A968, Q0TJL8, Q8CW88, P75797, Q1RE95,
 P45758, Q8X5L9, P37651, 088093, P0AET0, P0AES9, P0AEU2, P0AEU1, P0AEU0, Q8XB75,
 P76341, P09983, P08715, Q9REB3, P77335, P34749, P01559, Q47185, P07965, P01560,
 P22542, P33129, P0AAJ9, P0AAJ8, P14542, P0AD60, P0AD59, Q7BSW8, Q03961, P42213,
 A7ZUQ8, B7UPJ7, B7MJ27, B7LAY3, Q8X5W7, B5Z177, B7NS00, B7N2P4, B7M7U8, C5A130, 20
 B1XC35, A8A7D6, A1AIL4, Q0TA25, Q8CVI4, B1IUL5, P02943, B7NFX0, B6I5Q0, B1LPK1,
 Q1R3Q0, P0AD98, P0AD97, P0AD96, P04816, A7ZJW0, P61318, B5YT26, C4ZQ17, B1X831,
 A7ZYJ5, P61317, B1IWN2, P61316, B1LJX2, A7ZKY3, B7UQ97, B7MKB1, B7LGX0, P61321,
 B5YXM7, B7NUX5, B7MTZ3, B7LXC4, C4ZTQ0, B1XAQ0, A7ZZE5, Q0TIG1, Q8CW45, B1IU84,
 P61320, B7N420, B6I9S4, B1LH91, Q8FDA1, P45464, P0AB39, P0AB38, P69778, P69777,
 P69776, P0ADV3, P0ADV2, P0ADV1, Q8XA13, A1A7A3, Q0TLT4, Q8CWE6, P31554, Q1RGE3,
 A7ZJ30, B7UKT1, B7MFR4, B7L9I5, Q8XBN9, B5YQJ3, B7NM00, B7MRS8, B7M5G8, C4ZWC8,
 A7ZXR7, A1A8R6, Q0TK32, P0ADC2, B1IYG7, P0ADC1, B7N9P7, B6I152, B1LL90, Q1RES0,
 A7ZLX3, Q8XAY9, B1XEA4, A8A069, B1IRU4, P76142, B1LF99, P02987, P06963, P05821,
 P09181, P13344, P13345, Q03709, P10099, P15176, P0AEY0, P0AEX9, P03841, P0C8Z8, 30
 P69743, P69742, P69741, P0AAX7, P0AAX6, P62531, P62530, Q9X2V7, Q8X5R9, Q8CVH8,
 P32714, Q8X659, Q8FFV6, P33369, A7ZPE4, B7UFY6, B7MG92, B7LBI2, Q8XCQ5, B5YXW9,
 B7NP09, B7MY05, B7M6K9, C4ZVM1, B1X939, A8A2J8, A1ADH7, Q0TFB8, Q8CVV4, B1IXB7,
 P0C0T5, B7N5U0, B6I4X5, B1LLT4, Q1R984, P0A908, P76506, P0ADV7, P28224, P0A936,
 P0A935, P41052, A7ZR89, B7UI10, B7MN10, B7LFM1, Q8XCS6, B5YQG2, B7NI32, B7MZB8,
 B7LYZ3, C5A0N2, B1XFC3, A8A4A6, A1AFE9, Q0TDN8, P0C067, B1ISK6, P0C066, B7N7L9,
 B6I7A0, B1LDH3, Q1R762, B3Y154, A7ZQ01, Q8XA45, B1XB33, A8A366, A1AE89, Q0TET0,
 Q8FF25, B1IVR9, P0AGC5, B1LP71, Q1R8H6, P37329, P37773, P77348, P69857, Q8CVG4,
 P69856, Q8CVR2, Q8CVG5, A7ZVK8, Q8X554, A8A834, A1AJH6, Q0T900, P39371, Q1R2K5,
 P39370, A7ZP28, B7UFL9, B7MFB8, B7LAM9, Q8XE47, B5YWZ7, B7NN18, B7MXN6, B7M5P6, 40
 C4ZU48, B1X8A2, A8A268, A1AD59, Q0TFN6, Q8CVW4, B1IY66, P33937, B7N5G7, B6I1A4,
 B1LKV2, Q1R9L3, P0ABL3, P46738, P31600, P33590, P40710, P21420, A7ZUU5, B7UPN8,
 B7MJT8, B7LB19, P0ABL0, B5Z1D1, B7NSN2, B7N2T7, B7M7Y3, C5A163, B1XCV6, A8A7H1,
 A1AIR1, Q0T9X8, Q8CVI1, B1IUI1, P0ABK9, B7NG13, B6I5T8, B1LPN5, Q1R3J6, P0ABL2,
 P0ABL1, Q8X5S5, P32711, P0A911, P0A910, Q8XE41, Q8CVW1, P06996, P02931, P76045,
 Q8X8F2, P76773, P77747, P34210, P58603, P09169, P0A915, P0A919, P0A918, P0A917,
 A7ZLL8, B7URH4, Q8X9V1, C4ZVG4, B1XDD6, A7ZZY2, A1AB32, Q8CW34, P40120, B6IAG9,
 Q1RBZ1, A7ZKF2, B7UP63, B7MIJ0, B7LFG0, P67556, B5YVS0, B7NL86, B7MTI1, B7M924,
 C4ZRY9, B1X9G2, A7ZZ05, A1A9U6, Q0TJ25, P67555, B1IV53, P33136, B7NAS5, B6I9C6,
 B1LIW2, Q1RDB0, P23843, P33362, P0AFH9, P0AFH8, P0A922, P0A921, P06875, Q8XBR9, 50

E8Y6Y6, Q0TK50, Q8FJZ7, P37001, E0J1Q4, Q1RET8, P0A913, P0A912, P04127, P07110,
 P15319, P08407, P08408, P13720, P07111, P17543, P62533, P62532, Q8X6H3, Q46790,
 P0AFI5, Q47452, Q47453, Q47454, Q47459, 068900, P69435, P69434, Q8XAR3, P75906,
 P0A925, P0A924, P16682, P02932, Q7BS42, Q8CWC7, P04737, B1VC86, P13948, P10513,
 P14494, P14495, P14496, P76002, P0AFK9, P31133, P07102, P00634, P0AFL5, P0AFL4,
 P0AFL3, P0AFM3, P0AFM2, P42184, P42183, P42186, P42187, P42188, P42185, P42189,
 P23857, P0AG82, Q8X6M8, Q8CVS2, P05458, P0AD45, P02925, P64535, P64534, P69412,
 P69411, P21338, P0AFY0, P0AFX9, P58041, P58042, Q47622, Q8FDW4, B7UIE7, B7MAM0,
 B7LFW7, P62397, B7NHH3, B7MNV6, B7M140, C4ZRJ2, B1XC74, A1A7E2, Q0TLP2, P62396,
 B1IR81, P62395, B7N7X0, Q1RG98, P77249, P77468, P0AEU9, P0AEU8, P0AEU7, P37194, 10
 P0AGC4, P0AGC3, P0A906, P0A905, P0AGD2, P0AGD1, Q8XCX9, Q8FE34, P21170, P77754,
 P75853, 082882, P0AG78, P0ABZ8, P0ABZ7, P0ABZ6, Q1RGE4, Q47537, P0ADA2, P0ADA1,
 P31550, Q9XD84, P0DJ90, P0DJ91, P0DJ92, C8UFG8, B7UM99, Q7DB77, B5YW10, C6UYL8,
 D3QW22, A7ZJC2, B7ULM0, B7MFZ3, B7LAE7, P0A857, B5YRE4, B7NMV9, B7MPN1, B7M6B0,
 C4ZWL5, B1X6S1, Q0TJV4, P0A856, B1IXY9, P0A855, B7N9Y9, Q1REI5, P02930, P58360,
 Q8CW73, P33225, P58358, P38683, P58362, Q8CVZ3, P46923, P0A864, P0A863, P0A862,
 Q03450, Q05119, P14497, P15069, P41066, P08321, P24082, P13979, P32885, P13980,
 P15177, P18471, P41069, P18472, P18035, P18473, A7ZKW9, B7UQ86, B7MK99, B7LGV7,
 Q8XDH7, B7NUW3, B7LXB1, C4ZTN8, B1XAN8, A7ZZD1, A1AAC5, Q0TIH3, Q8CW46, B1IU96,
 P13482, B7N408, B6I9Q8, B1LHA4, Q1RCP3, Q47692, P0A928, P0A927, P0AG81, A1AGY4, 20
 Q0TC07, Q8CVL9, P0AG80, Q1R5H5, Q47706, P07024, P0A931, P0A930, P37387, P75694,
 P77368, P75749, P75750, P46130, A7ZJK6, B7ULZ2, B7MGQ3, B7LC78, Q8X7Y9, B5YS86,
 B7NNM5, B7MQP9, B7M768, C4ZXW7, B1X7C5, A7ZY51, A1A936, Q0TJQ3, Q8FJN6, B1IXH3,
 P75777, B7NA95, B6I7V1, B1LM86, Q1RED2, P0AAX4, P0AAX3, P0AAY0, P0AAX9, P0AAX8,
 P40876, P0A8X3, Q8CW58, P0A8X2, B7NAT2, P75954, P39165, P76042, P76108, Q8XCK0,
 Q8CVZ5, P33219, P76335, A7ZN92, B7USY1, B7MCM4, B7L8Y8, Q8XB74, B5YSJ7, B7NRB1,
 B7MWF7, B7M3A9, C4ZQP1, A8A1H0, A1ACB6, Q8FGI7, B1IZU1, P76342, B7NBW2, B6I116,
 B1LQN8, Q1RAH1, P33341, P33342, P33924, P77599, P77196, Q46834, Q46863, P0ADU6,
 P0ADU5, P28722, P45420, P64615, P64614, P58068, P45766, P37648, P37676, P58224,
 P37681, P0AF84, P0AF83, P0AF82, P0AF88, P0AF87, P0AF86, P75687, P76115, P76193, 30
 P78067, P0AA58, P0AA57, P77269, P52143, P65298, P76655, P77616, P42914, P42915,
 P64598, P64597, P64596, P39187, P39325, Q9JMS5, Q9JMS3, P76344, P39172, P0AAB0,
 Q8CVI9, P0AAA9, B3HWW4, B3HXZ9, Q6YII7, Q7B5K9, G1Y8G9, 085636, Q1A660, E0IZ98,
 C3SHH2, E0J6H0, E0IVW1, C3TD02, C3TPT0, E0IVF8, C3SDK3, B8RHG0, H4QEK2, Q93EY4,
 E0IW48, C9E725, 070070, Q6SJ26, Q07871, Q0PRR7, Q8VU51, Q8X4M7, P77514, A7Y1W2,
 D2SX89, Q83XK2, Q9AGX9, C3TEG2, G3LY08, Q5JBL9, B8RHG1, Q7DJJ2, A8CN74, C3SUY7,
 B8ZX26, Q9R2T5, C6K7K5, C3SJT7, C3TPI7, Q643N4, H6W8G2, B0LHG6, B0LHQ5, C3SER8,
 C3SSU2, B0LHQ3, B3VKK0, B2MW56, B3VKI4, B3VKI0, B6UJ22, Q643L5, Q6KDA4, C3THQ2,
 Q157S8, Q7B3W8, C3ST12, P77498, Q9RQ19, P77387, C3TNT7, Q9LC58, C3TAX7, C3TPS8,
 C9E714, Q6EZC5, C3SDQ2, C3TJF7, E2GHG1, Q3L7J1, D9Z578, D2SX13, Q643J8, D2SX41, 40
 C3T372, C3SES2, C9E711, 032566, Q643P0, C3T1S7, C3T2R7, B8ZX25, D2SX33, D2SX58,
 C3SZA7, Q157V2, Q933Y4, Q8X531, E0IX88, Q83W96, C3SSZ8, C3TKI8, C3T1S8, Q59393,
 Q643I0, A7Y1W1, C3SQ88, B0LHG7, Q693A9, C3T9B2, C3TFX2, Q707J7, A8CN81, C3T5Y2,
 C3ST07, C6K7M9, Q0E868, Q798T6, A8KID1, Q643I8, Q643Q7, E4W7W8, Q8G8Y6, B0LT97,
 C3TAK7, Q9K597, C3TFY2, Q8VLE0, Q933P2, Q548U6, A7Y1Y3, C3THU2, D2SX18, D2SX94,
 A1ED42, D2SX21, 084900, D2SX14, D2SXA8, H6W8G1, C3T3X7, D2SX93, D2SXB8, C3T387,
 Q47646, Q8GGL0, C3TDT7, C3TK82, Q643K5, Q157T4, Q7ATU9, A8QWG4, C3TPW9, C3SH97,
 D2SX86, C3TGJ7, B8ZX21, D2SX46, Q8G8M0, C3SHP7, C6K7M6, C3TIH2, Q4FBG4, Q79CD6,
 Q79CD8, Q643N6, C3SX72, C6K7L7, A8CN32, Q933S4, C3TE53, Q5WME2, Q9AJ21, B0LTA0,
 C3TAT2, Q9ADX2, C3SIG7, C6K7L5, A7Y1X5, Q47641, A1ED45, C3SDV5, Q157U6, Q157U0, 50

Q8GH18, C3TFX3, C6K7L8, Q93V32, C3SCI1, Q47644, C3TDS2, C6K7M8, Q643M8, C3TKJ2, C3SDD1, C3TEK2, C3TG32, H5BKB4, H4FKB6, B6ZXF6, Q7DH78, H5LFZ3, Q1ELX8, B3BA09, G2BQK3, G2BQK5, F9HQS4, F9I3L6, F9I417, F9HVN4, F9HSC3, F9HVT2, F9HYH7, F9HXZ3, F9HR38, F9I2P3, F9HUI8, F9HSC2, F9HR45, F9HTV4, F9I320, F9HU38, F9HVG2, F9HTV5, F9HT22, F9HVE2, F9HY72, F9HW97, F9HR09, F9HSF9, F9HSY5, F9HSL9, F9HYW5, F9HRH8, F9HTU4, F9HTT4, F9HQJ6, F9HRA0, F9HTR6, F9HYH4, F9HYW4, F9HQT4, F9HVQ9, F9I342, F9HR49, F9I228, F9HQS5, F9I305, F9I1Z7, F9HTJ0, F9HVN7, F9HZM2, F9I109, F9HYH3,

【 0 5 6 2 】

B3APR0, B3APP7, H4WDP6, H4WJA6, H4WDJ8, H4W886, H4W7J7, H4W7Y0, H4W8A4, H4WE73, H4WEN7, H4WET2, H4W8T5, H4W9C4, H4W9E2, H4WG17, H4WGR1, H4W5I7, H4W5K0, H4W5K8, H4W5M9, H4WDC3, H5P631, H4WBR7, H5P8P9, H4W7D6, H5P2A6, H5P190, H5P1G2, H5P2B0, H5P8C0, H5P2M5, H4W9C8, H5P2S6, H5P999, H5P383, H5P396, H5P471, H5PA99, H5P998, H5P4H8, H5PAS7, H5PAS9, H5P592, H5PBG1, H5P5L6, H5NZI4, H5NZT7, H5P6D1, H5P6L7, H5P6Q3, H5P0N8, H5P0T0, H5P738, H5P739, H5PDK4, H5PDS3, H5PDS4, H5P1F3, H5P632, H4W8X0, H4WCE2, H4WFR1, H5P9L1, H4W679, H4W7F9, H4WJD5, H5PCL1, H5P470, H5P1E0, H4W7N2, H5P1S6, H5P410, H5P918, H4W898, H4W9T6, H4WFR2, H5NZH6, H5PCM8, H5P290, H4WG20, H5NZK5, H5PC19, H4W902, H4WIN1, H4W652, H4W845, H4W702, H4WDB5, H5P0Z2, H4W9M0, H5P1P0, H5P2Q0, H5P2S2, H4WDC4, H5P7Q1, H4W5I8, H4WB23, H5P379, H4WDJ9, H4WJA5, H5P9L2, H5P3X8, H5P165, H5P730, H4WG90, H4WJH8, H5PAS6, H4WGF1, H5P2A4, H5P0N9, H5NZC1, H4WIB3, H4W5V3, H5PBS5, H4WJB2, H5P166, H4W6X2, H4W766, H4W899, H4W932, H5PDR3, H4W7P4, H4W928, H4W9Q2, H4WGJ8, H5P6L0, H4W8X7, H4WC52, H5P246, H4W5Q9, H5P9L5, H4W6X1, H4W7D5, H4WG16, H4WIS1, H4WBS3, H5PCA8, H4VQD4, H4VCV1, H4VD97, H4VDE6, H4VDR3, H4VJS1, H4VEC8, H4VKI0, H4VEP2, H4VEP6, H4VLB5, H4VLC0, H4VDK7, F8YKI0, F8YJC4, F8YER4, F8YL20, F8YBD9, H4VIX2, H4VNE3, H4VEF3, H4VFG5, H4VM02, H4VH55, H4VB32, H4VB75, H4VHM1, H4VNT9, H4VBB9, H4VBN2, H4VPD5, H4VD28, H4VHX6, H4VLL2, H4VEF7, H4VDP8, H4VBD1, H4VI17, H4VKF3, H4VLW1, H4VQ45, H4VM17, H4VLW2, H4VNT1, H4VD29, H4VJ80, H4VDV7, H4VBB8, H4VBG0, H4VDD6, H4VCJ2, H4VG50, H4VIJ2, H4VQ44, H4VDR4, F8YBC1, H4VHP2, H4VD53, H4VBD9, H4VQG0, H4VIX1, H4VIJ8, F8YHL0, H4VER0, H4VH82, H4VFD4, H4VFT2, H4VPB1, H4VE94, H4VCJ3, H4VIB4, H4VLB7, H4VJ79, H4VM74, F8YHL1, F8YBQ6, F8YKI1, F8YPJ5, F8YJC3, F8YDA5, F8YL19, F8YDW8, F8YE21, F8YE26, F8YHW5, F8YIA5, F8YBB3, F8YEQ0, F8YML2, F8YF12, F8YFD6, F8YFG7, F8YFM1, F8YJG5, F8YI94, F8YK12, F8YNT9, F8YK76, F8YNL4, F8YNJ8, F8YN84, F8YH95, F8YL23, F8YGB6, F8YEP7, F8YDG1, F8YHQ2, F8YNA7, F8YM12, F8YRD2, F8YHV8, F8YCM4, F8YEH4, F8YIX0, F8YHZ1, F8YRC4, F8YNH6, F8YDJ9, F8YE11, F8YEH7, F8YNW6, F8YGH8, F8YC08, F8YCS9, F8YHV4, F8YBA2, F8YBL0, F8YNH5, F8YEH4, F8YKU5, F8YDH4, E1ITP4, E1IW38, F1ZEK5, E1IJR7, E1ITM1, F1ZR42, F1ZJY4, E1IRJ0, E1IL97, F3LW88, F1ZMF3, F1ZJ35, E1IWS2, F1ZEI5, F3LX55, F1ZIP4, F1ZPW5, E1IQL4, F1ZJK9, F1ZR48, F1ZR49, F1ZKV3, E1IJN7, E1ITM2, E1IMW3, F1ZLJ4, F1ZLU8, F1ZFU4, F1ZFX2, F1ZM57, E1IUY7, F1ZEX1, F3LX43, F3LX54, F3LX70, F3LXC0, F3LY07, F3LY16, E1IQ42, E1IRH1, E1IRJ9, E1IRK0, E1IJC3, E1IJC4, E1IMG2, E1IK87, E1IKY5, E1IJM6, E1IJN0, E1IN77, E1IXX0, E1IXY3, E1IYC7, E1IYJ8, E1IUY0, E1ITN6, E1ITR4, E1IUA8, E1IWI0, F1ZGY7, F1ZHA5, F1ZNB9, F3LWH3, E1IVY2, E1IYA0, F1ZEG5, F1ZG25, F1ZFU3, F1ZGW5, F1ZQE9, F1ZEG6, E1IIY0, F1ZGU1, F1ZGF3, F1ZJK3, E1IKY6, F1ZE82, E1INX8, E1IZD7, F1ZJC5, F1ZPX2, F1ZE37, E1IQR8, E1IWU7, E1IMU8, E1IWS1, E1IRY1, F3LX03, F1ZEC3, E1IM78, E1IQ54, E1IVN4, E1IW39, F3LXN6, F1ZHL1, F1ZGI9, F1ZJQ0, E1ISC4, F1ZPI1, E1ISV5, F3LX98, E1IJ69, E1IIY8, F1ZJK0, E1IPT3, E1IUB2, E1IUX9, F1ZGF2, F1ZGZ0, E1IMP0, F1ZJX5, E1ISG2, F1ZJ36, E1IQ36, E1IL95, F1ZG85, E1IPS5, F1ZMF4, F3LWI4, F3LX59, F1ZJY3, E1IM93, F1ZIB9, F1ZEZ9, F3LY10, E1IYG0, F1ZEH7, F1ZMQ3, E1IJH1, F1ZM70, B3HBK4, B3H9B0, B3HIG6, B3HDA9, B3HGH2, B3HDZ1, B3HKN8, B3HDV7, B3HBI4, B3H7T7, B3H9B0, B3HIR1, B3HFX7, B3H9Y7, B3HDA0, B3H9B1, B3H9B8, B3HJE5, B3HAE5, B3HGH3, B3HBJ2,

10

20

30

40

50

B3HHK7, B3HHU7, B3H8X0, B3H915, B3HDC0, B3HHN9, B3H7T6, B3HDZ2, B3HJU9, B3HB00, B3HDB0, B3H8R5, B3HI23, B3H7Z3, B3HBK3, B3HEG6, B3HIG5, B3HDV6, B3HHU4, B3HIC3, B3HKJ7, B3HC12, B3HG60, B3HIE0, B3HJ86, B3HCA2, B3H8Q8, B3H8R9, B3HHN5, B3HG26, B3HK42, B3HKC4, B3HHG5, B3HK50, B3HAY8, B3HGC9, B3HHI9, B3HF34, B3HDR0, B3H819, B3H9V6, B3HEN3, H4Q5P5, H4PZV2, H4PZY7, H4Q033, H4Q062, H4Q6E0, H4Q6H2, H4Q6H3, H4Q6H6, H4Q0L5, H4PWU0, H4Q388, E9X9Z0, E9XA09, E9XA30, H4PUQ2, H4PUT0, H4PUT8, H4PUX7, E9X6L5, E9XCD0, H4Q9I4, H4PX28, H4PXC4, H4Q3K1, H4Q3L0, H4Q3L1, H4QAK8, H4PXS0, H4PY00, H4PY03, H4QAR7, H4QAS4, H4QAS5, H4QAZ9, H4PYC7, H4PYF0, H4PYJ7, H4QB45, H4QB61, H4Q5C0, H4Q5D5, H4Q164, H4PWI1, H4PWI2, H4Q2T2, H4Q9G7, H4Q936, H4PVX4, H4PWW1, E9XB94, H4Q4G0, H4QAB8, E9X676, H4Q3U0, H4Q9C3, E9X3U9, E9XBS7, H4PZ35, H4PZ45, H4PX21, H4Q7Z3, H4QAB7, H4Q3U6, H4QAG3, E9X5K2, E9X9A8, H4Q3R4, H4PWL7, H4PYJ3, E9X6X2, H4Q7Z5, H4Q871, H4PY02, H4Q1H6, H4PW36, H4PZV1, H4Q8Q4, H4Q0U8, H4Q7T2, H4PWC6, H4PX23, H4Q6S4, H4PX11, H4Q781, H4Q8G4, H4Q2T3, E9X8H0, E9X9B6, H4PWC7, E9X4P1, E9X7R2, E9X2V0, E9XFJ1, E9X502, E9XB93, E9X571, E9XBI2, E9XBS8, E9XBX5, E9X652, E9X677, E9XC26, E9XC47, E9XCC9, E9X6X1, E9X441, E9XCX8, E9X5Z3, E9XCC2, E9X9Z1, E9XF71, E9X3H5, E9X763, E9X8I5, E9X411, E9X748, E9X3U8, E9XC29, E9XEK0, E9XBN4, E9X525, E9X6L2, E9XDM0, E9XBC3, E9X4Q4, E9XAB6, E9XE74, E9X4X4, E9X5J8, E9X949, E9X5K3, E9X9B5, E9X6L6, E9X9Q7, E9X5L3, E9X8E9, E9X4X8, E9XA01, E9XEU7, E9X4Q8, E9X5Q1, H5DXR4, H5E8Z8, H5DV80, H5DYL2, H5EAE3, H5DVA1, H5DZ62, H5E6V2, H5DYO0, H5E3S6, H5DV93, H5E124, H5DVL8, H5E5G6, H5E8K8, H5DXD6, H5DYC9, H5DYX2, H5E7F8, H5E406, H5E4A2, H5E9L8, H5DUH6, H5DVC2, H5DY44, H5E672, H5DV34, H5E1B7, H5DV79, H5E7Z7, H5E2J6, H5DVP2, H5E710, H5DWH0, H5DWN8, H5DWW0, H5E367, H5E377, H5E9L7, H5DX76, H5E3M6, H5E3M7, H5DXD7, H5E9Z8, H5DXQ2, H5EAA1, H5DYO6, H5E4I8, H5EAY2, H5DZ11, H5DZ86, H5E041, H5E046, H5E4I9, H5DUG8, H5E157, H5E7F3, H5E7F5, H5DUZ0, H5E321, H5DZA9, H5E4I0, H5E059, H5DWK5, H5DUH5, H5DZB3, H5DWK6, H5DZQ8, H5E1B6, H5DX15, H5E1N1, H5DYB7, G5KSN1, H5AWQ1, H5AP15, H5ATD6, H5B2J1, H5AP58, H5AQJ8, H5AP56, H5AZL5, H5B3N9, H5APR9, H5APP5, H5ASK0, G5KIY2, G5KS63, H5B070, H5ATG8, H5AYV1, G5KNA3, H5AQY2, H5ARP7, H5B1G8, H5B264, H5AT09, H5AR08, H5AW23, H5AX73, H5B3N8, G5KIW0, H5APA1, H5AR19, H5ARN0, H5AZL2, H5AXM0, G5KTG0, H5AP80, H5AQY1, H5B2N2, H5B2T4, H5AQJ7, H5AWQ0, H5AQN7, H5AX12, H5AX79, H5ASC9, H5ASH5, H5ASM4, H5ASM8, H5AST0, H5ASZ5, H5AZH7, H5AZL1, H5AZV7, H5AZY9, H5AR89, H5AXL0, H5ARP1, H5ARP2, H5B173, G5KP94, G5KP95, G5KVP5, G5KPS7, G5KJ01, G5KQB1, G5KWL1, G5KWM2, G5KK24, G5KQZ7, H5AP72, H5B229, G5KKZ6, G5KL32, G5KLE3, G5KSD4, G5KSN4, G5KLT3, G5KSX7, G5KTK8, G5KTQ6, G5KMV7, G5KV28, H5AQQ8, H5B071, H5ASZ0, G5KS97, H5AUG5, H5AXL8, H5AY93, G5KNA4, H5ANX2, H5AS93, H5AXD1, G5KKI9, G5KVL1, G5KQA2, G5KNZ9, G5KVE2, H5ATM9, H5AR99, H5AWS6, H5AUL9, H5B3N1, H5B1G9, G5KJ76, G5KLG9, G5KIW1, G5KPY8, G5KUM5, G5KS62, G5KPY2, H5AVK3, G5KWM1, G5KMG8, G5KS47, G5KTQ1, G5KRI6, G5KSL3, G5KLB8, G5KLS6, G5KTZ5, G5KLG5, G5KTE6, G5KQB0, G5KLS3, G5KIX3, G5KQ27, G5KVR4, G5KK82, G5KKN8, G5KN42, G5KMJ4, G5KNF9, G1ZH15, G1ZHU7, G1ZP70, G1ZE48, G1ZE71, G1ZLN5, G1ZT32, G1ZSM3, G1ZKS1, G1ZNW2, G1ZFF4, G1ZE92, G1ZFG9, G1ZG86, G1ZNN0, G1ZHK8, G1ZP73, G1ZG18, G1ZIH1, G1ZIR3, G1ZJX1, G1ZRA5, G1ZE03, G1ZE49, G1ZE63, G1ZRT6, G1ZRV8, G1ZLB0, G1ZLB7, G1ZLE5, G1ZSV8, G1ZLN1, G1ZFG8, G1ZJ04, G1ZIE0, G1ZM93, G1ZIJ6, G1ZLA6, G1ZSW9, G1ZDW0, G1ZL49, G1ZP68, G1ZHB2, G1ZJH0, G1ZQY4, G1ZGW0, G1ZFL5, G1ZGE2, G1ZH14, G1ZT05, G1ZEH8, G1ZGG2, G1ZIN4, G1ZMU9, G1ZT31, G1ZFF3, G1ZFS5, G1ZHA5, G1ZGF2, G1ZH02, G1ZRM9, G1ZKS2, G1ZNW3, G1ZHD7, B2PAW1, B2P6C9, B3XCU7, B2P936, B3XDX8, B3XK77, B3XBT6, B3X9Y5, B3XGX7, D7JKE2, D7JHI2, D7JMU2, D7JHX6, B2P214, B2PCQ7, D7JHZ6, D7JHV6, B2P6B9, D7J167, D7JL13, B3XI51, B2P9D8, D7JPS6, B2P7U5, B3XHV8, D7JSQ2, B3X959, D7JQT3, D7JIZ6, B2P341, B2P5N6, B3XB42, B2P4T3, D7J1Y9, B3XGR6, B3XHR8, B2P6K5, B2P4M6, B2P388, B2P478, B2P9T8, B2P4T2, B2PBB0, B3XKP2, B2P6J9, B2PAG1, B2P8U8,	10	20	30	40	50

B2P0G8,	B2P998,	B3XDY4,	B3XJF8,	B3XCI7,	B3XEG9,	B3XDF3,	B3XBI4,	B3XGS0,	B3XJY9,
B2P2V5,	B2PD13,	B3X9F7,	B3X9G1,	B3XAI6,	B3XAL3,	B3XFR6,	B3XGY0,	D7JJM9,	D7JIZ5,
D7JQ66,	D7JQF1,	D7JQG1,	D7JVW3,	D7JP76,	D7JUW7,	D7JVL9,	D7JQS4,	D7JKE1,	D7JTV4,
D7JI48,	D7JLQ4,	D7JL50,	D7JHI3,	D7JU89,	D7JHR4,	D7JHW8,	D7JM39,	D7JPD7,	D7JM92,
D7JW76,	D7JNA5,	D7JKH4,	B2P5N7,	B2P7U4,	B2P8F6,	B2P835,	B3X9Y4,	B3X9G7,	B2P5N4,
B2PCK8,	D7JPX1,	D7JRZ8,	D7JPB4,	B2P504,	B3XGX6,	D7JN00,	B2P215,	D7JNR1,	B2P6J5,
B3XCB5,	B3XKH0,	B2P0R0,	B2P1Q5,	B3XDC0,	B3XJG2,	B3XK64,	B3XI52,	D7JL12,	D7JT77,
D7JQF5,	B2P0Y8,	B2PAH1,	B3XA25,	B3XFQ6,	B2P0G2,	B3XBR9,	B3XGR5,	B2P0J7,	B2PCD6,
B3XGQ4,	D7JSS5,	B3X8M4,	B3XBC2,	D7JJ56,	D7JM46,	D7JMS8,	D7JPS7,	D7JSQ1,	D7JSR6,
B3XF55,	B3X9X6,	D7JLU0,	D7JPH1,	B2PAQ5,	B3X9K1,	B3XCU8,	B3XAE3,	B3XHV9,	B2P9B2,
D7JIT8,	B2P6P1,	B2P1E9,	B2P8Z2,	B2P0Y6,	B2P4W4,	B3X9A3,	B3XD92,	B3XEQ4,	B3XFD7,
B2P340,	B2PAQ1,	B2PB64,	B3XEM2,	B3XEP7,	B2PAU5,	B2P017,	B2P9J6,	D7JMS3,	D7JSB2,
D7JU93,	D7JUY8,	D7JLF1,	D7JHM0,	B2PDV1,	B3XGL6,	D7JTK2,	D7JI82,	B2NZW5,	B2P330,
B2P935,	B2PCN2,	B2P1Y4,	D7JKV4,	D7JM68,	B2P2T9,	B2PDQ5,	B2P0J1,	D7JLG1,	D7JM96,
D7JJJ8,	B3X960,	B3XB41,	B2P6C0,	B3XBS3,	D7JNM5,	D7JHV7,	B2P184,	B2P4Y1,	B2P3I7,
B3XHR0,	D7JMS0,	B2P9C9,	B3XHP2,	D7JKP9,	D7JQK0,	D7JQT2,	E7UEQ7,	E7UIE5,	E7UR12,
E7UGV2,	E7UJD3,	E7UMS0,	E7UQF1,	E7UJC5,	E7UIN2,	E7UF11,	E7UG32,	E7UE63,	E7UN15,
E7UIH9,	E7UIC1,	E7UF14,	E7UIN1,	E7UMH1,	E7UMQ3,	E7UMQ7,	E7UN98,	E7UNA8,	E7UII8,
E7UJC6,	E7UG33,	E7UK79,	E7UGE1,	E7UPR3,	E7UKI8,	E7UD95,	E7UGY6,	E7UDV4,	E7UHF9,
E7UQL9,	E7UQY9,	E7UE11,	E7UHR7,	E7UHT9,	E7URC7,	E7UIC9,	E7URG3,	E7UQF2,	E7UE62,
E7UL41,	E7UGC2,	E7ULR5,	E7UGV1,	E7UR11,	E7UNV7,	E7UE51,	E7UMK2,	E7UIK2,	E7UF10,
E7UHU2,	E7UN16,	E7UQS4,	E7UEQ8,	E7UK69,	E7UGG2,	E7ULF1,	E7UI40,	E7UEH5,	E7UHP2,
E7UG67,	E7UED4,	E7UKJ6,	E7UKB2,	B2NQ69,	B2NWS5,	B2NX11,	B2NR57,	B2NUD9,	B2NMM3,
B2NPK8,	B2NPJ9,	B2NX51,	B2NMD9,	B2NXG8,	B2NLN2,	B2NQ99,	B2NWI9,	B2NX50,	B2NXX4,
B2NKH0,	B2NLS8,	B2NPK0,	B2N LX9,	B2NPF5,	B2NR87,	B2NXC0,	B2NYG9,	B2NZB9,	B2NMY1,
B2NNY6,	B2NU46,	B2NV18,	B2NV28,	B2NM93,	B2NV64,	B2NMM4,	B2NPD2,	B2N WJ3,	B2NX03,
B2NWA9,	B2NWZ6,	B2NQP8,	B2NW21,	B2NLR8,	B2NMM1,	B2NQ68,	B2NTJ5,	B2NL15,	B2NNY8,
B2NSM4,	B2NYR6,	B2NQB5,	B2NMF0,	B2NQJ4,	B2N KW1,	B2NLS4,	B2NWN4,	B2NP64,	B2NQN1,
B2NUD8,	B2NYV6,	B2NNF4,	B2N LG3,	B2NPC6,	B2NN47,	B2NUU9,	B2NXJ3,	B2NME0,	B2NR56,
B2NW95,	B2NTX6,	H5PPF7,	H5PG96,	H5PPP2,	E9TB11,	E9TDA7,	H5PGT1,	H5PFR3,	H5PFU4,
H5PH26,	H5PQ02,	H5PNS8,	H5PJ20,	H5PJ19,	E9TIX8,	H5PEB9,	H5PGT8,	H5PS77,	H5PLP7,
H5PMG9,	H5PML4,	H5PTR1,	E9TI78,	H5PRG5,	E9TKS4,	H5PGM9,	H5PEI5,	H5PN77,	H5PG25,
H5PST6,	E9TKT5,	H5PHF4,	E9T9F3,	E9T9N6,	E9TML3,	E9TGX4,	E9TH88,	E9TAY8,	E9TB73,
E9TB74,	E9THH3,	E9TBZ7,	E9TC64,	E9TI97,	E9TIB9,	E9TCN8,	E9TIK4,	E9TIU1,	E9TCY7,
E9TJ78,	E9TJC4,	E9TJD2,	E9TEN2,	E9TL13,	E9T903,	E9TEM8,	H5PE60,	H5PE62,	H5PE76,
H5PEF6,	H5PRT7,	H5PL18,	H5PL39,	H5PT07,	H5PFJ9,	H5PM26,	H5PTR9,	H5PG04,	H5PG26,

【 0 5 6 3 】

H5PG51, H5PMH0, H5PGR8, H5PGT0, H5PH15, H5PHG1, H5PHI6, H5PHM5, H5PHM9, H5PHW8, H5PHZ7, H5PPP1, H5PIF7, H5PIH4, H5PQ05, H5PFR4, H5PIG1, H5PIY9, H5PQM3, H5PJW7, H5PT31, E9TDJ3, E9TNG5, E9T8J2, E9TNG6, H5PL92, H5PPE4, H5PLP1, E9TIB8, E9TJA0, H5PKB1, E9TJZ9, H5PER7, E9T9C5, H5PM18, H5PT48, H5PM28, H5PQ01, H5PTR8, H5PH14, H5PEG4, H5PLS8, E9TB12, E9TIZ3, E9TKT4, E9TDA8, E9TH87, E9TGX5, E9TG92, E9TGA2, E9TEN3, E9THN9, E9T9B8, E9TN09, E9TGF1, E9TK77, E9TFP2, E9TL12, E9TIA5, E9TEP5, E9TET6, E9TA67, E9TJ74, E9TKB8, D8C3G1, D8BXW5, D8BR31, E8H354, E8HAK9, E8HC17, E8HDJ3, E8HDL9, E8HCB6, E8HCH8, E8HDV8, E8HDW1, E8H413, E8HE19, E8HCU7, E8HCV7, E8H465, E8HD51, E8HDA2, E8H4I3, E8HF45, E8HF81, E8H6F5, E8H6L9, E8H6X6, E8H7D7, E8H7E5, E8H7S0, E8H9B4, D8BSL7, D8BZ40, D8C0E3, E8H678, E8H8Y2, E8H3K2, E8H8N9, E8H7G3, D8C3R4, E8H8B3, E8H7C6, D8BV70, E8HCH9, E8H471, D8BSM8, E8H545, E8HCL2, E8H1S7, E8H862, E8HE22, E8HE41, E8H461, E8H3V9, E8HAK8, E8HF82, E8H1W3, E8HDH0, E8H240, E8HD88, E8H203, D8BVN5, E8HF03, E8HD98, E8HAK2, E8HBS4, E8H5X0, E8H6X9,

10

20

30

40

50

E8HDG3, D8C3K0, E8H4A8, E8H9N9, D8C5H8, E8H2Q3, E8HDW0, E8HF29, E8H9V8, E8H9X7,
 E8H9Z2, D8BZM4, E8HBS3, E8H4J2, E8H268, E8H4J1, E8HDL6, D8C3H9, D8BWH7, E8HC59,
 D8BR19, D8BWB8, D8BX68, D8BSL8, D8BYH3, D8C4R4, D8C0E4, D8C5J2, D8BVN6, D8C019,
 D8BUS0, D8C6G0, D8BU70, D8BZF4, D8BV58, D8C1P6, D8C643, D8BRX4, D8BS20, D8BXK9,
 D8BXP9, D8BV69, D8BXW6, D8C4L7, D8BT48, D8C2Q1, D8C3G2, D8C3T0, D8BWH6, D8BZM5,
 D8C651, D8BVZ0, D8BTI6, D8BXG5, D8C478, D8BXR0, D8BZ41, D8C0B8, D8BWE8, D8BXR1,
 D8C4V6, D8C5S8, D8BXA4, D8C3H2, D8BRT6, D8BV74, D8C5S4, D8BX97, D8BTZ5, D8BSW5,
 D8BY04, D8BRJ9, E5ZYK7, E6A007, E5ZZW7, E5ZRH2, E5ZVA5, E5ZQK4, E5ZX62, E5ZPY4,
 E5ZSJ4, E5ZVB4, E6A1P5, E5ZZY6, E5ZV18, E5ZW86, E5ZX03, E5ZT54, E5ZTF6, E5ZTJ5,
 E5ZXL8, E5ZTS3, E5ZTW8, E5ZUD3, E5ZQM4, E5ZUI3, E5ZRH1, E5ZVA6, E6A0F3, E5ZSM9, 10
 E5ZM94, E5ZMZ3, E5ZTK2, E5ZSU7, E5ZYZ3, E5ZMV3, E5ZNK7, E5ZV68, E5ZYF9, E5ZZZ4,
 E5ZMB9, E5ZV54, E5ZX61, E5ZRG3, E5ZXL4, E5ZYK6, F8X5D4, E5ZUC1, E5ZZ11, E5ZTR9,
 E5ZQ82, E5ZY55, E5ZXR2, E6A1Q8, E5ZQ00, E6A0A5, E5ZV17, E5ZYA2, E5ZQL7, E5ZPZ0,
 E5ZSH3, E5ZUY6, E6A006, E5ZMH6, E5ZXC1, E5ZTX5, E5ZPY3, E5ZY96, E5ZVZ7, E5ZVR0,
 D7ZZS0, D8A023, D7ZT63, D7ZRR1, D7ZPE5, D7ZXU0, D7ZTP3, D7ZZR1, D7ZWL4, D7ZSR1,
 D7ZQT5, D7ZQ49, D7ZYP7, D7ZZ90, Q83WM0, A0T2X0, D7ZTI6, D8A010, D7ZRR2, D7ZSN5,
 D7ZST9, D7ZZ91, D7ZRM8, D7ZQS8, D7ZPF8, D7ZV59, D7ZQ39, D7ZWL3, D7ZPP4, D7ZPR6,
 D7ZVB8, D7ZXE0, D7ZSI6, D7ZYN2, D7ZPU8, D7ZQ48, D7ZT10, D7ZPN9, D7ZUN8, D7ZVY5,
 D7ZR45, D7ZY37, D7ZQU2, D7ZQH9, D7ZRC9, D7ZVF5, D7ZQU4, Q7WZ16, D7ZT50, D7ZU05,
 D7ZSR2, D7ZMU8, D7ZZ04, D7ZPU0, D7ZSH6, D7ZXY2, D7ZT62, Q9AJD9, D7ZT67, D7ZWZ7, 20
 D7ZZQ3, D7ZYP6, Q9AJD8, G5TT90, H1DQ84, H1DQD1, H1DR04, H1DSY1, H1DT71, H1DU98,
 H1DUC8, H1DUD8, H1DUI7, H1DUY6, H1DV05, H1DXN4, H1DYC3, H1DYN8, H1DZV8, H1DYH5,
 G5U0P0, G5U2K2, H1DWX4, G5TXM0, H1DLU3, H1DMK1, H1DN43, H1DN94, H1DMX0, H1DNE2,
 H1DNF3, G5U5T8, H1DQA8, G5TWE9, H1DRN4, H1DQM8, H1DY52, H1DYP4, H1DM55, H1DYJ2,
 H1DSP9, H1DNV0, G5TZX5, H1DUZ7, H1DPS5, H1DTI4, H1DM45, G5TXD0, H1DSD4, H1DV24,
 H1DPD2, H1DYU7, H1DRK0, H1DTW6, G5TT52, H1DYH2, H1E046, H1DQ81, G5TUA5, G5U445,
 H1DSZ3, H1DV96, H1DYI1, G5U5G8, G5U2V0, H1DPT3, G5TT71, H1DUD4, H1DQN9, H1DSC0,
 H1DMD0, H1DMF9, H1DZC0, G5TSX2, G5TT53, G5U585, G5U5E6, H1DQM4, H1DQM9, H1DTW7,
 H1DSY3, H1DZ94, H1DXA6, G5TZX6, G5U021, G5TUA4, G5U074, G5U0A7, G5TUJ2, G5U0N9,
 G5TV78, G5TVC8, G5TVI5, G5TVI9, G5U1Z2, G5TW17, G5TW62, G5TW65, G5TWD6, G5U2V3, 30
 G5TX78, G5TXD1, G5U3K3, G5TXP3, G5U446, G5TS17, G5U5I3, G5TXL9, H1DTI5, G5U375,
 G5TUY2, G5TTH1, G5TT63, G5TRQ2, G5U2C4, G5U4W8, G5TUS5, G5TW40, G5TYB1, G5TVB8,
 G5TX50, G5U1E5, G5U5Y4, G5TYX2, G5U5S2, G5U2U9, G5TVT5, H1DPS6, G5U070, G5TUZ2,
 G5TUD4, G5TZ39, G5TWD2, G5U080, G5U5T7, G5U0N0, G5U2K3, H1DMK0, G5TZI2, H1DUY7,
 H1DYC4, H1EBU0, H1EBV3, H1EBV9, H1E787, H1E2P7, H1E378, H1E328, H1E5X6, H1E2N6,
 H1EC85, E7TR87, E7TRZ0, G5X2D4, G5X2H2, E7TNX0, E7TPP8, E7TQ29, E7TW92, G5WY27,
 G5XA90, G5WYU7, H1EAD1, H1E866, H1E6H6, H1E6N6, H1E6W9, E7TM13, H1E5A9, H1EE92,
 H1E9M8, H1EA32, H1ED71, H1E0T8, H1E1G2, H1E5M6, H1E646, G5XAD5, H1E683, E7TTV5,
 H1E7H4, E7TMP8, E7TS62, G5X6I7, G5XCL4, H1EA22, H1E4V8, H1E1I1, E7TPM7, H1E352,
 H1E0T0, H1E447, H1E8W6, H1E270, H1E2J3, H1E6K2, H1E6I4, H1EBW2, H1E4H1, H1ECA4, 40
 G5X4P9, G5X7K1, H1E7E2, H1E8Z5, G5X1I5, H1E9J7, E7TKN5, E7TPR8, H1E3T9, H1E5F6,
 G5X456, H1E702, E7TZR7, H1E982, H1ED87, H1E375, H1E4B3, G5WZX3, E7TK80, H1E1E7,
 H1E3U2, H1E729, H1E2G4, H1E2Y5, H1E708, H1E712, H1E2D0, H1E6P5, H1EDU9, G5X2F3,
 H1E7E0, H1E2C9, H1E2Y3, E7TQR2, E7TZP3, E7TZP8, E7TZ56, E7TZE9, E7TZF2, E7TKH1,
 E7TRZ1, E7TKR8, E7TLD5, E7TLI8, E7TSL3, E7TLK1, E7TT06, E7TM12, E7TTG6, E7TMQ9,
 E7TTY4, E7TU05, G5X6A0, G5XC19, G5X0L8, G5X6H0, G5X139, E7TMY7, E7TN21, E7TN27,
 G5X1S9, G5X7V0, G5X2D5, G5X2E5, E7TVN4, G5X3T2, G5X9V2, H1EE91, G5XA64, G5X4E3,
 G5X4N8, G5X4Q3, G5X535, H1E6G6, E7TQD0, E7TQ48, G5X593, G5WZV2, H1EDU7, H1E2P6,
 H1E0T1, E7TPM5, E7TKB5, E7TK79, E7TVK1, G5X655, E7TUX1, E7TW91, G5X678, H1E3U3,
 H1E5B0, G5XA89, E7TXM8, E7TRF7, H1E6N7, G5XB12, E7TLN8, E7TLJ0, E7TPA1, E7TPU4, 50

E7TU32, E7TM15, G5X9V6, G5X485, G5X2Q3, E7TPZ1, E7TN81, E7TRR1, G5X5S2, G5X6A3,
 G5X4N1, G5XCL3, G5X455, G5X7E8, E7U068, E7U051, E7TW98, G5WYK6, G5WY26, G5X7K2,
 G5X1G3, G5X1K0, H1E647, H1ED88, E7TLE7, E7TN31, G5XAD6, E7TX67, E7TUU7, H1E2K0,
 G5XBV4, H1E2Y6, G5X9W2, E7TNW9, H1EDH0, G5X9N7, G5WYU8, G5X2Y4, E7TLI4, G5X8R4,
 G5X9E3, G5WZX4, H1EB28, H1E2Q1, E7TYP0, G5X6H4, E7TV67, G5X5I9, H1E8Z6, E7TR86,
 E7TYZ1, G5X5Z1, G5X5A3, G5X9Z0, G5WY30, G5X4P8, H1E7V1, E7TTV4, E7TKN4, E7TMP9,
 G5X133, G5X727, E7TPY0, G5ULJ4, G5V0A7, G5URH0, G5UQM2, G5UPZ3, G5UTJ1, G5UWS3,
 G5ULH5, G5UWH4, G5UV36, G5UXW6, G5UZL6, G5ULL3, G5UN42, G5UQ44, G5UQA5, G5UWS6,
 G5UKU6, G5UZJ4, G5UTS4, G5UU98, G5UUA2, G5UN41, G5UNM4, G5UP13, G5UPA0, G5UPJ8,
 G5UPK8, G5UW97, G5USD3, G5UZ62, G5UZ68, G5UXM1, G5UV72, G5UV91, G5URH1, G5UXW7, 10
 G5UPP5, G5UP63, G5UV35, G5ULI6, G5UUA8, G5UPZ7, G5UPC4, G5UR70, G5UL95, G5UPZ2,
 G5ULN2, G5UTH4, G5ULH6, G5UWS2, G5UTJ2, G5UUJ8, G5UQK5, G5V0A6, G5UQK9, G5UN81,
 G5UTL5, G5UND9, G5UM81, G5UYY2, G5UQ47, G5UV26, G5UR43, G5UPT2, G5US96, G5UWH5,
 G5UZN1, H4HXB0, H4HY57, H4HYP8, H4HYX0, H4HSZ2, H4I5M7, H4I5N5, H4HTU0, H4HUP1,
 H4HUR5, H4HV40, H4HV43, H4HVT4, H4HVV5, H4HRW9, H4I0S0, H4I2P4, H4HS12, H4HUA4,
 H4I2H4, H4HWU8, H4HV49, H4HYE3, H4HYX8, H4HS13, H4I3S3, H4HUU4, H4HV62, H4I5N6,
 H4HYL0, H4HS74, H4HTS9, H4HU68, H4HY59, H4HUU0, H4HTC4, H4HZJ5, H4I585, H4I4C2,
 H4I2P5, H4I094, H4HYX9, H4HW16, H4HRS7, H4HS39, H4I0X7, H4I234, H4I157, H4HYK4,
 H4HS31, H4I356, G2CD35, G2C0R9, G5VFS9, G5VNC6, G5VIW4, G5VJ02, G2C1W1, G2C173,
 G2C352, G5VP22, G5VK15, G2CDW4, G2CD26, G5VC16, G5VMF5, G2CDU4, G2C9M2, G5VHB4, 20
 G5VLE4, G2C6T0, G5VEL9, G2C8V4, G2CDE5, G5VBR3, G2C5M7, G5VIY3, G2CAP8, G5VEC2,
 G2C1U8, G2C255, G2C256, G2C333, G2C9M1, G2CAI9, G2CAP9, G2C550, G2CBA1, G2CBQ6,
 G2C5T3, G2CCCC0, G2C6E7, G2C6F7, G2C6S1, G2C0R8, G2CDE6, G2CDI4, G2CDM7, G2C172,
 G2CDT6, G2C1A6, G2C1G6, G2C858, G5VM23, G5V9S7, G5VMD8, G5VGU1, G5VN62, G5VNC7,
 G5VBQ3, G5VC62, G5VI84, G5VCB5, G5VIN4, G5VEC3, G5VKD6, G5VKH7, G5VLE3, G5VK14,
 G2C1W5, G2C948, G2CDS5, G5VE45, G5VL28, G2BZW3, G2C2G6, G5VP21, G2C9M5, G2C3F7,
 G5VCC1, G5VIW5, G2C339, G5VHC9, G2C2D5, G2C3C8, G2C8V3, G2C7P4, G5VM71, G2C489,
 G2CC99, G2C0U5, G2CA43, G5VCR4, G5VM68, G5VBR2, G2C1W0, G2C6F1, G5VLE8, G5VN35,
 G5VEL8, G5VGH1, G5VH59, G5VM46, G2C1F4, G2C8T6, G5VDU9, G2C2E2, G2C5M8, G2C6J1,
 G2C6S9, G5VKI2, G2C3L1, G5VAF9, G5VHM6, G5VHN6, G2C2J3, G2C431, G2C8F4, G2CD34, 30
 G5VDD3, G2C397, G2C253, G2C5Z0, G2C293, G5VF52, G5VIX5, G5VBC8, G5VLK3, G5VFT0,
 G5VEM2, G2C2I9, G5VL58, G5VLR7, G5VKJ2, G2BZM9, G2C107, G5VB10, G5VC17, G5VJ83,
 G5VK45, G2C7I9, G5VME2, G5VLD3, G2C1R0, G5VCB1, E1HKB3, E1HV52, E1HSJ3, E1HGW3,
 E1HQB8, E1HKI7, E1HU28, E1HGJ8, E1HG93, E1HG56, E1HHL0, E1HSK2, E1HTU9, E1HGJ7,
 E1HPP4, E1HJE7, E1HJF1, E1HRB5, E1HGK2, E1HKL2, E1HKM0, E1HP07, E1HP17, E1HPM3,
 E1HGA3, E1HHM3, E1HIG9, E1HLS5, E1HMY0, E1HPB1, E1HSX6, E1HV00, E1HGT1, E1HKP4,
 E1HKB2, E1HPM4, E1HPR3, E1HKW5, E1HU41, E1HUJ9, E1HL57, E1HV53, E1HKS0, E1HH57,
 E1HSJ4, E1HS78, E1HUU8, E1HLE6, E1HPN6, E1HT40, E1HUQ2, E1HG15, E1HLU4, E1HGW2,
 E1HQB7, E1HR85, E1HST6, E1HU90, E1HSB8, E1HS79, E1HMF4, F9QX40, F9R469, F9R4U3,
 F9R205, F9QWB1, F9QZY4, F9R097, F9R0A4, F9QXF1, F9QZC9, F9QX21, F9QX02, F9R3Z3, 40
 F9R4J6, F9QY55, F9QX29, F9QXD4, F9R0G4, F9R3Z6, F9R456, F9R4J7, F9R4U2, F9QVG7,
 F9QYI3, F9QYK6, F9QYX0, F9QZC8, F9QZF2, F9QZK2, F9R3F1, F9R5F2, F9R5X7, F9QY99,
 F9R5Y1, F9QVB5, F9R2S8, F9QXD8, F9R4F3, F9QWB0, F9R0A3, F9R5M9, F9QZL2, F9R4V6,
 F9QYT3, F9R6A1, F9QZZ4, F9QX39, F9QZB2, F9QX80, F9QZY6, F9R3D9, F9QYN7, F9QZR8,
 F9QWA0, F9R422, F9QY56, F9R3Z2, F9QYI0, F9QWB5, F9QW61, F9QYV4, F9R2V7, F9R071,
 F9R522, F9R606, F9QYN0, G0D0W6, G0D0X4, G0DA17, G2APR5, G2APV7, E8IXL2, F4MCE5,
 E8IXJ8, E8IWJ3, E8IMG9, E8IQV7, E8IZS3, E8ITZ4, E8IUV1, E8IVU2, E8INK1, F4M294,
 E8IWR2, E8IRJ3, E8IPM6, E8IMB0, E8IX56, E8INX4, G0DDL5, G0DBA8, G2ARG4, G2ASA1,
 F4M2P3, E8IMQ6, G2AZD6, E8IZ86, E8IUB0, E8IM34, E8IYD8, E8IXL4, G2AXB3, G2AZW2,
 E8IYB9, E8ING0, F4M1Y1, G0D6C2, G2AVG2, G2B1H1, G0D8I0, G0DA36, E8IM33, E8ISG2, 50

E8IX46, F4M048, G2APT6, E8IV80, E8ITQ8, E8J0I7, E8IRC6, E8ISV5, E8IRV2, E8IQN1,
 E8IV86, E8IXI8, E8IZB1, E8IMF1, E8IV87, E8IYB6, F4M935, E8IWU4, E8IPD9, F4M4W6,
 E8IR63, G0D2L1, G2B3S0, E8INY3, F4LYQ5, F4M7A6, E8IT04, G2AQY5, C6L1N1, E8IVU3,
 E8IXF1, E8IXK2, E8IXL5, E8IZD3, E8IZG8, E8IZG9, E8INY2, E8IUN3, E8IUX0, E8IW71,
 E8IXX8, E8IXY5, E8IY31, E8IY34, E8IWR1, F4M049, F4MCL4, E8IM70, E8IVE2, E8IYM8,
 E8J0U8, E8IMG1, F4MD93, F4M0P5, F4M156, F4M7C4, F4M7F6, F4M1L8, F4M1S0, F4M1Y2,
 E8IMI7, F4LYQ4, F4M1S4, F4M9T7, G2AZN9, E8IY08, E8IWD5, F4M227, F4M8I4, F4M2M3,
 F4M2N5, F4M2R3, F4M8X0, F4M934, F4M336, F4M347, F4M3R1, F4M3S9, F4M476, F4M4E2,
 F4LYE8, F4LYG0, F4LYQ9, F4M4W5, F4MBQ6, E8IN56, E8IN73, E8INF6, E8ING6, E8IRV3,
 E8IRV6, G2AXX6, G2B408, G2AS47, G2ASA0, G2ASW1, G2ASW4, G2ARN8, G0D684, G0DB32,
 G0D6B3, G0D237, G0D2P7, G0D759, G0DCJ1, G0D3A2, G0D3B6, G0D840, G0D8E0, G0D493,
 G0D0S4, G0DAZ2, G2AT34, G0D032, G0D0E8, G0D992, G0D9S8, G2AT19, G2AZP0, G2B0H1,
 G0D0X3, G0D0Z1, G0D575, G0D5E3, G0D9X2, G2B0M9, G0D5M0, G0DAH4, G0DAV8, G0DB08,
 G2B1H0, G2APR6, G2AVW9, G2B252, G2B2H0, G2B2H1, G2AWX2, G2AQY4, G2AR10, G2B3P2,
 G2ARU8, G0D8A7, G2AXB2, G2ATH1, G0D2B7, G0DBA9, F4M340, G2AT41, G2APM4, G0D4V1,

10

【 0 5 6 4 】

G0D6S0, G0DDJ8, G2AUC2, G0D660, G2ARG3, G2AZ28, G2B3S4, F4M9Y7, G0D6S4, G0DBF8,
 G2AVG3, G0D508, G2AWB1, F4M822, G0D2L2, G0D9A5, G0DBR4, G0DDL6, G2AWX6, G2AT66,
 G2ATH5, G0D8E6, F4M0Q2, G2B1F4, G0D993, F4LY18, F4LZ88, G2AR74, G2B387, F4LYP2,
 G0D8D7, G2AXA4, G2ASR3, G2B366, G0D6C1, G2AX21, G2ARI9, G2AUV6, G2ARV8, G2B2M0,
 F4LZS6, G0D1Y7, F4M4D3, F4MCE6, G0D514, G0DCM1, G2AWR5, G0D3U7, F4M2C9, F4M9B6,
 F4M1P5, F4M4V7, F4MD16, G0D298, G0D357, G0D0V8, F4MCY4, F4MCY3, G0DBA0, G2AQ37,
 G2AS88, G2AUF3, F4M7A5, F4MAM5, F4M153, G0D9S2, G0D7W6, F4M3Z1, F4MAI0, G2AZD7,
 G2B1F6, G2APS8, G2ATV4, G2AQ64, G2ASA6, G2AZP3, F4M462, F4M1H5, F4M3R5, F4MB58,
 G2ATW4, G0D2U1, G2AWY2, G2AYI0, B3BUB1, B3C1C4, B3BRV1, B3BXL5, B3C1K8, B3BU23,
 B3BW76, B3BWF6, B3BWM4, B3C2W9, B3C437, B3BX88, B3BRD8, B3BW01, B3C464, B3BSA8,
 B3BTM9, B3BTP5, B3BUA0, B3BUB0, B3BSL9, B3BSM8, B3BSX8, B3C3L4, B3C4M6, B3BSX9,
 B3BTB4, B3BUG3, B3C2U0, B3C1C5, B3BW78, B3BWF5, B3C320, B3BXX4, B3C3Y0, B3C478,
 B3BUZ9, B3BVF8, B3C0U2, B3C2T3, B3BTB5, B3BTT2, B3C037, B3BVE0, B3BR84, B3BSM7,
 B3BVF7, B3C3K6, B3BYS8, B3BS44, B3C433, B3BQT6, B3BRV0, B3C4J7, B3C2U6, B3BXX9,
 B3BWK4, B3C3V8, B3C315, B3BTE6, B3BW17, B3C1G5, B3BRV3, B3BW79, B3C3R5, B3C3V4,
 B3C4Q9, B2N4T9, B2NBN3, B2N8R2, B2U646, B2NBT9, B2NBV2, B2NBZ7, B2NC16, B2N489,
 B2N6M4, B2U5S0, B2N965, B2NAT0, B2NAT3, B2N8N2, B2N6W9, B2N2X1, B2N944, B2U604,
 D7GK58, D7GKK6, B2NB55, B2U6E1, B2N4E1, B2N4E8, B2NBN0, B2N7P7, B2N8Z0, B2NCH9,
 B2N5Z8, B2N6I4, B2NC86, B2N493, B2N520, B2N6V8, B2NAI0, D7GK42, D7GKF5, B2NDM7,
 B2NON7, D7GKA5, B2N8R3, B2N102, B2N4B7, B2ND31, B2N5B1, B2N6J4, B2U603, B2N2Z4,
 B2N3N8, B2N4U0, B2N4U8, B2N5A1, B2N595, B2N2V6, B2N6S3, B2N9Q5, B2N6J0, D7GK41,
 B2N354, B2N720, B2N7W5, B2NC77, B2NDK0, B2NCG6, B2N4P6, E7J1M2, E7JCD6, E7J943,
 E7JCE5, E7J5R2, E7J8U0, E7J474, E7J3A5, E7JD43, E7JD55, E7J7E9, E7JD76, E7J3Q8,
 E7J2E8, E9ULG2, E7J5Z9, E7J628, E7JCE4, E7JDL1, E7J3N3, E7J3Q9, E7J9X4, E7JD01,
 E7J2U1, E7J2U4, E7J475, E7J567, E7J8L1, E7J399, E7J942, E7IZT6, E7J1A2, E7JBF6,
 E7J3I3, E7J7F0, E7J5R3, E7JBM3, E7JDX9, E7JD47, E7J634, E7J441, E7JAT0, E7J2G0,
 E7JCV8, E7IZR9, D2WFF7, E7J8J7, E7J3H3, E7J6K4, E7J1W2, E7J3B9, E7J1T2, E7J2Z0,
 E7J2Z7, E7JE09, E7J946, E7J8U1, E7J3W5, E7J2W7, E7J1M1, E7J035, E7J638, E7JDI6,
 E7J690, E7J7X9, E7J3A6, E7JB33, E7JBP5, E7J5S1, E7JD44, E1J0H8, E1J962, E1J9B6,
 E1JAD4, E1J2B9, E1J9V6, E1JAF4, E1J0U5, E1JEH8, E1J4Q8, E1J978, E1J622, E1J9Z3,
 E1J8M1, E1JB64, E1JB33, E1J9U4, E1JA45, E1J067, E1J359, E1J0H9, E1J963, E1J977,
 E1JA44, E1J5H7, E1J7X5, E1JF06, E1JF10, E1J2B5, E1J9K3, E1J9P9, E1JB20, E1JBA8,
 E1JBE2, E1J748, E1J7A5, E1JDT2, E1JBE6, E1JEH7, E1J383, E1J136, E1J7C6, E1JED2,
 E1JDY0, E1J9L1, E1JEJ8, E1J9H8, E1J2C0, E1J182, E1J2H7, E1JDW0, E1J620, E1J475,

20

30

40

50

E1J1U3, E1J9V5, E1JDK5, E1J0A0, E1J8A1, E1JEV5, E1J0U3, E1J5G5, E1J2D3, E1J334,
 E1J6G2, E1J066, E1J9Z4, E1JB50, E1J4U1, E1J8M2, E1J9B7, E1JA70, E1J3P6, E1JCY9,
 H4NT04, H4N0J0, H4NVM6, H4FQ04, H4FP50, H4FPP8, H4NIP1, H4NKV0, H4N5T9, H4NV44,
 H4N0R5, H4NK33, H4NKV2, H4NMK5, H4FRL9, H4N3P1, H4NKJ9, H4FEX6, H4N5W5, H4NRC6,
 H4NCH0, H4NH66, H4NIK6, H4N8H5, H4N9P2, H4NB15, H4NVX5, H4FGA0, H4N0Z3, H4FI64,
 H4FNP5, H4NV42, H4N594, H4NBY7, H4NTK9, H4N4D9, H4NK70, H4FQZ2, H4NGT8, H4NS86,
 H4FJ57, H4N0K9, H4NH21, H4FML1, H4NND2, H4FID9, H4N4P9, H4NM56, H4NL53, H4NRC5,
 H4FP64, H4FRA2, H4N999, H4N2N8, H4NBY0, H4N230, H4FIP6, H4FP20, H4FRG3, H4FRQ2,
 H4N5Z3, H4N457, H4FPQ3, H4N5Q4, H4NIK7, H4NRB6, H4N3B7, H4NLQ3, H4NQZ3, H4NJH0,
 H4NUY0, H4NBN8, H4NGH4, H4NP50, H4N6S6, H4FJM7, H4FPB8, H4NFN2, H4FNV2, H4N3Y3, 10
 H4N589, H4NRZ7, H4NTX5, H4FM33, H4N134, H4N732, H4FKW6, H4NFP1, H4N2C8, H4NQZ9,
 H4NMP1, H4NWQ7, H4FKH3, H4NQE8, H4FIY8, H4FFL0, H4N368, H4N3B9, H4N4K4, H4NLP8,
 H4NEW8, H4N8X2, H4FKW5, H4FMU1, H4FPP5, H4FSH0, H4NGH5, H4NLS3, H4NCU8, H4NSP6,
 H4N9N4, H4ND10, H4FPR4, H4N0K1, H4N2W9, H4NJF7, H4FPQ4, H4FPR5, H4FJ12, H4FQZ9,
 H4FRA8, H4FKE8, H4FKT6, H4FL02, H4FF58, H4FLF4, H4FFK3, H4FG53, H4FM37, H4FM38,
 H4FGB7, H4FGD0, H4FGZ2, H4FGZ5, H4FN42, H4FHR3, H4N265, H4N8X3, H4N2V8, H4N923,
 H4N929, H4NFP0, H4N9P3, H4N3A6, H4N3C4, H4N9R9, H4NTX4, H4NMR5, H4NMU5, H4NGT7,
 H4NGX6, H4NUH2, H4N4D7, H4N4E0, H4NH77, H4NH85, H4NHA5, H4N4M7, H4NBC5, H4NHK2,
 H4NPM3, H4NBY1, H4NPU8, H4NPX5, H4N94, H4N5Q3, H4NIV4, H4NQE9, H4NWN9, H4NJ24,
 H4NJ25, H4NJ61, H4NQ75, H4N6N0, H4NR40, H4N0M9, H4NDI6, H4NJU3, H4FJB1, H4ND09, 20
 H4NXS5, H4NKV3, H4N229, H4NET1, H4NL29, H4NL77, H4NL81, H4FPE6, H4FI98, H4N2K0,
 H4NK82, H4NEB1, H4N0R4, H4N4Q3, H4NAF5, H4NTB7, H4N0V2, H4FK81, H4N7Y0, H4NK84,
 H4FGA4, H4NGG7, H4N2K2, H4N5B5, H4NEP4, H4NTX9, H4NE79, H4N8J0, H4UT09, H4JLE4,
 H4UJ86, H5RCI6, H5R714, H4JHG7, H5R5V3, H5R6X4, H4JKA8, H5R846, H5RBZ8, E8JDF9,
 H4JUT2, H4UIR0, H4UT18, H4UP95, H4UPK0, H5REH1, H4JPJ1, H4ULW3, H4JHF4, H4JHI1,
 H4JPD0, H5R9R5, H4JPW7, H5R994, H4JHF5, H4ULI5, H4UG36, H4UE56, H4ULB9, H5RFE2,
 E8J1F3, H4JRQ7, H4JU85, H5R4J0, H4JJH3, H4UHA3, H5REW3, H4UI82, E8J0Z8, H4JKV1,
 E8JEC6, H4JKW4, H4JJV9, H4JLM2, H4UE27, H4UEM2, H4UE13, H4US04, H5R4E4, H5RCP7,
 H5RDH8, H5REG9, H5R8E5, H5RH65, H4JR77, H4UEP9, H5R5K6, H4JS69, H5R3U6, H5R6K3,
 H5R8B7, H5R6K8, H4UGU8, E8JCW1, H4JU84, H4UDS2, H4UQ44, H4UKJ5, E8J1D5, H5R4I8, 30
 E8JD27, E8J2Q6, E8J6Z6, E8JB61, E8JB62, E8J0Z9, E8J1C7, E8J954, E8J988, E8JBM2,
 E8J9U1, E8JEC7, E8J447, E8J2Y0, H4JGR0, H4JGR7, H5R6B5, H5RIU2, E8J9U8, E8J1J5,
 E8J3J8, E8J3K4, E8J3N9, E8JCL9, E8JCM3, E8J5Q9, E8J638, E8J7Z7, E8JCV9, E8JD03,
 E8J6E7, E8J887, H5R6K2, H4JTP6, H4JML1, H4JU13, E8JC68, H4JGL8, H4JGR8, H4JH60,
 H4JHB0, H4JHH3, H4JVD2, H4JVD3, H4JHR2, H4JLG8, H4UGD5, H4JVI2, H4JVL0, H4JPJ7,
 H4JPN6, H4JIQ5, H4JKB6, H4JPV9, H4JIZ7, H4JQI9, H4JJG2, H5R651, H4UT17, E8JE87,
 H5R932, H4UFW9, H5R499, H5RAF1, H5RGU4, H5R4L1, H5R4N2, H5R4U2, H5RB58, H5RHL8,
 H5RB80, H5RBG4, H5R5P0, H5RBZ2, H5RI48, H5RC79, H5R652, H5R678, H5RC15, H5RCN9,
 H4JKG5, H5R7E8, H5R7J4, H5RE69, H5RE83, H5R806, H5R813, H5R850, H5R865, H4UPJ9,
 H4UPK3, H4UPS7, H4UQ29, H4UQA2, E8J135, E8J973, E8JCK9, E8J438, H4UDX1, H4UE14, 40
 H4URN6, H4UKL7, H4UKT5, H4UHF2, H4US71, H4USB5, H4UL70, H4ULJ2, H4ULN0, H4USZ8,
 H4JJZ6, H4UFM2, H4UFM3, H4ULX4, H4UTC4, H4UTC5, H4UMJ9, H4JKE1, H4JKG9, H4JRY6,
 H4JSI3, H4UGH8, H4UGJ0, H4UGJ1, H4UGJ7, H4UGU9, H4UN37, H4UGX3, H4UH95, H4UHC7,
 H4UHF6, H4UP10, H4JLM1, H4JT40, H5RC27, H4UIU0, H4ULX3, H4JP14, H5RAM9, E8JCW2,
 H4JKU5, E8J9U7, E8J5W9, E8JD50, H4J1J6, H5R3U7, H5R4K3, H5R5K7, H5R625, H5REW8,
 E8JCH2, H4UK64, E8J175, E8J5F4, H5R7G2, H5REW5, H4JP16, H5RIP1, H4UE35, H4UH53,
 H4UP96, H5R723, H5RI25, E8J448, E8J8K5, E8J392, H4JHK1, H4JPW8, H5RCP8, H5R8E1,
 E8J4H9, E8JCZ6, H4UFQ1, H4UHT8, H4UG47, H5RHQ7, H4UNP0, E8JBW6, H4UL71, H4JVM6,
 H4JLU7, H5R8Y6, H4UHR3, E8J6F0, E8JDE0, E8JEE3, E8J8X7, E8J3E5, E8J746, E8J6E6,
 E8JBA0, E8JDD7, E8J7H9, E8JBT2, E8J1B6, E8J3J4, E8J576, E8JC79, E8JD53, E8JBG4, 50

E8JEB3, E8J2E5, H4YB63, H4YIJ0, H4YD81, H4YDI0, H4YDN6, H4YE41, H4YK73, H4YEM5,
 H4YL36, H4YLM4, H4YFQ1, H4YGQ8, H4YMW1, H4YN21, H4YHC1, H4YBA8, H4YBF2, H4YHT5,
 H4YHT6, H4YBH7, H4YBJ7, H4YI61, H4YIA4, H4YPV5, H4YPW2, H4YJ58, H4YQC6, H4YIJ1,
 H4YI68, H4YCA9, H4YCE5, H4YF69, H4YL42, H4YCK8, H4YKU8, H4YCT7, H4YDZ9, H4YFH8,
 H4YF43, H4YII2, H4YF67, H4YF44, H4YF44, H4YKU9, H4YBF5, H4YE67, H4YEJ6, H4YHY7,
 H4YD91, H4YDN0, H4YDM9, H4YPW3, H4YCB0, H4YHG4, H4YE12, H4YFQ0, H4YBG9, H4YQH7,
 H4YJT7, H4YMJ5, H4YEA0, H4YL34, H4YM09, H4YGC4, H4YNX3, H4YDW6, H4YLI2, H4YDL9,
 H4YEU2, H4YDW2, H4YK59, H4YMH4, D7Y8Y4, D7Y3X6, D7Y500, D7Y3F8, D7Y3M0, E9UEI1,
 E9UGG1, E9UIU6, H4YSN9, H4YSU3, H4Z584, H4Z5K2, H4YT77, H4YZJ7, H4YTG0, H4YTH0,
 H4YTV4, H4YTW7, H4YTX2, H4Z088, H4YUE7, H4YUJ7, H4YUK1, H4YUT3, H4Z7D8, H4YV30, 10
 H4Z178, H4Z7K4, H4Z1I9, H4YW02, H4Z2R2, H4Z3S6, H4YR58, H4YR71, H4YR79, H4YY99,
 E9UJH8, E9U7S0, H4Z1I6, H4YYY0, D7Y884, H4Z0Z4, H4YZT5, H4Z6L3, H4YUV0, H4YYI5,
 H4YR13, H4YY48, E9UAK2, H4YTR3, H4YRN3, E9UJG9, D7XZJ1, H4YYH9, H4YYP3, H4YQW9,
 H4Z279, H4YUH4, D7Y2H9, H4Z1J2, H4Z3A5, D7Y751, D7Y9K5, D7YAK0, D7Y040, H4YRS7,
 D7Y731, H4Z455, E9UAM1, H4Z0W4, D7XYJ4, E9UFN9, H4YTA3, H4YY47, D7Y466, H4YX50,
 E9UAI1, H4YR56, H4YUT7, H4YRA0, H4YYL1, H4Z177, H4YTW6, H4YRK6, H4YT07, H4Z4G3,
 H4YT78, H4YWR6, H4YSN8, H4Z596, H4YVR2, H4Z595, E9UD74, E9UGY8, H4YX89, H4Z4D4,
 H4YVU2, H4YYX9, D7Y8C7, D7Y2U5, D7Y8X0, D7YAL2, D7XZW8, D7Y9K6, D7Y3X7, D7Y1H6,
 D7Y4X5, D7Y4C3, D7Y4H9, E9UJH7, E9U787, E9U7D5, E9U7M4, E9U8T6, E9UF80, E9UF19,
 E9UFZ1, E9U9Z9, E9UAJ4, E9UH01, E9UBL8, E9UBP1, E9UBR2, E9UJR9, E9UIK1, E9UIZ8, 20
 E9UBV9, E9UEI0, D7Y3E5, D7Y3L8, E9U6J6, E9UH08, D7XYD7, D7Y039, D7XYJ3, E9U7R9,
 E9UF16, D7XZJ0, D7XZT9, D7YAJ6, D7Y0T5, D7Y4I3, E9UA81, E9UEJ3, D7Y9S5, D7Y9H8,
 D7YAK1, D7Y635, E9UHG4, D7Y4F5, D7Y3Y5, D7Y5C6, E9U5Z5, E9U635, E9UAI2, E9U8E6,
 E9UFC4, E9UIU7, E9UIG7, E9UIU0, D7YBB8, D7Y732, D7XXY5, D7Y804, E9UDJ8, E9U6T0,
 E9UIT0, E9UFN8, E9U8H0, E9U5S0, D7Y3P4, D7Y4Q9, E9UFD0, D7Y4D1, E9U4Y4, E9U7R1,
 E9U5P4, E9UEB6, E9UHY9, D7Y743, D7Y8U8, D7Y0F0, E9U6Z3, E9UBL1, E9UD73, E9UGE3,
 D7Y6U2, D7Y6L2, E9U7D1, E9U6I4, E9UBR6, D7Y4W9, D7Y4Z9, D7Y4Q2, D7Y4K7, B2PQ47,
 B2PLU0, B2PG49, H4RT64, H4RTC7, H4RTI3, H4RUB3, H4RUH0, H4RUJ0, H4S0K0, H4S139,
 H4S140, H4RV23, H4RVB9, H4S1T0, H4S289, H4S2F2, H4S2F3, H4RR42, H4RRE0, H4RXM4,
 H4RRK8, H4RS02, H4S4I3, H4RX83, H4S3P5, H4S3R4, H4RYE0, H4RYI2, H4S4U7, H4RYR1, 30
 H4RYR9, H4RYS0, H4S572, H4RST0, H4S5N0, H4S5S8, H4S3G1, H4RQ51, H4S0S6, H4RR79,
 H4S146, H4RV24, H4RTQ7, H4RTI0, H4RSU4, H4RWN4, H4RSD8, H4RRK6, H4RRP2, H4RTV3,
 H4RUG5, B2PIN7, H4RTV6, H4S1K5, H4RSU8, H4RXY9, B2PNA6, B2PPJ2, H4RV60, H4RTT1,
 H4S4H4, H4RSU2, B2PLC4, B2PN87, H4S086, H4S4Y4, H4RTI2, H4S4I2, B2PSP8, H4S331,
 H4RYE6, H4RR40, H4RX40, B2PPF7, H4S527, H4RSF3, H4RXZ0, H4RY83, H4RSP3, H4S3T3,
 H4RZY2, H4S2V4, H4RV90, H4RXH4, H4RZE6, H4S5Q7, B2PIN6, B2PGU4, B2PPI2, B2PQW6,
 B2PSY0, B2PGH4, B2PIT4, B2PKS6, B2PPF6, B2PJZ9, B2PRQ6, B2PS00, B2PG83, B2PHE4,
 B2PMP0, B2PJD0, B2PLR0, B2PMV7, B2PIB0, B2PL05, B2PKS8, B2PLC3, B2PN69, B2PSP9,
 B2PEC1, B2PSI0, B2PHT3, B2PIM6, B2PLP4, B2PSW4, B2PQQ0, B2PI54, B2PIA6, B2PH89,
 B2PLU1, B2PRK7, B2PSX4, B2PTI1, B2PFY8, B2PKA8, B2PF89, B2PLC6, B2PRQ2, B2PQD0, 40
 B2PQ54, B2PME6, B2PFS8, B2PQK1, B2PQN7, B2PIB6, B2PS23, B2PGI5, B2PJ77, B2PRZ4,
 B2PG48, B2PIF2, B2PJB3, B2PT78, B2PEU5, B2PN79, D8E578, D8EAS9, D8EBT4, D8E306,
 D8EF37, D8EBY6, D8EOR9, D8EB63, D8E661, D8E8M5, D8E6F1, D8EEE6, D8EA10, D8E4S8,
 D8EBR4, D8EAJ3, D8E543, D8E577, D8EBL4, D8EBU2, D8EC25, D8EEQ3, D8E7I6, D8E4H7,
 【 0 5 6 5 】
 D8E1R1, D8E9C9, D8E8Y7, D8E8Z7, D8E3C5, D8E3E9, D8E2A9, D8E8F1, D8E8M6, D8EF78,
 D8ECH3, D8E8K1, D8E0S0, D8EA11, D8E319, D8E9X8, D8E7P6, D8ED18, D8EF38, D8EAJ8,
 D8E6F0, D8EC78, D8E998, D8E7P2, D8EBY7, D8E3F7, D8EDN3, D8EA97, D8EDC4, D8E3A0,
 D8E5N0, D8E3A4, D8E876, D8E4S9, D8E6E1, D8EAF2, D8E7Q2, D8EDP9, D8EBY2, D8EEN6,
 D8EAS8, H6MD62, H6ME16, H6MFQ6, H6MHE4, H6MHJ7, H6MHR9, H6MHZ4, H6M8N4, H6M9D0, 50

H6M9R7, H6M9R8, H6M905, H6MAY2, H6MCF5, H6M943, H6M9C9, H6MA21, H6MBR4, H6MM33,
 H6MM34, H6MMH6, H6MJ04, H6MJM5, H6MKD8, H6MKE4, H6MKP8, H6MKZ6, H6MCR5, H6MKX8,
 H6ME12, H6M966, H6MEA4, H6MIM5, H6MLI3, H6MI98, H6MEC7, H6M9Q8, H6MCR3, H6M8W8,
 H6MC43, H6MKT8, H6MED0, H6MCR6, H6MCV8, H6MKY8, H6M946, H6MKL2, H6MHK3, H6MIB8,
 H6MG18, H6MH83, H6M994, H6MCV1, H6MCI4, H6ML14, H6MMJ1, H6MJH4, H6M9L9, H6MJE1,
 H6MKL1, H6MKE5, H6M8R7, H6MAX8, H6MDT7, H6MH63, H6M8J2, H6MCJ4, H6MJM4, H6MAB5,
 H6ME11, H6MJ19, H6MBB1, H6MAL5, H6M8N5, H6MFZ2, G5VU22, G5W314, G5VX37, G5VYQ1,
 G5W1W3, G5W3N3, G5VYL3, G5VRS7, G5VYN2, G5VVI1, G5W0Z4, G5VR60, G5VZQ9, G5VUC2,
 G5VZQ8, G5VTK3, G5VZU0, G5W0E0, G5W0K8, G5VUZ1, G5W244, G5VQ63, G5VW71, G5VX15,
 G5VRF9, G5VRJ3, G5VXC9, G5VSG0, G5VYD3, G5VRS6, G5W0U4, G5VRR7, G5VRA6, G5W088, 10
 G5W194, G5VVI2, G5VYL4, G5W1G3, G5W0J8, G5VTU5, G5W247, G5W2W0, G5VWV4, G5VT06,
 G5VQR4, G5VZZ8, G5W1Z9, G5VR61, G5W0Z3, G5VPB0, G5VYX7, G5VWI7, G5VUC5, G5VRF5,
 G5W0Y3, G5W0Z8, G5VX52, G5VYM4, G5W315, G5W2T3, G5VU23, G5VUC1, G5VXY4, G5W1U6,
 G5VRG5, G5W1V0, G5W3N2, G5W222, H4SJ15, G1YJ12, G1YSL4, G1YLV2, G1YMC3, G1YKP4,
 G1YKS8, G1YKU8, H4SAQ6, H4SHS0, H4S5X6, H4S654, H4SCE3, H4SD38, H4S751, H4S752,
 H4SDG0, H4SJM1, H4SDY8, H4SGQ1, H4S7L9, H4SK79, H4S7T2, H4SDZ8, H4SKL8, H4S8H2,
 H4S8I2, H4S9I4, H4SF05, H4S8T1, H4S8T2, H4S8Y4, H4S931, H4S934, H4S9C7, H4S9D8,
 H4S9I7, H4SFM6, H4S9K8, H4S9U1, H4SG53, H4SI87, H4SGE0, H4SG71, H4S697, H4SAN2,
 H4SAG7, H4S8I4, H4SDG6, H4SIF1, G1YKN6, H4SAU1, H4SBB1, H4SHB5, H4SK78, H4SD91,
 H4SFJ4, G1YNP0, H4S7E4, H4S8D3, H4SIS4, H4S908, H4SAU2, G1YRW2, H4S603, H4SHY0, 20
 G1YKW8, H4SKJ1, H4SEK2, H4SGQ2, H4SG37, H4SDZ7, H4SJK4, H4SC22, H4SHY2, H4SK17,
 H4SKQ5, H4SCP5, H4SJ51, H4SKL9, H4S8I8, H4S8S9, H4S5Y4, G1YVW4, G1YJL8, G1YJR7,
 G1YJY8, G1YRE9, G1YSL3, G1YLV1, G1YM56, G1YMC2, G1YTV1, G1YKS9, G1YKU0, G1YS83,
 G1YQM6, G1YV73, G1YV84, G1YUF8, G1YPZ8, G1YML3, G1YPL8, G1YXA2, G1YMF7, G1YNB2,
 G1YS79, G1YS08, G1YPA6, G1YPI1, G1YS89, G1YU48, G1YN88, G1YXB1, G1YT68, G1YQU5,
 G1YVS5, G1YRW3, G1YWX7, G1YVW8, G1YLZ6, G1YNL7, G1YK09, G1YV02, G1YSC9, G1YW81,
 G1YKP3, G1YND7, G1YNE1, G1YSK5, G1YP55, G1YNM0, G1YJ13, G1YP82, G1YQG2, G1YUI8,
 G1YNM6, E9VTG5, E9VTJ0, E9VLV7, E9VSU5, E9VTK2, E9VMP5, E9VLY7, E9VST6, E9VNP5,
 E9VNR9, E9VP20, E9VVD5, E9VVI7, E9VQC1, E9VME1, E9VR66, E9VUG4, E9VQ05, E9VWN2,
 E9VWN5, E9VJJ6, E9VR18, E9VJP3, E9VK07, E9VR22, E9VRD9, E9VK44, E9VKE7, E9VKF4, 30
 E9VKH7, E9VKR7, E9VRX4, E9VLE0, E9VJD9, E9VRE7, E9VL50, E9VWM6, E9VRE8, E9VTJ1,
 E9VJQ3, E9VSU4, E9VVZ0, E9VVF3, E9VLE1, E9VWX6, E9VQR8, E9VWA4, E9VPS4, E9VTL0,
 E9VUQ2, E9VR28, E9VUZ5, E9VQR7, E9VM05, E9VVY2, E9VUQ7, E9VLS9, E9VKK4, E9VQ78,
 E9VVM2, E9VV08, E9VQW6, E9VLN4, E9VW38, E9VNG3, E9VT78, E9VUU6, E9VLV8, E9VQE9,
 E9VKK0, E9VLY4, E9VJB6, E9VLF7, D6I9H4, D6I9S7, D6IHK8, D6IAK3, D6IID1, D6IDK4,
 G2D662, G2CU15, G2D1P9, D6I727, G2CWC8, G2D4K0, G2CYA3, G2D3Q9, D6I8K9, G2CVP5,
 G2D824, D6I6T6, G2CTZ4, G2CV52, D6IIE8, D6IE61, D6IHY0, D6IFC5, G2D468, G2D834,
 D6IGZ5, D6I5U7, D6IHL7, G2D0S1, G2CTX1, D6I5G4, D6I5U8, D6I9J3, D6IHY1, D6I117,
 D6I5G3, D6I8J8, D6I8K8, D6IF76, D6IIC3, D6I6T5, D6I9R8, D6I714, D6IHL6, D6I676,
 D6IAG9, D6IDK3, D6ICL0, D6IDV7, D6IGX6, D6I905, D6ICU9, D6IC21, D6I7S9, G2D6I7, 40
 G2CTX3, G2CTY5, G2CU98, G2D6V4, G2D730, G2D752, D6IDH9, D6IDJ1, G2D1G1, G2CVA2,
 G2CVH3, G2D833, G2CVY3, G2CWC7, G2D2U2, G2CWS7, G2CWW2, G2CX06, G2D3F4, G2D3R0,
 G2CXR2, G2D3U1, G2CY05, G2CY86, G2CY90, G2D466, G2CV51, G2CZH0, G2D3G8, D6I632,
 D6I6M9, D6IDH0, D6I609, G2CXU2, G2CVX3, G2D661, G2CYJ7, D6I9Z5, G2D0W9, D6I5J3,
 D6I708, G2CW75, D6I8L3, G2CWU9, G2D5Y5, G2D601, D6IES3, G2D8R2, D6IDD4, D6I7T9,
 G2D1B3, D6IC31, G2CTS8, G2CVP4, D6IBF8, D6IFC6, G2CWQ1, D6I954, D6IAK4, D6IH10,
 G2D1P0, D6IFX1, G2D1B7, G2D474, G2D4W3, D6I5Y3, D6IBR1, D6IE64, D6I5Z1, D6IIB4,
 D6I6W7, G2CZY3, G2D1P8, D6I5U5, G2D1C3, D6IBV4, D6I635, G2CVS2, G2CWB5, G2D4P5,
 D6IDP0, D6IE60, D6I705, G2CX30, G2D0S2, D6I5Q7, D6IG89, G2D0A1, G2D242, D6I8G2,
 D6ID58, D6IGP4, D6I9S6, G2CTN4, G2CWD4, G2CX54, D6I930, H5JD97, H5JDD7, H5JE82, 50

H5JKE1, H5JRK8, H5JRM5, H5JSA2, H5JSA3, H5JEW1, H5JF66, H5JLE5, H5JFX1, H5JGK0, H5JN25, H5JHB2, H5JNP3, H5JNP8, H5JBF6, H5JPC5, H5JBZ0, H5JCQ1, H5JCU6, H5JCX9, H5JCY7, H5JRK8, H5JKD4, H5JFZ3, H5JFU6, H5JHU0, H5JB50, H5JKH1, H5JFK2, H5JJZ0, H5JET5, H5JFL3, H5JS93, H5JFZ7, H5JHH8, H5JFL4, H5JEE7, H5JH80, H5JKQ3, H5JCJ1, H5JKR3, H5JGH8, H5JE54, H5JEL2, H5JFG0, H5JJY9, H5JMK9, H5JNA3, H5JNP5, H5JFM0, H5JET4, H5JF56, H5JCJ0, H5JIN0, H5JKR2, H5JE56, H5JK71, H5JD07, H5JNA2, H5JQV9, H4MIF5, H4MIF6, H4MC46, H4MC55, H4MCH4, H4MIS2, H4M6R5, H4M6W4, H4M6Y8, H4MCZ6, H4M8B9, H4M8D5, H4M8K8, H4M2Z4, H4M323, H4M9J7, H4M9P3, H4MGH9, H4M4A3, H4MAR9, H4MH45, H4M4R5, H4MHH5, H4MBG5, H4M6R4, H4M7N1, H4M465, H4MHQ8, H4M581, H4MBL7, H4MBG6, H4MIE8, H4MHH8, H4M302, H4M464, H4MDM2, H4MGH7, H4M7L1, H4MDY3, H4M5D1, 10 H4M5D3, H4MHP2, H4M7X3, H4M4N0, H4M6R2, H4M8S2, H4MAB9, H4MDZ0, H4MJ01, H4M6I5, H4M8U9, H4MFG1, H4M5D8, H4M6F2, H4M711, H4M4X0, H4MIV9, H4MBS4, H4MF72, H4MBT0, H4M4G3, H4M4M8, H4M715, H4M5B9, H4MDE2, H4MFS4, H4MHM3, H4MC54, H4M4Y2, H4M5S0, H4MDY4, H4MEK5, H4MGA9, H4M8P7, H4M9H7, H4MBW8, H4MG07, F4UND6, F4UHL3, F4UID4, F4UW55, F4UNA1, F4UML2, F4UIB2, F4UT24, F4ULQ9, F4UKS0, F4UTC7, F4UJR3, F4UR91, F4UHK5, F4UKX0, F4UIF2, F4UWS9, F4UNV1, F4UNA3, F4UV67, F4UIB4, F4UVI9, F4UPL9, F4UPQ9, F4UW32, F4UW72, F4UIU9, F4US61, F4UUC9, F4UWS8, F4UJV9, F4UR55, F4UKC1, F4UKL3, F4UKQ7, F4UQH8, F4ULB2, F4ULC0, F4ULE5, F4UMB0, F4UML3, F4UJR2, F4UK20, F4UKA7, F4UN56, F4UR49, F4UI24, F4ULG8, F4UKR9, F4UHL2, F4UKZ4, F4UT21, F4UN12, F4UNV2, F4UR90, F4USQ8, F4UP22, F4UVW2, F4UKS4, F4UR82, F4UKW9, F4UNB4, F4UTC6, 20 F4UME1, F4USX4, F4UNA0, F4UT26, F4ULH1, F4UIC6, F4UR45, F4UIS5, F4UQY8, H5D0D9, H5CY97, H5D4R7, H5D4Y1, H5D515, H5CZH9, H5CZI6, H5CZP4, H5DCL1, H5D080, H5D0B7, H5D0V4, H5D1B4, H5CYZ1, H5D5K4, H4PIY6, H5D250, H5D2S7, H5D8M2, H5D8M6, H5CWR6, H5D9E4, H4PKY7, H4PLS9, H4PN13, H5CWW9, H5CXI9, H4PI05, H4PRS0, H4PS66, H4PSS6, H4PF26, H5D0E2, H4PFR3, H4PGV6, H4PFV0, H4PFW1, H4PFW8, H4PG02, H4PTH8, H4PTV8, H4PMU3, H4PDR8, H4PQ41, H5CYC8, H4PN19, H4PGV3, H4PH41, H4PHM7, H4PNV5, H4PTJ1, H5D4N4, H4PGC5, H5D7V4, H5DAG5, H4PQH4, H4PTZ5, H4PJ14, H4PQ33, H5CY99, H5DBM9, H4PLD6, H5D8M3, H5D8B4, H4PDT8, H5DBG3, H4PFW3, H5D9M2, H4PF27, H4PFQ5, H4PM39, H5CYZ2, H4PK40, H4PDZ7, H4PIS5, H4PIW1, H5D4X5, H5D0N0, H5D7U4, H5CXL5, H5CX17, H5D1A9, H5D830, H4PGV5, H4PTG9, H4PSJ6, H4PL27, H5D1C8, H4PRH3, H4PIM9, H5CX30, 30 H5D0Z9, H5D8B5, H4PF64, H4PFQ4, H4PMB2, H4PU52, H5CZS0, H5D781, H4PQY2, H4PQ35, H5D516, H5CX38, H5CZ16, H4PMT5, H4PJM1, H5CZI0, H4PMU4, H5D302, H4PJK9, H4PHH9, H5DC78, H4PMP3, H4PHK4, H5D617, H5CYL6, H5D4N5, H4PTJ2, H5CX15, H5DA08, H4PI10, H4PNG3, H4PQH3, H5CZG6, H5D217, H5D4A9, H5D5C4, H4PGD7, H5D012, H4PFC4, H4PSU4, H4PDR0, H4PH55, H5DC86, H5CX59, H5CYW3, H5DAC5, H4PPL9, H4PLT0, H4PR05, H5N4R0, H5N6Q7, H5N8W8, H5NIE0, H5N6N1, H5N7V2, D7YRS7, H5N4D3, H5NHJ3, H5N7I9, B3BBS3, B3BME9, H5NBD3, H5N569, H5NBI6, H5N568, D7YNH6, H5NIE1, D7YFF9, H5NFU0, B3BKH0, H5NFU1, H5NGU5, H5N4D1, D7YPF4, H5N9I2, B3BPP5, B3BBH3, B3BPG1, B3BDB3, B3BFZ8, B3BGH5, B3BGH6, B3BKL8, B3BJG4, B3BAT9, B3BHG3, B3BQK1, B3BP10, B3BHS1, B3BL90, B3BMD1, B3BME1, B3BMG8, B3BPG5, B3BLG6, B3BLP4, B3BFB1, B3BH48, B3BFB2, B3BLZ0, 40 B3BBZ5, B3BLY9, D7YHZ0, D7YP48, D7YPE6, D7YC31, D7YHV5, D7YCL9, D7YCT5, D7YIW0, D7YJD8, D7YDX5, D7YEV8, D7YFI1, D7YE66, D7YEB9, D7YEC3, D7YF61, D7YLK9, D7YM23, D7YH73, D7YJD1, D7YLK8, H5NGG1, D7YLT3, D7YNK0, H5N439, H5N7K3, H5NB83, H5NBH8, B3BDU9, B3BGV5, B3BH38, B3BIP2, D7YHV4, H5N9I3, D7YE74, B3BBW1, B3BJ50, H5NAE8, H5NCC6, D7YFE0, D7YCT4, D7YNV3, H5NID2, H5N486, H5N4F5, H5N4H6, H5NHB9, H5NB82, H5NHS7, B3BFE2, H5NBI7, H5NC52, H5NCD2, H5NCG9, H5NEN8, D7YH74, H5N6G0, H5N6N0, H5N6V7, H5N7E9, H5N937, H5NEC5, H5NDY2, H5NDZ2, H5N883, H5NE41, H5N8A6, H5NEN4, H5N8V0, H5N8V4, H5NFB0, H5N968, D7YLT2, B3BEC4, B3BFB4, B3BHG4, B3BQG7, B3BHF4, B3BHM4, H5NAR7, D7YEU7, D7YRZ5, D7YKP8, D7YRP6, B3BCQ7, H5N4E6, H5NEC4, B3BP67, B3BL91, H5NEN5, H5NGH5, D7YFG7, D7YLK4, H5N7K2, D7YMO5, D7YMO6, D7YCU3, B3BKK1, 50

B3BKG9, H5N9N3, D7YC75, D7YC89, B3BBG5, B3BC32, D7YKC9, B3BIQ2, B3BMT5, B3BK26,
 B3BP73, H5N7K8, D7YP19, B3BCA7, B3BH80, H5NDB6, D7YNP7, D7YPE7, H5N8A9, H5N6X0,
 D7YQN1, H5N699, B3BQ92, B3BED0, B3BL88, D7YP13, D7YR18, B3BK45, B3BBS4, B3BNH7,
 D7YE98, D7YRS8, B3BEC3, B3BH42, D7YIR8, D7YN32, D7YPL1, B3BP96, D7YJD0, B3BCV9,
 B3BDJ8, D7YFI0, B3BGK9, D7YHK4, D7YNH5, B3BHR1, B3BGE6, D7YHM8, B3BE15, B3BNZ6,
 D7YFZ5, B3BBH2, D7YLM0, B3BGU4, H4XG65, H4XMJ3, H4XTS6, H4XTU9, H4XN02, H4XUN4,
 H4XV92, H4XVE2, H4XHX8, H4XI95, H4XIA1, H4XIC4, H4XJ49, H4XQL2, H4XQL3, H4XJP0,
 H4XJU6, H4XQW0, H4XJX9, H4XK74, H4XSW2, H4XFS0, H4XME8, H4XQV4, H4XNJ2, H4XF11,
 H4XFR2, H4XGA0, H4XID3, H4XGE4, H4XTW6, H4XPW2, H4XTB7, H4XPX7, H4XNF7, H4XRC5,
 H4XNF0, H4XI96, H4XM91, H4XLD9, H4XHC4, H4XKN4, H4XH90, H4XI27, H4XT78, H4XI45,
 H4XHR8, H4XRE0, H4XFU0, H4XGS6, H4XJ62, H4XHU4, H4XSU6, H4XUR9, H4XME9, H4XRJ5,
 H4XKJ4, H4XVE1, H4XG34, H4XJ45, H4XSH8, H4XNX2, H4XI84, H4XGE3, H4XH18, H4XH89,
 H4XVI8, H4XMZ4, H4XK73, H4XQD0, H4XIC3, H4XJP3, H4XN03, H4XK09, H4XUW9, H4XF10,
 H4XQV3, H5KCD8, H5K905, H5KCE2, H5KJ07, H5KCW1, H5KJE5, H5KK90, H5KEX7, H5KLI9,
 H5K951, H5K995, H5K9C6, H5K9Q2, H5K9Z4, H5KG56, H5KG57, H5KA61, H5KGH5, H5KGL1,
 H5KAF3, H5KAQ5, H5KAR6, H5K993, H5KB44, H5KB85, H5KB98, H5KB99, H5KBF2, H5KBH7,
 H5KKB1, H5KI84, H5KNW1, H5KHQ1, H5KBA4, H5K9I0, H5KGU1, H5KMA5, H5KKB5, H5KGV0,
 H5K9D3, H5K9F1, H5KCS8, H5KCF5, H5KDI6, H5KM36, H5KEC5, H5KAC7, H5KJE9, H5KGB7,
 H5KH81, H5K9D2, H5KJ08, H5K9F9, H5KFN4, H5K9V7, H5KGV1, H5K9V6, H5KG11, H5KJE6,
 H5KAC8, H5KXL1, H5KFW7, G5W8B9, G5W8C3, G5WEK6, G5WF97, G5W9F2, G5WFW4, G5WFW5,
 G5W3X4, G5W472, G5WAN3, G5WAN4, G5WGW2, G5W4I7, G5W4K4, G5WH08, G5WH66, G5WHL1,
 G5W5W8, G5WBL2, G5WC44, G5W6Q1, G5WCU4, G5W7C6, G5W7J7, G5WDH4, G5WDM3, G5W7S6,
 G5WAY3, G5WF86, G5WD57, G5WDX0, G5WGG6, G5WIC5, G5W5M0, G5WHW2, G5WF87, G5W5G6,

10

20

【 0 5 6 6 】

G5WHG2, G5WC43, G5WHL6, G5WAF6, G5W825, G5WE08, G5WGM4, G5W8F7, G5W8C9, G5W4J1,
 G5W8I3, G5W495, G5WAY0, G5WFA5, G5WG48, G5W9R4, G5W5L9, G5WH76, G5WIC4, G5WDK8,
 G5W4B7, G5W5D9, G5WFC4, G5WHK1, G5WAX9, G5W870, G5WHL2, G5W4C0, G5W824, G5WF06,
 G5W7S5, G2BEC0, G2B4Z6, G2B4H9, G2BEN5, G2BGB2, G2B709, G2B7F8, G2B586, G2B866,
 G2BE40, G2BBN3, G2BBN9, G2B7H0, G2BC20, G2BD14, G2B6S2, G2B7H7, G2B7U1, G2B7Y9,
 G2B7Z3, G2B884, G2B476, G2B4I0, G2B4L7, G2BGW3, G2B4V2, G2B4W4, G2BDT5, G2B4V3,
 G2BEM2, G2B691, G2B6S3, G2BBT0, G2B4X2, G2BE42, G2B7T4, G2BC11, G2BHQ7, G2BDT4,
 G2B648, G2B7H1, G2BE45, G2B870, G2B8I5, G2BDM0, G2B6Z9, G2B7W6, G2BBH6, G2BAB5,
 G2BGP4, G2BC19, G2B9J3, G2B6U8, G2B4R1, G2BET9, G2B7B8, G2BBM9, G2B8F4, G2B6F5,
 G2B645, G2BAX8, G2B475, G5XMA7, G5XME5, G5XPP8, G5XKL1, G5XEQ7, G5XRM3, G5XF46,
 G5XMC6, G5XS36, G5XJ05, G5XQL8, G5XHT9, G5XMM2, G5XH80, G5XMA8, G5XMB8, G5XHU2,
 G5XNR0, G5XP18, G5XPJ0, G5XIS4, G5XJ06, G5XPN1, G5XQK5, G5XEG0, G5XKB3, G5XEQ8,
 G5XEZ3, G5XKV2, G5XFB5, G5XFW9, G5XLN1, G5XLQ0, G5XF36, G5XE73, G5XHT8, G5XF45,
 G5XQK1, G5XQ94, G5XS35, G5XCV0, G5XPP7, G5XPN7, G5XQ69, G5XGG4, G5XNH4, G5XPU5,
 G5XKM6, G5XNB6, G5XLG7, G5XDC8, G5XPQ2, G5XQ43, G5XEC6, G5XRM4, G5XJP3, G5XKI9,
 G5XKB9, G5XQ91, G5XRB2, G5XH81, G5XED2, G5XHL2, G5XMM1, G5XPF4, G5XGQ3, G5XP08,
 G5XRD9, H5H1T8, H5H229, H5H2M7, H5HF80, H5HFL9, H5H3D9, H5H9V4, H5H9W2, H5HGG0,
 H5HGG1, H5H407, H5H4A8, H5HH69, H5H4Q5, H5HHL2, H5HBQ7, H5H5G9, H5HBU0, H5H5W5,
 H5HC41, H5HCE6, H5HCZ1, H5H783, H5H7Z2, H5H4Q4, H5HFF3, H5H292, H5H435, H5H6V5,
 H5H9M6, H5H263, H5H408, H5HAI1, H5HCY8, H5HCE7, H5H271, H5H5V0, H5H987, H5HDL2,
 H5H498, H5H4R0, H5H5G5, H5HEN7, H5H4K1, H5HGF3, H5H230, H5H6P3, H5H3T7, H5H5E2,
 H5H1Y1, H5H5B8, H5H9J1, H5H9J7, H5HI68, H5H3G2, H5H8I8, H5H5U6, H5H3E0, H5H6L3,
 H5HFQ9, H5H4P2, H5H3M5, H5H986, H5HCY6, H5H9D2, H5H9W3, G5U7T0, H5C2G7, H5CTB2,
 H5C7T1, H5C141, H5CGQ6, H5CS41, H5C0Q8, E9YYQ7, H5CJR0, H5CC58, E9WIJ2, G5UKH0,
 G5UFW8, H5C3R0, H5C590, H5CHX1, H5CI92, H5CT12, E9YPT7, E9WL97, H5CJN4, H5C3B7,
 H5CNH5, E9WJW2, H5C8J8, H5CUQ9, H5CDL9, H5CK16, H5CVH6, H5CS42, H5CE56, G5UAT3,

30

40

50

H5C3K7, H5CHX0, H5CHZ9, H5CIV1, H5CEX2, H5CNL3, E9Z112, E9YWM8, E9YYH9, E9YYU6,
 H5CU81, H5CIT8, H5C8K8, H5CJ40, H5C6X1, E9YSG0, H5C120, H5C419, H5CD60, H5CJA3,
 H5C9S6, H5CIK9, H5C4K0, H5C126, E9Z1T6, H5CJ83, H5C112, H5CS45, H5C470, H5C770,
 H5CJW9, H5CRG7, H5CW32, H5C3A3, G5UGV1, H5CFV4, H5CDL8, G5UDA1, G5UIV8, H5CH33,
 H5CUX9, H5CP25, H5C858, H5CJQ7, H5C5Z3, E9WL78, H5CGJ0, H5CEY0, E9WGF3, E9YXA4,
 H5CK30, H5C8C1, H5CJ98, E9WLC8, E9YS08, E9YS18, E9YSE9, E9YYS7, E9YYU5, E9YZ18,
 E9YSX2, E9YT01, E9YT24, E9YZ58, E9WMS0, E9YZX3, E9YZX4, E9WGR0, E9YTV4, E9WBR0,
 E9WBV9, E9WC17, E9Z017, E9WC78, E9YUE9, E9Z0W8, G5U669, G5UCI3, G5UJ33, G5U6N8,
 G5U6R0, G5UD03, G5UD04, E9WI90, E9WI93, E9YVB5, E9Z1K3, E9WIS2, E9YP40, E9Z1T7,
 E9Z1X0, E9YPF4, E9Z113, E9WCZ8, E9WD02, E9YQ69, E9YQ72, E9YWK8, E9WDA8, E9WDF3, 10
 E9YQJ2, E9YQK0, E9WDM3, E9YX68, E9YXA3, E9WKI5, E9YRS0, E9WMF1, G5UJ90, G5UDA0,
 G5UJM5, G5UJN5, G5UJU0, G5UK41, H5CGD7, H5CMI2, H5C3R1, H5CA38, G5U879, G5UKG9,
 G5UKL6, G5UEE8, H5CGN4, H5CGN5, H5CGS8, H5C444, H5CAI4, H5CH57, H5CNG9, E9WJX8,
 G5UFB7, G5UFU6, G5U9M5, H5CB07, H5CNT8, H5CP27, H5CB89, H5CB90, G5UDV8, G5UIV7,
 G5U6Z7, G5UA18, G5UA64, G5UAB7, G5UGX0, G5UGY9, H5C5C1, H5CBM4, H5CBM5, H5CI91,
 H5CIB7, H5CW25, H5CTW0, H5CCL7, H5CCS8, H5CJ97, G5U6B3, H5CQP1, H5CJK9, H5CN63,
 H5CK12, H5CRB2, H5C0Z8, H5C1E6, H5C1H0, H5CRQ1, H5CED9, H5C7X5, H5CE22, H5C852,
 E9WCY7, E9WED4, E9YSB1, E9WCA4, E9YYH8, G5U6Y0, H5CBM8, H5C0Z9, H5C9E0, H5CN64,
 H5CNB1, H5CP17, H5CKU5, E9YU58, G5UIF6, H5CLY3, H5C255, H5C257, H5C8K6, H5CF85,
 H5C2U7, H5CTB1, H5C2U8, H5C2X3, H5C467, H5CV89, H5CMR4, E9WDP1, E9WJU1, E9YWP5, 20
 H5CRQ0, H5CGP8, H5CKR5, H5C0V4, E9YQK1, E9WDF6, E9WBQ8, E9WG02, E9YTK5, G5UAB3,
 G5UHC0, H5C285, H5C3P8, E9WH37, E9YZI6, E9Z1X9, G5UAS3, E9WMK6, E9YT27, H5C2N0,
 H5C7T0, H5CW44, H5C3R5, E9YSG4, E9YU71, G5UAF0, E9WKI4, G5U7T1, G5UGV2, G5UIP3,
 G5UIY1, G5UAT2, G5UBE3, E9YND7, E9WGF4, G5U6Y4, E9Z1X6, E9WEG9, E9YRR9, E9YPT8,
 G5U6L5, G5UFY3, G5UIF5, E9YSX9, E9YXT9, E9WC77, E9WIJ1, G5UJU4, E9WCG4, E9WLD9,
 E9YZ57, E9YQ78, E9YR78, G5U7M7, E9Z1H8, G5UDA4, E9WCF4, E9WMM0, E9YWF4, E9WFQ2,
 G5U8Y2, G5UFN5, G5UHP3, G5UII5, E9WAW6, E9Z1W9, G5UEE9, E9WKZ0, E9Z0V5, E9YSF9,
 G5UG65, E9WI94, E9WGQ0, E9WH36, E9YRF0, E9WAY4, E9WCZ7, E9WN28, E9WH29, E9YUQ0,
 E9YZH3, E9WDA1, E9YPY7, E9WCU9, G5UA19, E9WHU3, E9WGU9, E9YZW8, G5UJI6, G5UGM1,
 E9WJA2, E9WLC9, E9WGQ4, E9YYK9, E9WBM2, E9WDD0, G5UJA0, G5UF00, G5UBY7, E9WGJ9, 30
 E9YZG7, E9YRV4, E9YUF0, E9YRK7, E9WDM7, E9Z0E6, G5U6R3, G5UAC3, E9YQB7, E9YYT5,
 G5UCS6, G5UGW2, H4KNH3, H4KNH4, H4SUP9, H4SUQ9, H4TKJ7, H4KJL6, H4KCE2, H4SXV2,
 H4TTI0, H4SNT3, H4SNW7, H4SVC3, H4TSG0, H4KHX0, H4TIG0, H4T0S2, H4SPF1, H4TLD3,
 H4KBN1, H4KBN9, H4TSR9, H4SPM8, H4SPQ4, H4TLP1, H4TLP4, H4TLX1, H4TLZ8, H4KC70,
 H4KC71, H4TTI1, H4KQ96, H4SQ21, H4TM91, H4TWD1, H4KJ28, H4KQG5, H4SQB7, H4SQC8,
 H4SWU4, H4TS83, H4KJ95, H4SZY4, H4TVC0, H4KJD3, H4KJL5, H4SXB3, H4TN16, H4TN43,
 H4TN80, H4KDL9, H4KRD7, H4KRG2, H4SXI6, H4TUR3, H4SRG1, H4SRI7, H4SRM3, H4KE52,
 H4TPE8, H4KEH9, H4THR4, H4SL54, H4TI35, H4TPL9, H4KF01, H4KF31, H4TKJ8, H4SLH6,
 H4TIH1, H4TII0, H4TIK1, H4TIU1, H4KFA7, H4KFB0, H4KFC8, H4TWE8, H4KBQ9, H4KRG1,
 H4SQM3, H4SLB0, H4SYX3, H4KM13, H4SLU6, H4SLU7, H4SZV0, H4TQM0, H4TWY3, H4SP48, 40
 H4TKN7, H4T0B1, H4TQZ7, H4TQZ8, H4KG70, H4KGC2, H4KGF4, H4KD69, H4SLD9, H4TW19,
 H4SRZ6, H4SU16, H4SU74, H4KNA4, H4SN63, H4TL96, H4TLT8, H4KF27, H4KLT1, H4KGR0,
 H4TK77, H4TKD9, H4TRL4, H4TKZ9, H4SL99, H4TQY9, H4SPF3, H4TPV4, H4TKY8, H4STB4,
 H4KFQ7, H4KJ89, H4TLE9, H4KFB6, H4TIB5, H4T0Q5, H4KRF5, H4KIT8, H4TQ99, H4SUQ8,
 H4SQR1, H4TJV4, H4TJV3, H4KMC4, H4TWQ6, H4KIT6, H4TLE5, H4TMI3, H4SLI4, H4TU50,
 H4TVX8, H4SM36, H4TQL3, H4SZ30, H4THS2, H4TUR4, H4SQ01, H4TLZ4, H4SWI4, H4TP30,
 H4KDC8, H4KK81, H4SLB8, H4TLE3, H4SN64, H4TMZ0, H4SNL8, H4TLP3, H4TLU5, H4KC83,
 H4SPQ1, H4KL40, H4SNT2, H4SW45, H4SNF6, H4SZ31, H4SP50, H4SYG3, H4TTI5, H4SUD6,
 H4KP05, H4KMY5, H4SRD5, H4TM70, H4SP54, H4SS80, H4KKU1, H4SUH3, H4SUD0, H4KPM8,
 H4SXU9, H4SX52, H4KGC3, H4TSZ5, H4TUK6, H4TV24, H4TON5, H4KC28, H4KEE3, H4KJK7, 50

H4SPF4, H4SPZ8, H4KEX7, H4TQR1, H4TT68, H4TQF5, H4SPK4, H4SLI5, H4SZK5, H4THS3,
 H4KE41, H4TI34, H4SXU8, H4LMI3, H4LPZ2, H4LQL1, H4LR89, H4M200, H4LP74, H4LYK0,
 H4M2Q9, H4LNU3, H4LYJ4, H4LP04, H4LQ29, H4LSF0, H4LXZ9, H4M2Q1, E9VDK3, H4LVN7,
 H4LNL9, H4LZQ3, H4LZ96, H4LRS3, H4LQ48, H4LPN4, H4LRY2, H4LXD0, E9VBI8, H4M0L8,
 H4M2N9, H4LT54, H4M2T0, H4LR62, H4LR85, E9VAE0, E9V467, E9V477, E9VAL0, E9V4P8,
 E9V576, E9VBG8, E9VBS3, E9V677, E9VCM8, E9V6J7, E9VD60, E9V6V8, E9VDB0, E9VDJ0,
 E9V8G6, E9V8S1, E9V8V9, E9V941, E9VF37, E9V4J2, H4LW23, H4LS02, E9VE30, E9VAM7,
 H4M1Z9, H4LYJ3, H4LM16, H4LMI4, H4LZW4, H4LTT0, H4LU81, H4M132, E9VAT0, H4LNI3,
 H4LNL8, H4LV93, H4LPA8, H4LVW6, H4M2B2, H4LW29, H4LQ41, H4LQ43, H4LQ95, H4LQL3,
 H4LQL4, H4LWE5, H4LWF3, H4LWF4, E9V9H9, E9VCM7, H4LQV3, H4LR39, H4LRX7, H4LY82, 10
 E9VBV5, E9V942, E9V676, E9VH73, E9V8G7, E9V9A9, E9VDU2, E9V7X6, H4LZW3, H4LQF7,
 H4LRP6, E9V7K0, H4LXN6, H4M0Q1, H4LVG7, H4M2B3, E9V4J6, H4M0B7, E9V8R1, E9V933,
 E9VBF0, H4LUE0, H4M169, E9VCN4, E9V4Z6, H4LP72, H4M2J4, H4LPP5, H4M188, E9V3X8,
 E9V4L9, E9VDQ3, H4LV92, H4LM52, E9VAL1, E9VD77, E9V6Q6, E9VDU6, E9VHW7, E9V8L3,
 H4LW68, H4M1Z2, E9V4P1, E9VF56, E9V9I0, E9V9J3, E9VBH6, E9VGF9, E9V5T3, E9V620,
 E9V6Q7, E9V9F4, E9V8R5, E9VFP3, E9VFN7, E9VHC5, E9VF50, E9VF59, E9VBI7, E9V7S8,
 E9V4D1, E9V6H4, E8I3B2, E8I4I8, E8I661, E8HUC7, E8I0E4, E2KFC5, E8HX18, E8I221,
 E8I5K5, E8I6F3, E8I6I9, E2KDG5, E8I3B1, E8I6T7, E8I510, E2KIA2, E8HWE9, E8I2N0,
 E8HVV7, E8HXE3, E8HY85, E2KI61, E8I613, E8I7P5, E8HUT1, E8HX24, E8I7S1, E8I570,
 E8HX14, E8I5S0, E8HWW5, E8HX58, E8I1L3, E8I6F1, E8I6F4, E8I6U0, E8HXZ7, E2KE49, 20
 E8I2E1, E8HUG4, E8I2L1, E8I2P5, E8I3A5, E8I7U5, E2K6C5, E2K6C6, E2K6C8, E2KK26,
 E2K6J0, E2KCS5, E2K8P2, E2KJF3, E8I7X9, E8I7Y0, E8HYZ3, E8HZD1, E8HZD2, E2K9D0,
 E2K9S2, E2KAA2, E2KB51, E2KF33, E8I4I9, E2KGV4, E2KCI1, E2KBU1, E2KA16, E2KH53,
 E2KI40, E2KI60, E2KGGJ0, E2KHA1, E2KHA2, E2KI95, E8I041, E8I0T7, E8I4R6, E8I5K8,
 E8I651, E2K681, E2KAY2, E2K7S3, E8HUQ5, E8HV75, E2KKS7, E2K5Z8, E8HZ99, E8HWR1,
 E2K7P5, E8I5A4, E2KGW0, E2KDH2, E2KAZ8, E8I122, E8HUR3, E8I4V3, E8I5I2, E8I6V9,
 E2KKU1, E8HYR6, E8I5R0, E2K836, E2KF49, E2KDH3, E2K9H6, E2K9S1, E2KIH1, E8HUC6,
 E8HUK4, E8HW69, E2KG09, E2K5S3, E2KH57, E8HXE2, E2K7T3, E8I1R4, E8HUP5, E8HZD5,
 E8I6J6, E2K7S7, E2KEQ6, E8I569, E8I665, E8HXD4, E2KE37, E2KF09, E2KGY3, E2KHP4,
 E2K9R1, E2KG11, E2KIP5, E2KBN4, E2K8T0, E2K8I8, E2KHD3, E2K7M7, E2K7N7, E2KAI7, 30
 E2KCI2, E2KEY6, E2KEX6, E2KFC6, E2KA79, G5XUF0, G5Y667, G5Y686, H1EPU8, H1EQF7,
 H1EL09, H1EQY8, G5XYQ4, G5XT67, G5Y333, H1EL92, H1ELB3, H1ERG6, H1ELP0, H1EFN1,
 H1EFT4, H1EIQ2, H1EGF6, H5KPQ4, H5KVB6, H1EH31, H1EJM6, H1EHS2, H1EHX8, H1EI48,
 H1EKF4, H1EKL1, H1EFB5, H1EQ67, H1EPX6, H1EQ61, H1EK03, H1EKN6, H5KQ57, H5KQ88,
 H5KQA2, H5KWC7, H1ELA1, H5KX30, H5KQU7, H5KRF0, H5KXR5, H5KRT8, H5KU53, H5KYG7,
 H5KSG0, H5KYQ0, H5KYQ1, H5KSR1, H5KTC3, H5KTC7, G5Y6A5, H5KZP4, H5L077, H5L148,
 H5L1U2, H5KVR9, H5KVX4, H5KVY0, H5L1Y2, H5KPQ3, H5KW54, H5KWB6, H5L076, H5KZ09,
 H1EFI9, H1EG44, H5KW82, G5XZC1, H5KQD0, H5KSW2, H5KYB9, H5KW55, H1EME5, H5KWC6,
 G5XWH1, H5KS87, G5Y4P7, H1EQX5, H5KT65, H5L0T0, H1EQ51, H1EKN3, H5KQB0, H5KT88,
 H1EI26, H1EK12, G5Y6T2, H1EGV2, H5KPP6, H5KRV0, H1ELN2, H1ESL0, H1EL95, H1ER36, 40
 H1ESN4, H5KQ89, G5Y1X3, H5KSV0, H1EM05, H1EFA6, H1EJH0, H5KSH0, H5KUY8, H1EGI5,
 H5KSB1, H5KRL2, H1EMD7, H1EGM6, H1ESP9, H1EJV4, H5KQR6, H1ENL5, H1EFM5, H1ENG5,
 H5KZ14, H1ES95, H5KS86, G5XVK0, H5KQU8, H1ELQ1, H1EEM2, H1ELL3, H5KSW8, H1EKU7,
 H5KPG6, H1EP96, H5KSW3, H5L1W6, H1EFN5, G5Y1M3, H1ENI2, H5L1L5, H5KRZ9, G5XUA0,
 G5XUD9, G5Y4G3, G5XUF4, G5Y4M5, G5Y4Z0, G5XUW9, G5XV68, G5XVB3, G5XVB6, G5Y678,
 G5XXR8, G5Y1E6, H1EQ68, H1ER76, G5XYA9, G5Y2J2, G5XZ37, G5XT66, G5XZB1, G5XTP4,
 G5XTU6, H1EFA7, G5Y6T1, H1EKB9, G5Y446, G5XV91, G5XYQ5, H1ESW7, G5Y5Y7, G5Y3S9,
 G5XVI7, G5Y1M4, G5Y668, G5XTF5, H1EG43, G5XUE9, G5XT97, G5Y1X2, G5Y4R2, G5Y1X6,
 G5XYZ9, G5Y0J9, H1EMD8, G5XYV0, G5XZ09, G5XVI3, H1ELQ0, H1EHX7, G5Y334, G5XWH2,
 G5XSD5, G5XU14, G5XW90, G5XUQ0, G5XWW3, G5XZ03, G5Y146, G5XU04, G5XWB8, G5Y5I7, 50

G5XZC0, H1ER80, G5Y003, E7U166, H1F160, F7N131, F7N4U9, H1F583, H1F7S2, F7N455,
 F7MVU0, E7U145, E7U5I4, F7MY98, H1F5A0, H1F826, H1F9T9, H1F5J0, H1F933, H1F2U4,
 【 0 5 6 7 】

H1F5G8, H1F5G5, H1F5L3, H1F2V5, H1F6L0, H1F0A5, F7MV06, E7U7G4, H1F338, H1F139,
 H1F8Z8, H1F0F8, H1F2T6, F7N6H3, H1F6Z2, H1FCP6, H1F099, F7MUD2, H1F991, H1FCY7,
 H1F1I6, H1F596, H1FAT4, E7U0T3, E7U7G5, E7U7E6, F7MSK9, F7MSY3, F7MT03, F7MTZ7,
 F7MVG2, F7MVS6, F7MWP7, F7MYK0, F7MUV2, F7MWE7, F7MXJ7, E7U333, E7U3F6, E7U5M6,
 E7U8I8, E7UBQ2, E7UBS1, F7N0Q0, F7N0U7, F7N2D2, F7MZN1, F7MZN9, F7MZO0, F7N133,
 F7N4V6, E7U3Q2, E7U667, E7U410, E7U6A3, E7U6B3, F7MUD1, F7MUZ3, E7U4K7, E7U704,
 E7U543, E7U589, F7N3W7, F7N5S4, H1F823, H1F2I3, H1F2V4, H1F8Y6, H1F3A4, H1F3J0, 10
 H1F072, H1F0J8, H1F0J9, H1F0K7, H1F4A7, H1F4C2, H1F4I0, H1F0S1, H1F4L1, H1FBH5,
 H1F0S0, H1EZF7, H1F4E4, H1FAG7, H1F6Q8, H1FBP9, H1FBR6, H1F5Y5, H1F5Z0, H1F6G7,
 H1F6G8, H1F7G1, F7N6J6, E7UBQ7, E7U8I3, E7U370, E7U8I2, F7MTZ8, F7N435, E7U8V4,
 E7U5Q2, F7N1D2, H1F0A9, H1F2R7, F7MVF8, F7MT22, H1F5Y9, H1F600, H1F7K6, E7U2I5,
 E7UC81, F7MZF3, F7N631, E7U1D4, F7MUK2, F7MVB1, E7U4I8, E7U6V9, F7MY99, F7MSL0,
 F7MWG5, H1F684, H1F8Y5, H1F6J9, E7U165, E7U4U2, E7U6B0, E7UAY8, F7N118, F7N6B7,
 E7UC55, F7MYD7, E7UAC4, F7N699, F7MUJ1, F7N6H4, H1FAZ1, F7N5H4, F7MZB7, E7U2K4,
 F7MV10, F7MYJ4, F7N205, E7U3M8, E7U4Z1, E7U2C6, E7U547, F7N478, F7N658, E7U9S6,
 E7U153, F7MSP9, F7N038, H1FAG8, E7U3G7, E7U8L6, F7MSZ5, F7N4V5, E7U3I3, H1F7S3,
 F7N6E5, E7U4U3, F7N0C9, F7MWC3, F7MVR8, E7U823, F7MU22, F7N6I5, E7UBH1, E7U5I3, 20
 E7U553, F7MVD6, H1F3A5, F7MU81, H1F822, E7U9J3, F7MSY4, E7U703, E7U1P5, E7UAH7,
 F7MVR5, F7MV05, E9WYZ3, C2DR42, E9YI17, H5QPZ6, C2DU49, H5QSQ5, H5QY76, E9WZ13,
 E9WTH5, E9YI36, E9YAD0, H5QQN8, H5QUQ0, C2DRZ7, H5QX10, E9WZ32, E9YER5, H5QSS2,
 H5QXM4, H5QXX1, H5R090, H5R0M1, E9YB24, H5QRR5, E9Y9K2, C2DN16, C2DUT5, C2DVV2,
 H5R3K1, H5QXB2, E9WQG1, H5QVU3, H5QVY7, C2DSN0, E9YJN5, E9WVW2, H5QRZ3, H5QSQ9,
 H5QTZ2, E9YHE4, H5QPZ5, H5QQR1, H5R3K2, E9YHZ7, H5QS47, H5QXX0, H5R2T5, H5QRE6,
 H5QVB8, H5R2I0, H5QRF2, H5QTB1, E9WTS8, E9WZQ4, H5QS51, H5QWG2, H5QWF4, C2DMT6,
 H5QSD7, H5QWG3, H5R2R8, C2DIK8, E9X1B8, E9WWJ1, H5QTE1, H5QVD8, H5QZD5, E9YJ82,
 H5QQG2, H5R3J4, H5R1V8, H5QQI8, B3Y1C6, B3Y177, C2DIV7, C2DMG9, C2DMS3, C2DKE3,
 C2DY07, C2DN13, C2DNP2, C2DLQ2, C2DPM2, C2DWW4, C2DWW5, C2DPH2, C2DVU6, C2DSJ1, 30
 C2DSP2, C2DVD0, C2DIV3, C2DQ14, C2DTG1, C2DMP7, C2DMR5, C2DKT1, C2DR41, E9WVW3,
 E9YAL1, E9YGW2, E9WQ05, E9WY58, E9YMI9, E9X0T2, E9X0U5, E9WQ04, E9YHE5, E9WQ92,
 E9WQI6, E9YBJ2, E9YHZ8, E9X1N7, E9YBJ8, E9YBU8, E9YI08, E9WRB7, E9WW85, E9YCL9,
 E9WW94, E9WWE4, E9WRX2, E9YD14, E9YJ79, E9YJ83, E9WSP7, E9WX54, E9YDV5, E9YEA7,
 E9YEA8, E9YKH0, E9WTH6, E9WY35, E9YLI5, E9WZ21, E9WUK0, E9WZB7, E9WZF5, E9WZQ5,
 E9WZR2, H5QQ93, E9YAR0, H5QW42, H5QQ31, H5R1E0, H5QP81, H5QVU4, H5R295, H5QW48,
 H5QW77, H5R2D7, H5R2D8, H5R2F1, H5R2F9, H5R2P5, H5QQG3, E9Y9T9, H5QR95, H5QRE7,
 H5QRQ1, H5QRQ2, H5QS00, H5QS24, H5QY79, H5QY82, H5QTK1, H5QTK2, H5QUU5, H5R125,
 H5QRD4, H5QXN8, C2DMI7, C2DUG1, C2DWK2, C2DWL6, E9WTH2, E9WVX0, E9YBK2, C2DSH0,
 C2DMT5, E9WQ32, E9WRA6, E9WRH9, E9WR68, E9WV34, E9YE39, C2DUJ9, C2DMB8, C2DRA1, 40
 E9Y9C8, E9YDX9, E9YKD1, C2DSG6, E9WQG0, E9YHF2, C2DKY1, E9YBF1, E9X0N3, E9YAE7,
 C2DNS1, E9YKW1, E9YLI5, C2DTJ6, C2DVV3, C2DU50, E9WXX3, E9WRN2, C2DRG0, C2DS11,
 E9WW47, E9YEX0, E9WTS7, E9YJU4, E9YBU7, E9WSM2, E9YHR3, E9WZ31, C2DS18, C2DKS0,
 E9WRV5, E9WPB2, E9WQT9, E9WWJ0, E9YB35, E9YBQ3, E9WU08, E9YJM2, E9WRK9, E9YAE3,
 E9YDV4, E9WRI6, C2DNR1, C2DUS6, C2DU99, C2DWP3, E9YJG2, E9YAN8, E9YEI2, E9WZF4,
 C2DKI0, C2DNR2, C2DXF7, C2DTD9, C2DRC6, C2DUF5, E9WYV5, E9X1D0, C2DVT6, E9X1B9,
 E9YB25, E9WRN5, E9WRB6, E9WRC1, E9YFI1, E9Y9K0, C2DPS8, C2DSM9, E9YF07, E9YMB6,
 C2DSP3, E9YER4, E9YB18, E9WW91, E9YEJ2, C2DS21, E9WQS9, C2DP45, C2DUT4, C2DIJ4,
 C2DIQ9, C2DVK5, E9YAR7, E9WRV9, E9WU22, E9YAL5, E9YKW8, E9YED2, C2DQY4, C2DN33,
 C2DS99, C2DM81, C2DRF3, C2DJ46, C2DUF1, F8XF52, F8XEU6, F8XFF1, F8XHE0, F8XHL5, 50

F8XJJ5, F8XEW5, F8XGH8, F8XEC4, F8XA10, F8XGM0, F8XHX2, F8XII1, F8XJ53, F8XEA9, F8XHJ0, F8XBE3, F8XCV2, F8XGG5, F8X760, F8XD47, F8XD79, F8XGP4, F8XAF5, F8XDJ1, F8X8R7, F8XC32, F8X5M1, F8XHL6, F8XEC5, F8XI39, F8XBE2, F8XET8, F8XI90, F8XF10, F8XF51, F8XIU1, F8XFF6, F8XFL9, F8XFR4, F8XJ52, F8XJD1, F8XJJ7, F8XIJ0, F8XBP8, F8XHI9, F8XEA8, F8XJX2, F8XFF0, F8XC89, F8XBV2, F8XC00, F8XC11, F8XF02, F8XII2, F8XIW7, F8XF34, F8XA11, F8XC99, F8XJW8, F8XC93, F8XHD9, F8X8M7, F8X6M0, E9XY19, E9Y0S9, E9XWR1, E9XXD1, E9Y5K9, E9Y4W0, E9Y4V2, E9Y5I9, E9Y6L7, E9XW90, E9Y1F5, E9Y5H0, E9Y2G8, E9Y2Q5, E9XVI8, E9XXR0, E9XY06, E9Y4V9, E9XYS3, E9Y590, E9Y5I1, E9Y6G0, E9Y0X2, E9Y168, E9Y880, E9XWD5, E9Y2Q1, E9XWR0, E9XWT4, E9XWZ2, E9Y2X8, E9Y3J6, E9Y0C3, E9Y120, E9Y758, E9XXN1, E9Y129, E9XYV3, E9Y426, E9Y5H1, E9XWA7, E9Y466, E9Y324, E9Y1F4, E9XXD0, E9XZ74, E9XZY4, E9XW89, E9Y6N0, E9XXN8, E9XY02, E9XTT3, E9XTT6, E9Y2G5, E9Y1E6, E9XXB8, E9XWY2, E9XX79, E9Y0T0, E9Y7G8, E9XWJ5, E9Y1Z1, E9Y123, E9XXD5, H4P0P5, H4P2H7, H4U749, H4NY75, H4TYI1, H4U4V5, H4U503, H4UBC9, H4UBE9, H4NZH9, H4P639, H4TZ37, H4U591, H4TZD4, H4TZE6, H4UC58, H4P0E9, H4PD96, H4TZU7, H4UCG8, H4UCM5, H4UCM6, H4UCP7, H4UAX8, H4P0W5, H4U038, H4U6Q7, H4P1B6, H4P7J3, H4P7Q6, H4U0J0, H4UDB9, H4UDG2, H4UDK7, H4P1M2, H4P820, H4P828, H4U0Z3, H4P1V5, H4P1W6, H4U7G4, H4P1X2, H4P8Q1, H4P8U1, H4U8B2, H4P9A9, H4P3B6, H4U2Q1, H4U8W3, H4TZP5, H4U2S7, H4U2V2, H4U2Y9, H4U2Z0, H4U9F1, H4U9G4, H4PAH0, H4P745, H4PAT5, H4PAT8, H4PAY9, H4U3N2, H4UA49, H4TXD5, H4NYI8, H4UAF5, H4NYV5, H4PBF1, H4PBL2, H4PBL3, H4NZ37, H4NZ99, H4TYC0, H4P1W8, H4U4W1, H4TYE5, H4TZV2, H4NY74, H4NZ91, H4U6N9, H4UC59, H4U590, H4P7U3, H4PD43, H4P9X7, H4UD08, H4P4E0, H4P3R9, H4TYE4, H4NZ80, H4NZC0, H4P0E8, H4P2Q6, H4P7P9, H4P5Y1, H4U364, H4U6Q5, H4U7G7, H4U6C6, H4P4B2, H4UB85, H4P2T0, H4UA50, H4U0L3, H4NY17, H4U7G3, H4UCI8, H4P396, H4U3Z0, H4U4P7, H4NYI9, H4PCN2, H4U428, H4P2N1, H4U4G5, H4PCB5, H4U037, H4PAT3, H4U581, H4UBC1, H4TYX6, H4NYI1, H4P2H9, H4U0Z6, H4UDE5, H4P1C8, H4P2I0, H4P560, H4TYB9, H4U5V8, H4P393, H4U071, H4P419, H4U0B5, H4TZT3, H4NYV6, H4P6L7, H4PCZ5, H4PCZ4, H4TZU5, H4PC16, H4U1R1, H4P0I2, H4P457, H4P746, H4U115, H4UC51, H4UBY4, H4U0G6, H4U0L7, H4U140, H4U9Z1, H4P2T3, H4PA89, E1HYA6, E1I043, E1I177, E1I4X8, E1I7N3, E1HX70, E1I6A0, E1I0U2, E1I372, E1I7L2, E1I814, E1I382, E1I2P5, E1I7J3, E1I2W4, E1I0A1, E1I178, E1I561, E1I569, E1I7X2, E1I813, E1I4N1, E1I8M4, E1I5P6, E1I0V6, E1I042, E1HWR8, E1I6A1, E1I6S7, E1I2J1, E1I2P6, E1I7M0, E1I088, E1HZA9, E1HYA7, E1I8C2, E1HXL9, E1HX69, E1I8U6, E1I381, E1I4H1, E1I263, E1I4E7, E1I5S9, E1HXG1, E1I4C6, E1HVF3, E1I173, E1I346, E1I7N2, E1I2W3, E1I4C2, E1I8Y6, E1I2Y9, E1I4U2, E1HXN4, E1HZQ9, E1I3I7, E1I336, E1I570, E1I4U8, E1I4H9, E1HVL2, E1HY78, H5QCF1, H5QCI3, H5QD02, H5QIV0, H5QJ48, H5QJF3, H5QJF4, H5QDP1, H5QKU5, H5Q9I9, H5QFL1, H5QG32, H5QG52, H5QMH7, H5QGY8, H5QH63, H5QNB2, H5QAU3, H5QB04, H5QH71, H5QH72, H5QNV6, H5QNZ9, H5QBJ1, H5QAR9, H5QGK2, H5QMF3, H5QAA3, H5QAA4, H5Q9C1, H5QDY5, H5QNR2, H5QCK7, H5QJ49, H5QL97, H5QD21, H5QDY4, H5QLR0, H5QGK3, H5QAZ3, H5QCF8, H5QAR8, H5QDL0, H5QBJ2, H5QBI0, H5QJF7, H5QBS7, H5QC76, H5QHP4, H5QGV9, H5QBE1, H5QEC9, H5QFI0, H5QD07, H5Q9E1, H5Q1W3, H5QGP7, H5QCL1, H5QAJ7, H5QNZ8, H5QBJ7, H5QNB1, H5QM77, H5QKL5, H5QF41, H5QI82, H5QAD5, H5QNA4, H5Q9B3, B7A0X6, B6ZRX5, B7A2M5, B6ZS56, B6ZVG8, B6ZTY0, B6ZPB2, B6ZTT1, B7A2W0, B6ZRD5, B6ZW29, B7A179, B7A2F5, B7A2M4, B6ZQ98, B6ZNH4, B7A1N3, B6ZNQ8, B6ZQS6, B6ZXX7, B6ZRV6, B6ZY88, B7A080, B6ZRR4, B6ZS55, B7A2T3, B6ZU88, B7A0F9, B7A0G2, B6ZZV4, B6ZZX6, B7A4T3, B7A494, B6ZTS7, B6ZTU3, B6ZTX2, B6ZZZ9, B6ZSK1, B6ZYD9, B6ZVC4, B7A495, B7A4R8, B6ZWQ9, B6ZZ04, B6ZZ21, B6ZVF1, B7A0Z6, B6ZNH6, B7A0G0, B6ZSK2, B6ZYE0, B7A318, B7A4E0, B6ZP78, B6ZZ97, B6ZZV0, B6ZTX3, B6ZVI7, B6ZYT2, B6ZPP1, B7A101, B6ZTT3, B6ZNU9, B6ZTG2, B6ZY48, B6ZSB5, B6ZXX8, B7A2Q7, B6ZUS7, B7A3X0, B6ZSG4, B6ZYD3, B6ZXL7, B6ZRY3, B6ZY94, B6ZY98, B6ZVS6, B6ZPB3, B7A007, B6ZUR6, F4VWQ6, F4VQY3, F4VXY5, F4VPC5, F4VUY5, H5M3U7, H5LWY8, H5M6U3, H5M7W4, H5M7X8,	10	20	30	40	50

H5M1Q2, H5M8Y0, H5LWI8, H5LWS4, H5M354, H5LWU5, H5M3B1, H5M3T8, H5LXT5, H5LXT6, H5M4F0, H5LYI5, H5LYW2, H5LZ62, H5M308, H5LZA4, H5LZB6, H5LZC1, H5M5N4, H5LZQ9, H5M011, H5M674, H5M675, H5M309, H5M918, H5LWR6, H5M6K9, H5LYX3, H5M5W7, H5MA88, H5LWD8, H5M8R2, F4VQW2, H5LXX1, H5M9V7, H5LWN1, H5M9W7, F4VSM3, H5M3B7, H5LZN4, H5M5J2, H5M3L2, H5LZT5, H5M025, H5LYC8, H5M7C1, H5M9W6, H5M164, H5M5W6, H5M7C0, F4VTY1, H5LY33, F4VQ80, H5M2J3, H5LYA3, F4W0L8, H5LWD9, H5M894, H5LZB7, H5M007, H5M551, H5LZT1, H5M678, F4VR02, H5M3U6, H5M902, F4W1P3, F4VQ88, H5LYA2, F4VQW3, F4VRJ2, F4VSM2, F4VYC6, F4VSV0, F4VYZ5, F4VTJ0, F4VTL4, F4W039, F4VY90, F4W0R6, F4W0W3, F4VUY6, F4W1Z2, F4VPR4, F4W2P7, F4VWP7, F4W351, F4VPM4, F4W3C7, F4VUF3, F4VQX5, F4VW05, F4W0V9, F4VT72, F4VZK1, F4VQ87, F4VSE1, F4VXJ2, F4VY84, F4VT33, F4W301, F4VXY6, F4VXA3, F4VZT7, F4W2D0, F4VSP4, F4VTW9, F4VTW3, F4VZI8, F4W384, F4W0K5, F4VTP0, F4VUQ1, F4VWL9, F4VZS0, F4W2W6, F4VPE0, F4VU10, F4VY80, F4VWQ5, F4W143, F4VPP8, F4W1P2, F4VS79, F4VTI3, F4VQM9, F4VTP4, D8BCL1, E6BJY0, E6AS93, E6AJP3, E6ALN9, E6AN91, E6ASM8, D8BM48, D8BF87, D8BQD5, D8BBW9, E6BLT2, E6BCV5, E6BIZ6, E6AI71, E6APZ7, E6BST4, E6BR44, D8BIE1, D8BIG2, D8BFX5, D8BJ69, E6AI31, D8BP20, E6AP31, E6BFJ8, D8BB56, E6AI55, E6BLI6, E6BI17, E6BJ06, E6AJU8, E6AQ89, E6BF82, E6BK14, E6BLE5, D8BM38, E6BKT6, E6BP85, D8BI11, E6BI86, E6BKJ7, E6BD60, E6BLG7, D8BCD9, D8BCG5, D8BB98, D8BCU5, D8BGV0, D8BMT7, D8BP34, D8BGU5, E6ARQ3, E6AL36, E6AP80, E6BLU6, E6BPG5, E6BP19, E6BPL1, E6BSC1, E6BDK6, E6BDL8, E6BF84, E6BGY9, E6AUE0, E6AWG8, E6ALP0, E6APA4, E6AQM0, E6BMB6, E6AM05, E6AIB3, E6AK85, E6ARH0, D8BFK8, D8BFL4, D8BLZ5, D8BFG5, D8BGZ5, D8BLT1, D8BN10, D8BGM3, E6AVD1, E6AXC8, E6AIM0, E6BRP0, D8BE60, D8BJI3, D8BJI7, D8BJE0, D8BI41, E6AUI6, E6BCV4, E6AUZ2, E6BD85, E6BST3, E6BI16, E6BI73, E6BL77, E6API0, D8BGC4, E6AHN0, E6AS18, E6BKG0, E6BR45, E6BGL5, E6AS67, E6BKT5, D8BFS4, D8BMI4, D8BBN5, E6BIE4, E6BK13, D8BE31, E6BS81, E6AQ98, E6BIZ7, E6AJC4, E6AJU7, D8BC33, E6BRR3, E6BR09, E6BTG7, D8BIF4, D8BF47, E6AQ90, E6ARW4, E6AQH8, E6BD59, E6BFJ7, E6APZ8, E6AVP2, E6BE63, E6BPL5, E6BS77, E6BQI5, D8BMR9, E6ASK8, E6AIC6, D8BBW8, D8BJ68, D8BC11, D8BHB0, D8BLC4, D8BLU3, E6BJX9, E6BM21, D8BPR3, D8BJ60, E6BPV7, E6APC5, E6BLE6, E6ANZ7, E6BCW0, E6BKS7, E6BCQ0, E6AUE7, E6BJ40, D8BH02, E6ASF1, E6AUJ4, D8BM47, E6BQL5, E6AVX9, E6BP86, E6AI32, E6BT17, D8BIJ6, D8BFX4, E6AUH1, E6BFZ6, E6BM69, D8BJS1, E6AI44, E6AS94, D8BE02, D8BB64, D8BN11, D8BEZ2, D8BN95, D8BJ34, E6BPF7, E6AWL4, 【 0 5 6 8 】	10
E6AQU4, E6ANH3, E6ANI3, E6BEL8, D8BCL2, D8BB37, D8BCV4, D8BIE2, E6AW74, E6BLF9, D8BB58, D8BBU7, D8BE06, D8BIQ8, D8BP41, E6AU66, E6AJX6, E6AMK5, E6BKC6, E6BCU0, E6AWG4, E6BRC5, E6AJP4, D8BHF0, E6AM56, E6AQM6, E6ARG0, E6BTA8, E6BN92, E6ALZ3, H4RAX5, H4RDH0, H4RHE4, H4RM22, H4RC98, H4RE52, H4RHP5, H4RKJ4, H4RD08, H4RKV9, H5J042, H4RAM8, H4RCZ4, H4RBT6, H4RBL0, H5IYE0, H4RPQ1, H5J893, H5J0E9, H4R9F6, H5J0U9, H4RB43, H5IWN8, H4RGY3, H5IXF1, H5IX08, H4RC48, H4RI32, H5IVH1, H5IWN7, H4RCU6, H4RC96, H4RPP4, H5IUU1, H5J702, H4RNF4, H4REU2, H4RE78, H4R9D5, H4RI31, H5J333, H4RB77, H5J3E6, H5J3X5, H5IXY1, H5IY84, H5IYC6, H5IYD9, H5IYE6, H5J4J4, H5JAX4, H4RIM0, H5IYZ1, H5IZ16, H5J547, H5J5N9, H5IZH3, H5J009, H5J6L1, H4RDL5, H5J0F3, H5J6Z9, H5IUT4, H5IUU2, H5J7M2, H5IV82, H5IVC6, H4RDJ4, H4RJU3, H4RK58, H4RE57, H4RKW3, H4REW9, H4RFH7, H4RLF6, H4R9C7, H4RLW4, H4RM23, H4RAR3, H4RCJ3, H4RG98, H4RGP9, H4RMW0, H5J6L0, H4RJ08, H4RN91, H4RB42, H4RHE5, H4RBE0, H4RHQ1, H4RHU3, H4RP14, H4RP15, H4RBL1, H4RP96, H4RBU7, H4RI22, H4RPE0, H4RCA2, H4RPQ2, H4RCM8, H5IWR3, H5J6Z7, H4RCV0, H4RCV2, H4RJJ0, H4RDA5, H5IVG9, H5IVI5, H5IVJ3, H5IVL3, H5J1Y4, H5IVV4, H5J8Z2, H5J332, H5IXC3, H5IXC4, H5J9P2, H5J3K8, H5J3L5, H5J3P6, H4RMS7, H5IZF4, H4RAR4, H4R9P7, H5J8M0, H5IZ40, H4RC85, H5IZ44, H5IXZ1, H4RDL9, H5J6E1, H5IZF9, H5IWU4, H5J3Y4, H4RMH7, H4RIT7, H5J3Y5, H4RKV8, H5HJB1, H5HLY9, H5HPD9, G1ZA24, G1ZBB5, F1XQE9, H5HNF1, H5HNV7, D8EQW3, H5HLL8, D8EKH3,	40
	50

H5HMY0, H5HME3, H5HUV6, F1XK31, D8EQX4, F1XUB8, D8EIU5, D8ES16, H5HRG7, H5HWX3,
 D8EK07, H5HIQ6, F1XSB5, D8EIQ3, G1Z366, G1Z9S0, H5HP30, F1XLZ6, H5HUE1, G1YZ84,
 H5HIY7, H5HJV6, H5HLL9, D8EIS6, H5HQ42, H5HME9, H5HJM2, F1XPA1, D8ERT3, H5HNG9,
 F1XKE8, F1XSR6, H5HL04, F1XK39, F1XXZ6, D8EH91, D8EH92, D8ENP5, D8EKX9, D8END8,
 D8ERT4, F1XPA0, F1XWC2, F1XIQ3, D8EIQ4, D8EK30, D8EP86, D8EPX9, D8ES15, D8ESV2,
 D8ET04, D8EMC7, D8ETT9, D8EN00, D8ETX0, D8ELP4, D8ETB2, F1XTI9, F1XLG9, D8EK06,
 D8ELB1, D8EPD3, D8EMZ1, D8EHK7, F1XIU8, F1XIW3, F1XJ41, F1XJN3, F1XJP0, F1XQP3,
 F1XQV0, F1XX73, F1XXB6, F1XLX9, F1XLZ7, F1XKR1, F1XKT1, F1XS81, F1XLH5, F1XLI5,
 F1XLM2, F1XTX5, F1XTX9, F1XU99, F1XNW8, D8ESS3, G1YZ20, G1YZ62, G1YZ63, G1YZ76,
 G1YZA5, G1Z5S2, F1XMA1, G1ZCU7, G1ZOM3, G1Z719, G1Z159, G1Z1H9, G1Z7F8, G1Z7Q3, 10
 G1Z1Q2, G1Z1R2, G1Z2P9, G1Z2S2, H5HRT0, H5HRV0, H5HS28, H5HS36, H5HKT9, H5HKU0,
 H5HY83, H5HLE8, H5HLP4, H5HSP4, G1Z6P9, G1Z6U6, G1Z433, G1Z465, G1YY83, G1YYG5,
 G1YYH2, G1YYH3, G1Z4R3, H5HM89, H5HMD0, H5HTF8, H5HMT2, H5HU56, H5HUE0, H5HNF5,
 H5HUV4, H5HVH5, H5HUV9, H5HXE5, H5HJR4, H5HJV8, H5HXL0, H5HJY0, H5HK00, H5HY76,
 H5HXQ2, D8EJY5, G1Z779, F1XNJ5, H5HJX2, F1XTF9, G1Z158, G1Z1I0, D8EL57, F1XJN4,
 F1XKE9, F1XQC9, F1XUD7, G1Z9G2, G1Z9S1, D8EQ17, G1Z0Z0, D8EGN1, D8EL90, F1XUQ1,
 G1Z2M4, F1XUC6, G1YZN4, G1Z1I6, D8EMZ2, G1Z2F8, F1XMZ5, H5HMY4, F1XK38, G1Z9I9,
 H5HY84, H5HL88, H5HN49, D8EQ11, D8ETT8, D8ELB5, D8ETF4, F1XSU7, G1ZAQ9, H5HN81,
 H5HS37, H5HRL3, D8ETW9, F1XWS9, F1XNR8, G1Z6Q0, H5HKX0, F1XNX8, H5HLZ9, G1YY41,
 G1ZBB6, H5HME2, D8EL65, H5HRG8, F1XP92, G1Z723, G1ZDK8, G1YY98, D8EI96, G1Z7G7, 20
 G1Z202, F1XW96, F1XVX8, G1ZC98, F1XLH3, D8ESV1, F1XP16, F1XMD9, G1Z8U0, G1ZA23,
 D8EJJ7, D8EPH3, F1XJC1, F1XRL3, F1XW97, G1ZBX3, G1Z7J3, G1ZA27, G1ZOM2, G1Z729,
 F1XXZ5, D8EKH2, D8ESV6, G1Z4K2, D8EQW4, F1XTL2, F1XXJ6, F1XWP8, F1XML9, G1Z0S5,
 G1Z354, D8EKW6, D8EJQ4, D8EQS1, F1XLW7, F1XT03, D8EMF3, D8EGA2, F1XVA2, D8EJA0,
 D8EIR8, F1XNX2, G1Z4C5, G1YZK7, D8EST8, G1YY06, G1YYX6, F1XN19, F1XTF8, F1XSR5,
 G1Z184, D8END9, F1XTN9, F1XVJ7, F1XKU8, G1Z1G8, D8EK42, F1XSB7, G1Z7G6, F1XQC4,
 G1Z5D8, G1ZCM0, H5NLQ8, H5NQE1, H5NJA3, H5NJQ2, H5NJS2, H5NR99, H5NRE8, H5NRN4,
 H5NXV4, H5NRS1, H5NKX8, H5NLB3, H5NLS1, H5NSM9, H5NJP4, H5NU83, H5NU85, H5NS16,
 H5NTA2, H5NMU3, H5NN65, H5NN83, H5NNV5, H5NV31, H5NP13, H5NP93, H5NL51, H5NTW3,
 H5NX13, H5NMW2, H5NUR5, H5NM56, H5NS15, H5NWP2, H5NXR0, H5NYN5, H5NQU0, H5NYN4, 30
 H5NJE9, H5NV32, H5NLH1, H5NS06, H5NJE7, H5NKX7, H5NR98, H5NMD8, H5NLJ6, H5NMV6,
 H5NJK1, H5NW32, H5NXI8, H5NXT8, H5NMZ4, H5NL03, H5NU88, H5NMZ0, H5NJY6, H5NRM7,
 H5NLH0, H5NMG3, H5NUI1, H5NMV7, H5NN70, H5NUR6, H5NNS4, H5NP14, H5GNG9, H5GNJ6,
 H5GNZ3, H5GP82, H5H1K2, H5GPD6, H5GPE2, H5GVS2, H5GPY2, H5GQ06, H5GWR8, H5GWX5,
 H5GXB8, H5GXZ1, H5GYH6, H5GT69, H5GLZ8, H5GMM9, H5GU27, H5GMU8, H5GUD5, H4KV07,
 H4MPD2, H4KVB3, H4MVB8, H4KVQ7, H4KVU3, H4MQ10, H4MWR3, H4KW81, H4KWA5, H4L2E5,
 H4L2R7, H4KWD5, H4MQP4, H4MQS2, H4MX88, H4KWM7, H4KWP9, H4L2W4, H4MJG3, H4MJQ5,
 H4MQV3, H4MJX0, H4MXP7, H4MXW1, H4KXF0, H4KXG7, H4MY52, H4L4C2, H4L4C3, H4MSL2,
 H4L4U4, H4MLH6, H4MZJ5, H4KYX4, H4L5J9, H4MLS8, H4KSQ6, H4KSR3, H4MTV3, H4KTI0, 40
 H4KZU3, H4KZW3, H4MMN3, H4MMS3, H4MZ65, G5YBY8, G5YC07, G5YIL8, H4MU56, H4KTJ4,
 H4L087, H4L6F8, H4MN39, G5Y7K8, H4MV16, H4MNU0, H5GNA0, H4KXA1, H5GZV1, H4MW71,
 H5GU70, H4MTF4, H5GQ10, H4MWF1, H5GLX0, H4MJF5, H5GUC9, H4KZK4, H5H0W0, H4MUD2,
 H4MXW0, H5GUF4, H4KWN6, H5GRX9, H5H0W8, H5GXC1, G5Y7A8, H5GWF4, H4MQK8, H4KTE3,
 H4KTL4, H4MJE4, H4MK46, H4MME7, G5Y8R9, G5YFF6, H5GUE5, H4L3T6, H4KTE4, H4KU05,
 H4L3C6, H4MPF7, H5GZD2, H5H018, H4MUE0, H4KWD1, H4MVK2, H4KUR7, H5H085, H4MJ14,
 H4MJP7, H5GSC4, H4MLA4, H5GN40, H5GQL9, H4MK48, H4L093, H5GMM8, H5GU28, H4MNU2,
 H4MQ15, H5GYH5, H5H1G1, H4KVC4, H4MU10, H4KZX2, H4KXN6, H5GPC3, H5GQM3, H4MNU3,
 H4MQ36, H4MUE1, H4MWR5, H4L3X2, H4KZK6, G5YJ85, H5GRJ4, G5YBW9, H5GWR9, H4KTI6,
 H4KWN0, H4MLW5, H4MYW4, H4LOW0, H4MNI2, H4L195, H5H0W7, H5GNY3, H4KXE9, H5GQA2,
 H5H1B8, H4MRM5, H5GQ77, H4MPF3, H4MLR1, H4MML5, H4MU17, H4MZT0, H4MYF6, H4MM97, 50

G5YAE4, H5GUF3, H4KY78, H4MMM8, H4MMM6, H4MLS6, H4MRI6, H5GRE1, H4MJC0, G5YD20,
 H5GV75, H5H1K3, H4L1W5, H5GRH1, H5GW17, H4MLA3, H4MTF5, H4MZR1, H4KTA0, H5GNH0,
 H4MS60, G5YLH5, G5YGC6, H4KSR4, H4KX76, G5YEH1, H5GXB6, H4MJQ4, H4MQK9, H4MN53,
 H4KSD8, H4L6W1, H4MWS1, H5GLX8, H4MMF8, H4MPA8, H5GPD7, H4KZX1, H5GPV7, H5GQN7,
 H4MTP4, H4KUZO, G5YG45, G5YAF9, G5YGR8, G5YIX3, G5YHC2, G5YBN9, G5YI73, G5YIW3,
 G5YJ01, G5Y731, G5YDA9, G5Y7A9, G5YDJ8, G5YJW7, G5YEH0, G5YKS3, G5Y8N5, G5YES4,
 G5YF24, G5YF47, G5YFE3, G5YF72, G5YAC2, G5YD19, G5YEG0, G5Y7L1, G5YFD9, G5YKG1,
 G5Y9U2, G5YF69, G5YEK5, G5Y8S0, G5YDW7, G5YG72, G5Y9H5, G5YJ75, G5YBX0, G5YE25,
 G5YA60, G5YE35, G5YAP2, G5YIR4, G5YD51, G5Y7K7, G5YB89, G5YEC1, G5YEH5, G5YJ84,
 G5YC88, G5YBY0, G5YIL9, G5YIW7, G5YLH4, G5YGC7, D6I4G4, D6I532, D6I3U4, D6HU90, 10
 D6I131, D6I1C8, D6HVS9, D6I4I5, D6HTX3, D6HYM0, D6I4F7, D6I551, D6I1R9, D6I569,
 D6HUZ1, D6HX17, D6HZ82, D6HT60, D6HSG8, D6HX18, D6HYW5, D6HZ74, D6HTL3, D6I3L7,
 D6I543, D6HTR6, D6I3S5, D6I3V9, D6I1D1, D6I4I4, D6HU89, D6I0V6, D6I3A9, D6HT59,
 D6HTX5, D6I0U3, D6HVA1, D6HVE8, D6I2Z4, D6HXX8, D6HUU2, D6I533, D6HUZ0, D6HVR7,
 D6HWN7, D6HV94, D6HVC3, D6HUG0, D6HWD7, D6HYM1, D6HTZ2, D6HYW8, D6I0A2, D6HX80,
 D6HZ01, D6I4V2, D6I132, D6HUB2, D6HUH0, D6I269, D6I4G3, D6HZ81, D6HVR3, D6HVE5,
 D6I1C7, D6HUY0, D6HYX4, D6HYR4, D6HT89, D6HTF6, Q2HWU0, D6HUZ5, D6HWT4, D6HWL1,
 D6I1S0, B3I577, B3I6T5, B3HZQ6, B3I0M0, B3I402, B3I3W3, E2KMM8, E2KR89, E2KTL8,
 B3I1L8, E2KVF9, E2L0F0, B3I317, E2KTL0, B3I3Y1, B3I7U7, E2KVE1, E2KPB5, B3I569,
 E2KSD0, E2KWJ5, E2KZZ9, B3I207, B3I1L0, B3I7E4, B3I7U8, B3I7W0, B3I7Z8, B3I195, 20
 B3I1A0, B3I576, B3I7F4, B3IBJ2, B3ID73, B3ID77, B3I7P9, B3IBV7, B3HZQ5, B3I0X6,
 B3I318, B3I371, B3IAD3, B3I480, B3I4E1, B3I3N6, B3I6T6, E2KSD1, E2KW80, E2KWJ4,
 E2KMU4, E2KPG3, E2KX05, E2KV83, E2KUF9, E2L0N4, E2KVD3, E2KWJ7, E2KY25, E2L0E9,
 E2KMM9, E2KV19, E2KXJ0, E2KSA0, E2KS84, E2KZ05, E2L031, E2KTY5, E2KU65, E2KLL4,
 E2KRL7, E2KTD1, E2KX42, E2KZZ8, E2KNI5, E2KNU1, B3I0M1, E2KZ16, E2KNQ7, E2KVC3,
 E2KPA3, B3I0X3, B3IA43, B3I5N0, B3I238, B3I695, E2KLQ4, E2KXJ2, B3I3Y9, B3I401,
 E2KXY4, B3I6F1, B3I0E0, B3I4Z3, B3ICH2, E2KN97, E2KNQ1, E2KXR7, E2KPN6, B3I7Q6,
 B3IA13, B3I7T1, B3I1D4, B3I8M2, B3I145, B3I095, B3I3A7, E2KQD2, E2KS60, E2KY29,
 E2KYK8, E2KT93, E2KXX8, B3I060, B3I1L7, B3I7U2, B3ICH6, B3I946, E2KR52, E2KLF8,
 E2L089, E2KVR6, E2KRA5, B3IDT2, B3I1A7, B3I4J9, E2KME6, E2KTL7, E2KY07, E2KPB4, 30
 B3I5R8, E2L0P8, E2KX52, H3KUQ8, H3KS64, H3KNC9, H3KVR8, H3KJ33, H3KPT8, H3KUD9,
 H3KV24, H3KM11, H3KQQ6, H3KJ41, H3KV92, H3KLA0, E2K251, E2JU97, E2JUE7, E2JV79,
 E2K0Q7, E2K1Q3, E2JTN0, E2JTP0, E2JWG1, E2JWH1, E2JWH2, E2K2E1, E2K162, E2K3Z0,
 E2K441, E2JQW3, E2JRN0, E2JRN2, E2JXA5, E2JXI9, E2JY84, E2JXQ8, E2K4U3, E2K4U4,
 E2JTD5, E2JTN4, E2K252, E2K2D8, E2K243, H3KRG5, E2JYA0, E2JYV3, E2JS30, E2JUX6,
 H3KIT3, H3KIX7, H3KIX8, H3KIY9, H3KIZ4, H3KJ22, H3KK96, H3KNQ3, H3KWY4, H3KLI3,
 H3KLJ4, H3KRF7, H3KRL8, H3KJR3, E2JYI3, E2K4P6, H3KKR5, H3KN69, H3KN79, H3KN98,
 H3KNB5, H3KNF2, H3KQQ4, H3KQT7, H3KRS9, H3KMD2, H3KWD8, H3KQX6, H3KTU2, E2JRM9,
 H3KLV8, H3KLY2, H3KU26, E2JWD1, H3KN97, H3KXA8, E2JS48, H3KLD6, E2JT22, E2JTF3,
 E2JW10, H3KN72, E2K080, E2K389, E2JWD3, H3KJ42, H3KSX6, E2JZP0, H3KJ02, E2K4M2, 40
 H3KV93, E2JS47, E2JUS1, E2JZ90, H3KJF1, H3KM07, H3KRG6, H3KSP2, H3KY30, E2JZZ2,
 E2JZH2, E2JRU8, E2JYH7, E2JYK6, E2K5G3, E2JX81, E2JZS1, E2K5E9, E2JR38, E2K2L5,
 E2JTE5, E2JZN9, E2JZ94, E2JWR7, E2K2A5, E2K4R3, B3W1I6, B3WN46, B3WN67, B3WG11,
 B3WPV3, E0R674, E0R180, E0R780, H4LLD9, H4LLE8, H4LHX5, H4LIH6, H4LIP5, H4LJU9,
 H4L7F6, H4L7H3, H4LDY5, E0R376, B3WH48, H4L819, H4LKN3, H4LEQ0, H4LHJ9, H4LEX4,
 H4LEY3, H4LLE7, H4L908, H4L7K1, H4LD61, H4LA94, H4LAB8, H4LAE3, H4LGK8, H4LAR9,
 H4LAS2, H4LB38, B3WIJ3, H4L9W2, H4LEY2, H4L7B0, H4LGQ9, H4L9G7, H4LDY7, H4LBX5,
 E0QZD3, H4LAS8, H4L9Z8, H4LEL1, H4LFD5, H4LH03, H4LEE5, H4LG29, H4LH84, H4LEK5,
 H4LIP6, H4LBH9, H4L7I1, E0R1V3, B3WP25, H4LCT6, E0QYC3, B3WN86, H4L7W7, H4L7G8,
 E0QX92, B3WGP5, H4L7F7, E0R3X3, E0R356, H4LBK2, B3WNB3, H4L9H8, E0R3W5, H4LKF4, 50

H4LAU1, H4L7Q8, H4LAE7, H4LJ74, B3WSF8, B3WSG2, B3WLP4, B3WS12, B3WMH3, B3WIN6,
 B3W1Q8, B3WH27, B3WH47, B3WMA9, B3WNC5, B3WNP0, B3WK00, B3WK11, B3WL75, B3WRS1,
 B3WN04, E0R0H6, E0QUE7, E0R0L0, E0R4S0, E0R728, E0QXK0, E0QZM6, E0R6N2, E0QWX2,
 E0R3G2, E0R181, E0R189, E0QVJ6, E0QZT9, E0QZY6, E0R1V2, E0R364, E0R4W2, E0QY55,
 E0QYC2, E0QW36, E0R786, E0R796, E0R1K0, E0R1K6, B3WHH6, E0QVK6, E0QYK3, E0R1L0,
 B3WN47, B3WJP8, E0R375, B3WK05, B3WNA9, B3WQZ1, B3WNG3, B3WS70, E0R1G3, B3WGV2,
 B3WKL1, B3WHC7, B3WTN0, B3WQC3, E0QX86, E0R3C1, E0QXN6, E0R4T7, E0QVY0, B3W1I7,
 E0QX93, E0QV06, B3WNN3, B3WJV0, B3WGP6, E0R626, B3WJ01, E0QV14, E0QZE4, E0QYH9,
 E0R779, B3WLP7, B3WN59, E0QVQ6, E0R687, E0QZB8, B3WK38, B3WP24, B3WU63, B3WR95,
 E0QZZ4, E0QZW2, B3WFZ7, B3WMZ3, E0QZF0, E0QX03, E0R5Q4, E0QZ06, E0R096, E0R1Q9,

10

【 0 5 6 9 】

E0R5Y3, E0R5Y7, B3WGJ7, E0QZT6, E0QZF3, E0R0Q7, E0R3W6, G2A873, G2A4N0, G1ZUC4,
 G1ZUE7, G1ZUG6, G1ZW72, G2A3R2, G2A865, G1ZZK8, G2A229, G1ZX40, G1ZVJ3, G1ZXC6,
 G1ZZK7, G2A0C8, G2A0G4, G2A6E3, G2A0K7, G2A736, G2A783, G1ZW98, G1ZWE9, G1ZWY7,
 G1ZX20, G1ZXC5, G2A3Q1, G2A3R3, G1ZXS3, G1ZXU9, G2A426, G2A7H0, G1ZVJ2, G1ZVU1,
 G2A2F4, G2A2F8, G1ZW03, G1ZU75, G2A6Q9, G2A230, G1ZXD2, G2A279, G1ZVM2, G1ZYH7,
 G2A4N3, G2A1C2, G1ZZ88, G2A872, G2A2Z0, G2A3L8, G1ZWU0, G2A4M8, G1ZW71, G2A7D2,
 G1ZZB9, G1ZXU6, G1ZUC6, G1ZYR7, G2A3P9, G1ZYN6, G1ZUR0, G2A2F1, G1ZUD9, G1ZWF9,
 G1ZY99, G2A5A7, G1ZXP0, G1ZXB3, G2BIM8, H4X379, G2BKE9, H4X4I1, G2BU22, G2BV35,
 E6A539, E6AB24, E6A483, G2BYE5, H4XDE2, H4X3D5, H4X3J6, H4X3X8, H4X3Y6, H4XAA2,
 H4XAH8, H4X4D9, H4X4F3, H4X580, H4X5M8, H4XBR0, H4X5S5, H4XC46, E6A3E8, H4X0R2,
 H4X0V5, H4XDF9, H4XDG5, H4XDG6, H4X0X5, H4X124, H4X7I7, H4X7I8, G2BML7, H4X233,
 H4X8B1, H4XEZ9, H4X741, H4X2L8, H4X2U6, H4XFE4, H4X7Y0, H4X793, H4XAA3, H4XBS7,
 G2BR24, H4XAJ3, H4X264, E6A4L4, E6A4N2, E6ACD6, H4X792, G2BS93, H4X3C2, E6A8G4,
 H4XFE5, H4X3D4, H4X2C7, H4X2V6, H4X4D5, H4X0F8, H4X6A8, H4XAP9, G2BII5, G2BUG0,
 E6A4J3, H4X0V4, H4X9F7, H4X7D7, H4X7H9, H4X2P1, H4X0W7, H4X522, G2BYD7, H4XAA6,
 H4X3M3, H4X232, H4X9M2, E6AFF5, H4X3E1, H4X579, H4XCN9, G2BIK7, G2BLC4, H4X0M2,
 H4X2L7, E6A8H4, H4XBR4, H4X948, E6AAS9, E6A258, H4X3L9, H4X9M3, H4X735, H4X8M0,
 G2BIE1, G2BPY0, G2BIW5, G2BWQ7, G2BR15, G2BL44, G2BS94, G2BLD0, G2BM41, E6A259,
 E6A807, E6ACH0, E6A945, E6A961, E6A447, E6ACW1, E6AF16, G2BMK3, G2BN18, G2BU23,
 E6A4K6, E6A9R8, E6AA47, E6AH06, E6A4Y9, E6AA75, E6ADP6, E6AHG0, E6A5D7, E6AB25,
 E6ABF1, E6ABF7, G2BKS6, E6ACR7, E6AEH0, E6AH52, F8X5G2, G2BQT7, E6AGI4, E6AFQ0,
 E6AE48, E6AB33, G2BZA0, E6A4J4, G2BK72, G2BM15, G2BQQ0, E6AE09, E6AEG2, E6AFD4,
 G2BR23, G2BQQ7, E6A8G5, E6AFK3, G2BKE8, E6A538, E6ACR2, G2BYY1, G2BIJ9, E6ABB1,
 E6AEL5, G2BLC3, G2BSE5, E6ACD5, E6AD93, G2BMJ9, G2BLB3, G2BKH5, E6AGS0, G2BNX4,
 G2BRW2, E6A484, E6AEL9, E6A3E9, G2BXA2, G2BJ02, G2BTT9, E6A3D2, E6A8V7, E6ADV8,
 G2BNB0, G2BWE4, E6AAC5, E6AFM4, E6A6H0, G2BX34, G2BZG2, E6A343, E6AAD7, E6ADE3,
 G2BVJ0, E6A3E2, G2BLZ0, G2BII6, G2BW68, E6AC57, E6AF80, G2BN78, G2BT49, G2BYE4,
 G2BUF9, G2BJ00, G2BM38, E6AAU2, G2BQP6, G2BK08, G2BJ34, G2BUG3, E6A724, H4QKR5,
 E7IYL8, E8IHE6, E8IHX4, H4QMQ3, H4QI14, E8I8I9, E8IJQ6, E7IQS3, H4QN56, H4QBQ1,
 E8I891, E8IHD9, H4QJW9, H4QST7, H4QKI0, E7IR30, E8IGQ0, E8I8D1, H4QNN4, H4QPB3,
 H4QK77, H4QF00, H4QMG9, H4QN62, H4QSP8, E8ICF9, E8IIF8, H4QSC2, H4QEA6, E8IJZ6,
 E8IAE9, E8IJG7, E8IG43, G5TDH9, G5TDJ8, E8I962, E8IEJ3, H4QDJ6, G5TMJ1, E8IHX5,
 E7IW15, H4QI30, E8ICT5, E8IL72, E8ICR5, E8ID26, H4QRU5, E8IJQ4, H4QHC9, E8IDJ2,
 E8IJ12, E8ILP7, H4QK07, H4QQ70, H4QGY9, H4QSY2, E8IAF3, H4QGQ0, E8ILD0, E8IBD1,
 E8IGT3, E8IAJ3, E8IHE5, E8IFS5, E8IAR8, E8IAS6, E7IXI1, E8IAF9, E8IF39, E7IS91,
 E7IVP2, E8IJU0, E7IJF5, E9UL15, E9ULA5, E9UKX5, E8IIL6, E8IIL7, E8IIQ0, E7IM95,
 E7IM96, E7IRR6, E7ISP8, E7IY46, E7IYH3, E7IYJ6, E7IKH1, E7IPA1, E7IQS4, E8I8H1,
 E8IDJ3, E8IJ22, E8IJB6, E8IJF3, E8IJG3, E8IJQ7, E7IT57, E7IV57, E7IVA6, E7IVB4,
 E7IYX0, E7IZ18, E7IJ44, E7ITH8, E8I9H6, E8IEY9, E8IKA1, E8IKI2, E8IA48, E8IF40,

20

30

40

50

G5TRM0, G5TKE6, G5TKQ6, G5TEM1, G5TL53, G5TF85, G5TFL3, G5TLM2, G5TRM1, G5TFL4,
 E7IJ83, G5TFI0, E8I9R3, E8ILC9, G5TDA1, G5TEI1, G5TKZ7, H4QJJ6, E8IJU7, H4QDF9,
 H4QM53, H4QFY8, H4QFZ9, H4QGL5, H4QN54, H4QH80, H4QP48, H4QBX9, H4QIP1, H4QCZ2,
 H4QCZ3, E8IL46, E8IGG4, G5TMJ0, G5TMJ4, H4QD30, H4QJX0, G5TNW8, H4QE95, H4QKE1,
 H4QEA8, H4QEB3, H4QEM1, H4QEM5, H4QKQ7, H4QKR6, H4QS82, H4QLD9, E8IJZ3, E7IZ58,
 G5TIB2, G5TIC2, G5TQD3, H4QSP7, H4QF83, H4QFF7, H4QFI7, G5TJD8, G5TJE8, G5TQW9,
 G5TDG1, G5TDH1, G5TQY4, G5TDR2, H4QDG0, E7IUH5, E8IL94, G5TKE7, E7IVA5, E8IJX0,
 E9UKV6, H4QDU6, H4QEZ9, H4QSE6, E8IK82, E9UKW3, E7IYZ3, E7IYW7, E7IW14, E8IIA1,
 E8IAS7, H4QD93, H4QEZ7, E7IYD0, E8IDJ6, E8IGR8, G5TH30, G5TLM8, G5TN70, H4QHA2,
 H4QFG4, E8I854, E7IJX3, E7IMM6, E7IVN6, G5TFA2, G5TLU7, G5TMZ3, H4QE58, H4QKD5, 10
 H4QQS1, H4QR47, H4QDV7, H4QSG2, E7IRU2, E8I8K7, E9UKW2, G5TFL8, H4QBS3, H4QPW6,
 G5THM7, G5TDN5, G5TF89, G5TGU2, E8ID91, E8IK79, G5TMD7, E8IF15, G5TF26, G5TPD7,
 E8IBN8, G5TI01, G5TN71, G5TFK3, E8I8I1, E8IA99, H4QH83, H4QPB1, H4QGL6, E8IHV5,
 E8I855, E7ITY9, H4QLU7, G5TDN4, G5TIE5, E7IUN6, E7IPB3, H4QBP3, E7IVP6, G5TNW9,
 G5TQU7, G5TEM4, E7IXJ6, E7ISH4, E7IZ93, G5TCN7, G5THK7, E9ULB5, G5THQ9, G5TLQ6,
 G5TQQ0, E7IQJ4, G5TE68, G5TC27, G5TLC6, E7ISE4, E7IYH4, E7IL93, E7IM70, E7IS92,
 E7IY88, E7ILM7, E7IYI8, G5TG88, G5TI40, G5TFF0, E7IR29, G5TIB3, E7IJ09, E7IN19,
 E7IR33, E7IVJ1, E7IMG3, E7ITV4, E7IPX0, G5TJE7, E7IVW7, G5TQ61, G5TJ82, E7IR76,
 H4ZRT8, H4ZP57, H4ZZ61, H5A247, H4ZYW1, H5A245, H4ZTV7, H4ZVV5, H5A380, H5A4I9,
 H4ZVA1, H4ZRT7, H4ZS12, H5A5J4, H4ZVL6, H5A093, H4ZU86, H4ZS00, H4ZW59, H4ZTJ7, 20
 H4ZUN5, H5A1J1, H4ZUT3, H5A6D0, H4ZQW2, H4ZYJ1, H4ZS11, H4ZS17, H4ZYJ0, H4ZS87,
 H4ZS99, H4ZSJ3, H4ZYP0, H4ZYW8, H5A554, H4ZZ60, H5A5L8, H4ZTA9, H4ZTM3, H4ZTW0,
 H4ZNX4, H4ZNX6, H4ZNY9, H5A1B9, H4ZNZ7, H4ZP17, H4ZP64, H4ZP65, H4ZVF6, H4ZVL7,
 H5A250, H5A4X4, H4ZPN1, H4ZPS7, H5A2C1, H5A2C8, H4ZS49, H4ZQW1, H5A3I8, H5A3I9,
 H5A3V2, H4ZRC5, H4ZRR0, H5A6Y3, H5A0L9, H4ZQZ2, H4ZZ34, H5A044, H4ZUN1, H4ZQ29,
 H4ZX32, H5A1J2, H4ZZ52, H4ZTE9, H4ZR57, H4ZXN9, H4ZQ04, H5BT45, H5BSB4, H5C0C1,
 H5BP74, H4IPZ8, H4IPA0, H5BYV7, H4IQB3, H4IYL7, H5BMQ6, H5BV15, H5BSB5, H5BSU9,
 H4IM30, H4IR61, H5BP70, H5BWQ9, H5BZ27, H5C080, H4J0I5, H5BX27, H4IQN0, H4IM25,
 H5BSR7, H4IM13, H4IPW9, H4ILL4, H4ILX0, H5BY12, H4IUS4, H4IZ50, H4J0B2, H5BUV9,
 H4IUJ2, H4ITY3, H4IST7, H4IUE7, H4IVD6, H4IR38, H4IPU4, H4IY30, H4IQP6, H5BKW0, 30
 H5BLG8, H5BZF8, H4IVN5, H4IPZ4, H4IRB3, H5BYN3, H4IM39, H4J168, H5BTG7, H5BXS8,
 H4IN54, H4J178, H4IUS5, H5BMC5, H4IQB6, H4IQD5, H5BNN2, H5C075, H4IW59, H4IX57,
 H4IZR4, H5BMC3, H5BL03, H5BNF0, H5BT55, H5BUA3, H5BZA5, H5BN20, H5BQS1, H4J177,
 H4IMC4, H5BLC6, H5BMG0, H5BNZ2, H5BPG3, H5BVS6, H5BVS7, H5BVY7, H5BQF5, H5BWR0,
 H5BWR3, H5BR62, H5BKT3, H5BS13, H5BKV8, H5BKX3, H5BKY1, H5BT53, H5BMM2, H5BMQ7,
 H5BMV2, H5BN07, H5BNI1, H5BNP5, H5BNR3, H5BNS8, H5BNZ5, H4ITY1, H4IU85, H4IUF3,
 H4INM0, H4INW2, H4INX3, H4IPD6, H4IQC2, H4IWX4, H4IXG9, H4IRQ5, H4IYE7, H4IYL6,
 H4IM31, H4IM59, H5BP88, H5BSG0, H5BZK5, H5BNP6, H4INB4, H4IM14, H4J0G9, H5BPK5,
 H4IUR6, D7XRW9, D7Z067, D7XJ59, F4VMS3, F4VMT1, D7XQH7, D7Z5T0, F4VAW6, F4VBE7,
 F4VNQ0, F4VNR8, D7YSS0, F4VCW6, F4VDM5, D7XHP5, D7XN00, D7XLQ6, D7XR81, D7YX32, 40
 D7Z3L2, F4VEA4, D7YWJ4, H4ZBJ7, H4ZAN1, H4ZGW5, H4ZB79, H4ZBC2, H4ZBH3, H4ZBM3,
 H4ZBM6, H4ZBS4, H4ZBY4, H4ZI77, H4ZCN5, H4ZCU6, H4ZII9, H4ZJ49, H4ZJ77, H4Z7W1,
 H4Z806, H4ZKK2, H4Z850, H4Z851, H4Z8G0, H4ZEZ1, H4ZLM1, H4ZLW3, H4Z9A4, H4Z9F8,
 H4ZM61, H4Z9U5, H4Z9U6, H4ZG83, H4ZGC8, H4ZGM3, H4ZN49, F4VH78, D7Z5W9, H4ZDD4,
 H4ZG42, H4ZG82, D7YWG3, D7XL70, H4ZAL8, H4ZK37, D7XGS2, H4ZBW5, D7XHG0, D7XUS5,
 D7XV10, D7YS40, H4ZII4, H4ZMB0, H4Z872, H4ZHP5, H4ZJ76, F4VFA5, H4Z9M2, H4ZII7,
 H4Z9X3, D7XLG1, F4VJE9, H4ZDT8, F4VJ46, H4ZG49, H4Z8I4, D7YXN2, H4ZH15, H4ZKK3,
 F4VE21, F4VM47, H4ZD17, H4ZHT3, H4Z864, D7YTF4, D7XJZ4, D7Z5U8, D7XQG4, H4ZIV0,
 H4ZJA5, D7YWI2, H4ZAN7, H4ZLA4, H4Z9A5, H4ZFC7, D7XL25, F4VNM9, D7XGU1, H4ZA78,
 D7XIM5, H4ZN40, D7XSR2, H4ZAH9, H4ZH16, H4ZH24, H4ZA88, H4ZAN0, H4ZN50, H4Z893, 50

D7XSR1, F4VFH7, F4VLP3, F4VM24, F4VM62, F4VBE6, D7YTR5, D7Z066, D7XTN4, D7XJB3,
 D7Z410, F4VG97, F4VGL6, D7XI91, D7YZK0, D7YZM3, D7Z5W8, D7XGG7, D7XMQ5, F4VHI0,
 F4VB64, F4VNP2, F4VHX9, D7Z4Q2, D7YSU0, D7YZ73, F4VJ47, F4VCV3, F4VDA6, F4VDC8,
 F4VDD2, F4VDL3, D7YZT3, D7XMZ9, F4VDV4, F4VK23, D7YYQ1, D7YYR4, D7YYT4, D7XVT6,
 D7XHZ5, D7XR94, D7Z4Y6, D7XRW7, D7XUT8, D7YZY0, D7YU95, D7XR99, D7YUS6, D7XLG0,
 D7XLQ5, D7XR82, D7XSV2, D7YVG6, D7YVJ6, D7YVT7, D7YU43, D7Z3F2, F4VEA3, F4VJE8,
 F4VL52, D7XXH2, D7YV60, D7YWU2, D7XL12, D7XL32, D7XHB3, D7XI45, D7XGD7, D7XI41,
 D7YTF3, D7XHP4, D7XJ73, D7YU50, D7Z5G2, D7XTF6, D7XVF5, D7XJZ5, D7XHY7, D7XV09,
 D7YZI3, F4V9X5, F4VII0, D7XHN6, D7XJ55, F4VCX0, F4VH79, D7XWD0, D7XJ60, D7YX31,
 F4VFA6, D7XRI7, D7XJW3, D7XQH6, D7XLF2, D7Z3L1, F4VD82, F4VIV9, D7YTX9, D7XI19,
 D7XP12, D7Z558, D7XQZ1, D7XHF9, D7XH55, D7YTG0, D7YVF1, F4VA42, F4VAW5, F4VCC8,
 F4VNN0, F4VHJ0, D7XTA9, D7YTH0, D7Z6A5, D7YXR5, D7YWG2, F4VLP9, F4VCW5, F4VHC3,
 F4VHI4, F4VJF2, D7XIM6, D7YYU2, F4VF30, F4VBM5, F4VND8, F4VD74, D7YU99, D7Z5J0,
 F4VCB6, D7Z058, D7YWY1, D7XUA1, D7XV35, D7XGP6, D7Z5C9, D7XX35, F4VE95, D7YWJ3,
 D7YVM0, F4VMT0, D7XVG5, D7YU74, D7YYK0, F4VCR4, D7XI17, D7Z617, F4VDY3, F4VBH1,
 D7YWA2, D7YXL9, D7Z0Z4, D7Z184, D7Z189, D7Z4L8, D7Z5V6, D7YST3, D7XJD2, D7XS65,
 D7YUH4, D7YZT9, F4VB03, B3A7H6, B3A5C7, H5I1L8, H5IS38, H5ISE5, H5ILN9, H5ILP0,
 H1BU55, H1C684, H1C0E2, H1C0L6, H1BUV1, H1BV51, H1BVR5, H1BVR8, H1C2E8, H1BWR6,
 H1C3U5, H1C446, H1BSC6, H1BYV1, H1BZ72, H1BZ91, H1C5N6, H1C5R7, H1C3F8, H5IE18,
 H5IE63, H5IEL4, H5IFC8, H5IFI3, H5IGH8, H5IGN3, H5IH73, H5IHJ3, H5IIA6, H5IPE6,
 H5IE61, H5IFZ3, H5IHJ7, H5IG87, H5IFW5, H5IDX0, H5IH69, H5IL34, H5IP04, H5IL94,
 H1BTT0, H1BXN4, H5IDI4, H5II73, H5IGM0, H5IMS9, B3A3G7, B3A8J6, B3A947, H5IHL0,
 H5III0, H1BWY5, H1C229, H1BS75, H1BSJ1, H5IFP4, H5INR5, B3A5X2, H1C1P5, H5IDH6,
 H5IE84, H1BYZ0, H1C1J3, H1BXX0, H5IE76, H5IQ20, H5ILA0, H1BTP8, B3A5B9, H1BS32,
 H1BWK6, H1C2A3, H1BZ83, H1BT31, H1C5U8, H1C0Z3, H5IPE3, H5IDI3, H5IH20, H1BXF8,
 H1C1X5, H5IFC6, H1BW71, H1C5N9, H1BT38, H5IKR4, H1C219, H5IH45, H5IHD3, H1BWZ8,
 H5IIP7, H5IFW6, H5IKR5, H5IPE2, H5IRX3, H5IP03, H1BZB0, H5IGN8, H5ILD0, H5IG77,
 H5IKX1, H5IRJ2, H1BSN7, H1BVW5, H1C2X5, H5IGN2, H5IMA5, H1C012, H1BR98, H5IEA4,
 B3A4R8, B3A7J5, H1C225, H5INH2, H5ILN0, H1C3S8, H1BU19, H1C4N7, H1BVG7, H1BVU2,
 B3A291, B3A7D4, B3ABH9, B3AEK3, B3A621, B3A679, B3A427, B3A1P3, B3A8C8, B3ACJ1,
 B3AAB7, B3A9P3, B3AE35, B3A5J6, B3A5K2, B3A3G9, B3A4R7, B3ADS0, B3A1U8, B3A5J2,
 B3A9N1, H1BWZ9, H1BXN5, H1C3V4, B3A7F7, B3A7G8, H1BYV2, H1BT32, H1BWB1, B3AFL7,
 B3A8E7, B3A194, H1C0Q5, H1C3U4, B3AB47, B3A8G5, B3A4U8, B3A5X1, B3A358, H1BS31,
 B3AAN9, B3A4D5, B3A5N5, B3A3W3, B3A642, B3A3G6, B3ABV9, B3ABG5, B3ACL6, H1C434,
 B3A695, B3A5W0, B3A9L6, B3A2N7, H1BZ73, H1BTS9, B3AAS6, B3AAT6, H1C447, B3A715,
 B3A8J7, B3A948, B3ACG0, H1C0Q9, B3A4D3, B3ACM0, B3A5C6, H1C5U6, B3ABD3, B3AD82,
 B3A2Z3, B3AEF6, B3AEM7, H1BSC5, C5ZZJ9, C5ZZP2, C5ZZP3, C5ZZQ5, C5ZZF4, C5ZZP5,
 C5ZZF3, B3B187, B3B4Q2, B3B8M9, E7HTR8, B3AYF6, E7HSL5, E7HSE1, E7HZQ3, B3B2G1,
 E7HPL4, B3B300, B3B777, B3B0S3, B3B831, B3B9T0, B3B1D3, B3B8C2, B3B3M7, B3B994,

10

20

30

40

50

【 0 5 7 0 】

B3B9C4, B3BAS8, B3AWP0, B3AXB1, B3B1V3, B3B8U5, B3AYC5, B3AZ98, B3B7M4, B3B1B6,
 B3B8G4, B3B530, B3B6Y0, B3AZ56, B3AZ57, B3B5G1, B3AZP0, B3AXP9, B3B2Z4, B3B5A9,
 E7HQ54, E7HTW6, E7HQF7, E7HQG0, E7HR31, E7HXT9, E7HY33, E7HNU2, E7HSF8, E7HSM4,
 E7HZG8, E7HPI8, E7HPL3, E7HPX5, E7HWC3, E7HWC4, E7HWE3, E7I0J9, E7I1R7, E7I1U3,
 E7I104, E7HNF7, E7HYW4, E7HY78, B3AZG3, E7I2B8, E7HY54, B3B6E5, B3B577, E7HNI3,
 E7HNL2, B3B7U5, B3AZ49, B3AZZ7, E7HRH9, E7HUJ5, B3B8H2, B3B106, B3B4Q3, B3AYF7,
 B3AZN9, E7I143, B3AWU3, B3AY73, B3AW90, E7HVK0, E7HW33, B3B8L3, B3B8K8, B3AZX9,
 B3AY07, E7I1H3, B3B9B5, E7HZQ7, B3B595, E7HV78, B3B0N8, B3BAC8, E7HZH8, E7I1R6,
 B3B9T4, B3B013, E7HPC4, E7HNC7, E7HU25, E7HU32, E7HSL6, E7HY63, B3B8S1, E7HNC8,
 E7HY77, E7HZL0, B3B2Z3, E7HQF6, E7HQ55, E7I1N5, E7HNC6, E7HRJ4, B3B9B1, E7HV02,

E7HYG6, B3B186, E7HUR0, E7HU61, E7HZQ2, E7HPF9, E7HZN9, B3B0S4, B3B0T2, E7HTR9,
 B3B2G2, B3B8D4, B3AZP2, B3B540, E7HYC2, F4TA13, F4TCR9, F4TGT9, F4TG22, F4T971,
 F9CGR9, F9CI41, F4TDA3, F4T9I9, F9CF73, F4TI77, F9CDL2, F9CDQ1, F4TKQ8, F4TB64,
 F4TBV4, F4TCB6, F4TCF5, F4TCG7, F4TCS0, F4TCW4, F4TH27, F4T963, F4T9Z4, F4TLZ4,
 F4TLZ5, F4TNN3, F4TNV0, F4TD10, F4TD13, F4TEJ8, F4TEM7, F4TFH7, F4TFY3, F4TG23,
 F4TGN4, F4T9X4, F4TGN8, F4TJ13, F4TJJ1, F4TD84, F4TD90, F4TLT3, F9CEP7, F9CMF9,
 F9CFY6, F9CGC2, F9CGI6, F9CGQ3, F9CMQ8, F9CNF7, F4TAA0, F4T9M8, F9CHI6, F9CHN8,
 F9CMW4, F9CI81, F9CIG5, F9CIH5, F9CPM2, F9CPQ9, F9CQQ3, F9CDC5, F9CJJ2, F9CDL3,
 F9CIT5, F9CK30, F9CRL5, F9CRR2, F9CEL6, F9CKP5, F9CF72, F9CLH5, F9CT71, F9CFT8,
 F4TB63, F4TBS1, F4TGD9, F4TE26, F9CDN3, F4TH26, F4TIN5, F4TBK9, F9CPD8, F4T970,
 F4TEA9, F4TIC5, F4TIJ1, F9CPY1, F9CIK9, F9CNZ0, F9CEL7, F9CPM3, F4TBS2, F4TIF8,
 F9CQU4, F4TJ18, F4TMN4, F9CIL3, F4TNW7, F9CDX1, F4TCR7, F9CGL7, F4TC04, F9CNF5,
 F9CGQ7, F4TJ16, F9CF07, F4TCY8, F9CIL9, F9CGB9, F4TCH2, F4TKE0, F9CFF3, F9CFX5,
 F9CF98, F9CPP3, F9CNG0, F9CSR7, F4TFV3, F9CFZ0, F4TNT0, F4TLD0, F9CM23, F4TI78,
 F4T9J0, F4TCV6, F9CI42, F4TC18, F4T9Y6, F4THN8, F9CDH1, F9CRL6, F4TH18, F4TBE6,
 F4TEE5, F9CMW5, F9CGJ3, F9CIP6, F4TK44, F9CQC9, F4TGP5, F9CEV5, F9CFL1, F4TB93,
 F9CDM4, E7IHL2, E7IBB5, E7IF58, E7I8X1, E7IDY2, E2WT28, E2WQM1, E2WV51, E2WQB6,
 G2AA37, G2AAF8, G2AHS2, H4J6C7, H4J6H9, H5A7V9, G2AKQ9, H4JDD9, H4J7U4, H4JEA7,
 H4J7Z5, G2ADD9, H4JEI0, G2AA45, H4J2U9, H4J3B4, H4J3F8, H4J3F9, H4JFU4, H4J9Y2,
 H4J9Y4, H4J3R0, H4JAG5, H4JAN9, H4JAP7, H4JBB3, H4J5C1, H5AFA8, H5A9B3, H5ALX7,
 H5ALZ4, H5AFQ7, H5AFZ3, H5AAP4, H4J3I5, H4JF77, H5A9Z6, H5AAQ7, H5AAY5, H5AHV7,
 H5ABJ8, H5AI45, H5AIM3, H5AIM6, H5ACY5, H5A734, H5AD19, H5AD90, H5AJE8, H5A776,
 H5A783, H5A784, H5A797, H5A7A5, H5A7C6, H5AKA1, G2AL18, H4JAD2, H5A9T1, H4J7B0,
 H5ACS3, H5AE13, H5AF02, H5AFZ4, E7I4U8, H5A9Z7, E7I4D0, H5A9B4, H5AMS4, H5AEL8,
 H4JCZ6, H4JGE3, H5AFB4, H5AI46, H4J797, H5AJM4, E7I985, E7IEQ1, H5ABK1, H5AMX8,
 H5AKA2, H5ALL9, H4J3K5, H5ABY1, H5AF01, H4J242, H4J466, E2WY14, H4J4Z8, H4J5U1,
 H4J6H5, H5AAQ6, H5AF51, H4J934, H5A8A5, H5A8Q2, H5AIM2, H4J788, H5AA24, H5AMN5,
 H5AFY5, H4J4U1, H4JDZ0, H5AAK4, G2AAH9, H4JAP8, H4JCK4, H4J8D1, E7IF79, E2WT01,
 E2WQP3, H4J3H2, H4JAD8, H5ALV4, G2ACI8, H5AHW5, H4J7S1, H4J791, H5A777, H5ABF1,
 H5AGJ9, E2WYC2, H5AFE8, E7IDX4, H4J3H7, H4J6F1, H5AL98, H5AAR2, H5ABX7, H4J821,
 H4JCB5, H5ALD6, H4JA71, H4J5B0, H4JC86, E2WQA7, E2WX62, E2X0Q6, G2A9I6, E7IBU7,
 H5A9L7, H5AGV8, H4J5Q5, E2WRJ7, H5ACV4, G2AEK9, G2AIL9, H5A9E4, H5ABH6, H5ABZ6,
 H5A8H2, H5AAF6, H4J7Z4, E2WUV9, E2WV18, E2X013, E2WUB5, E2WUE4, E7I3N0, E7I6S3,
 E7ICY9, E7ICH5, E7ICM4, E7IEG0, E7IGA6, E7IGE2, E7I5W6, E7I644, E7I7V1, E7I8X4,
 E7IDY1, E2WT00, E2WYC0, E2WSH7, E2WSP1, E2WQB5, E2WR29, E2WRU5, E7IIA9, E7I9H0,
 E7I9I6, E2X1F9, E2WVH7, E2WTS9, E2WTV5, E2X0A1, E2X0E8, E2X0F2, E7IAK8, G2A9E3,
 G2A9I7, G2AMK8, G2AGH5, G2AGJ4, G2ANL6, G2ABU7, G2ABX6, G2AC51, G2AIA5, G2ACL2,
 G2AIL0, G2ACV2, G2AJ80, G2AJT6, G2AE67, G2AKC2, G2AKG7, G2AET9, G2AEX5, G2ALK2,
 E7IGK7, E2X021, E2WV31, E2WX08, E7IEV6, G2AAR2, G2ACV0, G2ANL7, G2AHS3, E2WQK2,
 E2WTX9, E2WSN0, E2WY17, G2AFQ9, G2AL15, E2X0K6, G2AI95, G2AID4, G2AG87, G2ACS2,
 G2AEB5, E2WSU8, G2AN92, E7IDU4, E7I4U3, E7IGU9, E7I9S6, E2WYM1, G2ACI7, G2AI99,
 E2WSY9, E7I4W3, G2ADE5, E2WU04, G2AMW3, E7I4C9, E7I552, E2WRJ6, E2WT52, E2WY11,
 E7IGY0, G2ABU9, G2AGN7, G2AKR0, G2AFP9, G2AL24, E7ICH1, E7IGE1, E2WX76, E2X0Q5,
 E2WYK7, E2X012, E7I3K8, E7I3N4, E7IEQ2, E7I4U9, G2AD85, E7I6G6, G2AIL8, G2ADD8,
 E2WPL9, E7I8W7, E7IBB6, E2WP83, E7I4F9, E7IC59, G2AHE9, G2ANT7, G2AEB9, G2AI25,
 E2XI15, E7I5A3, E2WQL3, E7IHL4, E7IF50, E7IGS1, E7ICI2, E7IGA4, G2AH10, E2WQ82,
 E2WZF6, E7I4H7, E7IEE5, E7IHS3, E2WZ84, E2X0E1, E2WTF1, G2A999, E7IET0, G2AE93,
 G2ACB5, G2ACR2, E7I983, G2AAF0, E2WRM9, E2WU01, E7IEK7, E7IHM2, G2ADC6, E9UKA3,
 E2WT27, E7IBW7, E7IHY6, G2AF06, G2AA44, D8CHP2, D8C7J5, D8CII0, D7X0Z1, D8CCW9,
 D8CEU2, D7X3M6, D7XA58, D8CFT0, D7XB58, D7X3A3, D8CFI8, D7X3W6, D7XDR4, D7XEZ2,

D8CDA8,	D8C9I3,	D7XDT4,	D7XDH8,	D7XDP5,	D8CHR0,	D7X2T3,	D8CDB7,	D8CFU6,	D7X4E9,	
D8CC70,	D7X0S7,	D8CHT1,	D7X0T8,	D7X5N3,	D8CK16,	D7X8U2,	D7X1D2,	D7XEG0,	D8C8F0,	
D8CLA9,	D7X0D7,	D8C6X7,	D7XE24,	D8CE80,	D8C7I2,	D7X0V1,	D7X0Z0,	D7X792,	D8CCW8,	
D8CCY5,	D7X2R2,	D8CKU9,	D8CKV3,	D7XAH9,	D7XAK4,	D7X2V0,	D7X995,	D8CIC4,	D7XFW7,	
D8CF48,	D7X3A4,	D7X3K1,	D8C8V7,	D7XBR0,	D8CF52,	D8CFA1,	D8CHC3,	D8C998,	D8C9G2,	
D8CFS9,	D8CFU5,	D7XB79,	D8CDS5,	D8CFI7,	D8CGH8,	D7X3H5,	D8CIV4,	D7XBU0,	D8C9V0,	
D8CJ01,	D8CJS9,	D8CIH9,	D8CC69,	D8C8N3,	D8CAE6,	D8CFH9,	D7XFC3,	D7X4F0,	D7X2G5,	
D7XC03,	D8C972,	D8CJJ7,	D7XDH7,	D7XEA1,	D8CIL1,	D7X2J3,	D8CC19,	D8CLC0,	D8CEU3,	
D7X8V0,	D7X8P9,	D7X750,	D7X762,	D8CDB6,	D8CL05,	D7XDS2,	D8CCX5,	D8CHT0,	D7X519,	
D8CLM6,	D8CIV0,	D7XFT8,	D7X8P5,	D8CEZ4,	D7X3H1,	D8CJH9,	D7X0A1,	D7XDT3,	D8CC59,	10
D8CLP0,	D7X3W5,	D8CLH1,	D7X0S8,	D7X590,	D7XDL3,	D8CI61,	D7X4A4,	D7XCE2,	D7XEZ1,	
D8CFX2,	D8CE11,	D8CKZ8,	D7X3V7,	D7XA59,	D7X6X7,	D7X1W2,	D7X5P0,	D8CF59,	D8CHR8,	
D7X7L3,	D7X6U4,	D8CBI5,	D7X5U8,	D7XAH1,	D8CD70,	E9W7I0,	E9VZ33,	H4XY90,	H5I3C1,	
H5I8H2,	H4XZD9,	H5I924,	H4XXS4,	H4Y6D3,	H4XWE5,	H4XXS3,	H5I5P0,	H4XWN3,	H4XWK5,	
H4XZB2,	H4Y3Q6,	H4YAZ9,	H4Y3L5,	H4XYB7,	H5I8C3,	H5I927,	H4Y7B1,	H5IBN8,	H5HZ56,	
H4XVW3,	H5IB24,	H5I3M4,	H5I5N9,	H4Y6N7,	H5I7N5,	H4Y591,	H4Y627,	H4YAD6,	H5ICI9,	
H4XY91,	H4XYH7,	E9W2I3,	E9W8B7,	H5HZ97,	H5I1X7,	H5I1D4,	H4Y8Y9,	H5HZ55,	H4XWL3,	
H4Y640,	E9W2M1,	H5IB18,	H4XYW7,	H5I8R8,	H4XWI9,	H4XZZ8,	H4Y471,	H5I0E7,	H4Y1V6,	
H4Y8H5,	H5I0K4,	H4XZQ8,	H5I230,	E9VYT4,	H4Y139,	H4XWA2,	H5ICI8,	H4Y3E0,	H4Y562,	
H4Y6D2,	H5I231,	H5I9R7,	H5HZ69,	H5I627,	H4XVV6,	E9W6T8,	H4XXV9,	E9W2K2,	H5HYX1,	20
H4Y3Z4,	H4Y395,	H5I5Z2,	H5I112,	H5IBS9,	H5I390,	H4Y4X0,	H5I2H6,	H4Y3Y6,	H5I1M7,	
H5I218,	H5I6A4,	H5I0E6,	H5I183,	H4Y8N2,	H5I6B3,	H5I6X7,	H4Y011,	E9W0R5,	E9W6W5,	
E9W782,	E9W190,	E9W1A5,	E9W1V3,	E9W1W0,	E9W1W1,	E9W2A0,	E9W2I4,	E9W8J0,	E9W931,	
E9W2S5,	E9W3J5,	E9W3J6,	E9W9K9,	E9W3V5,	E9W3W5,	E9W4A8,	E9WAI6,	E9VY05,	E9VYK6,	
E9VZ36,	E9W562,	E9W5E3,	E9W5E6,	E9W5G9,	E9W5J8,	E9VZK1,	E9VZR4,	E9W5U8,	E9W5V2,	
E9W5V3,	E9W3W1,	E9W4H1,	H5I4W9,	H4Y6P4,	H4Y0R2,	H4Y0R3,	H4Y755,	H5HZ14,	H5HZ77,	
H5I5T3,	H5I5Z8,	H5ICI1,	H5ID04,	H5ID66,	H4XVW4,	H4Y2F4,	H5I0Y5,	H5I0Y6,	H4Y9B5,	
H4XWJ1,	H5I1A8,	H5I1D1,	H4Y394,	H4Y9L5,	H5I1N7,	H5I237,	H4Y3Z5,	H5I2H1,	H5I2J1,	
H5I8R7,	H4XY22,	H5I923,	H4XYG7,	H5I3E3,	H4XYR5,	H4XYV4,	H4XYW6,	H4XYX2,	H4Y592,	
H4XZ86,	H4Y5H4,	H4XZD5,	H4XZL8,	H4XZS4,	H5I4D1,	H4XZZ4,	E9W578,	H4Y8J1,	H4Y0J4,	30
H5I0R5,	H4XVR3,	H4Y3M1,	H4Y6N8,	H4Y9J2,	H5HZK2,	H5I6B2,	H4Y741,	E9W3K4,	E9W3S7,	
E9W8K0,	E9VZ32,	E9W725,	E9W6T7,	E9W465,	E9W7X8,	E9W0G0,	E9W5J1,	E9W4A7,	E9W8E1,	
E9VYT5,	E9WAC5,	E9VYJ3,	E9W5W3,	E9W8B6,	E9W574,	E9W2J4,	E9W8T6,	E9W7H9,	E9W169,	
E9WA70,	E9W4E4,	E9VZK2,	F4U1D3,	F4U3T3,	F4U2X0,	F4U3P4,	F9HRH9,	F4TT60,	F4TZV0,	
F4U2W3,	G5T9C7,	F4TR02,	F4TZ69,	G5T0A2,	G5TBZ7,	F4TW08,	F4TQ83,	F4TR16,	F4TXQ1,	
F4TRM5,	F4TRN4,	F4TSD7,	F4TSG4,	F4TYH6,	F4TT48,	F4TT76,	F4U002,	F9HTM4,	F9I286,	
F4TVC1,	F4TUT2,	F4U1R6,	F4TW07,	F4U216,	F9HXB4,	F4TWR3,	F4TX00,	F4TX29,	F4U3P5,	
F4U3R5,	F9HXS9,	G5TA36,	G5SYH7,	G5T535,	G5TAK4,	F4TUS2,	F4TV41,	F4U1Y8,	F4TR03,	
G5T9S6,	F4U3Q7,	F4TWJ8,	F4TZV1,	F4U0V4,	G5T3K2,	F4TZG4,	F4U0V6,	F4TPZ4,	F4TUE3,	
F4U3D0,	G5SXR8,	F4TZ55,	F4TZP5,							

E8HKS6, E8HTZ3, E8HF19, E8HKG9, E8HS12, E8HN33, E8HHZ0, E8HR59, E8HHN8, E8HK87,
 E8HR99, E8HSH5, E8HHU8, E8HMS0, E8HJY1, E8HS47, E8HIC5, E8HLY2, E8HP35, D8AA71,
 D8ACE4, D8AA52, D8ACM0, D8A5V9, D8ACR5, D8AA31, D8A9E1, F4SFG3, F4SGZ8, F4SIG0,
 F4SJV9, F4SMM8, F4SNM3, F4SNU3, D8A5K9, B3HU38, F4SGS6, B3HU20, B3HWV5, B3HU58,
 B3HRG5, F4SSB6, B3HU86, F4SKT0, D8A4Z1, D8AF86, B3HNE1, B3HN30, B3HLF0, F4SF12,
 D8A6C4, F4SN47, F4SM56, B3HQS2, F4SQ65, B3HN38, D8A7W7, D8A9F1, F4SFE3, B3HNC8,
 Q2ACE7, B3HR99, B3HRG6, B3HS97, B3HSE5, B3HLQ1, B3HLQ7, B3HYE5, B3HPC2, B3HU57,
 B3HNV0, B3HMU4, B3HSS5, B3HL38, B3HTZ7, B3HPS5, B3HQI4, B3HUD0, B3HN31, B3HVL7,
 B3HXX6, B3HNC7, B3HNE2, B3HUT0, B3HX54, B3HPT3, D8A696, D8AF87, D8A751, D8A7W8,
 D8A7M7, D8ACI6, D8A6C3, D8ACS8, D8A7A6, D8A4U2, D8AD21, D8A491, D8A944, D8A985,
 D8A837, D8A2L3, F4SFE4, F4SRQ9, B3HS64, B3HU46, B3HUV4, F4SNM6, F4SFF5, F4SGZ7,
 F4SEQ5, F4SFX0, F4SM00, F4SG52, F4SG58, F4SJJ7, F4SJV8, F4SL02, F4SN48, F4SGA3,
 F4SGA6, F4SJY6, F4SL75, F4SQC1, F4SLT2, F4SIN7, D8AA32, F4SMW4, D8A4Z0, D8A5G2,
 B3HNU4, B3HT46, D8AEX3, B3HLU5, F4SFX9, D8AEB9, B3HQH9, F4SKC6, D8AG92, F4SSD2,
 D8A6W0, F4SM55, F4SS93, F4SKS9, D8ADH0, B3HYG4, B3HYX9, F4SQ52, F4SM43, D8ABL8,
 D8A3Y3, F4SIA2, D8A112, B3HL12, F4SLI6, F4SP43, F4SPN6, B3HYH9, F4SFR5, F4SS25,
 B3HQM6, B3HRR2, D8AA44, F4SI06, F4SL99, B3HV07, D8AAA2, D8ACT5, F4SF56, F4SNM2,
 B3HWI2, D8AFY7, D8A1B8, D8A5U8, B3HQE4, B3HRH4, D8A7B6, B3HPK7, D8A0M9, B3HLF1,
 【 0 5 7 1 】

10

D8ACW0, F4SMT3, B3HKY3, B3HU85, F4SI35, D8A7X9, D8ACL9, B3HNB3, B3HRU1, F4SMM9,
 B3HQ82, B3HWQ6, D8ADI1, D8ABP4, B3HLJ6, B3HLP7, B3HXR8, D8AAC6, B3HT77, D8AAF3,
 D8AAR2, F4SGY9, B3HTM8, D8A5V8, D8AAE9, D8AGW3, D8A7W2, D8AD97, D8ACE5, B3HTC6,
 B3HXX2, F4SG03, F4SL32, F4SM60, B3HNU1, D8A9E2, D8ABJ8, F4SGR2, F4SG48, D8A5F6,
 B3HRV8, B3HT53, B3HPL7, E7HK31, E7HI68, E7H9B9, E7HGD7, E7HMG9, E7HIK0, E7H831,
 E7HJI6, E7HBG4, E7H8V2, E7HC95, E7HG44, E7HB75, E7HGM2, E7HJL6, E7HBG2, E7HMH0,
 E7HD42, E7HD55, E7HMU6, E7HIC8, E7H794, E7H7B8, E7H7G3, E7HAH0, E7H9C0, E7HK51,
 E7HAX1, E7H9B4, E7H871, E7HEP4, E7HIU9, E7HIK1, E7HLS0, E7H773, E7HL67, E7H839,
 E7H7B6, E7HA76, E7HDQ4, E7HGM1, E7HFH6, E7H7L0, E7HGM5, E7HIN5, E7HL43, E7HEB9,
 E7HJI5, E7HIH5, E7HMV7, E7H9K8, E7HAC4, E7HBF4, E7HHB8, E7HAE7, E7H6V3, E7H7A2,
 E7HGD8, E7HMOV0, E9UJS8, E7H8M8, E7HK55, E7H832, E7HDG1, E7HMM3, E7HG53, E7H8R7,
 E7HAG6, E7H9D2, E7H6X8, Q07686, Q9X4L5, Q9R6R9, Q9AGQ3, Q707J6, Q2QKQ6, Q9AGX8,
 Q1RPK4, A8KIC4, B0ZDW2, B8ZX38, E2QGQ6, E2QPJ8, C3SER7, C3TPS7, C7BAJ2, E2QL71,
 E2QM51, E2QFJ3, E2QKY9, H6URZ3, H6W8F5, H6W8F8, H6W8F9, H6W8G5, Q6KCX5, Q9EXJ5,
 Q8GA70, Q8GA49, P77069, 030926, C3TKI7, Q65A13, B8ZX34, G4VUR1, Q6KDA3, Q83XC4,
 E2QL63, F8QPL6, H6W8G8, Q49JG1, F2VID7, Q846A9, E2QJU0, Q47198, Q8KWG6, Q937J5,
 Q8GA01, Q99PX3, E2QF69, C3TKJ0, C3SES0, Q8VW52, Q6T5B5, D5FL07, E2QNX7, Q84CN0,
 H6W8F2, H6W8G4, Q8VR37, Q9RQS1, E2QE70, 087501, Q47197, Q8KXQ5, Q8KXQ7, Q47232,
 Q8KQC7, Q8VV61, Q9AJE0, Q9EZQ6, Q9RHN8, P77060, Q47262, Q8KXQ8, Q8VQ26, Q8VR81,
 Q8VV68, Q47230, Q8VR39, Q9ALL0, Q03038, Q8GAV3, Q8KXQ9, Q8VPB8, Q9RHP0, Q6RZ11,
 Q8GA69, 030925, Q9RHP6, 085184, Q5WPW6, Q5WPX0, Q5WPX4, Q5WPY8, Q643G2, Q8L169,
 P71223, Q49JG0, Q4FBD9, Q3ZU28, Q2TJ84, Q707C1, P77062, Q9F654, Q643Q4, Q2HQJ7,
 Q47231, Q8L167, Q8KXQ4, Q9RHP7, Q5DY12, Q5K5Z6, Q84CN1, Q6KCX6, Q8VV63, Q6KD44,
 Q6KD36, Q1ACX7, Q08JH2, Q09KH7, Q0H075, A6MTQ6, A6MTS4, A7Y1W9, A7Y1X4, A7Y1Y9,
 A7Y202, A6MTV2, A8VWC8, A8CN91, A8CNE4, A8HP97, A8QWG3, A8QWG8, A8QWH8, A8QWH9,
 A8QWI1, A8CND7, A8KI33, B0LHQ4, B2XU25, B2MW61, B3V222, B9K6F4, E2QJ66, E2QIH2,
 E2QP21, E2QP76, E2QP82, E2QKE0, C0M637, E2QPB7, C9E708, C9E717, C9E720, C9E721,
 E7DSS5, E7DSS6, D9CGZ7, C3TIH5, C3TNU0, D2SX90, D2SXA4, D2SXC4, D2SXE7, D2SXF3,
 D2SXH8, C6K7L1, C6K7L4, C6K7M5, C6K7N9, C6K7M3, C8CGJ2, E2QDV2, E2QEI3, E2QKP7,
 E2QKX8, E2QM52, E2QPJ7, E2QFT3, G9G1A4, C3TKJ5, Q93FB0, Q6VEG9, Q08JP9, Q157S5,
 G9IRC2, Q8VR48, P77065, Q9EVP5, Q6RKA4, A6MTR2, A7Y1Y5, F8QPL5, P77064, A6MTU0,

20

30

40

50

E2QFS9, E2QNC7, Q6S361, Q2WE95, F2Y3P0, F2Y3P6, 068404, E2QKX2, G3G3Q8, G4VUR2,
 A9JQD1, B2MW64, E2QHE5, P96324, 052999, Q93SE1, B8ZYA7, C3TPW7, A8CNB0, Q4A1H1,
 E2QJ01, A6MTV0, C3TFY5, C6K7N6, E2QFP1, E2QLY0, P94776, Q5UDS6, E2QGK8, E2QHK1,
 C3SSZ7, A7Y1Z5, Q0E834, Q8KXQ6, Q93TP3, Q8VV69, B0LT96, A6MTV8, E2QEY5, C6K7L3,
 D2SX61, D3K2Y7, Q47461, Q8VW51, Q4PS70, C3SDQ1, A7Y1X7, A7Y205, A8QWG6, Q8GA51,
 Q9EXJ6, Q8KT10, Q9RHP5, Q5UDS2, Q2VP26, C6K7N7, C6K7P0, C9E713, A7Y1Y1, Q9RH85,
 Q47182, E2QE71, P71294, Q47631, Q93K73, 087518, C6K7N0, C8CGK8, E3T5W5, G9IRC1,
 Q643F3, Q8G9Z4, Q70Q79, Q8KU15, E2QF25, E2QGQ7, Q3ZU04, Q6VEH0, C1J8B5, C3SIH0,
 C6K7N3, Q9RHP3, Q83XC3, Q9X2M3, C3T9B4, C7S9N8, E2QNX8, Q9L817, B0LHR8, C9E709,
 E2QDX9, Q8VPC8, Q46992, C9EH54, F2Y3P2, F2Y3P4, A6MTM8, A7Y200, Q643I2, P77061, 10
 E2QF70, 068403, P77063, P77066, B3VKJ6, E2QJE0, A8CNE0, A8QWH0, C3TE52, Q8GA40,
 Q937J4, 052135, C8CGP8, E4W7W6, A7Y1Z2, B1P7U0, D2SX71, D9J2T5, A0SXG5, A6MTT2,
 Q5WPW4, B1P7H4, C3SES5, A7Y1Z8, C3T2S1, G8GFR4, C6K7M2, H1ZXJ2, B8ZX37, C6K7M4,
 A1EAA3, Q9K598, Q846B1, Q9RHP4, Q9RQ18, Q1M2T3, E2QE65, D2SXM5, E2QF12, E2QMG0,
 Q6J3R6, Q79D75, Q8KP15, E2QE55, E2QG39, E2QIG3, Q8L166, A8QWH7, Q8KWG7, Q9RHN9,
 Q6VEG7, E2QQ18, C3TPW8, B8XN37, B0ZDW3, Q643F7, Q8VV66, C7TQI3, Q14F28, C6K7N1,
 E2QM02, A9QLI9, Q5WPY0, Q75ZE6, Q6EVL3, C3SHA1, E2QKI6, C3SUZ0, E2QP19, Q8KXQ3,
 C6K7P8, Q1RPI3, A6MTS2, A8CNA6, A8UAZ0, C3SZB0, C3SQ87, C9EH47, D2SX99, D5FL06,
 Q8VV60, Q47423, Q6VEG8, 066280, Q6Q7N8, Q7BG37, Q5WPV8, E2QI48, Q9RHP8, C9E710,
 B3VKH8, E2QP72, 085101, Q643P2, Q9RHP2, E2QJV7, B0LHQ8, E2QN51, Q8VRN0, G4VUI0, 20
 F4U429, F4U449, F4U468, F4U5C7, F4U8H1, F4UGB7, F4UGS2, F4UA88, F4U683, F4U4C8,
 F4U5J9, F4UGT0, F4UBL7, F4U430, F4U441, F4U4C9, F4U4G9, F4U8H2, F4UH36, F4U4S4,
 F4U5C6, F4UBL6, F4U5W8, F4U669, F4UCC3, F4UCH5, F4UCK1, F4U6W0, F4U710, F4UD74,
 F4UD84, F4UDQ0, F4U663, F4UBF2, F4U7X9, F4U8L5, F4UFD1, F4UFZ6, F4UGS9, F4U8F9,
 F4U787, F4U6T9, F4U922, F4UB28, F4UF24, F4UBF6, F4U8A8, F4UBG2, F4U9F1, F4UER3,
 F4U7F5, F4UG02, F4U5L3, F4U5J8, F4U7X5, F4U9H3, F4UD19, F4UA89, F4UAH8, F4U7V0,
 F4U6N1, F4UER7, F4UEM3, F4U7G3, F4UBK8, F4UAE5, H5EPY6, H5EI27, H5EST3, H5EBH0,
 H5ENF1, H5EFT7, H5EG16, H5EGJ1, H5EGY4, H5EP01, H5EP02, H5EHW3, H5EC47, H5EPD8,
 H5EPE2, H5EC55, H5ECS7, H5EJH4, H5EJL9, H5EQZ1, H5ER28, H5EDU9, H5EE56, H5EE57,
 H5EKG0, H5ERX3, H5EE82, H5EKL3, H5EEP9, H5EER1, H5ESD8, H5EL09, H5EF47, H5ELN3, 30
 H5EHT0, H5EIT6, H5EN75, H5EEI1, H5EPD9, H5EKU6, H5EBV8, H5EC34, H5ELI2, H5EEI8,
 H5EMA1, H5EF04, H5EGW9, H5ESC1, H5ED39, H5EBH7, H5ENF8, H5EG38, H5ELW8, H5ER19,
 H5EKU0, H5ECS8, H5EC32, H5EFI5, H5ECW8, H5EKG1, H5ES99, H5EBH6, H5EGW5, H5EBR4,
 H5ECU3, H5EE15, H5EQS5, H5EEI2, H5EG42, H5ELW0, H5EBW4, H5EG94, D7Z772, D7ZK90,
 D7ZDE5, D7ZCK5, D7ZG16, D7ZKA9, D7ZBJ9, D7ZHM6, D7ZDY0, D7ZHD3, D7ZGF4, D7ZF74,
 D7ZKB7, D7Z8B0, D7Z8G5, D7ZCC1, D7ZCH0, D7ZIM2, D7ZC15, D7ZCK6, D7ZCP7, D7Z8I4,
 D7ZJB8, D7ZC16, D7ZA55, D7ZGC9, D7ZLE1, D7ZDD5, D7Z9A9, D7ZA30, D7ZAD7, D7ZD47,
 D7ZFR7, D7ZAN5, D7ZAS7, D7ZAS5, D7ZM23, D7ZGH5, D7ZMQ1, D7ZE85, D7ZE86, D7ZBD0,
 D7ZD00, D7ZHL7, D7ZA39, D7ZD48, D7Z750, D7ZAI2, D7ZII8, D7ZME4, D7ZBW3, D7ZKD0,
 D7ZG20, D7ZDE4, D7ZG03, D7ZF80, D7ZBH0, D7ZGH9, D7ZHM5, D7Z9A8, D7Z8Z0, D7ZCA9, 40
 D7Z8C3, D7ZGC1, D7Z783, D7ZG15, D7ZH09, D7ZDV8, D7ZJP0, D7ZBK0, D7ZKC8, D7ZDZ8,
 D7ZL85, D8AZL4, D8B0B1, D8AXI7, D8B0U5, D8B2W2, D8AZE1, D8AYL4, D8B1Z5, D8B681,
 D8B1W6, D8B1C6, D8B896, D8B0K5, D8B214, D8B2W4, D8B2X2, D8AYI6, D8AWR7, D8B351,
 D8B7W1, D8B2G9, D8B2H3, D8B4G4, D8B4I0, D8B0B2, D8B0C4, D8AXI6, D8AXN7, D8B7N9,
 D8B897, D8B680, D8B6A6, D8B0T1, D8B9D6, D8B617, D8AZL5, D8B9X9, D8AXP5, D8B3K0,
 D8AZE2, D8B1E6, D8B418, D8AYK1, D8B5X3, D8AX31, D8B1Y7, D8B9I2, D8B7D1, D8B6F7,
 D8B108, D8B991, D8AXL3, D8AYH7, D8B0A6, D8B1W7, D8B5U6, D8B3R6, D8B810, D8BA51,
 D8B9M3, H5JT76, H5JTA4, H5JTJ2, H5K0L0, H5K0L1, H5JUH0, H5JUH1, H5JUJ7, H5K756,
 H5JUR4, H5K7F6, H5JV76, H5K1M8, H5K8D9, H5JVX5, H5JW17, H5K295, H5K8E5, H5JWU2,
 H5K3T2, H5K455, H5K458, H5JY23, H5JYB7, H5K5G3, H4VT31, H4VTP0, H4VU55, H4W114, 50

H4VUX7, H4VUZ7, H4VVN5, H4W1Y5, H4W272, H4VXQ7, H4VRN6, H4VRP4, H4VYC9, H4VYP4,
 H4VYQ0, H4VYU2, H4VZ25, H4VZ34, H5JV48, H5JSW2, H5K4T2, H5K454, H5JT53, H5JT07,
 H5JYI0, H5K163, H4W5B5, H5K6P1, H4W1R5, H5JWW5, H5JWW9, H5JT84, H4VRR5, H5JXG8,
 H4VYI3, H4W1R2, H5JUX5, H5K8E6, H5K1M9, H4VUL9, H4W480, H4W2E4, H4VVR5, H5JW30,
 H4W1F6, H5JY55, H4VTZ4, H4VZY5, H4VUJ5, H5K6V2, H5K1J5, H5K0W5, H4VS02, H4VUM3,
 H4W3W3, H4VTI4, H4VUG3, H5K3T3, H4VU49, H4VSY8, H4VUH0, H4W582, H5K133, H4VZR2,
 H5JW31, H5K857, H4VU48, H4W287, H5JVR5, H4W1F7, H4VRD4, H4W5B6, H4VT97, H4VTF9,
 H5JZH3, H4W4J3, H4W4F0, H4VSY7, H4VTF8, H5K3K1, H4VRM4, H4VTQ1, H4W1R0, H5JWR7,
 H5K2U9, H4VRI0, H4VRM3, H4VZ33, H4VU36, H5JW35, H4VYD0, H5JT51, H5JV49, H5JXI5,
 H5K127, H4W0F7, H4VS30, H4VWX3, H5JXH2, F3U6V8, F5M8S0, F5M8U4, F5M670, F3U5N5, 10
 F5M9C3, F5M663, F5M9K7, F3U8I2, F3U5K9, F3U6U4, F5M8T2, F5M9T4, F5MAL1, F5MB64,
 F5M605, F5MBJ7, F5M701, F5MCP3, F5MCX2, F5MCX8, F5M7T3, F5M8F6, F5M5U7, F5M6G7,
 F5M8T6, F5M8C0, F5M964, F5M7S2, F3U6D3, F5M9C4, F5MBK1, F3U7J1, F5M8S1, F5M6F2,
 F5M6H1, F5M8J8, F3U831, F5M6L5, F3U7I5, F3U5N6, F5M749, F5MAZ6, F3U5D7, F5M6H5,
 F5MCW9, F5M8N1, F5M9E0, F5MCH7, F5MD39, F5MAQ4, F3U590, F5M622, F5M669, F3U740,
 D8AHJ5, D8AJ83, D8AVX0, D8AMM7, D8AR24, D8AND0, H5DIK5, H5DQ44, H5DD03, H5DQE7,
 H5DD93, H5DDA6, H5DDB4, H5DDQ1, H5DKK7, H5DEL0, H5DEP0, H5DSD5, H5DSD6, H5DLB1,
 H5DF78, H5DFA4, H5DLG2, H5DSY0, H5DFN6, H5DFP8, H5DFR2, H5DFW6, H5DFW7, H5DGK7,
 H5DGQ5, H5DH28, H5DN90, H5DH98, H5DHK5, H5DHX9, H5DP86, H5DIH1, D8AQP2, H5DM26,
 H5DFV4, H5DPQ2, D8API3, H5DLB0, H5DGN2, H5DP49, H5DJY1, D8ANK7, D8AKP2, H5DD91, 20
 H5DET9, H5DDG3, H5DPP9, H5DSK4, H5DHC1, H5DLS8, H5DSG3, H5DDD6, H5DL77, H5DRR4,
 H5DSP8, D8ALU7, H5DLX6, H5DTJ7, H5DFX3, H5DMM1, H5DGQ9, D8ATF5, H5DDG4, H5DDS5,
 H5DPP8, H5DDF7, D8AR03, H5DHV8, D8AQY4, H5DEK9, H5DJM7, H5DP87, H5DL83, H5DHW3,
 H5DD47, H5DIY1, H5DJZ9, H5DF79, H5DIS2, H5DM34, H5DF03, D8ATP2, D8AJ09, D8ANT5,
 D8AKI5, D8ARY9, D8AVC1, D8AJ59, D8AJ84, D8AQP3, D8AQQ6, D8ARJ4, D8AMM8, D8AN42,
 D8ARV7, D8AR23, D8APU5, D8AHN3, D8AQU6, D8AIC9, D8ALT1, D8ALJ7, D8ALU8, D8AMN6,
 D8AQN8, D8ALY4, D8API2, D8AST7, D8AVV5, D8ARW5, D8AKQ0, D8AU89, D8ANC9, D8AHI2,
 D8AN12, D8ATF4, D8AIZ8, D8AR11, D8AHT4, D8AUB0, D8AS89, D8AJH2, D8ANP1, D8ARQ2,
 D8AN38, D8AW13, H4K1B5, H4KA51, H4JY66, H4JY84, H4K1Q0, H4K0Z9, H4JWT5, H4JXC5,
 H4K8U2, H4JY22, H4K2N3, H4K792, H4K629, H4JY92, H4K4T1, H4K166, H4K558, H4K559, 30
 H4K2J2, H4JXI2, H4JXH4, H4JYB2, H4K4T7, H4K4X6, H4K550, H4KBG5, H4JZR4, H4K5S9,
 H4K072, H4K6D8, H4K0M4, H4K0Z7, H4K1B9, H4K1M7, H4K1N6, H4K821, H4K2E0, H4K2W9,
 H4K3N1, H4K908, H4K909, H4K001, H4K9I7, H4K0R1, H4K8H6, H4K190, H4JY67, H4KAP9,
 H4JXI3, H4JZK4, H4K2B6, H4K2J3, H4K6W7, H4K705, H4JYG4, H4K083, H4K1N0, H4KBI2,
 F1XZQ2, F1Y057, F1Y9S8, F1YBV3, F1YAT7, F1Y191, F1Y1N7, F1YD25, F1XYL9, F1Y4X2,
 F1Y058, F1Y803, F1YBV5, F1Y6J1, F1YCQ6, F1Y6K8, F1Y6S4, F1Y0X5, F1Y708, F1Y7C7,
 F1Y183, F1Y1Q7, F1Y7X2, F1Y7X3, F1Y865, F1Y3F4, F1Y9Y2, F1YAF4, F1YAG4, F1YAK1,
 F1YAT6, F1YAZ5, F1YB45, F1XYL8, F1XZ13, F1Y5H4, F1YC41, F1YC47, F1YC58, F1XZB7,
 F1XZQ3, F1Y5Y9, F1YCK1, F1Y843, F1Y0X6, F1Y467, F1Y5L5, F1YC95, F1XZ91, F1YCI9,
 F1Y9S7, F1YAF8, F1YDH8, F1YD27, F1Y1S6, F1Y694, F1Y024, F1XZL9, F1Y611, F1YAA4, 40
 F1Y8D7, F1Y8U6, F1Y825, F1YD24, F1YAS7, F1YC45, F1XZB2, F1XZW7, F1YBV2, F1YAY8,
 F1YB41, F1YDJ3, F1Y264, F1YB18, F1Y184, F1Y8Q7, F1Y1R5, H4TAD3, H4TEU8, H4T5U3,
 H4T638, H4T6I7, H4T7V4, H4TD93, H4T2X9, H4T271, B3IEU0, H4TA05, H4T9Z9, B3IN77,
 B3IPM7, H4TCL3, H4T3Y8, H4TC39, H4TFV4, H4T4I3, H4T6V4, H4TGJ1, H4T2J8, B3IN85,
 H4TB08, B3IM27, H4TEF6, H4TEF5, H4TGI3, H4T5C5, H4T6T0, H4TAC4, H4T6B5, H4T640,
 B3IR44, B3IR47, B3IGF3, B3IGF4, B3ILF0, B3IF50, B3IN78, B3IQE2, B3IK46, B3IHL2,
 B3IHL6, B3IFG6, B3IKU8, B3IKU9, B3IE54, B3IGR6, B3IM26, B3ISH2, B3IH66, B3ISP9,
 【 0 5 7 2 】
 B3IE07, B3IL48, B3INZ7, H4T4P6, H4TDH8, H4T7N8, H4T1Y0, H4T2K9, H4T2L7, H4TF49,
 H4T2N7, H4T982, B3IL70, H4T9P7, H4T9V3, H4TGJ0, H4T425, H4TGX7, H4TGZ7, H4TH15, 50

H4T4W3, H4T519, H4TBA7, H4TBA8, H4T5L9, H4T5U8, H4T641, H4T691, H4TCV2, B3IGM9,
 B3ISZ0, H4T2F3, H4TA46, H4TCV3, B3IES6, H4T5T0, B3INF9, B3IFL3, B3IG22, B3IL94,
 H4T4W2, H4T6T3, H4T6Y9, B3INB6, B3IG14, H4T252, H4T821, H4TCV7, H4T7L2, H4T5U1,
 B3IHH7, B3IKM4, B3IPR0, B3IG41, B3IFK0, B3IG01, B3ILB1, B3IPM8, H4TAD4, B3IFB5,
 B3IKA5, B3IJ68, H4TFG3, H4T424, H4TBJ4, B3IFG5, B3IM19, H4T272, H4TCF3, H4T8D9,
 H4TDU1, B3IMK9, B3IQV3, B3IQH4, B3IG02, H4T5B4, H4T6J1, B3ISI4, B3IL38, B3IJD2,
 B3IFB3, B3IHM3, B3II05, B3IHP8, B3IPZ4, B3IM87, B3INZ0, B3IET9, H5L5D1, H5LAZ9,
 H5LBD1, F4T8B2, B3ALD2, H5L8C6, H5L2S9, H5L514, H5L8C5, H5LBW9, F4T367, B3AQD0,
 H5LCW4, B3AHX1, B3AU82, F4T4M4, B3AHW2, B3AJH2, H5L3T9, H5LEN2, F4SZR6, B3ARM5,
 H5L2S8, F4T7A1, F4T0Q8, H5LC95, F4SWM8, H5L5Q5, H5L437, B3ANX8, B3AJH1, B3ATJ5, 10
 B3AIP6, B3AFR3, B3AKP4, B3AQC9, B3AQD2, B3AJU5, B3AK97, B3AU72, B3AIE0, B3ALS0,
 B3AKR7, B3AG58, B3AH92, B3ANX7, B3AR97, B3ASC9, B3AHX0, B3AR51, F4SWE3, F4T234,
 F4T6S5, F4SZR7, F4T368, F4ST17, F4ST37, F4ST45, F4SV69, F4SZW5, F4T029, F4T0H2,
 F4SVG2, F4SXH0, F4SXH6, F4T0Q7, F4T120, F4T155, F4T2X6, F4T4S5, F4T4L1, F4T8B1,
 B3AI70, F4SV80, H5L4F0, F4T0Z8, H5L3M5, H5L2N4, H5L8N8, H5LBD2, H5L2U2, H5L2X0,
 F4SW96, F4T7B6, H5L3M6, H5L3S8, H5L423, H5L4B5, H5L4L2, H5L4M3, B3AJV7, H5LBX4,
 H5L5S6, H5L5S9, H5L6G3, H5LCW3, H5LDF2, H5L7F5, H5LDS6, H5L7X0, H5LE87, H5L8N1,
 H5LEQ6, H5L2J1, H5LF41, H5L901, H5L912, F4T023, H5L5M1, H5LES2, F4SZC1, F4T4W9,
 B3AIA8, B3AKU7, B3ARW2, B3ASE8, B3AGQ8, B3AR87, B3AIW4, F4SZN0, H5L3Q0, H5L8S5,
 B3AH76, F4SVU3, F4SVY9, F4SWU9, B3AK95, F4SUP4, F4SXW3, H5L4X2, F4SVT5, B3AW49, 20
 B3AL01, B3AMQ5, F4ST18, B3AJA9, H5L3U0, H5LB49, F4SU88, F4T4B5, H5LF40, B3ALC1,
 F4SWD3, H5L4B6, H5LAM3, H5L911, H5L2V0, H5L3U4, B3AKN8, B3AW11, B3AMQ6, B3AUS3,
 B3ALD1, H5L8G9, F4ST64, F4SUP3, F4T7I3, B3AL46, H5L996, F4T097, F4T361, B3AH38,
 F4ST29, B3AP08, F4SXT7, F4T3G8, F4STK0, F4T0H6, B3AN54, B3ARI2, B3ASD7, B3AUS7,
 F4SVA4, F4SVW7, F4T351, B3AL11, B3AL05, B3AKH3, B3AP25, B3ARM6, F4T019, F4T2U1,
 F4T4A7, F4T555, B3AM39, B3AJK6, B3AGB3, F4T684, F4T6K5, B3ALI0, B3AS77, E9TZC3,
 H5FDN0, H5FDR2, H5FJT4, H5FHT7, H5FP60, H5FBR7, H5FI42, H5FBT0, H5FCB5, H5FE30,
 H5FKF6, H5FL82, H5FFC5, H5FCS5, E9TTQ1, E9TTV4, H5F9H1, H5F9T2, H5FA35, H5FGB2,
 H5FGH8, E9U0Y8, E9TPC5, E9TXC0, H5FH59, H5FNL6, H5FB85, E9TRQ7, E9TSW6, H5FMT4,
 H5FAY0, H5FNM4, H5FC75, H5FBE8, H5FNM3, E9TUG1, H5FJG4, H5FCD5, H5F9R0, H5FMR2, 30
 H5FDT2, E9U3G9, E9TRK0, H5FGQ7, H5F9L6, H5FDT3, H5FEG1, H5FCU8, H5FGB3, H5FMI7,
 H5FH49, H5FFN8, H5F9V3, H5FCC9, H5FD45, H5FJG5, H5FAY1, H5FD22, H5F9R1, H5FH58,
 H5FD26, H5FLW5, H5F9S4, H5FB09, H5FIQ7, E9TXC9, E9TTS2, E9TZA2, H5FJ84, H5FLV1,
 H5FDV7, H5FJS6, H5FCC8, H5FCV1, H5FKY3, H5FJS4, H5FGV2, E9TQ57, H5FGR3, E9TZA3,
 E9U0Y9, E9TPQ0, E9TPT6, E9TW44, E9TPY4, E9TQ58, E9TXD0, E9TXG0, E9TRW8, E9U4H9,
 E9U4P0, E9TSI9, E9TYJ7, E9TPD9, E9TSJ3, E9TX31, E9TZ00, E9TZZ8, E9TTB5, E9TZY0,
 E9TSE2, E9TY69, E9TWS1, E9U429, E9TRI6, E9TVU5, E9U2T9, E9TPU5, E9TVL1, E9TW95,
 E9TZB5, E9U0F1, E9TQ66, E9TV63, E9TVD9, E9TX71, E9TW37, E9TW90, E9U4S0, E9TQS2,
 E9TTS3, E9TTQ0, E9TU44, E9TWF7, E9U2D6, E9TPE6, E9U3G8, E9TPJ9, E9TUB0, E9TUG0,
 E9TQU7, E9TU50, E9U082, E9TRT9, E9TWM0, E9TSS9, E9TSW7, E9TR18, H5G8D8, H5GL26, 40
 G7QEP2, H5G9A8, H5GCT4, H5GHD2, H5GAK9, H5G8U6, H5G6V2, H5G761, H5G936, H5GKQ3,
 H5GDK4, H5GE46, H5GI02, H5G991, H5GJX2, H5G9A4, H5GL25, H5GF00, H5GGP1, H5GEM1,
 H5GBT2, H5G6X9, H5GA73, H5GHC9, G7QEJ3, H5G8T6, H5GFG6, H5GKL0, H5G8D9, H5GJM7,
 H5GE40, H5G707, H5GAL3, H5GBF0, H5GBK8, H5GBK9, H5GII9, H5GIJ0, H5G6P5, H5G6Y7,
 H5GJN5, H5GJW5, H5GJX3, H5G7W0, H5G7W1, H5GKF3, H5G870, H5GEM9, H5GEN0, H5G9M3,
 H5GA69, H5GG86, H5GCJ0, H5G8G4, H5GAM7, H5GBB6, H5GH09, H5GDQ0, H5G9A3, H5GEA4,
 H5GA14, H5GDK5, H5G6V3, H5GKJ5, H5G809, H5GHC8, H5GH08, H5GGS8, G5WNE2, G5WNI0,
 G5WLX4, G5WSV0, G5WP98, G5WIU7, G5WJ46, G5WNG1, G5WQ77, G5WV26, G5WRX9, G5WVB4,
 G5WKA6, G5WXZ6, G5WQR3, G5WQX1, G5WQY1, G5WNE3, G5WNF3, G5WR98, G5WX78, G5WRM0,
 G5WRP5, G5WRW6, G5WPI6, G5WPU1, G5WSM0, G5WIM0, G5WQ27, G5WQ66, G5WQ81, G5WJ45, 50

G5WJR5, G5WU39, G5WUN9, G5WLC4, G5WVG0, G5WVL3, G5WWD3, G5WVB5, G5WMR3, G5WP97,
 G5WV16, G5WQL1, G5WXZ5, G5WN62, G5WIU8, G5WLV2, G5WPC8, G5WL05, G5WWW6, G5WV25,
 G5WVK9, G5WVP7, G5WQH7, G5WJ49, G5WQ76, G5WRJ7, G5WRP2, G5WLD0, G5WLY9, G5WKA7,
 G5WSP7, G5WM63, G5WT87, G5WRW2, G5WSV1, G5WVL9, E3XLQ5, E3XMN8, E3XSE2, E3XLN5,
 G1YHZ7, G1Y7B5, G1YBB1, E3XLK9, G1Y880, G1YBZ6, G1Y4Z1, G1YFP8, E3XUP6, E3XV15,
 G1Y6H1, G1Y6P0, G1Y6W2, G1Y7A2, G1Y7P2, G1YDM2, G1YDM3, G1Y7R7, G1Y868, G1Y8N1,
 G1Y958, G1YA22, E3XSK9, E3XTS0, E3XSY0, E3XGH2, E3XGY6, E3XP61, G1YGL2, G1Y595,
 G1YI05, E3XJ72, E3XNE3, E3XVN7, E3XUJ6, E3XJX2, E3XHY0, E3XUX9, E3XVU5, E3XR81,
 E3XR91, G1YI06, G1YBZ5, G1YIJ5, G1Y615, G1Y616, G1YIN7, G1YIN8, G1Y6A8, E3XIG2,
 G1Y8R0, G1YBB2, G1YBM6, E3XML6, E3XVE7, E3XR85, E3XQD5, E3XRC9, E3XKW8, G1YDX7, 10
 E3XKX6, G1YBY7, G1Y511, G1Y643, G1YES2, E3XLB7, E3XML9, E3XUE1, G1Y763, G1YF73,
 G1YG94, G1YBF6, G1YFP9, G1YBR0, G1YH24, E3XUE5, G1Y4Y3, E3XTF8, E3XQD4, G1YBM3,
 E3XKX5, G1Y6R3, E3XUP8, E3XR24, E3XLG6, G1YHB0, E3XLM2, E3XMB0, G1Y7B9, E3XLM7,
 G1YD63, G1YDY0, G1Y6X5, G1Y973, G1YBN2, G1YCK3, G1YD39, E3XRW9, G1YDE2, E3XU00,
 G1YIF3, E3XIY3, E3XKF7, G1Y9H6, G1Y7B4, G1Y7E9, G1Y7U3, E3XJF4, E3XSE1, E3XUH1,
 G1Y7U0, E3XHS1, E3XQC6, G1YH87, E3XMM5, G1YDX5, E3XVF8, E3XLL0, G1Y6N9, G1Y9Q4,
 E3XN82, E3XVL4, H5B910, H5G4V9, H4UV52, D6IUY4, H4V6M6, G2CHN4, G2CEI7, H5G4W0,
 H5G1T0, H5FZH5, H5FSJ4, H5B8G8, H5G2H0, H4V029, H5B7Q4, H5FQ35, H5FQT8, H5B6Q5,
 H5FZ83, H4UYV3, H4V6T2, H4V9Z1, H5B5V2, H5B7E2, D6IJF3, H5FYY8, H5FUL8, H5FTR6,
 H5G235, H4UUR5, H4V4B7, H4V3F4, H4V8N2, H5G4J2, D6IRK8, H4V6U6, H5FSX2, H5FY48, 20
 H5FZH6, H4V2C5, H5FRT9, H4V0Q0, H5B941, H5BBW1, H5FUG4, H4UZX4, D6IIM9, H5B7S9,
 H5B483, H5B6E2, H5FQW2, H5G0T1, H5BBP8, H5G5T6, H4UV40, H4UV60, H5B6B6, H5FYT0,
 H5BFN2, H5FU19, H5FQ56, F4V4A2, F4UZB0, H5BJK0, H5BI49, H5BIL4, H4UUZ6, H4UVH5,
 H4V028, H5BH51, H5FS59, H5FYI6, H5G4Z9, H4V5M4, H4V607, H5B4L8, H5FQ48, H5FTA0,
 H5B7V2, H5FTP9, F4V180, F4V430, H5BB40, G2CFE8, H5BES0, H4V9U9, H5G362, H4V3J5,
 H5BAA9, H4UWR1, F4UXU7, H4V3S8, H5B4C9, H5FTR1, H4UYS9, H5B8F4, H5BFN3, H4V004,
 H5BJN6, H5FSU7, H5B4H3, D6IJF9, F4UXR3, H5BBK4, H5G5J9, G2CMX9, H5B507, H5FPZ1,
 H5B5Y7, G2CF73, H5FTW2, H4UYV7, H5FSU6, H5G1G1, H5FQ77, D6IPW4, D6IWT7, D6IP60,
 D6IP82, D6IRK9, D6IUW9, D6INA2, D6IS83, D6IUK6, D6INZ0, D6IJS7, D6IVG8, D6IK44,
 D6IK64, D6IPT0, D6IND5, D6IPW5, D6ILD1, D6ILD2, D6IPR0, D6IT03, D6IMD5, D6IJF8, 30
 D6ILX0, D6IT79, H5BBV5, H5BIA5, H5FRT8, H5FYI5, H5FS60, H5B652, H5B6B5, H5G5C3,
 H5BCH0, H5BIV1, H5FSQ8, H5FYZ4, H5G5F4, H5BJK7, H5FZG7, H5G5T8, G2CEY4, G2CF28,
 G2CFE0, G2CST5, G2CSV7, H5B711, H5BDB5, H5FTI9, H5B7E1, H5B7E7, G2CT82, G2CFP3,
 G2CGI0, G2CGI1, G2CGK6, G2CGR9, H5FTR2, H5G078, H5B7V5, H5BE43, H5FU44, H5FU95,
 H5FU96, H5FUB4, H5FUB5, G2CHI1, G2CNN4, G2CPE6, G2CIL1, G2CIL2, H5BET0, H5FUL3,
 H5G1F1, H5G1P2, H5BFA4, H5BFA5, F4V1U3, F4V213, G2CIW3, G2CPZ2, G2CJ13, G2CQC1,
 G2CJ91, G2CJA5, G2CQN7, G2CQP0, G2CQV7, H5G1V5, H5FVU9, H5FW12, H5B9N5, F4V8W2,
 F4V300, F4UX42, F4V3Q2, G2CR74, G2CRD0, H5FPC5, H5FPD3, H5FWA2, H5BGF5, H5FPU7,
 F4V5U0, F4V4S3, F4UXT0, F4V3Z0, F4V3Z4, F4V494, G2CK57, H5FQ34, F4UZM4, F4UZV5,
 G2CEH9, H5B4H5, H5B4J6, H5BHD7, H4UVM9, H4V2A4, D6IRV6, D6IVT0, F4V0C4, F4V0K6, 40
 F4V113, H4UWG9, H4UWJ4, H4V318, H4V319, H4UX36, H4UX75, H4UX86, H4UXH6, H4V9Z0,
 H4UXX5, H4UY87, H4UY88, H4V4G5, H4UYQ3, H4V527, H4UZ25, H4V5S1, H4V608, H4V055,
 H4V6B1, H4V6B2, H4V703, H4UV39, H4UV81, H4UVK2, H4V1T3, H5G3X8, H5BBK3, H5BHZ0,
 H4V369, G2CMJ3, H5BF16, D6IK56, D6IP09, G2CSA3, H5B5V1, H4UY93, H5B4I8, H4V6B5,
 G2CFG9, G2CHN3, H5B531, F4V005, H5BFN6, F4UX43, F4V3Z9, G2CLN6, G2CMJ9, H4UZA6,
 H5B7C8, H5G2G7, G2CIY7, H5B6S0, H4V8U8, H5FT87, G2CQC0, H5BC59, H4V8Z0, D6IK82,
 D6IUB9, D6IMY7, D6IR76, D6IRV2, D6IUY3, H5G2G5, F4UZS7, F4UXI7, F4V749, F4V685,
 G2CLX4, H5FPD4, G2CH71, H5FXE0, H5FS91, H4V3E8, D6IMA7, D6IUZ8, D6INU2, F4V8G9,
 F4V7K0, H4V8B5, F4V7C6, G2CIV5, G2CEG4, G2CEI6, H5BCG1, G2CMN9, H5BCG9, H4UWG8,
 H4UY75, H5G234, H5B8F0, D6INA1, D6IPN4, D6IRW2, F4UYN2, F4V7C2, D6IN43, D6IS74, 50

F4UXS3, F4V6P6, F4V4Y1, G2CHN8, D6IK04, D6IMB3, G2CMX0, D6IVD1, D6IP68, D6ILM7,
D6ILG2, F4UZD1, F4V1W5, F4V0Y4, F4V3U6, G2CLN7, D6IMG2, D6IQX4, D6IS82, G2CJ16,
D6IJW4, F4UXI9, F4V0Z1, G2CI32, G2CMI8, G2CKW8, D6IKL7, F4V999, F4UZA9, G2CH02,
G2CQN6, D6IV11, G2CTE5, G2CQ37, F4V0K2, G2CR61, D6IJA0, D6IS00, F4V1Y1, F4V214,
G2CMD3, F4V4A1, F4V735, G2CHM1, D6IJS8, F4V5C2, G2CLU2, G2CMX8, G2CSM1, D6IMG6,
D6IX44, D6IWH4, D6IKI7, D6IST0, D6ILL7, F4V5J6, F4V686, G2CJ87, G2CF74, D6IIL0,
D6IVH2, D6IRQ3, D6IK45, D6IIP4, D6ITI1, H5MSV2, H5MSV3, H5MSV8, H5MT69, H5MZ60,
H5MZG9, H5MZH2, H5MTW6, H5MTW7, H5MUA2, H5N0E1, H5N172, H5MV20, H5N208, H5MPW1,
H5MPZ0, H5MW98, H5MWH6, H5MWI4, H5MQ73, H5MX56, H5MRF8, H5MYG6, H5MPU8, H5MTC5,
H5MZG8, H5MW64, H5N0E0, H5MRF9, H5MTL6, H5N2X5, H5MWI5, H5MZW5, H5N2Y2, H5MQZ6,
H5MRI3, H5MTK1, H5MPK8, H5N1I7, H5MRN2, H5MRP4, H5MSC5, H5MYM7, H5MTA1, H5MW06,
H5MVF9, H5MZ61, H5MPW9, H5MR27, H5MPQ3, H5MX55, H5N0U9, H5N1Y4, H5N2Y3, H5MSU0,
H5MPU6, H5MXV8, H5MXB3, H5MSK9, H5MT76, H5MQZ5, H5MS93, H5MW70, H5MR89, H5MTJ7,
H5MTC8, H5PUD5, H5Q8U4, H0QE87, H0QAH7, H5PVL7, H5Q084, H5Q8K4, H5PXD1, H0Q804,
H5PXS6, H5PXD5, H5Q3P8, H5Q104, H5PVU2, H5PYG9, H0Q6Y4, H5Q103, H5PXU3, H5Q8P9,
H5PZ24, H0Q9Y7, H5PWY9, H0QCZ8, H5Q933, H5Q0Z5, H0Q6I0, H0Q9T0, H5PWD7, E7JJ39,
E7JJ40, E7JED4, E7JLQ3, E7JM29, E7JM35, E7JP00, E7JQJ2, E7JQJ8, E7JQL0, E7JSF5,
E7JH33, E7JMG0, E7JEV2, E7JG12, E7JHD0, E7JHF6, E7JHJ8, E7JIQ3, E7JKH0, E7JND3,
H0QCE1, H5PVL6, H0Q9Y3, H0QDJ8, H5PYD2, H5PYN0, H5Q618, H5PU24, H5PU32, H5PU51,
H5Q6J4, H5Q6V7, E7JFT2, H5Q7C9, H5PV53, H5PV88, H5PVE9, H5Q1K3, H5Q0N1, H5PVP2,
H5Q845, H5Q852, H5PVV3, H5PWE3, E7JHP0, H5PWM4, H5PWZ9, H5PX76, H5Q3E6, H5Q3Z3,
H5Q407, H5Q492, H5Q491, H5Q4J8, H5Q4J9, H0QAM2, H0QAR0, H0QAZ7, H0QBL3, H0QBS9,
H0QBV1, H5Q0Q1, H0Q6D8, H0QCB0, H0QCD5, H0QCM6, H0QCQ2, H0Q6W9, H0QDG3, H0QDG6,
H0QE83, H0QFJ2, H0QFR9, H0QFT4, H0QAH8, H0QE84, H5Q8Z3, E7JP01, E7JRA8, H5PV54,
H5PW86, E7JMG1, E7JPO9, H0Q703, H0Q8D0, H0QCG2, H5Q536, E7JIM6, E7JPI2, H5PXT0,
E7JHB1, E7JHF5, H0QC09, H5Q8U2, H0QBL4, H5PXA8, H0Q9S7, H5Q853, H5Q3B8, H5Q310,

10

20

30

40

50

【 0 5 7 3 】

H5Q916, H0QDH2, H5Q311, H5PWC5, H5PX83, H5Q246, E7JES7, E7JPC6, H5Q355, H5Q3B2,
H5Q4K2, E7JKG9, H5Q002, E7JK26, E7JPD0, H5PWD8, H0QAD6, H0QAY7, H0QBN0, E7JRA9,
E7JGD1, H0Q7D3, E7JLD6, E7JR32, E7JGY9, H0QC61, H0QFQ0, E7JRK0, H0Q6X0, E7JPM5,
E7JIX2, E7JMQ7, E7JL67, H0QBS8, E7JH30, E7JHE3, E7JJI5, E7JPC0, E7JMT9, H0QCA9,
E7JFM3, E9ULY5, H0QBZ9, E7JHD9, E7JP81, E7JGB9, E9UM21, H0QCB4, H0QAZ5, H0QC99,
H0QF89, E7JMH8, H0Q915, E7JR59, H0Q6M2, E7JH14, H4IAN9, H4IAR2, H4WWF7, H4I8H4,
H4WYU8, H4WM40, H4WR80, H4WWY4, H4WQ40, H4IDQ2, H4WMC5, H4WYF0, H4I9I1, H4WLX7,
H4I8V8, H4IAA1, H4II65, H4I8Z5, H4WN19, H4WT06, H4WLR2, H4I9Y9, H4WY28, H4WSD9,
H4WQQ4, H4WKZ0, H4WNN2, H4WKK8, H4ID16, H4I845, H4WWZ8, H4IDA1, H4IHN3, H4WLW9,
H4I9M9, H4WP18, H4WYG6, H4WN20, H4IAW4, H4I9A6, H4IED3, H4IFL7, H4WZD6, H4WPQ7,
H4I6G3, H4I825, H4IL18, H4WQM4, H4WQW3, H4WRQ1, H4WZG0, H4WTK5, H4WTW9, H4WU50,
H4WU59, H4X087, H4I9K5, H4I9N3, H4WUU9, H4WVK1, H4WVK2, H4WVV7, H4WVV8, H4WVW5,
H4WQ22, H4WWE3, H4WKU0, H4I9Z5, H4IA08, H4IGF1, H4IGR2, H4WLL9, H4WLZ8, H4WM41,
H4WNB6, H4WP31, H4WP36, H4IAB3, H4WPF1, H4IAW5, H4IHG8, H4IB72, H4IHN2, H4WX53,
H4WPW2, H4IC40, H4WPK4, H4IIT4, H4I6C1, H4WLV6, H4WP32, H4I6G4, H4I6H6, H4I6U3,
H4ID92, H4IDA0, H4IDI3, H4IJT1, H4IDP6, H4WPW1, H4I7M7, H4IKE2, H4IKL9, H4WTG0,
H4I6L0, H4WTS0, H4IF21, H4I9A8, H4WLV5, H4WNP2, H4WPK1, H4WU60, H4WZ56, H4I6I1,
H4IKE1, H4IH50, H4WL75, H4WN54, H4X0D3, H4I6I9, H4WL76, H4WNN9, H4WTG7, H4WNI3,
H4WPH8, H4I9Y6, H4IAY4, H4IG67, H4I8G3, H4IKD4, H4IJC9, H4WKY9, H1FIG0, H1FIL9,
H1FIQ1, H1FJ95, H1FQK5, H1FDV3, H1FEG0, H1FEQ3, H1FL11, H1FFC3, H1FLL4, H1FLT8,
G2EZF7, H1FG30, H1FGM3, H1FGM6, H1FMQ9, H1FH16, H1FH35, G2F7X6, H1FHD9, H1FKC7,
G2F5R9, G2F424, G2F873, G2F8U9, H1FGW8, H1FIB2, G2F4Y7, H1FE32, G2F0Z6, H1FDW6,
H1FQZ8, H1FHH7, G2FAE8, H1FF91, H1FGV4, H1FQE4, H1FHV6, H1FQN3, G2F5A8, H1FFN7,

H1FPH6, H1FE58, H1FGU5, H1FLK5, G2EZ74, G2F7S0, G2F4R6, H1FGD3, H1FH54, H1FK25, H1FG18, H1FNQ3, G2F117, H1FJ55, H1FQG5, H1FHU8, G2F1V0, G2F1F5, H1FFM6, H1FIN2, H1FJR4, H1FIK9, H1FMC1, H1FMW6, H1FKZ8, H1FH43, H1FGH7, H1FNT1, H1FGU8, H1FIL3, H1FL61, H1FGK1, H1FHU9, H1FDV2, G2EYS9, G2EZ63, G2EZT7, H1FLA1, G2F077, G2F4Y4, H1FG29, H1FG34, H1FGD1, G2F5A9, G2F7D5, G2FAH0, G2F1W7, G2F5K9, G2F7S1, G2F7Y9, H1FHH6, G2F8X5, G2F3U0, G2F4J0, G2F6T5, G2EXV1, G2EY60, G2EZG7, G2F104, G2F874, G2EY94, G2EZ78, G2F0W2, H1FIB3, G2EZU1, H1FL12, G2F199, G2EZ24, G2EZ73, G2F7P7, H1FGD4, H1FLK6, G2F5R7, G2EZF9, H1FL97, G2F667, G2F3Y0, G2F4P7, G2F688, H1FH53, G2F5S0, G2F7T7, G2F4J3, G2F4L6, G2EZT1, H1FQN4, G2F6W4, H1FFX8, G2EYT9, G2F116, G2F4P0, G2F3H6, G2F1W3, H1FF90, G2F376, G2F4Y8, G2FAE7, G2F157, G2F4A7, G2EZP5, G2FAB2, G2F423, H1FPH5, E9XPB0, E9XQI8, E9XR65, E9XRY1, E9XKQ4, E9XLE5, E9XGN2, E9XKA0, E9XQG4, E9XR56, E9XNV1, E9XMA1, E9XTY8, E9XQE4, E9XNV2, E9XHV2, E9XPB1, E9XQ51, E9XR57, E9XNG1, E9XKR3, E9XL37, E9XS57, E9XTC9, E9XMB6, E9XMF3, E9XML7, E9XMP0, E9XGD3, E9XMR2, E9XTW8, E9XNF1, E9XTY6, E9XN64, E9XL31, E9XN26, E9XGN1, E9XV14, E9XR88, E9XMC2, E9XP72, E9XLE4, E9XRW4, E9XTW9, E9XJY5, E9XML4, E9XQI7, E9XL90, E9XKZ0, E9XTS2, E9XL40, E9XHK5, E9XQR8, E9XQV6, E9XMR9, E9XS04, E9XGY8, E9XIZ7, E9XQH6, E9XTW3, E9XK99, E9XKQ5, E9XQV5, E9XNR8, E9XGV9, E9XUN8, E9XI81, E9XKJ8, E9XLG5, E9XP15, E9XQH2, E9XIN4, G4PUF4, G4PQZ7, E6BBA0, G0FAG4, G0FDC8, G0FCG0, G4PUS4, G0FC25, G0F434, E6B0C8, E6B854, G0F914, G0F6W5, G0F6I2, G4PNQ2, E6B7V1, G0FDQ2, E6AZI9, G0FF01, G0FGL7, G0FF92, G0F2D1, G4PUH2, E6B2B1, G0F892, G0FC26, G0FA83, G0FB11, E6B7V0, E6BC74, E6B975, E6AZH6, E6B712, E6B8H8, E6B9P0, E6B9T1, E6BAW8, E6B1S5, E6B252, G0F7L0, G0F9F8, E6B6B5, E6B6E3, E6B7D8, E6B7L9, E6BA11, E6BBB3, G0FCG4, G0FCL8, G0FDM1, G0FF26, G0FGI3, G0FGL6, G0FGP1, E6B2W5, E6B540, E6B5B5, G0FGY4, G0F1M3, G0F3V1, G0F5N8, G0F5N9, G0F5U3, G0F5V7, G0F920, G0F921, G0F948, G0FA84, G0FAA2, G0FAC3, G0FAE1, G0FC74, G0FCW1, E6AXQ4, E6B0I2, E6B1V8, G0FDA1, G0FER1, G0FG75, G0F2L3, G0F6J5, G0FD34, G0F613, G4PNJ1, G4PNR7, G4PUD5, G4PYM1, G4PNY3, G4PNZ4, G4Q1T0, G4PS80, G4PYW8, G4Q2B9, G4PV20, G4PPF6, G4PPM7, G4PPM8, G4PQE6, G4PQV3, G4PST7, G4PSU1, G4PSU7, G4PRI9, G4PRJ5, G4PRL6, G4PTQ5, G4PTR1, G4PTS2, G0F2Y4, G0F353, G0F750, G0F754, G4PWF2, G4Q1Y9, G4PY21, E6AZD4, E6AXP4, G0F9G5, G0FF02, G0FEC6, E6AYE9, G0F508, E6AYB3, E6B7G7, G4PNG4, G4PTU7, E6AZI8, E6B7H9, E6B8F8, E6B2Q7, G0F6J9, G4PX79, G4PR22, G4PVA5, E6B8H4, E6BA19, G0F1I7, G4PXI3, E6BCE4, G0FFC4, G4PQZ8, G4Q1I3, G0FAG7, G0F6J4, G0F993, G4PN57, G4PNN3, G4PPF5, G0FDC2, G0FER9, G4PRS7, G4PY22, E6BA20, G0FDG4, E6B7H8, G0FES0, G4Q1J4, G4PQS9, G4PTG2, E6B256, E6B453, E6B868, E6BCA1, E6B7F9, E6B7R4, G0F751, G0FD33, G4Q0C0, G4PZ34, G4PP87, G4PT50, E6B9N4, E6AY22, E6BC75, G4PSH5, G4PU25, G4PUE6, E6B2B0, E6B0N2, E6AZJ4, E6B204, E6B538, G4PNE8, G4PP68, G4PUD6, G4PRL2, E6B3L9, E6B4P3, E6B9N0, E6B543, G4Q2D2, E6B0B4, E6B3T4, E6BB99, G4PUS3, G4Q1C5, E6B9F9, G4Q0N9, E6B713, E6B6Y7, E6B228, G4Q0Z7, G4PRF9, G4PTQ2, E6AZT2, G4PNZ8, G4PZE0, G4PZQ9, G4Q026, G4PNZ3, G4PQS2, D6JFI6, D6J7N2, H4QUK1, H4QUN9, H4R7F6, H4R141, H4R7J3, H4R7N5, H4R1J1, H4R7W9, H4QVF0, H4QVG1, H4R1W2, H4QVU9, H4QVW1, H5EUJ0, H5F710, H5F193, H5F7F3, H5F7H5, H5EV11, H5EV84, H5EV85, H5F1H7, H4QWD6, H4R2K0, H4QWK6, H4QXB1, H4R3C6, H4QXD7, H5F8D5, H5EVS3, H5F243, H5F251, H5F8X5, H5EWD2, H4R4I4, H4R4I5, H4QYG1, H4QYQ2, H5F2T9, H5F337, H5F3H5, H5EXM5, H4R5T7, H5F4I0, H5EYF5, H5F4U1, H5F4U4, H5ET03, H5ET16, H5ET24, H5ET45, H5MD54, H5MD96, H5MDA8, H5LU64, H5LGL4, H5LGM7, H5MK53, H5ME42, H5MKE0, H5LNQ4, H5LUY1, H5MEC3, H5MEC7, H5MEI7, H5MKP5, H5MKP8, H5LNW8, H5LI05, H4QTG9, H4QZW2, H4R684, H5LVV0, H5MEZ1, H5MFA7, H5MFA8, H5LIH0, H5LPM6, H5MFU9, H5MGD5, H5LJC7, H5LJD3, H5LJQ1, H5MAG4, H5LJU8, H5MNB6, H5LRD5, H5MAK8, H5MHD5, H5MAY9, H5MP55, H5MP56, H5MBD2, H5MHW4, H5MI51, H5LL63, H5LSQ5, H5LLD0, H5LT82, H5MIR0, H5LTJ9, H5MCR9, H5MHI9, H5LIB6, H5MAU6, H4QXP7, H5F1W3, H5LHU4, H4R142, H5LJS6, H5LRM7, H4R1D0,	10	20	30	40	50

H5MI41, H5MCE3, H4QWU3, H4R8S5, H5F634, H5LL27, H5MGW8, H5MHJ0, H5EVR0, H5EW27,
 H5F489, H5LMN9, H5MAU5, H5ML86, H5MJE4, H5EUJ2, H5EUU5, H5LGQ6, H4QV53, H4R001,
 H5MAW8, H4QW30, H5MBL9, H5MCG8, H4QZI9, H4R1V4, H4R8R8, H5LRM8, H5F0L6, H5MDD1,
 H5EXN0, H5LTL4, D6J539, H5F4T9, H5F116, H5LHQ7, H5MDA7, H5EVS9, H5LPM7, H5LVS9,
 H5MAW0, H4QWK9, H5F4H9, H5LIN5, H5LPZ6, H5MBI7, D6J8Q5, D6J6E7, D6JC04, H5EX78,
 H5LUW4, H4QUV1, H4R0S2, H5LK80, H5F8Q5, H5LGC4, H4R1W3, H5F7S8, H5LIM4, H5LR70,
 H4QV18, H4R1M8, H4R471, H5LPL8, H4QW16, H4R1I5, H5LS61, H5MHP8, H5MHB1, D6J6H1,
 H4QYU1, H4R5D3, H5LGG8, H5F8G3, H4R7F7, H5ETQ3, H5EVS2, H5F481, H5LKN6, H5LNW2,
 H5MJZ5, H5LHQ6, H4QXD3, H4QVR2, H4QX88, D6JCN1, D6JGC1, H5LN34, H5F6S2, H4R3Z3,
 H5LJB2, H5LS58, H5EVB4, H5LUU0, H4QWB6, H4R5J3, H5MMR8, H5MEG7, H5LK84, H5MBY3, 10
 H4QYK0, H5ETM8, H5EXP4, H4QXW9, H5LGY8, H5LVU9, H5MEG3, H5EYI8, H5MDU4, H4R6V4,
 H5MN47, H5ET02, H5MDX0, D6J600, D6J9I3, D6J826, D6J9V3, H5EW40, H4R7S9, H4QVW7,
 H5MM15, H4R3M9, H5LLM0, H4QYR4, H4QVW3, H4R781, H5LS56, H5MKP4, H5EX53, H5LI59,
 H5LQL6, H5MI50, H5EUM1, H5EX28, H5F1H0, H5F669, H4R7U8, H4R8S6, H5LUN6, H5MM14,
 D6J638, D6J5P2, H5LPE1, H5LKN7, H5MLI6, H5LJV1, H5LK98, H5F8W9, H5EVS8, H5MKE1,
 H5EYQ1, H5F0I5, H5MF27, H5LIX3, H5LJC8, H5MND9, H4R4J2, H4R801, H4QUK2, H4QV17,
 H5MCE4, H4R6I2, H5LGN5, H5F5R1, H5F8U9, H4R5J1, H5LIG9, H5F8X6, H5F115, H5MLA1,
 H5MBI6, H4QWK8, H4QXY0, D6J621, H5EX81, H5MNF5, H4R7U0, D2SXE5, D6J9I3, D6JG05,
 D6JHH3, D6JA10, D6JGA8, D6J555, D6J8Q4, D6JGG0, D6J861, D6JEK3, D6JBK7, D6J825,
 D6J9S1, D6JCA5, D6JCA9, D6JCF2, D6JF24, D6J906, D6J9H0, D6JF90, D6J954, D6J5R8, 20
 D6J8Q9, D6JAC8, D6J613, D6J7N1, D6JC53, D6JCB5, D6J8B8, D6JAU7, D6J9G4, D6J520,
 D6JFW6, D6J932, D6JFA4, D6JCN0, D6J9G1, D6JD32, D6J7Q9, D6J8K6, D6JFI7, D6J958,
 D6J779, D6JC05, D6JAS2, D6JFH3, D6J637, D6J7W7, D6J601, D6J8P4, D6JEB0, D6JG09,
 D6J752, D6J8A7, D6J6E8, Q1ELX6, D6J9V4, D6JCM2, E0J3D9, E0IZA3, E0IY87, E0IYE2,
 E0IYX2, E0J4U9, E0IYK4, E0J1Z1, E0IV63, E0J2A9, E0J5G9, E0J6M6, E0J0D9, E0J5X8,
 E0IXX8, E0J3N5, E0IVL2, E0IVF7, E0J0C4, E0J6H1, E0IV51, E0J3D8, E0IZF1, E0IYP1,
 E0IYM3, E0J178, E0IZB3, E0J683, E0IVI1, E0J2U5, E0J6M7, E0IVD3, C8U4P1, E0IXY7,
 E0IW35, E0J237, E0IZY4, E0J0F9, E0IY97, E0IXX9, E0IY61, E0J4X6, E0J4K2, E0J5X9,
 E0J3L2, E0J4C7, E0IZA2, E0J2Z9, E0IV67, E0J7H4, E0J6E7, E0IYP2, E0IWW3, E0IVW0,
 E0IY93, E0IVN8, E0IYN1, E0J1V5, E0J7H5, E0J2U8, E0J4B7, E0J5G8, E0IVD6, E0J2U9, 30
 E0IX87, C6ELB6, C6EKT4, C6EH82, C6ELB7, C6EI43, C5WBA2, C6EGY7, C6EJJ7, C6EHF7,
 C6EGC7, C6ELC5, C6EFI5, C5W8P3, C6EGS4, C6EI38, D0Z6U1, C6EGQ7, C6EDQ1, C6EBR7,
 C6EER2, C6ED55, C6EJM1, C6EK52, C6EGS0, D0Z6Z0, C6EBR6, C6EIX7, C6EHG4, C5W7R1,
 C6EC65, C6EGZ0, C6E9Z0, C6EH81, C6E9U8, C6E9Z4, C6EAA7, C6EBY1, C6EGE1, C6EA44,
 C6ED69, C5W8S4, C5W194, C6EHU8, C6EAE4, C6EAE5, C6EHD3, C6EAC6, C6EKT5, C6EJ93,
 C6EI53, C6EI42, C5W2B0, C6EAF8, C6EH78, C6EAZ9, C6EDY6, C6EKB2, C5W1P5, C6EBS5,
 E1P7E2, G7RKE0, Q8CMD6, Q7DH26, Q8XAZ6, Q8XAA5, Q8X7N5, Q8XA54, Q7DB64, Q8XDB9,
 Q8X7F1, Q8XBQ5, Q8X5C2, Q8X901, Q7DB97, Q8XAH4, Q9LAP1, Q8XAB3, Q8XCT5, Q8XCP6,
 Q8X818, Q8X5V0, Q8XDF1, Q8XAS0, Q8X5K7, Q8X9B8, Q46716, Q8XA56, Q8XBW7, Q8XAB2,
 Q8X6D6, A7UQX3, B7MU88, B7MUY0, C9QZF6, C9R0Q4, C9QYW4, C9QT00, C9QY00, C9QY31, 40
 C9QYK7, C9QYR2, C9QYA2, C9QYQ5, C9QRL0, C9QY98, C9QW99, C9QS16, C9QXY7, C9QZE7,
 C9QR98, C9QPL5, C9QT07, C9R1D8, C9QTE7, C9QYW5, C9QUC8, C9R0A2, C9QQJ8, C9R0N0,
 C9QRM9, C9QS17, C9QRN7, G7R3J5, C9QRF6, C9R046, C9QVA2, C9QZD6, C9QRV9, C9QT01,
 C9QR92, C9QYL0, C9QRA2, C9QXE4, C9QPZ0, C9QV41, C9R181, C9QWP2, C9QT90, C9QUE3,
 C9QQK6, C9QPZ1, C9QSL0, C9QYN1, C9QS98, C9QY04, C9QR57, C9QZD7, E8Y5M3, E8YC77,
 E8Y2X3, E8Y294, E8Y645, E8Y1X3, E8Y6B2, E8YDD2, E8YJC6, E8Y6W8, E8YE02, E8YC78,
 E8Y471, E8YDC8, E8YE06, C8TN92, E8Y7S3, E8Y3N5, E8Y1X8, E8Y2V8, E8Y5F3, E8Y2W3,
 E8Y7Z9, E8Y557, E8Y644, E8Y454, B1X5Y0, E8Y2W2, E8YAU4, E8YCH8, E8YDZ6, E8YE69,
 E8YA88, E8Y9A6, E8Y393, E8Y392, B1X636, E8YCL4, E8YE93, E8Y7G2, E8Y9R3, E8YE72,
 E8YBV3, E8Y5A6, E8Y622, E8Y389, E8YDN4, E8Y295, E8YD21, E8Y2A1, E8Y9A7, E8Y9K1, 50

E8Y1X2, E8YBV2, E8Y1S9, E8YCL5, E8Y7P3, E8YE92, E8Y596, E8Y4Z5, E8Y5G8, E8Y453,
 B1LGW1, B1LGY0, B1LN58, B1LKF1, B1LJS2, B1LK28, B1LDQ3, E8PVQ3, B1LFA9, E8Q4L2,
 B1LME3, B1LDP4, B1LGU1, B1LQP5, B1LFA8, B1LGU2, B1LI39, B1LI66, B1LKQ2, B1LKF0,
 B1LE77, B1LHI6, B1LJS3, B1LJT4, B1LKW2, B1LI67, B1LDQ2, B1LKH5, E8Q388, B1LD25,
 B1LHR3, B1LG56, B1LIV5, B1LPM0, B1LGV3, B1LF33, B1LFZ0, B1LRM0, B1LHT7, B1LHR2,

【 0 5 7 4 】

B1LFP8, B1LM97, B1LFE5, B1LI43, B1LL54, E8Q1J8, B1LK27, B1LME2, B1LMP1, B1LJR8,
 B1LED6, B1LHX0, B1LDJ0, B1LF23, E8Q0B1, B1LM39, B1LII1, B1LNS6, B1LFG3, D5CZK2,
 D5D2C1, D5CVB0, B7NGX2, B7N4R7, B7N9V7, B7NCD9, B7NCK0, D5D6C1, D5D2M5, B7N5U9,
 B7N7P3, B7N845, D5D127, B7N827, B7N986, D5D7V5, D5D886, B7N808, D5D0T2, D5CV72,
 D5D878, D5CV92, B7NGW3, D5CXU8, D5D0I9, D5D2A7, D5CV84, D5D7U6, D5D7V4, D5CYX4,
 D5CWF9, D5D5H6, D5D2M6, D5D026, D5D095, D5D5K9, D5D6G8, D5D6N5, D5D364, D5D2Z3,
 D5D069, D5D0R5, D5D495, D5D6R9, D5D2V2, D5D746, D5CYP6, B7NCV2, B7N4K9, B7NAA5,
 B7N5U8, B7NAP2, B7NCJ9, B7NCL9, B7N985, B7N8E1, B7NFR6, B7N7S9, B7NBJ8, B7N396,
 B7N4I2, B7NCN1, B7N819, B7NAY3, B7NGQ9, B7N5H7, B7N4R8, B7NE36, D5D2Z7, B7ND30,
 B7NF43, B7N9B8, B7NFF6, B7N402, D5CY09, D5D113, D5D2I2, D5D710, D5CZL8, D5D885,
 D5CUY7, D5D5N3, B7NFZ9, B7NGX1, B7N9J0, B7NEE4, D5CZ54, B7LIV4, D5CVI6, D5CZK8,
 D5CV73, D5D0S6, D5CXQ4, D5D700, B7NDE2, D5D0T3, D5D704, B7NDZ5, D5CZK1, D5D091,
 D5D2F7, D5D4V9, B7NAV5, B7NAV4, B7NCI6, D5D3L6, B7NAY0, D5D6T8, D5D070, B7NBV7,
 D5D037, D5D0F2, D5D4Z3, B7NBX7, B7NDD1, B7N7A7, B7N4N4, D5D107, B7N9V6, D5CXZ8,
 B7LIW9, B7NE32, D5CX89, D5D5S2, B7N8E2, B7NCE0, D5D045, D5D1F6, D5D6C2, B7LJ58,
 B7N7P4, B7N6E5, B7N8H2, B7N809, Q8XCT4, Q7A8M7, Q8XAX3, C4ZRH3, C4ZRI0, C4ZRS0,
 C4ZQ66, C4ZSN5, C4ZUJ3, Q8XCP4, C4ZSJ3, Q8XC59, Q7ABX8, Q7AFL4, Q7AGK7, C4ZRN2,
 C5A149, C4ZSV5, C4ZUY0, Q7AGT8, Q8XAP8, C4ZRQ1, C4ZWJ3, Q8X9B5, Q8X3L1, Q8X2M2,
 Q8X5C5, Q8X5K6, Q7ACS2, Q7A9Y6, Q7AFL6, Q7AHN4, Q9ZGU0, Q8X915, Q8XAX5, C4ZXD3,
 C4ZRF3, C4ZRP3, C4ZPY0, C4ZRZ6, C4ZSJ4, C4ZQW4, C4ZU05, C4ZUI0, C4ZSN8, C4ZSP9,
 Q8X3U3, Q8X4H1, C4ZXX7, Q7AE05, C4ZZK4, Q8X368, C4ZS45, Q7AFL3, C4ZSN4, C4ZRH9,
 C4ZUX9, Q7AE47, Q8X8H4, Q8XAP6, Q7AC85, C4ZVM9, C4ZQ70, C4ZWJ2, Q7DKW3, Q7AF82,
 C4ZU58, C4ZQ55, C5A0R5, C4ZQ65, Q8XB86, C4ZRN3, C4ZUP6, C4ZV29, C4ZT98, Q8X8U8,
 Q7AEV9, Q8XDJ2, C5A029, Q8X633, C4ZS42, Q8X9X1, Q7ACY2, C4ZWM5, B7MX31, B7MT72,
 B7MP20, B7MY14, B7MP01, B7N0J2, B7N1Y9, B7MP38, B7N1B9, B7MT78, B7MZV0, B7N035,
 B7N0I6, B7N1L0, B7MP12, B7N0J4, B7LIN6, B7N123, B7MVX8, B7MWH5, B7N044, B7MRH0,
 B7MT33, B7N1L6, B7N0H6, B7MNR3, B7MRV4, B7MS47, B7MUN6, B7N1Z0, B7MRG4, B7MY13,
 B7MY47, B7N0U3, B7MUL2, B7MXG9, B7MX32, B7N0E2, B7N1B1, B7MTX4, B7MTN2, B7MU78,
 B7MP02, B7MXP6, B7N2K6, B7MTI8, B7MQQ9, B7MTN5, B7MSG1, B7MQ77, E8YD95, E8YEU0,
 E8YDB5, E8YCK4, E8Y1Y5, E8Y9Z8, E8Y5I7, E8YEU1, E8YA24, E8YDS8, E8Y8B9, D3QUX5,
 D3QL30, D3QVA3, D3QWG0, D3QK62, D3QQY2, D3QMB1, D3QQ04, D3QNL1, D3QQV8, D3QPX8,
 D3QL21, D3QM00, D3QJS3, D3QSL5, D3QSL6, D3QLT3, D3QT52, D3QLM6, D3QKQ5, D3QT20,
 D3QYL3, D3QQ02, D3QQ05, D3QQ97, D3QW36, D3QWH8, D3QP90, D3QR68, D3QRC7, D3QXW4,
 D3QQI7, D3QNM1, D3QWY4, D3QPE0, D3QK43, D3QYN3, D3QWF2, D3QJZ5, D3QKM2, D3QKU9,
 D3QWZ0, D3QUX6, D3QSL9, D3QKM1, D3QPC6, D3QSZ9, D3QTV4, D3QVE1, D3QVM5, D3QXE8,
 D3QJZ8, D3QWR3, D3QQ75, D3QYH3, D3QN49, D3QQ43, D3QJU7, D3QTK8, D3QK77, D3QQ51,
 D3QVW4, D3QMP9, D3QNZ9, D3QUD7, D3QMT3, D3QT53, D3QQW1, D3QQA0, D3QVA4, D3QPD6,
 D3QWC4, D3QQ74, D3QL29, D3QMB0, D3QRX9, D3QKR8, D3H3A6, D3GVV4, D3H576, D3H2J3,
 D3GR86, D3GSE1, D3GZX4, D3GY57, D3H221, D3GRC3, D3GRA5, D3GW80, D3GX61, D3H152,
 D3H181, D3H1B9, D3GVM0, D3GWW0, D3H1R8, D3H1S1, D3H201, D3H220, D3H3R8, D3GW79,
 D3GWI1, D3GRK5, D3H0F8, D3GSA6, D3GSE2, D3GYJ8, D3GZW1, D3H044, D3GR87, D3GR97,
 D3GT36, D3GS23, D3GTG4, D3H4Z1, D3H352, D3GVT8, D3GY88, D3H0Q5, D3GRF6, D3H1Z5,
 D3H0P6, D3GZ49, D3GTV5, D3H212, D3H019, D3H0U9, D3GT17, D3GY56, D3H478, D3GSM8,
 D3GZK9, D3GTM7, D3H3A7, D3GT56, D3GSA7, D3H159, D3GVU8, D3GVV5, D3GXL8, D3H182,

10

20

30

40

50

D3H0P9, D3GZX5, D3H438, D3GRI4, D3GXA4, D3GX19, D3GWC3, D3H5C5, D3H1Z2, D3H537,
D3GUM7, D3GZ39, C6EJM0, C6V9K5, C5W900, C6EHU9, C5W6V5, C6EET8, C6EHD4, C6EI91,
C6VGy3, C6EIY7, C5W0Q5, C5W145, C6EB97, C6EIE7, C6VHM1, B7UPM4, B7ULA7, B7UQV6,
B7UFZ5, B7UII4, B7UQU9, B7UIM3, B7URN8, B7UIK5, B7UFC7, B7UI37, B7UPB8, B7UPC1,
B7UK96, B7UKM7, B7UFM9, B7UM01, B7UQ80, B7UQV5, B7UIJ7, B7UIT9, B7UMY2, B7URJ6,
B7UTL9, B7UL54, B7UGZ8, B7UR42, B7UFH1, B7UIV0, B7UIA2, B7UFZ4, B7UJ43, B7UHI9,
B7UP70, B7USM4, B7UN15, B7ULA8, B7UMB3, B7URN9, B7UJC9, E4P577, E4P4V6, E4PE35,
E4PBL4, E4PDL0, E4P2J3, E4PC31, E4PA18, E4P452, E4P433, E4P8X4, E4PA10, E4P6F3,
E4P6H8, E4P2H6, E4PE26, E4P8V8, E4PDL1, E4PEM5, E4P3I3, E4P9D3, E4PCB1, E4P9U9,
E4P3W4, E4P6V3, E4PA17, E4P444, E4PDE3, E4PBK0, E4P6J5, E4P8I8, E4P368, E4PDQ4, 10
E4P7Z7, E4PD65, E4P578, E4P434, E4PA96, E4PDA1, E4P2I2, E4P5C7, E4PB77, E4PAG6,
E4P3Y7, E4PC72, E4PAZ9, E4PDQ5, E4PDA7, E4P2H3, E4P5K0, E4P1S1, E4P8W8, E4PD00,
E4PCN7, E4P781, E4PE34, E4PBT4, E4PB08, E4PD72, E4PC32, E4PCS3, E4PAK3, E4P5R0,
E4PED2, E4P8X5, E4PEP6, E4PD97, E4PDT0, E4P4C3, E4PBP9, E4P9K8, E4PDS7, E4P526,
B7M869, B7LZA5, B7M180, B7M5N2, B7M4V4, B7M4N5, B7M052, B7LZJ5, B7M9Q0, B7M1Y1,
B7M9R0, B7M3G7, B7M6L9, B7M199, B7M191, B7M858, B7M051, B7LZ07, B7M6L8, B7LZJ6,
B7M0F1, B7M5N1, B7M658, B7M055, B7LYQ9, B7M5Q6, B7M3G8, B7M4N4, B7LX39, B7M1U3,
B7M4R5, B7M780, B7LZ41, B7M722, B7M9Q9, B7M2C4, B7M502, B7M873, B7M8B5, B7M868,
B7M181, B7LZA6, B7M4V5, B7M931, B7M3A4, B7LX36, B7M7W9, B7M6G8, B7M819, B7M270,
B7M066, B7M583, D2NBX3, D2NEV7, D2NMQ3, D2NGZ2, D2NKT0, D2NH95, D2NHB7, D2NBB0, 20
D2NG86, D2NGC1, D2NMF9, D2NHQ7, D2NFG5, D2NHV1, D2NMQ4, D2NLT2, D2NLT8, D2NBC3,
D2NGY4, D2NBV0, D2NBV1, D2NBW5, D2NEL1, D2NKG3, D2NKJ8, D2NKS9, D2NIE0, D2NJR9,
D2NGZ1, D2NNA3, D2NKA3, D2NNJ8, D2NBZ1, D2NIH9, D2NF15, D2NGM6, D2NMN7, D2NK57,
D2NBQ5, D2NHR3, D2NCS8, D2NIH8, D2NFF5, D2NIM3, D2NKS1, D2NBW2, D2NE83, D2NJU7,
D2NKF3, D2NJQ1, D2NDU3, D2NK58, D2NGL9, D2NNI0, D2NMD1, D2NIB7, D2NH94, D2NMP7,
D2NKF7, D2NLB3, D2NBH2, D2NJC1, D2NHC1, D2NB13, D2NFP9, D2NHH9, D2NFA7, D2NES5,
D2NIN6, D2NMZ7, D2NEX5, D2NC92, C6UEX6, C6UE97, C6UG75, C6UCC2, C6UES5, C6UES4,
C6ULF6, C6UHK9, C6UD25, C6UJK4, C6UE98, C6UF14, C6UFG6, C6UCQ3, C6UG63, C6UIW5,
C6UML1, C6UML2, C6UH51, C6UCC1, C6UDB2, C6UDJ1, C6UK05, C6UFS5, C6UFT8, C6UMD8,
C6UES9, C6UL62, C6UMA0, C6UMK3, C6UD89, C6UDV8, C6UAW8, C6UL88, C6UM60, C6UD90, 30
C6ULR3, C6ULG9, C6UCI6, C6UFG0, C6UER4, C6UEM6, C6UL80, C6UEX5, C6UG59, C6ULM1,
C6ULM7, C6UJS9, C6UMB1, C6UMB9, C6UMA1, C6UEX9, C6UF13, C6UFG9, C6UFZ1, C6UL87,
C6UJR0, C6UJT7, C6UFF3, C6UID7, C6ULL8, C6UDN4, C6UDW8, C6UK68, B1XJ1, B1XCU3,
B1XET5, B1X6P9, B7NTI3, B7NIA2, B7NIC1, B7NL26, C8THK4, C8TMJ0, C8TU35, C8TM56,
C8TQ64, C8TKM3, B7NUM2, C8TJB8, C8TUY2, B1XCB4, B1XGV6, B7NV87, B7NM34, B7NPM4,
C8TRM5, C8THI5, C8TQM1, B7NHC4, B1XGD0, B1XG51, C8TH67, C8TI53, B7NIE0, B1X8P4,
B7NP21, B1XD47, C8THG6, B1X7J9, C8TMU6, B1XD28, B1X9L1, B1X738, B1XAL7, B1X6H6,
C8TMS7, B1XC55, B1XHB5, B1X7K0, B1X9G9, B1X9K9, B1XCB5, B1XG52, B1XER5, B1X8P3,
B1X8P8, B7NK84, B7NM84, B7NIW3, B7NND4, B7NUV7, B7NKH4, B7NKL6, B7NHT5, B7NIB3,
B7NSL7, B7NL25, B7NM45, B7NRL0, C8TPF0, C8TGZ3, C8TUX3, C8TUY1, C8TS49, C8TRM6, 40
C8TI52, C8TI56, C8TM06, C8TGM8, C8TTP1, C8TUE4, C8TUF4, C8TKP5, C8TL81, C8TUP9,
C8THT6, C8TPA7, C8TPY5, C8TWD0, C8THG7, B1XGV5, C8TM60, B7NTB9, C8TML4, C8TW28,
C8TM45, B1X8N3, B1XA15, B1X7D5, B7NHC5, B7NV11, B7NR29, C8TJI1, B1XA12, C8TNL1,
B7NV86, C8TU79, B7NKM7, C8THH7, B7NNN6, B7NR78, C8TQ63, B7NLU4, C8TNQ0, C8TK74,
C8TMW0, C8TKG3, C8TT74, C8TVQ3, C8TU36, B7NR96, C8TLR0, B7NJR0, C8TH68, C8TRF1,
B1XDY4, B7NN26, B7NTI4, B7NUL0, C8TGI6, C8TLS1, C8THV9, B1XBX7, C8TJE6, C8TKM2,
C8TNP3, C8TRH7, C8TQK9, B1XDG2, C8TUE8, B7NP20, B7NIT4, B7NM35, C8TPH2, C8TPH5,
B7NHG0, C8TKA6, B7NIA3, B7NU34, C8TGY8, C8TMI9, B1X6P8, B7NPM3, C8TQK5, B1X8B1,
C8TG26, B1X7P3, B1XCC5, C8TM55, B1XGV9, B1XGC9, B7NL79, B7NM30, B7NS72, C8TNI1,
C8TNS3, B7NMF4, C8TTQ4, C8TJB7, C8TPE9, E1S1V9, E1RWX5, E1RSW6, E1RT24, E1S2T5, 50

E1S485, E1RSY4, E1RUP0, E1RV81, E1S299, E1RSU5, E1S1U7, E1S2U3, E1RSD6, E1RXW3,
 E1RXB9, E1RXM1, E1RY51, E1RYB9, E1RWC8, E1S2L1, E1RWP6, E1RW07, E1S291, E1RTR5,
 E1RX44, E1RT33, E1RTV8, E1RTX4, E1RTX7, E1S349, E1S536, E1RZU2, E1S5Q7, E1RSE8,
 E1S5J2, E1RTV2, E1RUG8, E1RYK5, E1S2E7, E1RTW2, E1S575, E1RTZ9, E1RU24, E1RUN4,
 E1RTH3, E1RU31, E1RT25, E1S1W0, E1S4J6, E1RV80, E1RYH8, E1RSF4, E1S5B2, E1RXA9,
 E1S1Y1, E1RZ01, E1RSL3, E1RU00, E1RWY1, E1S2U2, E1S3S0, E1RWY6, E1RUM5, E1RW69,
 E1S472, E1RYS1, E1RZ61, E1S298, E1S1F6, E1RSF7, E1RTA2, E1S5P0, E1RSV8, E1RYF8,
 E1RVL7, E1RWX4, E1RZ78, E1RSU6, E1RUP1, E1S0F1, E1S1U6, E1RX27, Q8CVG1, Q8FIX1,
 Q8CWC3, Q8CWD6, Q8CVY9, Q8CVM3, Q8FDX2, Q8CVP8, Q8CW50, Q8FAQ7, Q8FDY7, Q8CVN5,
 Q8CW78, Q8CVY3, Q8FIN4, Q8FAQ3, Q8CVI2, Q8CVM7, Q8CVM9, Q8CVP9, Q8CVU9, Q8CVW8, 10
 Q8CW23, Q8CW24, Q8CW53, Q8FDI8, Q8CWD7, Q8FGA0, Q8CVX6, Q8CVN0, Q8FAQ4, Q8CWA1,
 Q8FI18, Q8FDY6, Q8CVX5, Q8CY02, Q8FDW0, Q8FCK0, Q8FE01, Q8FIV6, Q8FFG6, Q8CWD4,
 Q0TB94, Q0TDM6, Q0TFY3, Q0T9A4, Q0TFA9, B7LE40, B7LH82, B7L9Y0, B7L7K4, B7LX07,
 Q0TLF5, B7LAC4, B7LGI4, B7LGN9, B7LGM0, B7L6W0, Q0TLJ2, Q0T8Z1, B7LGK1, B7L8D7,
 B7LBJ2, Q0TBC5, Q0TL50, Q0TCC1, Q0TIZ5, Q0TD65, Q0TJ17, Q0TJF9, Q0THZ3, Q0TC37,
 Q0TL75, Q0TFT5, Q0TGD6, Q0TGI2, Q0TL33, Q0TL44, Q0TFM5, Q0TDM7, Q0TIX2, Q0TL51,
 Q0TGY5, Q0TIR1, B7L8G6, B7LG46, B7LA68, B7LAC3, B7LE29, B7LE39, B7LGL2, B7LE44,
 B7LAN9, B7LG35, B7LH81, B7LAH7, B7LBJ1, B7L9Y2, B7LBA8, B7LBU6, B7LBX4, B7L6G7,
 B7L7K5, B7LDV4, B7LGY1, Q0TFB0, Q0T9Z8, Q0TB81, Q0TC33, B7L903, Q0TCW2, B7L4R8,
 B7L6D8, Q0TG94, Q0T9A5, B7L7Q0, Q0TIW9, B7LGK2, B7LH85, B7L4H7, B7L877, B7LX08, 20
 Q0TD75, Q0TDF0, Q0TGR1, B7LH96, Q0T988, B7LB04, B7LD83, Q0TB96, B7L6W1, Q0T8Z2,
 Q0TAK1, B7L3Z3, B7LWZ5, Q0TLJ1, Q0TJC4, Q0TLI1, Q0TBV6, B7L9B6, Q0TCD6, Q0TIH9,
 B7L8D6, Q0TC76, Q0THX0, B7LDF0, Q0TFY2, Q0TJP3, Q0TK88, Q0TBC4, B7LGA8, B7LC88,
 B7LG38, C9QYA1, G7RIU0, G7RAW7, G7RB30, E6NZN7, E6NZ79, E6P0K2, E6P1R7, E6P2N8,
 G7R9K4, G7RDC9, G7RDK8, G7RED5, G7R2L7, G7R234, G7RCF6, E6P169, C9R0Q3, G7R2J8,
 E6NUS6, G7R5L7, G7RDZ4, E6P2F2, E6NXS4, E6P0A7, E6P105, G7R2V5, C9QZW1, C9QRR6,
 G7RE73, G7R2T4, G7RFF1, G7R9M5, G7R9U3, G7RAS6, G7RB11, C9QUY9, C9QYN2, G7R5L8,
 G7RDJ9, G7RDY0, G7RDF1, G7R4Q5, G7RBK0, G7RDQ7, G7R829, G7RE49, G7RE50, G7REE7,
 G7REI4, G7R8L2, G7R2C0, G7R2U1, G7R9G0, G7R7Y1, G7RFG0, G7R8T3, G7R964, G7R787,
 G7R8J3, G7R8Z9, G7RAD0, G7RB31, G7RE77, G7RFF9, G7R5G4, C9QXF7, G7RA41, G7REE0, 30
 G7R6X2, G7RDK9, C9QZD2, C9QW14, C9R0I2, G7RER7, G7RDC8, C9QRV8, G7RCF5, G7REX1,
 G7RBU5, G7R5W6, G7RIU1, G7R4G1, G7R8G9, G7R9V3, G7RAE1, G7REM1, G7RDJ1, G7RDD8,
 C9QWT4, G7R2I9, G7R1X5, B1IZ69, B1IQX7, B1IPW1, B1J115, B1IXA8, B1IS08, B1IP74,
 B1IQI2, B1IXG3, B1IY11, B1IY12, B1IYB4, B1IV22, B1IV23, B1IVZ2, B1IW02, B1IYX2,
 【 0 5 7 5 】
 B1IVB2, B1IUG3, B1IQG3, B1J0Z3, B1IY57, B1IXA9, B1IRS0, B1IYX1, B1IRC2, B1IUG0,
 B1IRR9, B1IQX4, B1ISM2, B1IYM3, B1IVY8, B1IQJ0, B1IPX4, B1IQK0, B1IZ70, B1IW52,
 B1IQX8, B1ISJ9, B1J116, B1IV46, B1IUJ6, B1J0P1, E3PHA7, E3PJG6, E3PEE4, E3PC75,
 E3PLE6, E3PEF1, E3PCQ3, E3PKJ6, E3PEW1, E3PEW0, E3PJ86, E3PDL9, E3PDR7, E3PI25,
 E3PK56, E3PC01, E3PEF0, E3PJL8, E3PMH2, E3PHI5, E3PHA6, E3PK59, E3PC19, E3PCJ0, 40
 E3PCK8, E3PIR2, E3PIW1, E3PL09, E3PDD0, E3PJL1, E3PJR6, E3PJW2, E3PIN5, E3PLV2,
 E3PBH0, E3PGJ2, E3PIP3, E3PLS5, E3PHT6, E3PCA8, E3PDV4, E3PCK0, E3PGG3, E3PCU5,
 E3PHC9, E3PCE9, E3PGP9, E3PCQ4, E3PCY9, E3PJP3, E3PJR8, E3PBF4, E3PIV0, E3PIW8,
 E3PNN3, E3PKI4, E3PEV2, E3PDQ8, E3PGA2, E3PLJ8, E3PAZ3, E3PIW0, E3PI35, E3PJP4,
 E3PK55, E3PBU3, E3PDR1, E3PPC0, Q1RG11, Q1R2V6, Q1R2W8, Q1RAT8, Q1R975, Q1RE23,
 Q1RBR9, Q1RBW6, Q1R5K0, Q1RD53, Q1RAK8, Q1R1T2, Q1RDF2, Q1R5P6, Q1R6T6, Q1R6T7,
 Q1RDG2, Q1RDG8, Q1R2V5, Q1R2W9, Q1R2J8, Q1R5Z7, Q1R6V4, Q1R2J7, Q1RA80, Q1RCY1,
 Q1R9W3, Q1RG50, Q1RCM9, Q1RDG9, Q1R209, Q1R5Y4, Q1R732, Q1R976, Q1R9K0, Q1RG51,
 Q1R3L5, Q1R6U3, Q1RAF5, Q1RAB2, Q1REY0, Q1RG38, Q1RG30, Q1RD78, Q1R9W2, Q1RDA2,
 Q1R455, Q1RCP9, Q1RDS8, Q1RFS9, Q1R1Z5, Q1RBR8, Q1RD49, Q1R5A7, Q1R2T5, Q1R5K5, 50

Q1RBK2, Q1R9R7, A7ZYP2, A8A2K7, A8A1X4, A7ZWC4, A7ZXI7, A7ZXX9, A7ZWA6, A8A842,
 A8A4K1, A8A5E4, A8A4W0, A7ZYP1, A7ZZ14, A7ZZ63, A7ZW88, A8A1X5, A8A4B9, A7ZYP6,
 A7ZZ59, A7ZYN2, A8A6W0, A8A4K2, A7ZXK8, A7ZWK4, A8A1G5, A7ZW98, A8A5D0, A7ZW06,
 A8A146, A8A0D8, A8A2K6, A7ZXX8, A7ZY62, A8A278, A8A841, A8A5J8, A8A4W3, A8A011,
 A7ZXI6, A8A216, A8A4V9, C8U6X1, C8TXD9, C8TZM3, C8U8H6, C8U1P6, C8U6R1, C8TZY2,
 C8TWY1, C8U1M8, C8U0R5, C8U1K9, C8U2L3, C8U652, C8U0Q8, C8U5L1, C8U5N4, C8TXE4,
 C8U4H1, C8TWY2, C8U1G9, C8U361, C8U2L2, C8U2N7, C8U8A2, C8U2U7, C8U4L9, C8U8R7,
 C8U6V9, C8TZQ7, C8U5A8, C8UAX2, C8TXD8, C8U653, C8TYK3, C8U1L0, C8TZW3, C8U6V5,
 C8TWN6, C8TZZ6, C8UAY8, C8U697, C8U6Q2, C8U478, C8U4K9, C8U6E8, C8TZM2, C8U111,
 C8U5R0, C8U8H7, C8U3X6, C8U5N5, C8UB12, C8U303, C8U6F4, C8U610, C8TY07, C8U5Q7, 10
 C8U1M0, C8U5K4, C8U7K6, C8U128, C8U1C7, C8U6E4, C8U8C8, C8U1X2, C8UAB1, C8U0R4,
 C8U3P8, C8U6R0, C8U8X3, C8U468, G7RKY2, G7RPD2, G7RHE4, G7RPF4, G7RPR8, G7RNY6,
 G7RIP6, G7RT58, G7RLE0, G7RIW2, G7RM91, G7RMC7, G7RPH3, G7RL61, G7RJM0, G7RL60,
 G7RL70, G7RL83, G7RLE1, G7RFW7, G7RM38, G7RHL8, G7RHM8, G7RPD3, G7RPE5, G7RPP7,
 G7RPQ4, G7RIU5, G7RIV6, G7RIW3, G7RJH7, G7RN07, G7RHG4, G7RNS8, G7RNX7, G7RNY5,
 G7RM33, G7RFR0, G7RI48, G7RN94, G7RSC8, G7RM96, G7RT59, G7RM05, G7RIK8, G7RJ91,
 G7RKY1, G7RTF7, G7RH01, G7RH20, G7RMA3, G7RP75, G7RMH7, G7RLY0, G7RN90, G7RRB7,
 G7RLX2, G7RHA7, G7RMQ4, G7RHN0, G7RSA0, G7RTS4, G7RLQ8, G7RGB4, G7RM06, G7RGF5,
 G7RHX4, G7RM29, G7RJC8, B6I5S2, B6HYV0, B6HZB4, B6I4Y5, B6ICN5, B6I1L9, B6HZD4,
 B6HZF2, B6I2J7, B6I7Y9, B6I416, B6I0H7, B6I1L8, B6ICN6, B6ICR4, B6ICR5, B6IC93, 20
 B6ICF0, B6I0N4, B6I2I9, B6I8W2, B6I914, B6HZB5, B6HZC6, B6I9H9, B6I8K5, B6I4Y4,
 B6ICR6, B6I4J5, B6IAQ8, B6I2U9, B6I7W2, B6IAQ9, B6I913, B6I417, B6I5D2, B6I021,
 B6I918, B6I901, B6ICR9, B6IAJ7, B6I1B6, B6I812, B6HZ35, B6I5I4, B6I0K7, B6I7B3,
 B6I110, B6I1M2, B6IBS5, B6I3W4, B6I9D3, B6HYV1, B6I7Y8, B6I2J6, B6I7H7, B6I913,
 B6I0H6, B5Z0F7, B5YV59, B5Z3Q5, B5YS35, B5YXY0, B5YQQ6, B5Z3P6, B5Z0D8, B5YPP7,
 B5Z1W3, B5Z1B5, B5Z0D0, B5YT73, B5YX07, B5YX49, B5Z131, B5YPP6, B5YQZ1, B5Z3Q4,
 B5YS34, B5YS97, B5YU74, B5YVJ8, B5YWU5, B5Z4J1, B5YVS6, B5Z1W4, B5YTI2, B5Z0W8,
 B5YYR0, B5Z433, B5YYZ2, B5YTU0, B5Z328, B5YS37, B5YVX0, B5YVE2, B5YPS8, B5YR75,
 B5YUT0, B5Z1I5, B5YXX9, B5YYB3, B5YPB3, B5YV06, B5YV60, B5Z0U4, B5YPK7, B5YZH7,
 B5Z070, B5YT63, B5YQQ5, B5YTC6, B5Z1T3, B5YVX4, A7ZK44, A7ZRS7, A7ZHQ0, A7ZLP6, 30
 A7ZM56, A7ZRS8, A7ZH86, A7ZHM9, A7ZHN0, A7ZNX8, A7ZNS9, A7ZVH0, A7ZS40, A7ZK20,
 A7ZK43, A7ZKK5, A7ZKK9, A7ZRJ5, A7ZHR8, A7ZU61, A7ZKG0, A7ZS39, A7ZLV2, A7ZPF4,
 A7ZK48, A7ZPF2, A7ZNS8, A7ZP37, A7ZTT8, A7ZSR6, A7ZJ98, A7ZS43, A7ZIW7, A7ZMX1,
 A7ZL69, A7ZHP2, A7ZGQ2, A7ZJ97, A7ZGL8, A7ZJH0, A7ZUS6, A7ZIU1, A7ZJL9, A7ZHE7,
 A7ZI00, A1AFW7, A1AJI4, A1AB92, A1AGM5, A1ACX4, A1AIP5, A1AAD6, A1A7I5, A1A7M2,
 A1A7K4, A1ADI5, A1AG52, A1AG63, A1ADI4, A1A9D4, A1AA53, A1A9Z6, A1AAB9, A1AC82,
 A1ACX5, A1AJI3, A1A7J6, A1ABE2, A1A9Z9, A1AFW8, A1AGV9, A1AGL2, A1A9X4, A1AB51,
 A1AFV2, A1AC09, A1AI43, A1AFJ0, Q27TJ3, A1AGR8, A1A7I6, A1AH42, A1A7V2, Q27T53,
 A1A945, A1A9K6, A1A8L5, A1AD15, A1AB93, A1AFW2, A1A9V2, Q27T84, A1A8Z0, A1AFG5,
 A1AFM8, A1ACH6, A1AD68, C6UP93, C6UUG5, C6UPA2, C6V1K9, C6V1C0, C6UU91, C6US22, 40
 C6UWR3, C6UR27, C6UR28, C6UTM6, C6V1Z8, C6UNJ5, C6UUG9, C6UNL0, C6UNW8, C6UXA9,
 C6UUY5, C6UZN0, C6V2G5, C6UWQ5, C6UVK4, C6UVP2, C6UNV9, C6UNF7, C6V067, C6V068,
 C6UPQ4, C6UPQ6, C6UUG4, C6UNW7, C6V2F4, C6UQM2, C6UU59, C6V2U5, C6V2Y4, C6USW9,
 C6UYW4, C6UYN2, C6UV38, C6UYG9, C6V2P1, C6UT71, C6UWP5, C6V235, C6UWT1, C6V2U2,
 C6US96, C6V098, C6UUI0, C6UNK5, C6UWK8, C6V1L0, C6V3C5, C6UP08, C6UXU2, C6UQW2,
 C6V250, C6UZH4, C6V1B9, C6UQL6, C6US13, C6UPQ7, C6V1F3, C6V163, C6UR50, C6UQF4,
 C6V3E0, C6UYH6, C6UR54, C6V2V1, C6UPA1, C6UVF5, C6UTS5, C6UXH3, C6UVT3, C6UZZ3,
 C6UUT5, C6V131, C6UU36, C6UU92, C8UN15, C8UN22, C8UPU6, C8UDT8, C8UNW5, C8ULR0,
 C8UG06, C8UK17, C8UGA3, C8UJK6, C8ULG3, C8UH07, C8UI30, C8UH26, C8UD43, C8UH45,
 C8UC02, C8UBU7, C8UGS6, C8UK39, C8UPM1, C8UHD5, C8UL23, C8URB9, C8UDF5, C8UDK7, 50

C8UD44, C8UH18, C8UDS9, C8UDT7, C8UKU1, C8UNB3, C8UEK0, C8UF12, C8ULF2, C8UNN2,
 C8UEY7, C8UK16, C8UEC4, C8UHM2, C8UCD5, C8UGA6, C8UPF8, C8ULG7, C8UNG9, C8UFM2,
 C8UN21, C8UJB7, C8UNG6, C8UKB8, C8UD86, C8UI62, C8UKM7, C8UDG1, C8UNV3, C8UJQ2,
 C8UNU9, C8UQ46, C8UJK5, C8UL13, C8UFQ3, C8UNE3, C8UDF1, C8UGA2, C8UH08, C8UNC0,
 C8UGW8, C8UL44, C8UMT4, C8UPP7, C8UC21, C8UMW5, C8URG6, C8UI31, C8ULG2, C8UJV7,
 C8ULB4, C8ULS4, C8UPU7, C8UCE0, C8UNE4, E1PE17, E1P6F3, E1PG34, E1PF61, E1P9E7,
 E1PGN2, E1PF81, E1PA82, E1P8I7, E1PDY8, E1PF48, E1PGV3, E1P6P8, E1P6F4, E1P6N0,
 E1P6N6, E1PC78, E1PCF7, E1PBP0, E1PCH5, E1PCT6, E1PI47, E1PIX2, E1P9T4, E1PGF7,
 E1PGF8, E1PAU0, E1PE18, E1P9L2, E1PB27, E1PF62, E1PFB7, E1PG36, E1P6G3, E1PIL7,
 E1PER0, E1PGN3, E1PGU0, E1PII2, E1PHT5, E1PIX3, E1PDN1, E1PHX9, E1PDM1, E1P8L0,
 E1PF47, E1PJG8, E1PEJ9, E1PF98, E1PFK1, E1PIW4, E1P6H1, E1PHX3, E1PIL4, E1P728,
 E1PE11, E1PIJ3, E1PD21, E1PBG8, E1PBW6, E1PD40, E1PE01, E1PHW5, E1P9E8, E1PJB0,
 E1PEZ5, E1PHU3, E1PH73, E1PHJ3, E1PHN5, E1PHW9, E1PH47, E1P899, E1PES5, E1PJ06,
 E1PHP4, E1PHB3, E1PF82, E1PI14, E1P6M7, E1PC94, B7MEG4, B7MGA1, B7MMJ9, B7MN27,
 B7MBE1, B7LI14, B7MJS2, B7MJ89, B7MJ92, B7MCV3, B7MMK6, B7MMQ9, B7MNA5, B7MLT2,
 B7MAA4, B7MAC0, B7MAC1, B7MCU0, B7MB79, B7MBC2, B7MBC3, B7MBF9, B7MHN8, B7MIA6,
 B7MBD3, B7MJF6, B7MHE0, B7MIJ7, B7MB68, B7MDR1, B7MEG5, B7MC19, B7MMK7, B7MAB4,
 B7MC91, B7LI65, B7MGA0, B7MDQ7, B7MIP2, B7MFC8, B7MGR3, B7MBQ5, B7MAH9, B7MMT5,
 B7MN59, B7MEK3, B7MF69, B7LIB9, B7MCP0, B7MN26, B7MEZ5, B7MD02, B7MK93, B7MHK3

10

20

【 0 5 7 6 】

Fusariumセクレトーム

Q4IN52, P83610, Q4IAJ1, P00590, Q96UT0, Q96US9, Q99174, C7YRS7, Q4IBU4, Q01745,
 Q4I2W2, P46236, P46239, P45699, P46238, C7Z6W1, C7Z3B7, Q07181, P35049, B3A0S5,
 Q14TX3, Q6XZE4, Q6JV41, Q14TL6, Q14TM3, Q14TR0, Q14TP0, Q96VZ3, Q6RYZ6, Q14TX5,
 Q53U79, A9U922, Q14TM9, Q14TI4, Q14TM1, Q14TR5, Q14TR9, Q14TM7, Q14TK3, Q14TR2,
 Q14TL1, Q14TY6, 000094, Q14TP7, Q14TQ5, Q14TK7, Q3LHX1, Q14U01, Q14TP2, Q14TQ8,
 Q14TJ8, Q14TN1, A9U918, A9U917, Q04701, Q14TN3, Q14TI8, A6N6J6, A9U929, A9U930,
 A9U928, A9U926, A9U925, A9U927, F9FV05, F9FSV2, F9F9C7, F9FW23, F9FV48, F9FNU8,
 F9F3D9, F9F9U7, F9F3L5, F9FAN0, F9G2N9, F9FP15, F9FVE9, F9FVQ1, F9GG41, F9F800,
 F9F8T0, F9FT26, F9F3K2, F9FMC5, F9FTM6, F9FVF1, F9FNV5, F9G3C3, F9FBF9, F9GC97,
 F9FP63, F9FRS3, F9F4K0, F9G5I4, F9FLC0, F9FS10, F9FRS1, F9F9K8, F9FV47, F9G833,
 F9G6A7, F9G410, F9FV33, F9G5Z1, F9FQU6, F9GD06, F9GA13, F9GG38, F9F0Z2, F9GB84,
 F9FWH3, F9F4K6, F9FLQ1, F9G828, C6KF41, C6KF40, C0KDU8, Q14TL4, Q14TZ7, Q14TZ8,
 Q14TL5, Q14TY1, Q14TY2, Q9HF67, A9U934, Q14TW2, Q14TL9, Q14TM0, Q14TL8, Q14TR4,
 Q6YF29, Q6YD93, A9UDM4, Q14U05, Q14U06, Q14TR7, Q14TR8, Q96US4, A9U924, Q5W375,
 Q14TW7, Q14TW8, A9U920, A9U921, Q3ZNL9, Q14TZ9, Q14U00, B2BE50, Q14TJ6, Q14TJ7,
 A9U935, Q14TX9, Q14TY0, Q3ZNL7, D3VN12, Q14U03, Q14U04, 059937, 074255, Q3LHX0,
 074244, Q3LHX3, 093877, Q14U08, Q14U07, Q14TM6, Q14TM5, A9U933, Q53U67, Q53U65,
 Q53U78, Q53U74, Q53U80, Q53U75, Q53U77, Q6RYZ5, Q53U73, Q50JF4, Q50JF2, Q53U68,
 Q14U10, Q14U09, Q14TI6, Q14TI7, Q14TK0, Q14TW9, Q14TX0, Q14TP5, Q14TK1, Q14TY4,
 Q14TY3, Q14TP4, C7YJQ8, C7YTS6, C7YZY2, C7Z055, C7YVK6, C7ZI42, C7YMB0, C7ZIQ7,
 C7Z2U0, C7Z309, C7YJ62, C7ZB89, C7YXF5, C7YH34, C7ZM38, C7ZMT2, C7ZL93, C7ZDN3,
 A9U931, C7ZC92, C7Z358, C7ZB71, C7ZIN9, C7Z4W8, C7Z935, C7ZE08, C7YWZ5, A9U932,
 C7ZJJ0, C7YJL1, C7ZHB6, C7ZGJ1, C7ZNK4, C7ZGL9, C7YR40, C7ZEY2, C7YW61, C7ZKN2,
 C7ZA31, C7ZG07, C7ZHU8, C7YVE4, C7YXY0, C7ZE90, C7Z9D8, C7ZNC0, A9NIV5, Q5MY21,
 A4UVN0, Q14TK2, Q14TN5, D3VMM2, Q14TP6, Q49S24, Q14TJ0, Q69F59, Q14TY5, Q69F60,
 Q14TJ1, Q14TX2, Q14TX1

30

40

【 0 5 7 7 】

Penicilliumセクレトーム

D0EXD3, B6GXZ8, 094221, Q8NJP6, 059893, B8QGZ3, Q700S9, B6GW04, B6QLF0, B6H5X9,

50

B6QHA9, P83799, B6HLS9, B6H2E9, P48845, B6H9W0, B6QAR7, B8M072, Q9HE18, P81156, Q06886, B2CNY4, B6H3H1, P31723, B6HQ08, B6HR25, B6HL48, B6Q6B6, B8LYF6, B6HAR6, B6QAV0, B8M2V6, B6Q1B3, B8MKT9, P24289, P24504, B6QHD2, B6HL60, P78735, Q01972, B8MF81, Q9HEZ3, Q9Y834, Q9Y833, Q9Y718, 059925, 093883, 042824, P37274, P39457, P29417, P56588, Q9UR16, B8MJZ6, B6Q8U3, Q5S1P9, G3KB94, G3KB93, F1CHI3, A9Z054, B6ZBT2, F1CHI4, B5AKD1, F1CHI2, B0FMT4, B5M079, C9EI49, Q9Y749, Q9UVL4, B8Q961, F5BU82, F2XOX8, B3GS64, E7EF85, B2ZFI4, F6L7A1, C5MRS3, B6QN64, B6QQA6, B6QJ65, B6QVG7, B6QSG8, B6QKD0, B6QMV3, B6QH17, B6QNG2, B6Q9M4, B6QME0, B6QE76, B6QPN6, B6Q638, B6QIG2, B6QIG4, B6QEJ5, B6QMM6, B6QIP2, B6QNP7, B6Q4E1, B6Q9F5, B6QWD1, B6QG04, B6QHN4, B6Q8U2, B6QMY3, B6QPP0, B6QNP6, B6H6X7, B6HNS9, B6HE68, B6HPJ6, B6HVQ6, B6HNU6, B6HC67, B6HHN9, B6GZR5, B6HKM5, B6HGX5, B6HQT2, B6HE71, B6HV77, B6H7H9, B6HV40, B6H016, B6H3I0, B6HTS7, Q6PLK0, Q8NKG0, Q9URR2, A5JUY3, Q5NDC0, G9DBG4, B8M6W7, B8MH80, B8MG47, B8LUY9, B8MPA3, B8LXT3, B8MH72, B8MHF4, B8MMB5, B8LVS8, B8MK69, B8MM80, B8MQG1, B8MEU2, B8M618, B8M9W6, B8LT08, B8LY78, B8M101, B8LZT2, B8MCI9, B8MG28, B8MK67, B8LVS9, B8ML07, B8M5E1, B8LTI1, B8M9H9, B8LZP2, B8MLF2, B8M833, B8MS03, B8MB27, B8LWW0, B8MAG0, B8M540, B8LU57, Q68HC2, A7LH56, Q5ZNB1, Q8WZI7, B5TMG4, F1CYZ0, Q8WZJ4, Q8J0K5, G0XZD8, C0L2S4, Q12665, G3KB95, C5J4L7, Q5DNV8, F5CAQ8

10

【 0 5 7 8 】

Pichia Pastoris セクレトーム

20

C4QY17, C4QWJ4, C4R415, C4QYM9, F2QZG3, F2QUV5, F2QVN4, F2QYL8, F2QWQ8, F2QQI2, F2QXH5, F2QTT0, F2QW47, F2QNB4, F2QZG2, C4QXM2, C4R4V0, C4QZC5, C4R3H3, C4R5B1, C4R8H7, C4R635

【 0 5 7 9 】

Rhizopus セクレトーム

P29026, P29027, P83973, Q7M4U7, P61871, P61872, Q5W9U0, Q8J1L0, Q8J1L2, Q8J1L1

【 0 5 8 0 】

Saccharomyces Cerevisiae セクレトーム

P31787, Q04401, P32323, P52923, P32454, P0CZ17, P0CX77, P0CX78, P0CX79, B3LTZ3, C7GUR3, B5VKG3, A6ZVD0, C8ZAW6, P40458, Q8TGE1, P12630, P15703, A6ZZZ8, P36130, P40202, Q12127, 013547, Q06350, P29029, B5VL27, A6ZQH4, P47001, B3LM82, C7GRF7, A6ZMQ6, C8ZF59, Q3E7A9, Q12287, Q3E731, P38824, P53301, P32623, P28319, P43497, P00175, P00044, P00045, P32898, P23285, P47178, P47179, P54861, B3LRE5, C7GX69, A7A031, C8ZCN3, P36152, P38844, C7GQJ1, B5VE42, A6ZL22, P38248, P42835, P53753, P27882, P23776, P25653, P40515, Q04433, Q08906, Q08907, P36170, P32768, P38894, P39712, P40008, P16892, P25585, P38297, P22146, Q03655, Q08193, P39722, Q04458, P36078, Q05164, B3LPW4, B5VL26, A6ZQH3, P32478, P10591, P10592, A6ZPP2, P47031, P10594, P10594-2, P00724, P00724-2, B3LG61, A6ZYI0, P07170, P39690, P50112, P17260, P39005, P14681, P01546, A6ZZH2, P36060, B3LUU7, B5VDL3, A7A0F9, P18409, B3LJ47, B5VRP4, A6ZNJ7, Q92328, B3LHR1, B5VIB8, A6ZTX2, P53083, 060200, A6ZQL5, P47025, P04824, P41945, P41946, P41947, P34165, P34166, P01149, P32435, P28321, Q04341, Q03667, Q08176, Q06324, P28737, P08640, A6ZVM6, P38626, P16603, P40215, Q07500, P36010, A6ZTA1, P38881, A6ZLG8, P38325, P16547, P35845, Q07987, P38155, P47180, B3LQU0, A6ZZG0, Q03178, B3LQU1, A6ZZG1, Q03180, B3LPW3, B5VL25, A6ZQH2, P46999, P06197, Q03674, Q08108, P00635, P35842, Q08931, P47032, P36110, P47033, P08456, A6ZY20, Q12355, Q12335, Q07807, Q02933, P20840, P14693, P50110, P53969, Q04951, P53189, P53334, Q01589, Q04675, P16658, P39707, Q02825, P40472, P00445, P40092, Q03029, P32603, Q08673, P53616, Q06510, Q06490, P27654, P10863, P33890, P40552, Q12218, P35180, P49334, P23644, P80967, P33448, A6ZRW3, P07213, P38825, P53507, P38288, B3LPD6, C7GS61, A6ZSH9, C8ZGM3, P48560, Q03327, Q08926, Q05776, P352

30

40

50

00, Q04006, B3LRC2, B5VMJ0, A7A003, P36135, P04840, P40478, P39102, Q3E821, Q3E755, Q7LHD1, Q3E6R5, P38616, P32792, Q3E7A3, P36101, A6ZZY2, P36114, Q07988, Q07990, Q12282, Q12106, Q08912, Q06089, E7Q5C8, E7Q5I7, E7QA67, E7Q5V1, E7Q3T8, E7Q5I8, E7Q1N3, E7Q6A0, B3LQN3, B3LKP2, B3LUI4, B3LUG8, B3LQ34, B3LQ33, B3LR97, B3LPV0, B3LHF4, G2WCB1, G2WKG0, G2WGT8, G2WGT9, G2WHG0, G2WNZ7, G2WI44, G2W8I2, G2WE11, C8ZB45, E7KE89, E7KEM2, E7KF31, E7KJH1, C8ZBD4, C8ZBV3, C8ZBD3, C8ZIJ1, E7K927, E7KAJ3, C8ZCH8, E7KE90, C8Z3G3, C8Z8F9, E7KCG9, C8Z4M0, E7KE31, H0GG74, H0H1W1, H0GIZ3, H0GQS2, H0GDT4, H0GSF4, H0GJD5, H0GBV0, H0GII0, H0GWS4, H0GIB6, H0GWL3, H0GX83, E7NGJ0, E7NHM3, E7NJ69, E7NJL6, E7NJN6, E7KL32, E7KQB9, E7KQ44, E7KQQ4, E7KQB8, E7KVD9, E7KNF1, E7LUC1, E7LW80, E7LW81, E7LWK3, E7M106, E7LX13, E7LS74, E7LW67, B5VMG0, B5VDH2, E9P9W0, B5VL98, B5VL14, B5VFL7, B5VLA0, C7GR35, C7GW29, C7GR34, C7GJD5, C7GS01, C7GW87, C7GP19, C7GNP5, A6ZPP5, A6ZQF9, A7A0B8, A6ZW67, A6ZPP6, A6ZXS5, A6ZZX7, A6ZU91, A6ZQB1, E7QEP9, E7QLP5, E7QHE4, E7QGI6, E7QG B8, E7QCL0, E7QGI5

10

【 0 5 8 1 】

Synechococcusセクレトーム

P42784, B7KL24, B7JW48, Q31QJ8, Q2JRS2, Q2JIT3, B1XLD0, Q5N3P4, A5GPE0, Q7U3T1, Q0I6K2, Q3AVW5, Q3AGS4, Q7Y4H2, Q6H956, Q0QZ08, Q6H952, Q55025, P27366, P27477, F5B3P0, F5B3P3, F5B3N3, E3SL31, Q8W6X4, F4YCN3, B4WN23, B4WV19, B4WQ59, B4WN11, B4WR07, B4WTH8, B4WK32, B4WN36, B4WT90, Q05VG5, A3Z3E1, A3Z3C6, A4CY13, A4CY28, A4CRK4, Q061Q6, A3YUA7, A3YU92, D0CN25, D0CIP9, C7QVD0, C7QXF7, C7QUJ6, C7QTE1, Q2JVN2, Q2JIT39, Q2JVE6, Q2JSY5, Q2JVP0, Q3AX46, B7KDY6, B7KC45, B7KEX2, B7K9C0, B7KM01, B7K7C1, B7KEX1, B1XRF8, B1XJB7, B1XRF3, B1XRD6, B1XRM6, B1XQA0, Q31KD9, A5GPC5, Q2JP28, Q2JKD6, Q2JP24, Q2JLU8, Q2JIB0, B7JXR5, B7K647, B7JWH8, A5GWK7, A5GSD6, A5GRG2, Q3AJG8, Q5N1H4, B4WH30, B4WNH1, B4WH32, Q0QKW2, Q0QKW5, Q0QKW7, Q05X68, Q05X65, A3Z4I3, A3ZA35, A3ZA39, A3ZA37, Q05X59, A3ZA28, Q05RB6, A3ZA34, Q05X64, G4FPE6, G4FPF4, G4FPF5, G4FPF2, Q8GIS5, A4CWF2, A4CWF1, A4CWG0, Q061N0, Q061M9, A3ZOX2, C7QP81, C7QM96, C7QLM2, C7QUM4, Q2JXQ7, Q2JXQ6, Q2JXS3, Q2JXQ8, B7KFM8, B7KFM9, B7KID0, B7KAQ6, B7K8J5, B7KE09, B7KAQ9, Q0IDR2, Q0ICD8, Q0ICD1, Q0ICE7, Q0ICE5, Q0ICD7, Q0ICE1, B1XN63, B1XNR9, B1XN62, B1XJM7, B1XNR7, B1XNR6, B1XNR8, Q31KB0, Q31JZ 9, Q31S89, Q31S88, A5GMQ7, A5GMQ0, A5GMR0, A5GMQ1, A5GMQ6, A5GMQ9, Q2JM34, Q2JHN3, Q2JM35, Q2JM04, Q2JM33, B7JZR7, B7K3Z0, B7K1H1, B7JW69, A5GRF2, A5GRF5, A5GRF6, Q5N229, Q5N230, Q5N1K5, Q5N1W0

20

30

【 0 5 8 2 】

Synechocystisセクレトーム

Q55669, P74268, P77972, Q55835, P72780, P73354, Q01903, H0PH79, H0PH89, H0PN19, H0PH82, H0PJG4, H0NZK8, H0P655, H0P2Q5, H0NZK1, H0NZJ8, H0PBW4, H0PBX4, H0P9I7, H0PF19, H0PBW7, F7UT77, F7UT80, F7UT87, F7UQN9, F7ULV4, P72609, P74189, P72602, P72599, P74465, F7URI0, F7ULL3, H0PPC9, H0NXX5, H0PAC7, H0PIR4, H0P204, H0PEB8, F7UP60, F7URJ6, F7UMS5, F7UMS3, F7UP61, P74480, P73704, P74549, P73235, P73703, P73237, H0PM11, H0P4M7, H0P809, H0PKM3, H0PKM5, H0PFC6, H0PM10, H0P391, H0P389, H0P4M6, H0NXX1, H0P6J9, H0P808, H0PAE3, H0P6J7

40

【 0 5 8 3 】

Trametesセクレトーム

Q02497, D0VWU3, Q99044, Q12718, Q99046, Q99049, Q12719, Q99055, Q12717, Q99056, P59097, Q5G234, P79076, Q75UV6, Q9P8N1

【 0 5 8 4 】

Trichodermaセクレトーム

Q92457, Q92451, Q99024, Q03420, Q99034, P48827, P53626, Q4R1C4, C0LRA7, Q8J0I9, P07981, Q12714, P85218, P07982, O14405, P43317, Q7Z9M7, P62694, Q9P8P3, P62695,

50

P19355, P07987, P52754, P79073, A4V8W0, P52755, Q7Z9M8, Q8TFB0, Q66PN1, Q7Z7X3, D6N0Z7, P79072, A3RJX1, B7ZEN3, A8QPD8, D7RF10, Q6S4S0, D9I7P5, Q7Z7X2, O93833, Q7Z7X0, D9I7P6, A3QVU7, A5Z0S4, G3KJ88, Q4F6W8, Q6UJX9, D5FY04, H2KXF9, Q6UJY1, D9IXC6, D0F0C2, G9MFS8, G9N8R7, G9MFN2, G9N0K7, G9MX23, G9MXB2, G9N3P9, G9MQW8, G9MR13, G9MXU9, G9MY26, G9MS02, G9N4S9, G9MEH6, G9MYN2, G9MYN8, G9MFJ5, G9MMA7, G9MMQ0, G9N0T9, G9N0U1, G9MGS4, G9MUP7, G9MV83, G9MPL1, G9MES4, G9MQ69, G9MUN0, G9N0F8, G9MXF0, G9N0G0, G9MFM8, G9NAU0, G9N0U0, G9MU86, G9N4X9, G9N351, G9MVE8, G9MK44, G9MN58, G9MY62, G9MTX9, G9N4W6, G9N068, G9MF11, G9MZG3, G9MRA0, G9N4X6, G9MY29, G9N3U1, G9N5V3, G9MX08, G9N2G7, Q1HCL5, Q7LSP2, Q0Z8U3, B6V6U5, A7LNNW7, A7LNX2, A7LNNW9, A7LNX0, Q0QBT2, A7LNX3, A7LNX1, A7LNNW6, A7LNX4, B5ATG1, A7LNNW8, B5TWC6, B5TWC7, D6N0Z8, D6N0X6, B3FRA5, B5TYI3, B5M4A3, B5TYI4, A2VEC5, A2VEC6, Q2F8H3, A2VEC3, Q99036, Q9HEY8, Q5BMS5, D3YNY1, E1AFV7, Q9P8D0, Q7Z9M9, Q7Z9N1, D3JTC4, G0RB67, G0RV49, G0RRS0, G0RVZ9, G0RTT0, G0RNJ5, G0RH85, G0RV93, G0RHN0, G0R6T7, G0R6T8, G0RVK3, G0RE98, G0RGA8, G0RFI5, G0RX52, G0RTX6, G0R949, G0RKH9, G0RTW7, G0RN38, G0RVE5, G0RB58, G0RTL0, G0RAF8, G0R6T6, G0RWB2, G0REY4, G0RP66, G0RBZ9, G0RVK1, G0RWB1, E2FZU3, D1MGM7, D1MGM6, F5BU83, F8U3U4, G9NSE8, G9NET4, G9NF15, G9NFW5, G9NP23, G9NWX0, G9NQL1, G9NWX8, G9NE01, G9NE62, G9NKD3, G9P3M0, G9NE75, G9NRZ0, G9P4V8, G9NSK4, G9NZ09, G9NSZ2, G9NTG9, G9NTN2, G9NTR5, G9P6M2, G9NUB8, G9NUV0, G9NHP9, G9P209, G9P387, G9NXA4, G9PB35, G9NRH9, G9P6B7, G9PAS1, G9NE20, G9NS05, G9NFV6, G9NQQ1, G9NV26, G9NXQ9, G9NTY2, G9PAN1, G9NTY1, G9NYE0, G9NFU8, G9NZ00, G9NS04, G9NMK3, G9P182, G9NFN9, G9PBZ9, G9P4J3, A7LNV8, A7LNNW3, A7LNNW4, A7LNNW2, A7LNV9, A7LNNW0, A7LNV7, A7LNNW5, A7LNNW1, A7LNV6, D6N0Z9

10

20

【 0 5 8 5 】

付録 B

アンキリンリピート: PHA02635, PHA02730, PHA02736, PHA02743, PHA02791, PHA02792, PHA02795, PHA02798, PHA02859, PHA02874, PHA02875, PHA02876, PHA02878, PHA02884, PHA02917, PHA02989, PHA03095, PHA03100, cd00204, cd01250, cd01274, cd01438, cd03587, cd03716, cd03720, cd03721, cd03722, cd03723, cd03724, cd03725, cd03726, cd03727, cd03728, cd03729, cd03730, cd03731, cd04103, cd04385, cd05744, cd07603, cd07604, cd07606, cd07637, cd07638, cd07639, cd07640, cd07641, cd07642, cd07883, cd07884, cd07885, cd07886, cd07933, cd07934, cd07935, cd08317, cd08555, cd08578, cd08606, cd08782, cd08803, cd08804, cd08805, cd09517, cd09518, cd09519, cd09524, cd09586, cd09587, cd10347, cd10348, cd10423, cd10440, cd10454, cd11582, cd104295, cd115368, pfam03105, pfam03859, pfam07565, pfam07906, pfam08910, pfam09040, pfam09727, pfam10077, pfam10266, pfam11956, pfam14420, pfam14432, smart00248, smart01076, KOG0502, KOG0506, KOG0507, KOG0512, KOG0515, KOG0705, KOG0783, KOG1710, KOG2384, KOG4485, cd06746, cd07325.

30

【 0 5 8 6 】

ロイシンリッチリピート: COG4886, PLN00113, TIGR00864, TIGR02996, cd00116, cd01775, cd05724, cd05725, cd05726, cd06875, cd07693, cd07996, cd08305, cd08320, cd08324, cd08787, cd08788, cd09293, cd09914, cd11280, cd11288, cd11289, cd11290, cd11291, cd11292, cd11293, cd102423, cd115308, cd115309, cd115310, cd115697, pfam00560, pfam00646, pfam01462, pfam01463, pfam03382, pfam07723, pfam07725, pfam08191, pfam08263, pfam09738, pfam10473, pfam12468, pfam12534, pfam12799, pfam13306, pfam13504, pfam13516, pfam13553, pfam13855, smart00013, smart00082, smart00364, smart00365, smart00367, smart00368, smart00369, smart00370, smart00446, KOG0532, KOG0617, KOG0618, KOG1633, KOG1908, KOG4308, KOG4341, KOG4579, KOG4648, cd06701, cd06702, cd06703, cd06704, cd06749, cd09917.

40

【 0 5 8 7 】

テトラトリコペプチドリピート: COG0457, COG0790, COG4700, COG4783, COG4785, COG49

50

41, COG4976, COG5010, COG5191, TIGR00756, TIGR00861, TIGR02505, TIGR02521, TIGR02795, TIGR02917, TIGR03142, TIGR03662, TIGR03939, cd00189, cd04165, cd04461, cd04724, cd05693, cd05694, cd05695, cd05696, cd05697, cd05698, cd05699, cd05700, cd05701, cd05702, cd05703, cd05704, cd05705, cd05706, cd05707, cd05708, cd05718, cd05719, cd05804, cd06469, cd06489, cd06580, cd07417, cd07955, cd09034, cd09239, cd09240, cd09241, cd09242, cd09243, cd09244, cd09245, cd09246, cd09247, cd09248, cd09249, cd09618, cl00200, cl02250, cl02429, cl02723, cl02779, cl03252, cl10302, cl11871, cl14649, pfam00515, pfam01365, pfam02071, pfam02184, pfam03704, pfam03937, pfam07719, pfam07720, pfam07721, pfam07926, pfam08238, pfam08321, pfam08558, pfam10131, pfam10300, pfam10516, pfam11651, pfam11701, pfam11817, pfam12098, pfam12688, pfam12753, pfam12770, pfam12856, pfam12862, pfam12895, pfam12966, pfam12968, pfam13174, pfam13176, pfam13181, pfam13283, pfam13371, pfam13374, pfam13414, pfam13424, pfam13428, pfam13429, pfam13431, pfam13432, pfam13512, pfam13525, pfam13877, smart00028, smart00386, smart00671, smart01043, KOG0551, KOG0553, KOG0624, KOG1125, KOG1127, KOG1128, KOG1129, KOG2002, KOG2003, KOG2396, KOG2471, KOG3617, KOG4014, KOG4234, KOG4507, KOG4555, KOG4642, cd06681, cd06682, cd06683, cd06684, cd06685, cd06686, cd06687, cd07324, cd07330, cd07333, cd07345.

【 0 5 8 8 】

アルマジロリピート: pfam04826, TIGR01438, cd00020, cd00256, cd00594, cd00798, cd00800, cd01667, cd01680, cd01681, cd01886, cd02948, cd03561, cd03562, cd03565, cd03567, cd03568, cd03569, cd04170, cd04416, cd05743, cd07439, cd07846, cd08647, cd09859, cd09898, cl11655, cl00886, cl02500, cl02788, pfam00165, pfam00239, pfam00514, pfam00550, pfam00637, pfam03259, pfam03730, pfam04443, pfam04666, pfam06098, pfam06719, pfam08347, pfam09003, pfam09015, pfam09197, pfam09203, pfam09494, pfam09759, pfam10408, pfam10411, pfam10458, pfam11564, pfam11701, pfam12856, smart00185, smart00823, smart00857, smart00889, smart00960, KOG1048, KOG2122, KOG4224, KOG4535, KOG4646, cd00391, cd02314, cd02315, cd06749.

【 0 5 8 9 】

フィブロネクチン I I I 型ドメイン: COG3401, cd00063, cd02688, cd02847, cd02848, cd02850, cd02851, cd02853, cd02854, cd02855, cd02856, cd02857, cd02858, cd02860, cd02861, cd02871, cd04967, cd04968, cd04969, cd04970, cd04977, cd04978, cd05035, cd05047, cd05074, cd05075, cd05088, cd05089, cd05722, cd05723, cd05727, cd05728, cd05730, cd05731, cd05732, cd05733, cd05737, cd05738, cd05739, cd05747, cd05748, cd05773, cd05845, cd05848, cd05849, cd05850, cd05851, cd05852, cd05853, cd05854, cd05865, cd05866, cd05867, cd05868, cd05869, cd05870, cd05874, cd05875, cd05876, cd05891, cd05894, cd06596, cd07184, cd07475, cl11234, cl11294, cl11675, cl11960, cl15273, pfam00041, pfam01108, pfam07675, pfam09099, pfam09100, pfam09238, pfam09294, pfam12421, pfam12733, pfam13882, pfam14310, smart00060.

【 0 5 9 0 】

リポカリン様ドメイン: COG3040, cd07828, cl11673, cl01001, cl01150, cl01365, pfam00061, pfam04264, pfam04791, pfam07143, pfam08212, pfam09223, pfam10285, pfam12204, pfam12702, pfam13648, pfam13924, pfam13944, pfam13969, smart00867, KOG3722, KOG4824, cd00301, cd00743.

【 0 5 9 1 】

ノッチン: cd00107, cl11589, pfam08027, pfam10530, pfam11703, smart00505, pfam00451, pfam00537, pfam08099, pfam08119, pfam0913.

【 0 5 9 2 】

セルロース結合ドメイン: cd00005, cd00036, cd02795, cd06543, cd09618, cd09619, cd09620, cd09621, cd09622, cl02521, cl02709, cl03026, cl03918, pfam00553, pfam00734, pfam00942, pfam03067, pfam03173, smart00236, smart00606, smart01067, smart010

10

20

30

40

50

81, cd00597, cd02723, cd02880, cd06026, cd06027, cd06037.

【 0 5 9 3 】

炭水化物結合ドメイン: d00005, cd00035, cd00036, cd00037, cd00161, cd00239, cd00241, cd02688, cd02795, cd02859, cd02860, cd02861, cd03602, cd03603, cd04078, cd04079, cd04080, cd04081, cd04082, cd04083, cd04084, cd04085, cd04086, cd05467, cd05806, cd05807, cd05808, cd05809, cd05810, cd05811, cd05813, cd05814, cd05815, cd05816, cd05817, cd05818, cd05820, cd06564, cd06921, cd06922, cd06923, cd07184, cd08546, cd08547, cd08548, cd08987, cd08990, cd09003, cd09214, cd09216, cd09220, cd09618, cd09619, cd09620, cd09621, cd09622, cd09625, cd09628, cd09629, cd09631, cd09838, cd10315, cd10316, cd10317, cd10318, cd10320, cd10909, cd10964, cd11234, cd11320, cd11618, cd102511, cd103918, cd104060, cd104227, cd105621, cd107060, cd111617, cd114880, cd115347, cd116916, pfam02018, pfam02839, pfam02922, pfam03173, pfam03370, pfam03422, pfam03423, pfam03424, pfam03425, pfam03426, pfam03427, pfam03442, pfam03627, pfam06204, pfam08305, pfam09212, pfam09478, pfam10564, pfam10633, pfam10645, pfam11606, pfam13201, smart00034, smart00231, smart00458, smart00776, smart01063, smart01066, smart01068, smart01081, cd02689, cd02719, cd02880, cd02881, cd06018, cd07745, cd07746, cd07747, cd07748.

10

【 0 5 9 4 】

プロテイン Z フォールド: CHL00082, PRK02576, cd02055.

【 0 5 9 5 】

20

P D Z ドメイン: COG0265, COG3480, COG3975, TIGR00054, TIGR02037, TIGR02038, TIGR03900, cd00136, cd00986, cd00987, cd00988, cd00989, cd00990, cd00991, cd00992, cd01208, cd01255, cd01258, cd01260, cd01777, cd01781, cd01782, cd03600, cd03877, cd04028, cd04031, cd04395, cd04438, cd04439, cd04440, cd04441, cd04442, cd05579, cd05609, cd05610, cd05663, cd05709, cd06158, cd06159, cd06160, cd06162, cd06163, cd06567, cd06886, cd07354, cd07358, cd07560, cd07561, cd07659, cd09244, cd09360, cd09361, cd09362, cd09363, cd09364, cd09365, cd09448, cd09450, cd09451, cd09452, cd09453, cd09454, cd09455, cd09456, cd09457, cd09458, cd09459, cd09460, cd09461, cd09462, cd09463, cd09464, cd09465, cd09517, cd09586, cd09587, cd11261, cd11624, cd11633, cd11634, cd100117, cd111968, pfam00595, pfam02377, pfam04495, pfam10506, pfam10600, pfam12812, pfam13180, smart00049, smart00295, KOG1421, KOG2221, KOG3834, KOG3938, cd00646, cd06665, cd06667, cd06668, cd06669, cd06670, cd06671, cd06672, cd06673, cd06674, cd06675, cd06676, cd06677, cd06678, cd06679, cd06680, cd06681, cd06682, cd06683, cd06684, cd06685, cd06686, cd06687, cd06689, cd06691, cd06699, cd06700, cd06701, cd06702, cd06703, cd06704, cd06718, cd06720, cd06722, cd06723, cd06724, cd06726, cd06727, cd06728, cd06729, cd06730, cd06731, cd06732, cd06733, cd06734, cd06735, cd06736, cd06737, cd06738, cd06739, cd06740, cd06741, cd06742, cd06743, cd06744, cd06746, cd06749, cd06751, cd06755, cd06764, cd06765, cd06766, cd06767, cd06774, cd06775, cd06776, cd06777, cd06778, cd06779, cd06780, cd06781, cd06782, cd06783, cd06784, cd06785, cd06786, cd06787, cd06789, cd06791, cd06793, cd06795, cd06796, cd06798, cd06799, cd06806, cd10737, cd10740, cd10741, cd10742, cd10743, cd10744, cd10745, cd10746, cd10817, cd10819, cd10823, cd10824, cd10825, cd10826, cd10827, cd10828, cd10829, cd10830, cd10831, cd10832, cd10833, cd10834, cd10835, cd10836, cd10837, cd10838, cd10839, cd10840.

30

40

【 0 5 9 6 】

S H 3 ドメイン: COG3103, COG4991, PRK10884, TIGR03900, TIGR04211, cd00174, cd00379, cd01210, cd01212, cd01221, cd01223, cd01224, cd01225, cd01238, cd01249, cd01776, cd03030, cd04130, cd04383, cd04388, cd05040, cd05795, cd05796, cd05797, cd06647, cd06868, cd06882, cd06887, cd06888, cd07285, cd07588, cd07589, cd07592, cd07593, cd07594, cd07595, cd07602, cd07604, cd07605, cd07607, cd07610, cd07611, c

50

cd07612, cd07613, cd07614, cd07615, cd07616, cd07617, cd07620, cd07634, cd07635, cd07636, cd07640, cd07641, cd07642, cd07644, cd07645, cd07646, cd07647, cd07649, cd07651, cd07653, cd07654, cd07655, cd07656, cd07658, cd07671, cd07672, cd07675, cd07677, cd07678, cd07679, cd07680, cd07681, cd07682, cd07683, cd07684, cd07767, cd08375, cd08400, cd08592, cd08627, cd08628, cd08681, cd08694, cd08695, cd08771, cd09334, cd09359, cd09447, cd09525, cd09532, cd09533, cd09540, cd09560, cd09583, cd09912, cd09926, cd09930, cd09932, cd09933, cd09934, cd09937, cd09940, cd09941, cd09942, cd09943, cd10338, cd10341, cd10347, cd10348, cd10353, cd10354, cd10358, cd10359, cd10360, cd10362, cd10363, cd10364, cd10365, cd10366, cd10367, cd10368, cd10369, cd10370, cd10371, cd10395, cd10396, cd10397, cd10398, cd10399, cd10405, cd10406, cd10407, cd10408, cd10409, cd10418, cd10419, cd11281, cd11524, cd11525, cd11549, cd11550, cd11551, cd11552, cd11564, cd11568, cd11569, cd11570, cd11571, cd11619, cd11628, cd11629, cd11631, cd11632, cd11635, cd11637, cd11696, cd11697, cd11704, cd11705, cd11706, cd11707, cd11708, cl00838.

10

【 0 5 9 7 】

S H 2 ドメイン: cd00173, cd00934, cd01208, cd01209, cd01210, cd01211, cd01212, cd01213, cd01214, cd01216, cd01217, cd01223, cd01231, cd01238, cd01267, cd01268, cd01269, cd01270, cd01271, cd01272, cd01273, cd01274, cd01787, cd02340, cd03587, cd03717, cd03734, cd03735, cd03736, cd03737, cd03738, cd03739, cd03740, cd03741, cd04388, cd05034, cd05041, cd05067, cd05068, cd05069, cd05070, cd05071, cd05072, cd05073, cd05084, cd05085, cd05115, cd05148, cd07657, cd07685, cd07686, cd08400, cd09074, cd09091, cd09100, cd09101, cd09350, cd09356, cd09436, cd09491, cd09522, cd09551, cd09918, cd09919, cd09920, cd09921, cd09923, cd09925, cd09926, cd09927, cd09928, cd09929, cd09930, cd09931, cd09932, cd09933, cd09934, cd09935, cd09937, cd09938, cd09939, cd09940, cd09941, cd09942, cd09943, cd09944, cd09945, cd09946, cd10337, cd10338, cd10339, cd10340, cd10341, cd10342, cd10343, cd10344, cd10345, cd10346, cd10347, cd10348, cd10349, cd10350, cd10351, cd10352, cd10353, cd10354, cd10355, cd10356, cd10357, cd10358, cd10359, cd10360, cd10361, cd10362, cd10363, cd10364, cd10365, cd10366, cd10367, cd10368, cd10369, cd10370, cd10371, cd10372, cd10373, cd10374, cd10375, cd10376, cd10377, cd10378, cd10379, cd10380, cd10381, cd10382, cd10383, cd10384, cd10385, cd10386, cd10387, cd10388, cd10389, cd10390, cd10391, cd10392, cd10393, cd10394, cd10395, cd10396, cd10397, cd10398, cd10399, cd10400, cd10401, cd10402, cd10403, cd10404, cd10405, cd10406, cd10407, cd10408, cd10409, cd10410, cd10411, cd10412, cd10413, cd10414, cd10415, cd10416, cd10417, cd10418, cd10419, cd10420, cd10421, cd10718, cl03749, cl15255, pfam00017, pfam01017, pfam02762, pfam02864, pfam02865, smart00252, smart00964, KOG0790.

20

30

【 0 5 9 8 】

WW ドメイン: cd00201, cd01216, cd01271, cd01272, cd04021, cd04033, cd04403, cd05127, cd05131, cd05327, cd07649, cd08680, cd08691, cd09091, cd09101, cd09809, cl00157, cl02610, pfam00397, pfam09429, pfam10176, pfam11669, pfam12237, smart00441, smart00498, KOG3209, KOG3294, KOG4334, KOG4812.

40

【 0 5 9 9 】

チオレドキシン: COG0492, COG0526, COG0694, COG1331, COG2143, COG3118, COG4759, COG4802, COG5494, PHA02125, PHA02278, PHA02683, PRK09381, PRK09437, PRK10262, PRK10996, PRK14018, PTZ00051, PTZ00052, PTZ00443, TIGR00411, TIGR00412, TIGR00424, TIGR00434, TIGR01068, TIGR01126, TIGR01130, TIGR01292, TIGR01438, TIGR02055, TIGR02057, TIGR02098, TIGR02180, TIGR02181, TIGR02182, TIGR02183, TIGR02194, TIGR02689, TIGR02691, TIGR02738, TIGR02739, TIGR02740, TIGR03090, TIGR03143, TIGR04019, cd00207, cd00299, cd00350, cd00729, cd01659, cd01713, cd02949, cd02953, cd0295

50

4, cd02957, cd02969, cd02970, cd02973, cd02980, cd02986, cd02987, cd02988, cd02989, cd03003, cd03004, cd03008, cd03009, cd03011, cd03014, cd03015, cd03016, cd03017, cd03018, cd03021, cd03029, cd03033, cd03034, cd03035, cd03036, cd03037, cd03177, cd03178, cd03180, cd03181, cd03182, cd03183, cd03184, cd03185, cd03186, cd03187, cd03188, cd03189, cd03191, cd03192, cd03194, cd03195, cd03196, cd03197, cd03198, cd03199, cd03202, cd03203, cd03204, cd03205, cd03206, cd03207, cd03208, cd03209, cd03210, cd03419, cd04416, cd10002, cd10291, cd10292, cd10293, cd10295, cd10296, cd10297, cd10298, cd10299, cd10300, cd10301, cd10302, cd10303, cd10424, cd10450, cd10457, cd11378, cd11683, cl00388, cl00484, cl01729, cl01977, cl07951, cl17011, pfam00085, pfam01323, pfam01507, pfam02941, pfam02943, pfam04592, pfam06201, pfam06491, pfam07884, pfam07912, pfam07955, pfam07976, pfam08534, pfam08806, pfam09338, pfam10865, pfam13098, pfam13192, pfam13462, pfam13743, pfam13848, pfam13899, pfam13905, smart00756, KOG0191, KOG0404, KOG0907, KOG0908, KOG0910, KOG0912, KOG0913, KOG0914, KOG1730, KOG2244, KOG2501, KOG2640, KOG3780, KOG4277, KOG4716, cd09226, cd09230, cd10546.

10

【0600】

ロイシンジッパー: COG5221, TIGR03057, cd00193, cd01047, cd06868, cd07601, cd07631, cd07632, cd08687, cd08875, cd09213, cd09521, cd09529, cd09768, cd09803, cd09920, cd09929, cd09940, cd10405, cd10406, cd10407, cl02576, cl02577, cl04407, pfam00170, pfam01056, pfam01665, pfam02183, pfam02344, pfam02536, pfam03131, pfam04618, pfam04782, pfam05712, pfam06818, pfam07188, pfam07334, pfam07716, pfam07888, pfam07990, pfam08383, pfam08618, pfam09728, pfam09766, pfam10259, pfam10815, pfam11569, pfam11725, pfam12329, pfam12330, pfam12498, pfam12624, pfam13007, pfam13011, pfam13324, pfam13339, pfam14389, KOG3119, KOG3613, KOG4074, KOG4721, cd11387, cd11388, cd11394, cd11395, cd11396, cd11397, cd11398, cd11399, cd11400, cd11401, cd11402, cd11403, cd11404, cd11405, cd11406, cd11456, cd11457, cd11458.

20

【0601】

植物ホメオドメイン: COG4118, COG5034, COG5141, PHA02825, TIGR00568, TIGR01550, TIGR01552, TIGR03325, TIGR03343, cd01397, cd01797, cd02957, cd02987, cd02988, cd02989, cd03479, cd04710, cd05656, cd05839, cd05841, cd07107, cd09583, cd10449, cd10455, cd11598, cl00960, cl09153, pfam00628, pfam02318, pfam02604, pfam02661, pfam03660, pfam04683, pfam04698, pfam06001, pfam08073, pfam08074, pfam10503, pfam12998, pfam13341, pfam13771, pfam13831, pfam13832, pfam13836, pfam13922, smart00064, smart00249, smart00576, smart00583, smart00744, KOG0825, KOG0954, KOG0955, KOG0956, KOG0957, KOG1245, KOG1512, KOG1632, KOG1633, KOG1634, KOG1844, KOG1973, KOG3612, KOG4299, KOG4323, cd11122, cd11672, cd11725, cd11726, cd11727, cd11728, cd11729.

30

【0602】

Tudor ドメイン: cd04508, cd08824, cd09972, cd09973, cd09974, cd09975, cd09976, cd09985, cd09986, cl02573, pfam00567, pfam05641, pfam07039, pfam08605, pfam09465, pfam11717, pfam13861, smart00333.

40

【0603】

ヒドロホビン: cl02451, pfam01185, pfam06766, smart00075

【0604】

付録 C

付録 C

M S A 配列 I D : 全ての I D 値は N C B I の P r o t e i n G e n B a n k データベース中の特異的配列を識別する G I 番号である。

【0605】

グルコシダーゼフィブロネクチン I I I 型ドメイン (A. N i g e r)

50

299755823, 238485216, 238508296, 225683825, 317145011, 83768412, 119483900, 7098
2937, 565664, 154298509, 226293205, 320589434, 169784538, 320581485, 115400904,
238503674, 317035636, 241959388, 212526374, 317031154, 134077461, 302888467, 171
693827, 295666169, 115386532, 296439601, 238497998, 83764846, 317138559, 2559329
21, 242780701, 121703850, 310798849, 121804809, 302694815, 154305615, 255955195,
302917221, 289614529, 154293970, 296439596, 67539612, 190344356, 302413403, 146
421590, 15982666, 46121149, 119485921, 320037033, 119173146, 303324127, 32059214
7, 145607371, 169620942, 163940726, 67524741, 67526983, 154310381, 229133867, 30
2880422, 189198678, 258570545, 115401928, 31747174, 242808274, 296439599, 102272
2, 310797003, 125973771, 40667, 156031297, 149210995, 229167716, 302694805, 2069 10
01117, 299137068, 212537781, 255946129, 145251001, 255949368, 229060662, 3029118
26, 171676730, 315647365, 217966720, 302407187, 115378805, 310822611, 217966656,
154317655, 229103587, 150951335, 134082248, 302889355, 242208680, 317127436, 11
9467514, 115388958, 311321042, 201066459, 309297457, 262408994, 295087823, 23771
5058, 251794873, 3320411, 229116503, 3320413, 85097939, 227874, 493580, 29914668
8, 160886174, 85092449, 289618093, 218091995, 314966803, 238599849, 229097501, 1
64659066, 315103465, 314923030, 282854060, 289622551, 289615653, 50556144, 26095
0625, 229020846, 229024523, 116197188, 34582634, 19352194, 146296134, 253574725,
170096919, 156056032, 67901856, 699394, 156050519, 68479078, 169619579, 3849051
9, 302671450, 50546819, 189206824, 238598699, 182419970, 322435462, 238498582, 1 20
69781768, 311328327, 225874508, 298247076, 39960393, 171681682, 160931651, 50421
785, 300783640, 311321796, 307719141, 320587575, 302188035, 304316190, 150018834
, 50551019, 259503717, 46140089, 315185696, 312217489, 74149952, 189202078, 2997
40917, 312214892, 212634465, 294141713, 167647584, 71282614, 256392676, 23491576
, 94969137, 150018584, 154277554, 199584262, 149826, 312961926, 296270377, 32335
8436, 225871719, 111036528, 111036526, 114953, 299137021, 229591514, 299139610,
240280387, 302696291, 317474221, 218130692, 90022319, 295689400, 6456799, 224535
250, 88800644, 291514450, 145609584, 268608351, 189468349, 296417445, 225619035,
291547825, 71733982, 161898175, 256784888, 209517934, 310794267, 299754143, 302
680651, 303241835, 148657583, 260662194, 289177814, 183602713, 302558094, 219682 30
536, 114799008, 254445290, 220928567, 225561055, 291530570, 28870482, 257485380,
315652708, 251799074, 295691082, 254446212, 94971178, 320323745, 320327887, 302
337739, 254295420, 298487501, 302184979, 282600765, 225012305, 158315093, 206563
180, 66046382, 302539526, 289679117, 268317619, 71023985, 21224034, 320592106, 2
56378884, 296125304, 297559997, 254445005, 297202710, 300770073, 293374877, 1194
77568, 170094666, 291436961, 239928636, 222083019, 295700293, 167749573, 2275385
27, 167645796, 51103104, 51103187, 51103146, 152967379, 302693222, 51103086, 511
03095, 304405499, 282877070, 160888502, 254248578, 118586280, 170735706, 2908911
47, 107026521, 116491544, 302338605, 237801178, 171320332, 119366853, 229493147,
281424455, 281421064, 312891037, 299142711, 284158790, 255505767, 237801293, 28 40
9627417, 182412094, 257485176, 302185714, 298486752, 255281396, 3023166, 6604626
6, 134293451, 71733925, 290957046, 167646366, 319787180, 322435442, 255532174, 2
8870341, 301385021, 261366314, 213969815, 114562485, 300718414, 172063122, 30254
6944, 71019897, 324030239, 289673084, 270296098, 115358367, 291540741, 258510346
, 170701580, 50546815, 293393020, 308375093, 295690896, 260185048, 251797616, 14
6299327, 15607327, 31791364, 121636098, 254248673, 156740923, 320161158, 1171646
88, 256848175, 282878292, 291557837, 270294870, 317477858, 225378720, 238025248,
319952040, 304406516, 299136858, 226307298, 150002739, 290770223, 167588628, 31
7056466, 224538590, 241258654, 295700358, 78062672, 307324014, 189467777, 295101
332, 54025369, 237712573, 261404262, 307693600, 217966749, 284031239, 240146167, 50

298481633, 237715430, 293370588, 2583218, 300776976, 254882241, 225873702, 3224
34506, 251795208, 291525171, 266623672, 167765233, 2598192, 317054135, 296167403
, 256394179, 221215244, 298228724, 313204584, 161520955, 221196621, 307266877, 2
18130696, 238581558, 189460092, 254253886, 16125220, 54024927, 299140913, 237719
796, 301384088, 256395993, 315309884, 94971087, 294640145, 261881014, 295086400,
254419249, 213968866, 271967420, 257877832, 256393020, 152994256, 15642800, 297
196178, 295103770, 295840563, 320328802, 300778220, 28870849, 320324694, 3131453
53, 66047220, 294146775, 9971087, 302886330, 313204581, 310826625, 255007659, 67
524309, 160885399, 307130600, 152966485, 322696092, 300776921, 170721366, 291540
735, 312888033, 212715466, 167646103, 225351532, 302893318, 319788503, 160943517 10
, 318057914, 237715892, 134097338, 291009286, 304317882, 302517580, 224588245, 2
29818080, 315498613, 319647763, 238593748, 52081845, 41409723, 315606695, 281421
892, 294674952, 320592477, 299136776, 254777433, 256390807, 322437581, 160901716
, 118463402, 159897956, 1749831, 320106055, 291534290, 288925556, 291550726, 160
888506, 189464310, 167038437, 315303407, 313807474, 224025503, 94967561, 2221021
42, 7259476, 317477862, 315498653, 317474225, 63099951, 189460887, 209521226, 11
4951, 289427172, 225377046, 307294941, 295689821, 194366147, 298483851, 28967947
3, 160882984, 294644546, 237716804, 293370910, 322831259, 295086091, 314960045,
269796801, 297163385, 299146960, 297543748, 227536644, 167385650, 83698596, 1702
88716, 148270032, 238684879, 294146655, 291298614, 224537753, 116334524, 5084247 20
6, 29829120, 312885398, 255690202, 190574823, 188990656, 224023609, 254821407, 1
98277570, 290770098, 300773468, 116206440, 317479341, 270293824, 237803559, 1608
89064, 282864716, 322433841, 317478036, 256376299, 16126000, 222107153, 14561368
4, 290962042, 320592685, 256840106, 302420455, 313205375, 28871427, 60280038, 15
8312317, 221234769, 271500972, 66767544, 160878820, 310644496, 294674485, 255690
655, 299137019, 296139204, 190346640, 146319801, 21232323, 291538014, 260172598,
237715659, 262408668, 190346171, 294655179, 227326958, 154489053, 150009032, 29
8375735, 295109411, 294675412, 256840965, 298480647, 223937583, 302566017, 26238
3928, 253687936, 312889085, 237725955, 62198735, 270296173, 317480750, 302566013
, 298376791, 262381651, 150007848, 324029849, 50309205, 317504539, 126137271, 31 30
5310112, 255013451, 163849391, 294673871, 153812089, 149278527, 289626767, 30116
1853, 254522717, 289648458, 281412087, 160892207, 149280000, 60680320, 265765465
, 156740905, 302554503, 219848595, 224024263, 254385125, 324030647, 154302840, 3
19901343, 256838674, 167765093, 169601510, 298374049, 146418359, 146301134, 3122
12973, 262383062, 261880245, 255013062, 150009652, 255939816, 255014865, 1885746
21, 255530706, 58584046, 301312089, 222080945, 66045026, 302186259, 291300118, 2
09546850, 167835857, 21244948, 257786541, 289577460, 253563828, 148271278, 30760
4185, 300727659, 53712134, 229819813, 12718377, 217968103, 154493680, 182413194,
158314962, 29348723, 260171196, 189464498, 290770019, 164426783, 298387086, 218
132025, 253568934, 294791291, 315919513, 257051243, 29345853, 78049544, 31295951 40
1, 289767819, 257052130, 86142611, 270294874, 253571926, 160890630, 256419370, 1
71060997, 300789204, 261406646, 261406977, 160887865, 289434894, 2290232, 256783
934, 237718534, 160882312, 29347188, 298387490, 30795002, 266620396, 306822308,
289718454, 261404354, 242239825, 21244593, 270294390, 261878665, 171742399, 1190
26212, 294666741, 58583746, 146301131, 146421343, 294626495, 166710408, 16089108
7, 288562868, 21224897, 288562870, 257052681, 222099644, 313505754, 296114969, 3
13633027, 294675324, 227113034, 189460899, 257483426, 18916682, 255282879, 15904
1876, 251799078, 189467715, 289619058, 160891565, 86141404, 288551611, 224536801
, 114568800, 220914262, 323344052, 1483615, 255533985, 50121714

ヒドロホビン 1 (T. Reese i)

289623350, 1708378, 114793912, 322712535, 154125577, 154125595, 6647555, 42543467, 154125591, 154125583, 126009705, 302412419, 25091421, 1903321, 154125589, 154125585, 311326527, 154125601, 70930993, 322692547, 154125581, 24474507, 189188090, 154125605, 1709966, 154125579, 154125597, 154125607, 1706154, 164425836, 148888519, 289524984, 39950019, 154125593, 46109898, 289617808, 37724083, 171685270, 115396538, 310801153, 39956960, 302884573, 310800037, 154314570, 156062196, 169600565, 154125587, 148888523, 148888521, 68271221, 302408401, 156045944, 11359587, 154125571, 4499830, 312222048, 189192290, 311319579, 154125603, 311317189, 209570340, 37723315, 12584528, 154125599, 769895, 89113187, 40644368, 262916, 1705756, 134079670, 2065353, 302423794, 169606818, 1870028, 154321730, 154125573, 91771573, 1870038

10

【0607】

ヒドロホビン 2 (T. Reese i)

6647555, 42543467, 126009705, 1708378, 289623350, 114793912, 154125591, 70930993, 1903321, 154125583, 154125595, 154125585, 154125593, 154125605, 322712535, 154125577, 25091421, 24474507, 154125601, 189188090, 154125589, 311326527, 1709966, 322692547, 302412419, 154125581, 154125607, 154125597, 289617808, 115396538, 289524984, 148888519, 1706154, 154125579, 164425836, 39950019, 39956960, 46109898, 310801153, 171685270, 154125603, 37724083, 68271221, 302408401, 156062196, 310800037, 302884573, 189192290, 311319579, 169600565, 169606818, 312222048, 148888523, 148888521, 154125587, 11359587, 209570340, 154125571, 37723315, 156045944, 154314570, 154125599, 311317189, 4499830, 12584528, 154321730, 89113187, 40644368, 262916, 1705756, 189190926, 769895, 1870028, 2065353, 302423794

20

【0608】

炭水化物結合モジュール 20 (A. Nig er)

145235763, 224027, 308390265, 49237635, 30025851, 157837372, 49615615, 237824119, 159162039, 32265054, 226358, 113790, 1389841, 40313280, 46398247, 113792, 115395828, 159128620, 242807399, 70988699, 119497739, 212538175, 67900830, 320592728, 115385717, 159128622, 70988703, 12666724, 212531193, 255939424, 119497741, 121711038, 242772202, 121704316, 217825, 238507489, 169786471, 104345338, 40313278, 119494507, 38524238, 2570150, 85110737, 289614504, 156043229, 255937169, 302412212, 115386862, 121708778, 67538586, 307590719, 289615069, 115433526, 61658242, 146330532, 242775754, 302413077, 225559859, 119473373, 303311341, 226290081, 255939426, 212538201, 46123801, 320592745, 166797271, 154316440, 171677225, 121711036, 311321950, 312220777, 189198073, 315042896, 312219086, 302915477, 119194357, 258567690, 67525889, 3012, 145603948, 149211031, 242807252, 85082688, 310794605, 169620405, 39973515, 320039527, 296808129, 121707616, 302658226, 259486662, 302895994, 159125271, 154319704, 322712530, 295669328, 119500486, 310796060, 238580439, 322692544, 283484365, 225682653, 261825113, 289616467, 312219088, 156046276, 169620403, 116205651, 311321949, 302681819, 271964823, 171687999, 302868164, 189198075, 119473591, 168261, 159128483, 146323129, 299743826, 115378360, 159038460, 256375271, 121704551, 159900578, 154287478, 164507722, 302419163, 238581698, 67903834, 163849057, 461509, 39969197, 145594536, 93360073, 145595211, 72161389, 240276266, 169624056, 8468531, 62816022, 166797273, 242211440, 242219173, 113822, 311900274, 254386884, 170090057, 78484151, 256393823, 294633263, 94966431, 297191407, 320011163, 685212, 1351937, 157830769, 399224, 157829680, 189096161, 282861496, 68564993, 311895741, 310798273, 169858289, 722279, 239826234, 156032806, 104376001, 323705023, 1168860, 3298517, 126364303, 221218407, 399220, 742241, 538221, 302562176, 304406864, 297545348, 54304042, 54694920, 302498961, 299743

30

40

50

452, 239987198, 239940720, 4099127, 315645249, 399222, 399221, 302422574, 399330
06, 51247884, 51247882, 46015835, 7546512, 116046, 1942571, 46015837, 154303741,
1168861, 157830602, 399223, 157830567, 157830605, 4930027, 182439073, 18655886,
157830603, 157830604, 7245442, 231547, 31615908, 18655887, 11513474, 31615909,
4930028, 113820, 42543291, 124605822, 30316403, 261404817, 11139208, 399219, 229
826603, 157837088, 157830601, 157830600, 6729854, 535792, 157836927, 289618282,
113785, 116043, 226525540, 46139623, 166157197, 167571945, 167037093, 399218, 17
2054128, 113807, 167838576, 2911478, 461717, 167564778, 38492802, 171850753, 256
783676, 142654, 308178229, 83717267, 257141453, 167576698, 1595853, 2098273, 253
576539, 90074677, 167722069, 237509634, 167896714, 126442408, 126457000, 5372118 10
0, 254189583, 76819424, 226198761, 254182851, 167741067, 167908510, 134280814, 2
54264465, 217422876, 167826636, 283558100, 90654477, 154354703, 34498945, 304408
279, 242779935, 116199623, 257386281, 1835232, 3219626, 256394988, 307103696, 28
2897853, 288904962, 231548, 280977881, 260771365, 89241792, 33860127, 142501, 17
1688444, 91793156, 8569360, 15895508, 70993930, 262195698, 218246954, 302784796,
187933512, 302770775, 187934195, 297559906, 118396703, 162452301, 87122266, 159
477453, 212526062, 118364918, 83758764, 67926159, 307104489, 167832789, 15947626
8, 323493741, 307106422, 262191544, 115376651, 107593783, 307109087, 307103697,
113760, 168036245, 170727753, 303283090, 186684698, 116789355, 153830763, 153217
603, 229513213, 229523095, 255078280, 168018169, 302785794, 302759923, 307104549 20
, 255565356, 186525893, 3319356, 79521972, 159479192, 224139076, 123439946, 2978
08657, 187933999, 307110984, 159476270, 37522913, 303283588, 302849069, 16803207
5, 125572684, 115441139, 224128864, 146308156, 123488013, 308808348, 145547785,
242090713, 146760275, 242055031, 125528432, 295702543, 294497172, 270269270, 307
108425, 220906758, 146771507, 146283806, 242046838, 195640794, 116048, 86606823,
226499126, 149375630, 224087746, 302838921, 2506188, 255073725, 296089605, 1167
92294, 225433656, 151013, 53771834, 301788864, 10120674, 255645345, 307110670, 1
45518121, 123404859, 255078504, 224139644, 66824037, 307107932, 118384456, 25508
5400, 123439198, 307109520, 194224172, 50978534, 242011264, 73991641, 114680847,
149640925, 123229827, 209882226, 218196885, 115464183, 255569325, 123229826, 11 30
4680845, 90019963, 145351048, 255078292, 123413801, 194672502, 124001065, 302833
597, 302845770, 297481642, 296200126, 124001035, 7243266, 25901062, 111185947, 8
6608881, 291388907, 316971198, 111185942, 159478014, 145552336, 307105907, 25557
4411, 187609225, 159487935, 145498841, 145480701, 222631770, 308806776, 12400132
4, 66809917, 297706306, 167998923, 42569818, 159473276, 83646851, 118087806, 229
594488, 307110669, 297741704, 281205525, 307107166, 225351714, 303283318, 225440
191, 284031968, 316969571, 148909212, 281210229, 168178622, 256842200, 255016562
, 145535153, 262384873, 298377647, 123475271, 148230549, 303279016, 170755489, 1
19720359, 281208415, 66361724, 307104336, 67585216, 224106273, 312877290, 900225 40
80, 226948470, 312794156, 145493395, 237843789, 221504648, 221481585, 307105109,
321462731, 255555150, 50725997, 115475892, 224089891, 223942235, 302837073, 168
012334, 218200941, 145525080, 308805014, 297824023, 150006677, 297810269, 255085
854, 4775282, 302829913, 168053587, 145511746, 281348199, 226504950, 145526611,
213982899, 74001877, 302789740, 302846710, 297740222, 322805524, 147794040, 1497
01667, 307104459, 297260258, 110002651, 148379186, 153939542, 302782878, 1454758
79, 85111707, 125849062, 312134529, 126659022, 119946169, 309790494, 30424697, 3
02871232, 170761755, 67479419, 312877289, 108758596, 145516224, 302830967, 14551
6795, 301617462, 62078705, 189463960, 118383730, 237794487, 154491700, 255075993
, 168183055, 118090258, 55250365, 18412808, 66826231, 212550801, 119894119, 3845
4294, 61657886, 218264323, 146162797, 41176619, 42573247, 222637624, 145498915, 50

218200202, 255086087, 281339374, 312623066, 300727642, 115473897, 312128250, 229
818349, 167378154, 118388320, 302871231, 146295728, 270295906, 301778729, 298706
680, 160889319, 224536054, 145485769, 317479654, 145478487, 67463860, 219848570,
154421756, 302813912, 159478859, 167384387, 265766963, 60683070, 145488629, 145
518726, 145538848, 301164585, 253566263, 312134528, 123409439, 66804239, 2258682
97, 255567240, 303284321, 312794153, 183233439, 195427024, 6552352, 5822031, 319
899892, 145496242, 222528625, 311262388, 145546719, 237838365, 302795135, 255083
554, 221484248, 303281931, 255011259, 126304371, 255081762, 221505769, 187780181
, 160333557, 159467130, 114594121, 225870770, 145517408, 195978371, 224025186, 2
21487379, 292490548, 21903377, 163846609, 237830021, 145552513, 228991389, 67463 10
859, 145347517, 67463858, 31615380, 4699851, 145523277, 228997490, 145500690, 14
5492108, 269839307, 119512278, 88707074, 307104631, 222616942, 303286629, 115488
252, 218186706, 194383048, 145526228, 224131900, 281207436, 229818340, 288925287
, 296196255, 193785585, 302839996, 297673809, 260828963, 302564337, 291401584, 4
7213312, 4503977, 125985831, 195147998, 66821909, 53715112, 321467895, 145348989
, 108862527, 303236601, 195382199, 84998928, 67624447, 224049103, 224482643

【 0 6 0 9 】

セルロース結合ドメイン 1 (A. N i g e r)

145230535, 74698498, 308212489, 242806894, 119483864, 154304807, 115390166, 7469
7396, 26986133, 317025187, 212537781, 51243029, 156065763, 3913798, 119483862, 1 20
56065471, 289616424, 242815497, 169862519, 212538337, 913560, 984166, 212539271,
154304809, 17902580, 311875380, 163644902, 115397179, 15321720, 299751179, 2896
22188, 19879406, 729650, 242803173, 119485504, 70992391, 9796016, 310798929, 709
92777, 145230537, 302408543, 310796491, 156065761, 70983864, 323500646, 24280321
3, 1346227, 403431, 121700300, 13506832, 212532981, 115397177, 242760467, 171693
009, 157362172, 167599628, 171683669, 119472134, 3242655, 3242653, 156058750, 95
115828, 116181120, 156712278, 171680542, 119467101, 134054717, 70992389, 1194837
46, 10281242, 85119231, 50400675, 299745740, 311324920, 302405457, 70986426, 302
405605, 294958177, 189206888, 302419691, 170543, 119473107, 34582636, 11692747,
159122681, 121855, 289152138, 269308682, 110006643, 70984781, 67900828, 20207283 30
6, 299033169, 310801431, 296281056, 299755823, 212539978, 169856114, 21954742, 3
02883943, 115402429, 146424871, 49333367, 242809757, 3320411, 211998851, 1644517
46, 3320413, 310801230, 119483194, 19352194, 239909307, 189406728, 302886202, 17
1679124, 116195332, 159123395, 116195334, 70986694, 115391767, 302925097, 212539
976, 156051031, 49333363, 53747929, 289614676, 119474543, 238609818, 310790274,
302683546, 119501521, 121712000, 21694047, 169845834, 212541646, 119472132, 8511
1901, 55775695, 307716518, 255943977, 115401052, 7013021, 302418426, 15321718, 7
0986018, 312218308, 121715874, 242796425, 169851646, 31747154, 119473935, 194143
489, 119497791, 115396494, 85090755, 169607837, 146424873, 60729633, 170083838,
15625540, 302405060, 224459236, 39726088, 311875382, 154292153, 116201193, 28961 40
8700, 71001210, 12006977, 212541757, 169860444, 27530542, 12006979, 52547947, 25
9155464, 299738441, 189908879, 116179352, 27530617, 39968305, 187936432, 1698516
44, 115387173, 146424875, 39946206, 310798712, 67516425, 169864346, 289614038, 1
21711880, 121698987, 299744430, 10281240, 299750672, 171676762, 169622513, 16984
6059, 167599626, 115396496, 310799644, 299750670, 121699984, 322712633, 11948083
3, 169846881, 299750674, 171685434, 121699982, 169860442, 2689181, 145607910, 72
08638, 70985713, 237679352, 169783678, 299750676, 238493509, 299740546, 15604595
0, 115395858, 121704228, 121712511, 171676497, 171695530, 223874, 171695776, 302
404006, 116198875, 12006973, 312124718, 289620430, 156063420, 312217703, 3024119
12, 116178804, 3913806, 323500644, 82659769, 12006975, 212546407, 31747158, 3107 50

94159, 171678729, 255955337, 121712204, 116200434, 212541612, 194719525, 1574880
02, 41016921, 302417856, 33521684, 1170136, 169862695, 32402371, 152958098, 5040
3723, 164597964, 171677338, 171684255, 299749631, 119473547, 156050519, 12171200
2, 50402144, 34582632, 169854451, 268537556, 202072834, 242804399, 4200031, 1161
98749, 199599912, 313758571, 295937, 242771362, 114324587, 56410394, 67538224, 1
97267671, 296439594, 1304102, 212539808, 85090094, 239580117, 46115906, 67537782
, 13959390, 171676434, 1679597, 310791835, 74619305, 157830535, 121710996, 16986
2217, 1842142, 189498328, 12584219, 116202353, 39941218, 169862697, 158138919, 1
15401906, 116178792, 4249556, 289615146, 116208174, 189201655, 212539472, 302928
459, 4586343, 49333361, 289616326, 255943971, 212545631, 171677676, 171676366, 3 10
17036259, 310791801, 212536648, 62821722, 15054476, 299033167, 289622133, 850810
67, 213402949, 121715055, 164428377, 4062993, 134083538, 148608031, 255950118, 1
26570785, 8052455, 242785568, 154319199, 2689179, 169893727, 317470066, 19732065
3, 2689183, 311321981, 260513728, 2981135, 116205289, 33521680, 1170139, 7717691
6, 1170141, 310796801, 121794, 74623797, 116195572, 307776646, 62821724, 5084440
7, 159122226, 70982029, 58045187, 157830153, 242798241, 289617169, 156712282, 30
2415539, 119487196, 197288616, 119485791, 201066457, 73918822, 4586347, 11620045
8, 310796933, 171685522, 116192715, 156031017, 299892806, 299741430, 171677388,
46139389, 21263647, 5231154, 302698409, 302926345, 157830159, 157830158, 2964395
56, 4586345, 70983912, 145616662, 85108032, 169867023, 46241268, 302912547, 3319 20
315, 116203333, 145246118, 124108997, 121852, 303297110, 269308684, 121788, 4612
7251, 2833231, 60729586, 296027, 33521678, 60593233, 294196, 302419685, 21254174
9, 37732123, 46107376, 299746447, 121715087, 46241266, 85074607, 70983951, 29911
6542, 28950192, 310801530, 145616252, 169858218, 506848, 189193871, 294958184, 1
54312003, 39946208, 299742127, 296006344, 242812188, 255933578, 154320612, 30241
0515, 116201413, 320594039, 197293759, 197293757, 145607780, 302889367, 11949778
9, 322703548, 116199201, 156229557, 116192683, 110627661, 950686, 315019214, 617
9887, 302890317, 46139579, 85110940, 205364078, 302420969, 169616458, 3004640, 3
004899, 68270848, 560649, 3980202, 39945810, 301116123, 453224, 169848044, 25457
3944, 302910428, 171682216, 289622259, 110627663, 70988657, 238581687, 27530615, 30
115390200, 159128601, 46395332, 310790098, 171694598, 242791306, 312213464, 850
83355, 169846162, 116193969, 156062514, 39944716, 6651267, 302405521, 171679102,
729649, 171685626, 159128643, 1346226, 242795742, 154318110, 39966419, 28961347
0, 156060391, 145603548, 315019218, 169784466, 289620945, 242798333, 116204507,
171677500, 58045189, 70988747, 242779753, 134081569, 156049937, 85092689, 461272
67, 171684031, 169619068, 311332153, 317035006, 116181368, 310799770, 62006158,
62006162, 311331975, 55295400, 322695133, 156059212, 16304333, 169617193, 154313
516, 310799695, 315019224, 115401646, 238583617, 46137791, 189200539, 312217108,
242811823, 19114898, 302417858, 126032267, 171681485, 25090320, 154317376, 1698
58192, 296418037, 242761205, 298709355, 189197303, 298709752, 85113565, 28961862 40
6, 302422098, 312211582, 299750604, 238590923, 145613086, 116201321, 145341690,
119485741, 37551423, 164375375, 1374721, 289616942, 208429104, 33327790, 1161967
20, 315019216, 62732000, 51872335, 46241270, 294992337, 310800042, 302407185, 21
2541552, 169624058, 311317831, 1709845, 296439558, 171677165, 317035832, 5582441
2, 18765873, 46136977, 75859132, 39970025, 85090296, 289616319, 126032269, 31131
9960, 1170137, 299750752, 310800469, 74623591, 46115572, 3132, 34451980, 1891984
61, 322712336, 322702984, 70984483, 291461597, 189194773, 159122532, 67522290, 2
98711844, 294992335, 294992341, 9971103, 169846164, 212544236, 116202991, 209916
680, 63148160, 302678393, 116205203, 302887480, 39944092, 311320034, 302420825,
169846166, 39955797, 116202789, 299472376, 299754619, 119470730, 298711843, 3150 50

19222, 145250957, 162138864, 85118747, 320584084, 169846168, 119467430, 189199310, 284451272, 308523760, 302906868, 38018276, 145616638, 296418702, 254567537, 154291856, 145608962, 58709678, 238507900, 317158196, 115397335, 294992339, 164375385, 126032273, 302405821, 67904578, 299472314, 289614299, 38175312, 85078092, 171679531, 308799483, 170096418, 322693635, 238498622, 154321720, 317155772, 289620075, 154296703, 145616732, 145608220, 46133891, 307716520, 171678828, 171683157, 116208244, 169616149, 303272721, 299472316, 156042826, 311326094, 302678391, 169624590, 169851362, 302421884, 298708778, 6502585, 255071623

【 0 6 1 0 】

1, 4-β-D-グルカンセロビオヒドロラーゼ (A. N i g e r) 10
 Q9UVS8, 145230535, 70992391, 119472134, 115397177, 119483864, 67516425, 255943977, 70991503, 119468034, 169768818, 121699984, 121710012, 255943215, 66828465, 330799424, 317030164, 156048578, 242806894, 154300584, 115390801, 367046256, 317137671, 212538337, 238489939, 67538012, 336271674, 367023008, 367040043, 340376113, 39977899, 299749838, 85108032, 330925604, 156060391, 169859460, 302679174, 171676762, 154312003, 169870197, 302926345, 302886202, 169859458, 336265714, 299749836, 154292161, 367018964, 156055188, 302698659, 171696102, 46107376, 116181754, 238586042, 189206069, 189193473, 330943733, 169601100, 169611094, 301107289, 301111394, 39973029, 336258396, 85083281, 331238484, 331238500, 171683762, 169615761, 116200349, 367034450, 39971383, 302420813, 302418426, 331224959, 336268485, 331214672, 164425749, 331224953, 331247805, 169785739, 331247587, 121709349, 119488801, 70982500, 115402419, 302404451, 85079837, 367046192, 367028314, 367046755, 212545631, 116202581, 116191879, 242771362, 116208318, 336266533, 115402429, 70984781, 302412114, 171682802, 119467101, 67525921, 336262129, 330924660, 302886555, 189198277, 121704228, 145606094, 145610386, 299737892, 367030645, 46127751, 149209515, 171677538, 238602691, 340386176, 169619477, 116201181, 367038203, 238586207, 302407315, 367029571, 169620119, 301104938, 171678917, 302423818, 85086175, 238572985, 116202583, 238586720, 116196720

【 0 6 1 1 】

グルコアミラーゼ (A. N i g e r) 30
 145235763, 115395828, 169786471, 238507489, 255939424, 242807399, 119497739, 70988699, 212538175, 67900830, 121711038, 258567690, 303311341, 119194357, 156043229, 154316440, 367041103, 67903834, 242807252, 212538201, 39973515, 85082688, 336261549, 315042896, 242816072, 121707616, 327295390, 302658226, 119500486, 296808129, 295669328, 367035092, 302419163, 146323129, 119473591, 302498961, 255946924, 121704551, 169770097, 238487534, 121710130, 367054602, 46123801, 302915477, 46139623, 302412212, 115399138, 171688444, 156032806, 169624056, 156048857, 170090057, 242219173, 242211440, 299743826, 302681819, 169858289, 302422574, 299743452, 302679676, 116199623, 336267930, 171688680, 154287478, 19112700, 71019961, 330935371, 189205727, 296411825, 154303741, 213405046, 134112031, 241952697, 58267622, 331227455, 321259119, 68468461, 50552328, 294654787, 255725910, 254573816, 260949837, 150866757, 6322092, 363750810, 70993930, 254581134, 50310489, 169621632, 255718387, 149245556, 146420560, 331241398, 366995731, 331217231, 302307259, 50288105, 367000992, 289166127, 270159037, 154295473, 54296458, 367011971, 148360961, 365991914, 52840667, 54293416, 217976594, 323139503, 70988703, 121704316, 119497741, 119494507, 115385717, 167516610, 255937169, 312115413, 212531193, 242772202, 115386862, 83594632, 336260435, 239820200, 67538586, 115433526, 85110737, 302413077, 119473373, 171677225, 255939426, 238567909, 121708778, 67525889, 242775754, 121711036, 238581698, 150377998, 189198073, 330929361, 302895994, 149211031, 145603948, 384532264, 154319704, 169620405, 116205651, 190894999, 15604627 50

6, 367020310, 238580439, 86361172, 336264324, 367043532, 171687999, 271964823, 1
 69620403, 330929359, 189198075, 336319885, 159038460, 383777497, 302868164, 2563
 75271, 115378360, 72161389, 159900578, 357397893, 145594536, 383453749, 14559521
 1, 254386884, 218672888, 294633263, 39969197, 330469520, 162449038, 357413794, 1
 63849057, 383780964, 357393797, 344999242, 239826234, 297545348, 333896467, 2971
 91407, 304406864, 386775152, 386850563, 357389266, 256393823, 261404817, 3156452
 49, 329926183, 239987198, 354585628, 365863877, 167037093, 329934952, 182439073,
 229826603, 359144947, 302562176, 253576539, 386855990, 289767560, 242779935, 30
 8178229, 257386281, 218512838, 329116760, 282897853, 167838576, 218246954, 33083
 2361, 83717267, 257141453, 167576698, 187934195, 288904962, 167571945, 167564778 10
 , 187933512, 134280814, 254182851, 167908510, 226198761, 374263473, 254264465, 2
 17422876, 167722069, 167826636, 254189583, 76819424, 126457000, 237509634, 16789
 6714, 126442408, 262195698, 53721180, 256394988, 167741067, 67926159, 297559906,
 118396703, 302770775, 304408279, 386848634, 302784796, 332796624, 34498945

【 0 6 1 2 】

エンドー 1, 4- β -キシラナーゼ A (A. Niger)
 P55329, 145250044, 367042760, 71024535, 242813893, 212546261, 156050325, 1542950
 33, 242823859, 212539976, 330945789, 156043978, 242783405, 85111872, 189209652,
 121700014, 238499219, 67526311, 67904756, 330470096, 115400988, 255930981, 16976
 8392, 367031002, 121712323, 70985723, 39946360, 169778667, 169619301, 119473557, 20
 145228427, 119472529, 70985697, 367028490, 116197072, 116182892, 336274588, 171
 694656, 254784655, 302417816, 119473525, 145604200, 367026235, 145231168, 709925
 03, 383778518, 302913666, 72161617, 367038111, 302410217, 330935383, 169621658,
 189205741, 302543104, 39973321, 335433931, 386692939, 156059212, 357392833, 3670
 36034, 367022650, 171691240, 154317376, 296268426, 90022703, 116205351, 29463196
 9, 46138969, 115397059, 302890317, 46115564, 344997987, 192360336, 164424328, 29
 7561656, 257053030, 302562162, 386849796, 336259513, 336264235, 330920925, 37626
 2546, 335433930, 291435712, 367020944, 336322095, 116197274, 238063641, 26995555
 0, 171689822, 171694490, 367049055, 171676497, 336255156, 257053029, 254787353,
 383639508, 256833593, 376262547, 238062951, 162449235, 289771981, 312134125, 254 30
 785772, 189208412, 326203691, 192361681, 367037849, 254785774, 169624039, 256394
 078, 222528140, 116179002, 386843786, 374296413, 169613044, 256389703, 312621203
 , 21220761, 296128113, 384267197, 385266567, 154687778, 367039271, 290961613, 16
 2453827, 206900912, 16078944, 386758641, 385777892, 375364102, 125975452, 281419
 413, 374988367, 121712541, 21218669, 374295860, 116197429, 350266226, 332668898,
 251798633, 291436761, 220928199, 384159266, 366165189, 376261142, 157692596, 38
 4175660, 359413649, 296128114, 194016749, 321311533, 150017882, 254785775, 32993
 7157, 217966677, 357415502, 302410219, 385777893, 171680488, 337747607, 28141964
 3, 315647281, 256389691, 261407336, 304406274, 116192729, 329926487, 326204845,
 160880242, 300783316, 302868167, 302875153, 308173721, 169855830, 256378278, 156 40
 13462, 386758494, 315505437, 350266074, 116182700, 256006201, 302697575, 3841592
 59, 374296749, 116182878, 169610990, 374297593, 296330972, 119470734, 296128112,
 162451141, 110638770, 308067745, 330934375, 310644137, 169862294, 376261465, 37
 5307307, 145250953, 367032696, 374322407, 253575092, 39977381, 317054805, 169865
 921, 333381704, 374297363, 325678570, 350548573, 242805021, 374324231, 238577851
 , 169864346, 220929285, 39946222, 162452278, 302882833, 350548575, 376262105, 26
 8611604, 268609134, 268609130, 169774265, 238497225, 268609042, 268608616, 31705
 5471, 317055601, 317057375, 325678158, 268608532, 319788763, 268608317, 16978456
 2, 385837982, 116512302, 261414773, 169615415, 212544063, 299752600, 169860458,
 182413934, 169615206, 325105266, 226958393, 261416586, 375146969, 238599616, 371 50

989333, 162457604

【 0 6 1 3 】

エンドーβ-1, 4-グルカナーゼ (A. N i g e r)

074706, 145238644, 119468571, 169767984, 255943333, 70991583, 70992389, 11947213
2, 121699982, 115395858, 121699069, 119480833, 71001210, 67538088, 238493509, 16
9783678, 255943971, 121698987, 46115906, 317036259, 119483862, 336275715, 255950
118, 115397179, 367019458, 67521656, 302883943, 85111901, 171695776, 115390701,
302908015, 116181120, 367053273, 212539271, 336273138, 367028833, 145230537, 189
196560, 367048951, 242760467, 169603756, 330932055, 171678147, 156064897, 154322
599, 46109478, 296421810, 170096418, 302683907, 386335167, 83745929, 116205840, 10
207744735, 17548383, 300696706, 300693149, 299749631, 300702563, 357416133, 1456
07780, 384417119, 346722972, 325926188, 84621910, 188579118, 380511663, 29462741
0, 289662252, 325915671, 289666988, 78045589, 325923247, 325923245, 21240803, 38
1169609, 294664403, 21240804, 294627411, 381169612, 325926189, 384425724, 346722
971, 381169614, 21240802, 21229505, 330994214, 21229504, 325915672, 78045587, 38
0511664, 384425725, 78045585, 325926190, 188989426, 289666987, 384417122, 294627
412, 289662255, 21229506, 84621911, 384425727, 188579117, 357416134, 58579906, 2
90975791, 384417120, 347761993, 223937220, 325915673, 349687963, 116250003, 2095
51780, 294664402, 325923249, 241207180, 28199922, 190889902, 71902214, 222084492
, 170741588, 386084008, 71275297, 218680146, 209542955, 162148320, 116199039, 29 20
4146631, 154302933, 340776996, 289666986, 289662257, 15839297, 367037791, 307943
024, 156048212, 381199500, 325923248, 380511665, 86355887, 338741731, 170739375,
383115436, 262405906, 160884641, 222106954, 333902034, 218673552, 171693139, 34
0787915, 359782430, 296446720, 338738598, 218459561, 119898527, 328545532, 30289
0203, 254503590, 170739385, 262405903, 160884643, 336412775, 331248817, 24222265
1, 336404117, 146282835, 386021200, 331248479, 339494471, 359783239, 170739796,
383115438, 171059025, 359782296, 359780995, 359783823, 156065761, 242222649, 242
219310, 242222661, 154304809, 331248449, 302698219, 87309129, 238591848, 1923601
45, 253997153, 359781958, 367046270, 367051735, 331242703, 359780874, 331247714,
87306701, 331236431, 339493468, 386020105, 331248827, 331248437, 146281839, 399 30
75069, 381200657, 169613088, 169605819, 238599923, 333898791, 326317168, 1206115
88, 209548758, 380509900, 169605817, 302419691, 242219324, 298244393, 78045914,
346723273

【 0 6 1 4 】

β-グルコシダーゼ (A. N i g e r)

145254958, 238504016, 169764719, 115389440, 70990956, 119496635, 121702635, 6752
7650, 255942539, 242784870, 303316856, 119187681, 261197503, 212527864, 25857675
5, 296825494, 315055173, 327307602, 302666070, 212530388, 367050018, 116208256,
154301968, 336260980, 85078070, 156051478, 367028272, 171685516, 169617407, 3309
26566, 302508591, 46124455, 302893124, 156034641, 154284704, 145605453, 15431109 40
6, 295670726, 171679605, 119193977, 169609274, 302417172, 367047965, 303311641,
302914058, 258575187, 367034417, 85068386, 242780701, 46105076, 116194179, 33093
0775, 189198678, 296814480, 242818857, 367041576, 169769170, 261205350, 23850161
4, 212526374, 70984414, 116203589, 255932921, 70991821, 212531509, 302504737, 11
9469897, 336260484, 315053577, 154274626, 258570545, 327309212, 119173146, 15605
5358, 154302511, 295673792, 303324127, 242773185, 145609584, 115400413, 24195938
8, 295666169, 327306810, 261196329, 121703850, 347976383, 315055927, 154277554,
68479078, 189202078, 302654271, 67526893, 50421785, 121699673, 330929564, 119467
514, 115386532, 67540964, 156051510, 317035636, 154301988, 302420455, 70986816,
238503674, 242208680, 321253479, 260950625, 317138559, 170096919, 134109735, 150 50

951335, 336269473, 58264776, 50546815, 255946129, 46115456, 149210995, 296417445
, 171693633, 50556144, 367024397, 119483068, 296823412, 302889355, 255945487, 30
2693222, 242808274, 50551019, 299740917, 115400904, 169624889, 115401928, 675247
41, 212537781, 154293970, 331211567, 156050519, 164659066, 367037257, 331211569,
367028608, 299740913, 302694815, 39960393, 189206824, 255949368, 336267553, 169
762594, 238488403, 169595060, 171676730, 330931652, 85097939, 85092449, 30269480
5, 336276438, 145242946, 238495624, 212546891, 71019897, 71003854, 367046594, 18
9210447, 50546819, 70996706, 302917221, 116197188, 154310381, 169784538, 1697783
23, 119494233, 169781420, 330919066, 169620942, 154305615, 67539612, 302911826,
71023985, 70982937, 46121149, 46115090, 302407187, 145251001, 302888467, 1696195
79, 367040803, 145615456, 119484954, 119485921, 317034648, 189188436, 115388771,
171681682, 46116032, 156056032, 67900818, 302418194, 171693827, 115449679, 1153
88958, 39953092, 39942856, 317030082, 255931379, 238498582, 46138201, 299755823,
302407425, 169781768, 302413403, 145609483, 302696291, 145604448, 317145011, 46
140089, 145601539, 255955195, 238485216, 170094666, 242806819, 302422028, 169620
592, 367038827, 302880422, 299754143, 169601170, 317031154, 238497998, 302499477
, 146421590, 302653948, 317030185, 317141715, 255723026, 115449497, 145613684, 1
64426783, 296419180, 242806823, 242806828, 119483900, 116201761, 336262709, 1543
17655, 116197937, 296419182, 156031297, 121711663, 154302838, 167522437

10

【 0 6 1 5 】

20

付録 D

【 0 6 1 6 】

【表 19 - 1】

表 1 : (配列番号 1)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプPos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	A	1	0.00	0.00	0.40	1.09	1.09	2.44	0.15	2.26	0.03
2	T	1	0.00	0.02	0.08	1.50	0.70	-3.03	0.28	-3.01	-0.31
3	L	0	0.59	0.78	0.84	1.18	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00
4	D	0	0.00	0.03	0.03	1.25	0.58	-4.18	-0.77	-3.03	-0.37
5	S	1	0.03	0.05	0.27	2.05	1.02	-2.74	0.53	-2.96	-0.30
6	W	0	0.00	0.00	0.00	0.98	0.10	0.85	1.98	-0.71	-0.41
7	L	0	0.43	0.91	0.93	1.26	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00
8	S	0	0.01	0.09	0.40	2.18	1.23	-3.82	-0.91	-2.57	-0.34
9	N	0	0.01	0.03	0.13	2.38	1.03	0.21	-0.52	0.65	0.07
10	E	0	0.00	0.00	0.00	0.75	0.67	-0.16	0.01	0.66	-0.83
11	A	1	0.00	0.09	0.21	2.11	1.14	-1.38	-3.38	1.35	0.64
12	T	1	0.04	0.08	0.09	2.23	1.24	-0.23	-1.13	0.80	0.10
13	V	0	0.06	0.72	0.73	1.64	0.42	-0.12	-1.31	0.67	0.52
14	A	1	0.07	0.07	0.68	0.96	0.73	0.80	0.21	0.15	0.44
15	R	0	0.40	0.43	0.46	1.93	0.83	-1.97	1.44	-2.14	-1.26
16	T	0	0.00	0.01	0.07	2.25	1.00	-3.41	0.21	-3.19	-0.42
17	A	0	0.00	0.01	0.16	2.03	1.35	1.21	-1.95	2.32	0.84
18	I	0	0.29	0.85	0.96	1.46	0.04	0.17	-0.29	0.24	0.22
19	L	0	0.86	0.88	0.89	0.59	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00
20	N	0	0.01	0.01	0.30	1.76	1.29	0.34	0.44	-0.25	0.15
21	N	0	0.01	0.07	0.11	0.51	0.40	-3.59	0.19	-3.41	-0.37
22	I	0	0.03	0.85	0.86	0.99	0.37	-2.37	0.44	-2.69	-0.12
23	G	0	0.00	0.02	0.10	0.84	0.72	20.65	18.23	2.29	0.13
24	A	0	0.06	0.07	0.28	2.00	1.33	-3.91	-0.74	-2.94	-0.22
25	D	0	0.00	0.02	0.04	1.92	1.17	-4.70	-0.24	-4.22	-0.24
26	G	1	0.03	0.06	0.07	1.14	0.66	44.53	42.83	1.66	0.04
27	A	0	0.01	0.11	0.40	2.24	1.24	-0.97	-2.80	0.97	0.86
28	W	0	0.07	0.17	0.24	2.47	1.14	-1.13	2.35	-3.19	-0.29
29	V	0	0.04	0.23	0.67	1.82	0.88	2.29	-0.38	2.11	0.56
30	S	1	0.01	0.01	0.07	2.39	1.12	-4.18	-0.95	-2.59	-0.65
31	G	1	0.00	0.03	0.05	1.50	0.99	16.52	13.00	3.41	0.12
32	A	0	0.02	0.20	0.80	1.34	0.68	4.31	2.31	1.44	0.56
33	D	0	0.05	0.09	0.40	2.24	1.27	-4.64	-0.84	-3.27	-0.53
34	S	0	0.00	0.02	0.24	1.85	1.36	-1.94	-1.18	-0.49	-0.27

10

20

30

40

【表 19 - 2】

35	G	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	17.79	18.29	-0.33	-0.17
36	I	1	0.14	0.64	0.80	1.86	0.61	-1.55	1.64	-3.01	-0.17
37	V	0	0.03	0.97	0.98	0.81	0.06	-0.48	0.73	-1.42	0.21
38	V	0	0.08	0.99	0.99	0.93	0.01	1.89	0.94	0.54	0.40
39	A	0	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.12	-1.64	2.15	0.61
40	S	1	0.00	0.00	0.06	0.23	0.23	12.91	10.27	2.81	-0.16
41	P	1	0.02	0.02	0.03	0.24	0.21	1.98	1.27	0.19	0.52
42	S	0	0.00	0.03	0.03	0.47	0.30	-1.63	-2.35	0.73	-0.01
43	T	1	0.02	0.04	0.09	1.75	0.89	0.90	0.53	0.38	-0.01
44	D	1	0.00	0.07	0.13	2.29	1.08	-1.82	-0.35	-1.75	0.28
45	N	0	0.00	0.00	0.04	1.81	0.88	-2.89	0.79	-3.27	-0.41
46	P	1	0.01	0.01	0.01	0.33	0.26	1.03	-0.09	0.25	0.86
47	D	1	0.00	0.00	0.00	0.74	0.66	-6.15	-1.37	-4.68	-0.09
48	Y	0	0.00	0.01	0.01	0.14	0.11	-3.03	0.64	-3.14	-0.52
49	F	0	0.07	0.14	0.14	1.30	0.31	1.95	1.30	0.46	0.19
50	Y	1	0.00	0.00	0.00	0.65	0.08	0.04	0.25	0.07	-0.29
51	T	1	0.00	0.00	0.00	1.29	0.42	-3.83	-0.09	-3.15	-0.59
52	W	0	0.01	0.01	0.01	0.05	0.04	3.51	3.37	0.31	-0.18
53	T	1	0.03	0.31	0.32	1.11	0.72	1.59	-0.09	1.82	-0.15
54	R	1	0.00	0.01	0.01	0.15	0.10	-0.94	2.33	-1.84	-1.43
55	D	0	0.00	0.00	0.01	0.10	0.10	-4.14	1.22	-5.17	-0.19
56	S	1	0.01	0.02	0.39	1.10	0.97	-2.70	0.87	-2.93	-0.64
57	G	1	0.00	0.00	0.84	0.63	0.60	3.05	0.30	2.67	0.08
58	L	0	0.65	0.96	0.97	0.94	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
59	V	0	0.01	0.42	0.48	1.31	0.80	2.32	0.85	0.98	0.49
60	L	0	0.21	0.50	0.71	1.97	0.46	0.00	0.00	0.00	0.00
61	K	0	0.01	0.06	0.08	1.87	0.97	-1.40	0.29	-0.56	-1.14
62	T	1	0.08	0.19	0.34	2.43	1.27	-1.36	-1.61	0.48	-0.23
63	L	0	0.54	0.97	0.97	1.14	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
64	V	0	0.03	0.71	0.78	1.72	0.72	-0.43	-0.93	0.12	0.38
65	D	0	0.06	0.08	0.08	1.82	0.94	-3.10	-1.60	-1.66	0.16
66	L	0	0.18	0.30	0.44	2.57	1.04	0.00	0.00	0.00	0.00
67	F	1	0.11	0.14	0.21	1.63	0.69	1.26	2.15	-0.93	0.04
68	R	1	0.05	0.29	0.40	2.48	1.16	-0.53	2.47	-1.59	-1.41
69	N	0	0.01	0.04	0.24	2.30	1.30	-3.84	-0.11	-3.39	-0.34
70	G	0	0.00	0.02	0.04	2.00	1.14	10.68	9.02	1.81	-0.15
71	D	0	0.04	0.06	0.10	1.83	1.02	-2.81	1.76	-4.39	-0.18
72	T	1	0.09	0.15	0.28	2.48	1.29	1.32	0.78	0.69	-0.16
73	S	0	0.01	0.03	0.21	2.10	1.29	0.03	-0.88	0.79	0.12

10

20

30

40

【表 19-3】

74	L	0	0.69	0.78	0.82	1.35	0.59	0.00	0.00	0.00	0.00
75	L	0	0.15	0.26	0.30	2.15	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00
76	S	1	0.00	0.00	0.06	2.36	1.24	-3.56	-0.56	-2.77	-0.23
77	T	0	0.13	0.39	0.42	2.24	1.07	-3.69	-0.40	-2.71	-0.58
78	I	1	0.18	0.90	0.91	1.28	0.34	1.00	-0.49	1.18	0.30
79	E	1	0.14	0.23	0.25	2.29	1.08	0.01	1.15	-0.15	-1.00
80	N	0	0.01	0.01	0.06	2.07	0.88	-0.60	-0.06	-0.63	0.10
81	Y	1	0.00	0.00	0.01	0.78	0.25	1.96	2.14	0.01	-0.19
82	I	0	0.08	0.88	0.97	1.36	0.16	-3.11	0.07	-3.04	-0.14
83	S	0	0.00	0.03	0.08	2.16	0.95	-1.44	-1.78	0.44	-0.09
84	A	1	0.02	0.06	0.32	1.98	0.92	-0.91	-1.86	0.46	0.49
85	Q	1	0.00	0.05	0.11	1.61	0.63	-2.70	2.01	-3.40	-1.31
86	A	1	0.03	0.06	0.67	1.65	0.83	3.12	0.24	2.13	0.76
87	I	0	0.08	0.28	0.33	2.57	1.08	-2.82	0.26	-3.03	-0.04
88	V	0	0.63	0.87	0.88	1.21	0.49	-2.41	-3.20	0.37	0.42
89	Q	1	0.00	0.02	0.03	0.36	0.28	1.59	0.95	1.56	-0.92
90	G	0	0.04	0.09	0.18	2.25	1.34	-5.89	-2.89	-2.79	-0.21
91	I	0	0.16	0.70	0.71	1.87	0.80	-0.60	-0.53	-0.19	0.13
92	S	0	0.01	0.02	0.16	1.94	1.15	0.28	-0.02	0.35	-0.04
93	N	1	0.00	0.01	0.02	1.13	0.58	4.93	2.79	1.98	0.16
94	P	1	0.04	0.04	0.05	0.68	0.64	-3.63	-1.49	-2.52	0.38
95	S	1	0.02	0.02	0.06	0.73	0.55	0.90	0.91	0.34	-0.35
96	G	1	0.00	0.00	0.02	0.34	0.31	2.71	1.16	1.67	-0.12
97	D	1	0.00	0.00	0.05	2.08	1.21	-4.61	-0.22	-4.18	-0.20
98	L	0	0.54	0.62	0.63	1.73	0.90	0.00	0.00	0.00	0.00
99	S	0	0.05	0.07	0.14	2.01	1.08	-2.40	0.81	-2.81	-0.40
100	S	1	0.01	0.02	0.07	1.85	1.00	-1.81	1.62	-2.74	-0.69
101	G	1	0.07	0.10	0.13	1.71	1.07	8.16	5.05	2.84	0.28
102	A	0	0.02	0.07	0.28	2.23	1.32	-4.72	-1.96	-2.90	0.14
103	G	1	0.00	0.07	0.08	0.92	0.68	4.97	3.42	1.51	0.04
104	L	1	0.91	0.93	0.94	0.49	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00
105	G	0	0.00	0.02	0.14	0.66	0.53	7.03	7.61	-0.41	-0.17
106	E	1	0.01	0.01	0.01	0.44	0.13	-1.18	1.34	-1.91	-0.62
107	P	1	0.01	0.02	0.11	0.56	0.50	4.32	2.95	0.61	0.76
108	K	1	0.00	0.00	0.00	0.52	0.23	-2.16	1.85	-2.55	-1.46
109	F	0	0.02	0.04	0.06	0.96	0.20	-0.52	-0.43	-0.22	0.12
110	N	0	0.02	0.02	0.13	2.06	1.03	-3.28	0.16	-3.19	-0.24
111	V	1	0.03	0.81	0.91	1.27	0.37	0.97	0.27	0.29	0.40
112	D	0	0.00	0.02	0.02	0.94	0.75	-0.83	-0.14	-0.73	0.04

10

20

30

40

【表 19-4】

113	E	1	0.17	0.19	0.28	2.01	1.29	-5.17	0.95	-5.04	-1.08
114	T	1	0.01	0.01	0.01	1.36	0.41	-3.21	0.02	-2.85	-0.38
115	A	1	0.03	0.07	0.52	1.52	1.10	0.51	-0.41	0.27	0.65
116	Y	1	0.00	0.01	0.01	0.92	0.30	0.75	1.19	-0.18	-0.26
117	T	1	0.02	0.11	0.15	1.79	0.79	-3.73	-0.64	-2.61	-0.48
118	G	0	0.02	0.03	0.03	1.29	0.88	0.23	1.86	-1.64	0.01
119	S	0	0.01	0.02	0.20	2.23	1.32	-2.00	0.47	-2.37	-0.10
120	W	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.04	-1.87	1.97	-3.39	-0.45
121	G	1	0.00	0.00	0.02	0.65	0.49	1.61	1.25	0.53	-0.17
122	R	1	0.00	0.00	0.00	0.10	0.06	2.30	5.69	-1.99	-1.40
123	P	0	0.00	0.01	0.01	0.29	0.29	2.29	1.27	0.31	0.71
124	Q	1	0.00	0.01	0.01	0.10	0.10	0.28	0.85	0.36	-0.93
125	R	0	0.00	0.00	0.06	1.27	0.87	1.23	1.99	0.70	-1.45
126	D	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	-3.78	1.45	-5.07	-0.16
127	G	1	0.00	0.00	0.01	0.13	0.13	5.04	5.52	-0.38	-0.10
128	P	1	0.00	0.00	0.02	0.16	0.16	6.11	2.02	3.05	1.03
129	A	0	0.01	0.01	0.79	0.69	0.52	7.00	4.61	1.76	0.63
130	L	0	0.93	0.98	0.98	0.32	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
131	R	0	0.00	0.00	0.00	0.24	0.22	2.25	3.22	0.12	-1.10
132	A	1	0.02	0.10	0.89	0.80	0.34	-0.38	-0.58	-0.25	0.45
133	T	1	0.13	0.51	0.52	1.43	0.73	-1.83	-2.28	0.68	-0.22
134	A	1	0.00	0.07	0.71	0.99	0.60	0.02	-1.26	0.78	0.50
135	M	0	0.45	0.71	0.90	1.60	0.33	-3.66	0.17	-2.92	-0.91
136	I	0	0.16	0.71	0.92	1.42	0.23	-0.30	1.76	-1.99	-0.07
137	G	0	0.01	0.04	0.20	2.36	1.21	-6.85	-4.03	-2.46	-0.37
138	F	1	0.07	0.09	0.09	1.05	0.28	-1.88	1.41	-3.11	-0.18
139	G	1	0.15	0.21	0.61	1.83	0.86	2.84	1.30	1.49	0.04
140	Q	0	0.01	0.01	0.03	1.99	0.88	-3.81	0.35	-2.99	-1.17
141	W	0	0.08	0.11	0.14	2.12	0.89	-0.92	2.68	-3.12	-0.48
142	L	0	0.83	0.88	0.89	0.82	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00
143	L	0	0.23	0.67	0.74	2.05	0.77	0.00	0.00	0.00	0.00
144	D	0	0.03	0.03	0.16	2.19	1.26	-1.86	-0.35	-1.66	0.15
145	N	0	0.03	0.06	0.11	1.90	0.89	-2.03	1.57	-3.25	-0.35
146	G	1	0.02	0.03	0.03	1.54	1.06	1.38	1.33	0.55	-0.50
147	Y	0	0.03	0.06	0.11	2.39	1.03	-2.71	1.00	-3.08	-0.63
148	T	1	0.05	0.08	0.21	2.44	1.11	-3.07	0.12	-2.80	-0.39
149	S	1	0.01	0.03	0.07	2.10	0.89	-3.69	-0.67	-2.82	-0.19
150	T	0	0.05	0.23	0.27	2.30	0.99	0.73	0.15	0.85	-0.27
151	A	1	0.04	0.24	0.73	1.84	0.79	2.84	-0.45	2.65	0.64

10

20

30

40

【表 19-5】

152	T	0	0.04	0.08	0.15	2.36	1.06	0.02	-0.58	0.78	-0.18
153	D	0	0.02	0.02	0.08	2.27	1.11	-5.61	-0.81	-4.48	-0.32
154	I	0	0.14	0.60	0.63	2.14	0.90	-1.36	1.79	-3.01	-0.14
155	V	1	0.08	0.60	0.69	2.06	0.60	0.40	0.49	-0.37	0.28
156	W	1	0.00	0.02	0.07	1.73	0.77	4.14	3.85	0.50	-0.21
157	P	0	0.01	0.01	0.03	1.60	0.97	-1.55	-1.54	-0.63	0.62
158	L	1	0.12	0.88	0.93	1.42	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00
159	V	0	0.07	0.99	0.99	0.95	0.05	-0.71	-1.21	0.11	0.39
160	R	0	0.02	0.03	0.12	1.88	0.85	-2.85	1.48	-2.92	-1.42
161	N	0	0.06	0.07	0.21	1.91	1.05	0.38	-0.02	0.40	0.01
162	D	1	0.00	0.00	0.01	0.29	0.29	-4.31	-0.10	-3.77	-0.44
163	L	1	0.95	0.98	0.98	0.27	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
164	S	0	0.00	0.02	0.21	2.08	1.13	9.50	8.95	0.76	-0.21
165	Y	1	0.00	0.01	0.01	0.66	0.19	4.52	3.43	1.12	-0.03
166	V	1	0.09	0.83	0.84	1.33	0.47	-2.41	0.50	-2.97	0.06
167	A	1	0.10	0.23	0.63	1.96	0.94	10.18	6.65	2.84	0.68
168	Q	0	0.02	0.02	0.07	1.97	1.00	-4.40	-0.29	-2.94	-1.17
169	Y	1	0.01	0.06	0.07	1.70	0.90	-1.43	2.28	-2.98	-0.73
170	W	0	0.00	0.01	0.02	0.35	0.09	3.89	4.06	0.05	-0.23
171	N	0	0.01	0.01	0.02	1.79	0.73	-0.20	-0.10	-0.18	0.07
172	Q	1	0.01	0.02	0.07	2.27	0.93	-1.54	0.12	-1.07	-0.60
173	T	1	0.00	0.02	0.07	1.90	1.05	-2.21	0.85	-2.51	-0.55
174	G	1	0.00	0.01	0.05	1.38	0.88	1.41	-1.41	2.69	0.12
175	Y	0	0.00	0.00	0.01	0.75	0.29	-2.19	0.89	-2.63	-0.46
176	D	1	0.01	0.01	0.01	0.32	0.32	-0.24	1.44	-1.83	0.15
177	L	0	0.94	0.99	0.99	0.25	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
178	W	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.04	5.11	4.26	0.86	-0.01
179	E	1	0.00	0.00	0.00	0.10	0.06	-3.11	2.82	-4.96	-0.98
180	E	0	0.01	0.01	0.01	0.15	0.10	-5.65	0.42	-5.27	-0.80
181	V	1	0.02	0.82	0.83	1.19	0.49	-2.85	-0.09	-2.85	0.09
182	N	0	0.04	0.06	0.08	2.36	1.04	-2.75	0.63	-2.99	-0.39
183	G	0	0.01	0.01	0.03	0.91	0.78	3.78	4.10	-0.15	-0.17
184	S	1	0.04	0.15	0.24	2.19	1.17	-2.41	-3.05	0.84	-0.19
185	S	0	0.00	0.00	0.01	0.76	0.72	4.49	4.01	0.79	-0.31
186	F	0	0.05	0.05	0.05	0.47	0.19	-0.85	2.24	-2.92	-0.17
187	F	1	0.00	0.00	0.00	0.42	0.15	3.16	1.17	1.70	0.28
188	T	1	0.00	0.00	0.06	0.49	0.28	-3.63	-2.53	-0.73	-0.37
189	I	0	0.14	0.37	0.50	2.04	0.92	-3.95	-0.96	-2.85	-0.14
190	A	1	0.16	0.29	0.87	1.72	0.47	-1.88	-3.64	1.17	0.59

10

20

30

40

【表 19 - 6】

191	V	1	0.03	0.58	0.82	1.48	0.59	2.24	-0.50	2.16	0.58
192	Q	0	0.01	0.03	0.06	0.88	0.27	-1.37	2.87	-2.92	-1.31
193	H	1	0.22	0.23	0.26	1.67	0.93	1.79	0.86	1.00	-0.06
194	R	0	0.00	0.00	0.06	1.24	0.51	-1.06	2.81	-2.42	-1.45
195	A	1	0.00	0.02	0.79	0.78	0.51	1.27	2.50	-1.52	0.29
196	L	0	0.77	0.87	0.91	0.89	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00
197	V	1	0.03	0.51	0.56	2.02	0.96	1.21	-0.37	1.03	0.55
198	E	0	0.03	0.03	0.07	1.49	0.67	-4.14	1.15	-4.32	-0.97
199	G	1	0.01	0.03	0.10	0.67	0.48	-0.33	-1.89	1.51	0.05
200	S	0	0.09	0.27	0.55	2.07	1.04	-0.80	-0.41	-0.17	-0.22
201	A	1	0.03	0.09	0.39	2.30	1.17	-3.99	-0.95	-2.85	-0.19
202	F	0	0.34	0.45	0.49	1.61	0.48	1.88	1.53	0.19	0.16
203	A	0	0.05	0.06	0.86	0.97	0.46	7.15	3.64	2.57	0.93
204	T	0	0.03	0.03	0.14	2.18	0.97	-3.09	-0.34	-2.41	-0.34
205	A	1	0.03	0.06	0.29	2.33	1.29	-4.99	-1.69	-3.15	-0.15
206	V	1	0.40	0.78	0.80	1.76	0.49	1.99	1.50	0.13	0.36
207	G	0	0.01	0.02	0.09	1.49	1.01	-0.36	1.35	-0.96	-0.75
208	S	1	0.01	0.08	0.21	2.23	1.13	-1.08	-1.81	0.96	-0.23
209	S	0	0.01	0.03	0.22	2.09	1.19	1.26	-1.10	1.91	0.45
210	C	1	0.01	0.10	0.27	1.99	1.14	NaN	NaN	NaN	NaN
211	S	1	0.02	0.07	0.23	2.35	1.34	-0.79	-0.87	0.07	0.01
212	W	1	0.04	0.06	0.18	2.55	1.13	0.39	4.03	-2.58	-1.06
213	C	0	0.09	0.12	0.17	1.88	1.02	NaN	NaN	NaN	NaN
214	D	0	0.05	0.12	0.15	2.13	0.99	-5.20	-0.45	-4.43	-0.32
215	S	0	0.03	0.04	0.24	2.11	1.03	-4.01	-0.51	-2.98	-0.51
216	Q	1	0.05	0.23	0.28	1.85	0.88	3.11	2.74	1.08	-0.70
217	A	1	0.01	0.05	0.78	1.18	0.69	1.49	-0.90	1.72	0.66
218	P	1	0.02	0.04	0.07	1.93	1.13	0.30	-0.69	0.49	0.50
219	E	1	0.07	0.11	0.17	2.14	1.03	-5.01	0.91	-4.88	-1.03
220	I	0	0.09	0.82	0.90	1.56	0.28	0.56	-0.54	0.86	0.24
221	L	0	0.56	0.58	0.62	1.75	1.02	0.00	0.00	0.00	0.00
222	C	0	0.04	0.06	0.09	1.68	1.09	NaN	NaN	NaN	NaN
223	Y	0	0.11	0.12	0.15	1.93	0.88	-3.40	0.26	-2.97	-0.70
224	L	1	0.75	0.81	0.89	1.02	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
225	Q	0	0.01	0.02	0.10	1.67	0.85	-1.23	0.06	-0.57	-0.72
226	S	1	0.03	0.04	0.06	1.90	0.78	-4.88	-1.43	-3.09	-0.36
227	F	0	0.03	0.05	0.05	1.37	0.58	-1.69	1.49	-3.01	-0.17
228	W	1	0.08	0.15	0.16	1.20	0.52	-3.89	-0.51	-3.11	-0.27
229	T	1	0.00	0.03	0.05	1.85	0.72	-0.55	0.32	-0.57	-0.30

10

20

30

40

【表 19-7】

230	G	0	0.00	0.01	0.05	1.51	0.99	2.22	2.05	0.71	-0.54
231	S	1	0.01	0.02	0.04	2.10	0.97	0.19	-0.23	0.69	-0.27
232	F	0	0.06	0.09	0.17	1.95	0.93	0.77	0.65	0.10	0.02
233	I	0	0.10	0.74	0.78	1.89	0.60	-1.73	1.33	-2.92	-0.15
234	L	1	0.17	0.54	0.57	2.33	1.02	0.00	0.00	0.00	0.00
235	A	0	0.00	0.03	0.34	1.82	1.24	5.18	4.43	0.18	0.57
236	N	0	0.00	0.06	0.08	1.63	0.73	0.90	0.89	0.06	-0.05
237	F	1	0.17	0.40	0.48	2.21	0.88	-2.58	0.83	-3.07	-0.33
238	D	0	0.03	0.06	0.07	2.16	1.24	-5.29	-0.12	-4.92	-0.25
239	S	0	0.06	0.09	0.10	2.19	1.24	2.00	0.24	1.88	-0.11
240	S	1	0.06	0.07	0.07	1.71	1.07	1.71	-0.45	1.72	0.44
241	R	1	0.00	0.00	0.01	0.82	0.44	3.51	5.28	-0.52	-1.24
242	S	1	0.00	0.00	0.07	1.44	0.68	0.77	-0.62	1.30	0.10
243	G	1	0.06	0.06	0.08	0.57	0.43	9.90	10.07	-0.10	-0.07
244	K	1	0.42	0.52	0.53	1.58	0.80	1.36	0.84	1.70	-1.18
245	D	0	0.03	0.03	0.03	0.30	0.29	2.29	2.81	-0.86	0.35
246	A	0	0.03	0.32	0.73	1.81	0.83	-0.07	-0.73	0.21	0.46
247	N	0	0.01	0.01	0.27	1.24	0.87	0.51	0.25	0.37	-0.11
248	T	0	0.04	0.24	0.26	1.47	0.66	4.04	1.59	2.51	-0.06
249	L	1	0.25	0.89	0.91	1.51	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00
250	L	1	0.83	0.93	0.94	0.68	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00
251	G	1	0.00	0.00	0.35	1.27	1.05	-1.86	-2.21	0.42	-0.07
252	S	0	0.01	0.19	0.26	1.32	0.73	-0.70	-2.15	1.67	-0.22
253	I	1	0.24	0.92	0.94	1.01	0.29	1.50	-0.11	1.30	0.31
254	H	1	0.05	0.10	0.12	1.48	0.75	-2.67	1.54	-3.71	-0.49
255	T	0	0.01	0.04	0.13	1.44	0.59	-2.68	0.60	-2.70	-0.57
256	F	1	0.04	0.05	0.06	1.25	0.75	1.59	2.96	-1.40	0.03
257	D	0	0.00	0.01	0.02	1.03	0.59	3.88	4.16	-0.39	0.12
258	P	1	0.03	0.10	0.12	0.75	0.45	3.58	0.87	1.75	0.96
259	E	0	0.03	0.04	0.22	2.24	1.16	-3.38	1.80	-4.24	-0.94
260	A	0	0.05	0.07	0.49	1.76	1.22	0.89	-1.95	2.28	0.56
261	A	0	0.01	0.05	0.39	2.10	1.32	-4.32	-1.14	-3.02	-0.15
262	C	1	0.03	0.11	0.16	1.66	1.00	NaN	NaN	NaN	NaN
263	D	1	0.00	0.03	0.05	1.63	0.83	-0.88	-0.89	-0.08	0.09
264	D	1	0.01	0.02	0.16	1.90	1.14	-4.79	0.05	-4.80	-0.04
265	S	1	0.04	0.19	0.33	2.39	1.25	-0.11	-1.86	1.81	-0.05
266	T	1	0.03	0.12	0.16	1.65	1.06	-3.15	0.35	-2.91	-0.59
267	F	1	0.03	0.09	0.09	0.88	0.42	-0.33	2.83	-2.98	-0.18
268	Q	1	0.00	0.01	0.04	1.67	0.92	-0.66	4.09	-3.44	-1.31

10

20

30

40

【表 19 - 8】

269	P	1	0.01	0.18	0.21	0.91	0.61	5.66	4.57	0.37	0.71
270	C	0	0.02	0.03	0.10	1.73	1.10	NaN	NaN	NaN	NaN
271	S	0	0.00	0.00	0.00	1.01	0.67	18.75	17.43	1.52	-0.20
272	P	0	0.00	0.00	0.16	2.00	1.35	1.45	0.21	0.31	0.94
273	R	0	0.03	0.03	0.06	1.78	0.66	3.79	4.32	0.43	-0.96
274	A	0	0.08	0.41	0.96	1.39	0.17	2.99	4.27	-1.57	0.29
275	L	0	0.86	0.91	0.92	0.63	0.35	0.00	0.00	0.00	0.00
276	A	1	0.00	0.03	0.51	1.36	0.79	0.11	-0.36	-0.13	0.60
277	N	1	0.00	0.02	0.02	1.10	0.14	0.74	0.83	-0.02	-0.06
278	H	0	0.28	0.37	0.43	1.48	0.75	-3.03	0.37	-2.89	-0.51
279	K	1	0.05	0.06	0.10	1.64	0.84	-0.11	0.27	0.84	-1.22
280	E	0	0.06	0.36	0.65	2.16	0.87	-6.49	-0.45	-5.03	-1.01
281	V	1	0.30	0.63	0.72	1.60	0.28	2.27	0.10	1.68	0.49
282	V	0	0.02	0.51	0.54	1.70	0.98	-1.11	0.24	-1.55	0.21
283	D	1	0.01	0.03	0.08	1.74	0.79	-4.03	-1.41	-2.81	0.19
284	S	1	0.04	0.08	0.15	1.55	0.85	2.57	0.65	1.95	-0.03
285	F	0	0.00	0.01	0.24	0.95	0.56	4.31	2.00	2.00	0.31
286	R	0	0.01	0.01	0.05	1.54	0.78	0.87	4.39	-2.14	-1.38
287	S	0	0.06	0.11	0.17	2.17	1.08	0.27	-0.61	0.94	-0.05
288	I	0	0.21	0.64	0.72	2.06	0.69	-1.91	1.07	-2.88	-0.09
289	Y	1	0.01	0.01	0.02	0.66	0.22	3.67	3.19	0.67	-0.20
290	T	1	0.00	0.03	0.10	1.86	1.13	-2.65	0.05	-2.39	-0.32
291	L	0	0.13	0.97	0.97	0.95	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
292	N	0	0.00	0.00	0.00	0.15	0.05	6.58	6.46	0.13	-0.01
293	D	0	0.00	0.00	0.09	2.27	1.22	-3.06	-1.88	-1.53	0.35
294	G	0	0.00	0.01	0.07	1.65	1.18	2.37	3.42	-0.40	-0.64
295	L	1	0.08	0.46	0.51	2.13	1.02	0.00	0.00	0.00	0.00
296	S	0	0.00	0.01	0.28	1.93	1.35	0.56	-0.17	0.94	-0.21
297	D	0	0.02	0.04	0.22	2.42	1.28	-3.63	1.35	-4.62	-0.35
298	S	1	0.05	0.06	0.07	1.87	1.23	-1.24	-1.07	0.21	-0.38
299	E	0	0.04	0.13	0.24	2.51	1.28	-1.17	-0.16	-0.62	-0.40
300	A	0	0.00	0.00	0.58	0.86	0.79	9.61	10.40	-1.36	0.57
301	V	1	0.05	0.75	0.87	1.53	0.44	-2.01	0.79	-2.87	0.06
302	A	1	0.09	0.09	0.81	1.02	0.61	-1.04	0.75	-2.02	0.24
303	V	1	0.21	0.73	0.80	1.72	0.42	-2.51	0.35	-2.91	0.05
304	G	0	0.00	0.01	0.01	0.10	0.05	2.46	2.22	0.47	-0.23
305	R	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	-0.12	3.59	-2.31	-1.40
306	Y	0	0.00	0.00	0.01	0.05	0.04	0.43	1.75	-1.14	-0.18
307	P	0	0.00	0.03	0.15	1.34	1.00	0.36	2.78	-2.93	0.52

10

20

30

40

【表 19 - 9】

308	E	1	0.00	0.00	0.00	0.54	0.53	-4.49	0.50	-4.69	-0.31
309	D	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01	-3.04	-1.33	-1.81	0.09
310	T	0	0.01	0.63	0.64	1.68	0.81	-1.40	-0.41	-0.91	-0.08
311	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.10	0.04	-2.20	1.51	-3.18	-0.54
312	Y	0	0.01	0.04	0.08	2.05	0.91	0.62	0.87	-0.04	-0.21
313	N	1	0.00	0.00	0.01	1.58	1.10	-3.13	0.46	-3.16	-0.43
314	G	0	0.00	0.00	0.01	0.15	0.14	6.38	5.75	0.64	0.00
315	N	1	0.00	0.00	0.00	0.71	0.48	-0.49	0.88	-1.31	-0.06
316	P	0	0.00	0.00	0.06	0.23	0.23	5.76	4.49	0.47	0.81
317	W	0	0.01	0.01	0.01	0.22	0.04	3.90	2.62	1.35	-0.07
318	F	1	0.00	0.02	0.07	1.06	0.26	-1.50	1.65	-2.99	-0.17
319	L	0	0.72	0.95	0.96	0.81	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
320	C	0	0.05	0.08	0.34	1.73	1.12	0.97	-0.90	0.45	1.42
321	T	1	0.00	0.00	0.00	0.22	0.05	0.93	0.83	0.35	-0.24
322	L	0	0.39	0.41	0.58	1.77	0.79	0.00	0.00	0.00	0.00
323	A	0	0.00	0.03	0.59	1.37	0.87	0.54	-1.93	1.84	0.63
324	A	0	0.02	0.14	0.88	1.20	0.32	3.02	0.56	1.82	0.64
325	A	0	0.00	0.00	0.88	0.49	0.47	2.50	1.77	0.25	0.48
326	E	0	0.00	0.00	0.00	0.51	0.20	-2.52	3.33	-4.84	-1.01
327	Q	1	0.17	0.26	0.30	1.74	0.74	-3.60	0.43	-2.73	-1.31
328	L	1	0.68	0.82	0.84	1.22	0.44	0.00	0.00	0.00	0.00
329	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.41	0.07	-2.10	1.54	-3.16	-0.48
330	D	0	0.03	0.04	0.07	1.68	0.65	0.00	-0.34	0.34	0.00
331	A	0	0.19	0.21	0.90	1.17	0.28	0.89	1.10	-0.57	0.35
332	L	0	0.29	0.72	0.95	1.60	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00
333	Y	1	0.02	0.09	0.16	1.94	0.85	-2.15	1.86	-3.19	-0.82
334	Q	1	0.01	0.18	0.24	2.11	1.05	-2.90	1.75	-3.38	-1.27
335	W	0	0.13	0.26	0.27	1.55	0.51	0.72	4.12	-2.91	-0.49
336	D	0	0.02	0.04	0.06	2.19	0.98	-4.15	1.30	-5.05	-0.39
337	K	1	0.03	0.06	0.15	2.14	0.98	-2.97	1.43	-3.36	-1.04
338	Q	0	0.05	0.25	0.31	2.31	1.12	-2.34	2.02	-3.11	-1.24
339	G	0	0.00	0.01	0.03	1.22	0.87	0.39	-0.34	0.85	-0.13
340	S	0	0.00	0.03	0.06	1.45	0.98	-0.44	-1.12	0.82	-0.13
341	L	1	0.22	0.89	0.92	0.96	0.34	0.00	0.00	0.00	0.00
342	E	0	0.00	0.00	0.14	1.38	0.69	-4.83	0.15	-4.53	-0.45
343	V	0	0.00	0.94	0.97	0.92	0.13	0.41	-0.03	0.11	0.32
344	T	1	0.03	0.03	0.03	0.53	0.26	0.03	-0.13	0.37	-0.22
345	D	0	0.00	0.06	0.09	1.27	0.93	-4.12	0.54	-4.34	-0.31
346	V	1	0.02	0.46	0.51	1.71	0.99	0.18	-0.73	0.45	0.45

10

20

30

40

【表 19 - 10】

347	S	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.14	1.55	0.12	1.59	-0.16
348	L	1	0.81	0.84	1.00	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
349	D	1	0.00	0.00	0.34	1.35	1.24	-2.71	-1.75	-1.01	0.05
350	F	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.11	1.37	1.06	0.16	0.14
351	F	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.11	-1.89	1.15	-2.87	-0.17
352	K	1	0.00	0.00	0.00	0.86	0.48	-0.82	-0.55	0.09	-0.36
353	A	1	0.00	0.00	0.16	1.17	0.89	-0.88	-3.50	2.07	0.55
354	L	1	0.38	0.84	0.88	1.40	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00
355	Y	1	0.03	0.16	0.16	0.92	0.58	-0.27	0.42	0.05	-0.74
356	S	1	0.00	0.00	0.00	0.90	0.78	-0.34	-0.90	0.46	0.11
357	D	1	0.00	0.00	0.03	1.02	0.70	-4.90	-0.19	-4.50	-0.21
358	A	0	0.00	0.38	0.73	1.87	0.76	-1.09	-1.89	0.30	0.50
359	A	0	0.02	0.03	0.23	2.24	1.16	-3.74	-1.00	-2.55	-0.19
360	T	0	0.21	0.57	0.69	2.08	0.88	-3.09	0.18	-2.67	-0.60
361	G	1	0.07	0.22	0.24	2.18	1.38	1.88	2.75	-0.24	-0.63
362	T	1	0.05	0.56	0.57	1.78	0.94	-3.20	-0.29	-2.65	-0.26
363	Y	0	0.05	0.13	0.17	1.99	0.93	-1.30	2.24	-3.04	-0.51
364	S	0	0.03	0.04	0.24	2.17	1.25	-4.01	-0.74	-2.93	-0.34
365	S	0	0.11	0.26	0.34	2.23	0.93	0.13	-1.71	1.80	0.04
366	S	0	0.00	0.07	0.10	1.72	0.87	-3.29	-0.52	-2.80	0.03
367	S	0	0.33	0.43	0.45	2.11	1.03	-1.37	-0.71	-0.42	-0.24
368	S	1	0.00	0.04	0.21	2.14	1.37	-2.54	0.32	-2.69	-0.17
369	T	1	0.01	0.05	0.12	1.80	0.99	-4.41	-1.30	-2.58	-0.53
370	Y	1	0.02	0.03	0.03	1.03	0.25	2.05	2.32	0.01	-0.28
371	S	0	0.03	0.03	0.12	2.38	1.15	-0.89	-1.34	0.51	-0.06
372	S	1	0.00	0.03	0.19	2.16	1.18	-5.24	-2.04	-2.61	-0.59
373	I	0	0.28	0.65	0.67	1.70	0.53	0.47	-0.75	0.92	0.31
374	V	1	0.10	0.46	0.51	2.40	0.98	-0.71	-0.28	-0.77	0.34
375	D	1	0.01	0.02	0.14	2.06	1.30	-4.51	0.73	-4.93	-0.31
376	A	0	0.05	0.11	0.37	2.16	1.17	0.28	-1.85	1.60	0.53
377	V	0	0.05	0.65	0.75	1.89	0.81	-0.31	-1.74	0.97	0.46
378	K	1	0.02	0.06	0.20	2.31	1.17	-3.12	0.36	-3.05	-0.43
379	T	1	0.04	0.17	0.33	2.25	1.26	-3.52	-0.93	-2.41	-0.18
380	F	0	0.04	0.06	0.07	1.73	0.88	2.26	2.48	-0.31	0.10
381	A	0	0.02	0.11	0.44	1.99	1.08	4.74	0.64	3.39	0.71
382	D	0	0.04	0.19	0.21	2.01	0.87	-3.58	-0.55	-3.11	0.08
383	G	0	0.00	0.06	0.20	2.00	1.25	-2.16	-2.98	0.58	0.24
384	F	0	0.02	0.03	0.05	2.13	0.99	-0.85	2.31	-2.98	-0.17
385	V	0	0.05	0.32	0.39	2.34	1.28	0.51	-2.07	2.01	0.57

10

20

30

40

【表 19 - 11】

386	S	0	0.01	0.03	0.04	1.84	0.87	-3.99	-0.37	-3.06	-0.56
387	I	0	0.01	0.30	0.40	2.42	1.28	0.26	-0.01	0.09	0.18
388	V	0	0.04	0.31	0.50	2.17	1.11	-3.09	-0.30	-2.86	0.07
389	E	0	0.05	0.06	0.13	2.20	0.91	-1.21	1.00	-1.64	-0.58
390	T	0	0.01	0.04	0.14	2.44	1.14	0.43	-1.27	1.71	0.00
391	H	1	0.00	0.00	0.07	1.51	0.79	-2.36	0.85	-2.69	-0.52
392	A	1	0.00	0.06	0.53	1.11	0.70	-1.61	0.98	-2.78	0.19
393	A	0	0.00	0.00	0.38	1.54	0.97	-2.18	-2.18	-0.23	0.23
394	S	1	0.00	0.03	0.25	1.89	1.24	-0.99	-0.41	-0.51	-0.07
395	N	1	0.00	0.00	0.00	1.23	0.43	-3.50	-0.50	-2.67	-0.32
396	G	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.14	-0.19	-0.84	0.58	0.07
397	S	1	0.00	0.00	0.31	1.29	0.87	-2.31	-1.66	-0.35	-0.30
398	M	1	0.84	0.84	0.97	0.51	0.14	0.11	-0.22	0.88	-0.55
399	S	0	0.00	0.00	0.31	1.08	0.95	-2.27	0.90	-2.84	-0.34
400	E	0	0.03	0.03	0.03	0.14	0.14	2.44	0.81	2.35	-0.73
401	Q	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	-1.49	3.13	-3.31	-1.31
402	Y	1	0.00	0.03	0.06	0.65	0.17	0.05	3.28	-2.78	-0.45
403	D	1	0.00	0.00	0.00	1.47	0.81	-2.55	-0.38	-2.38	0.20
404	K	1	0.00	0.00	0.00	0.79	0.00	-3.05	0.46	-2.27	-1.24
405	S	1	0.03	0.03	0.13	1.63	0.95	-0.83	-0.47	-0.35	-0.01
406	D	1	0.00	0.00	0.00	1.62	0.84	-2.56	-0.55	-2.20	0.19
407	G	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.03	4.48	3.94	0.62	-0.08
408	E	1	0.06	0.13	0.41	2.02	1.05	-2.03	0.01	-2.01	-0.03
409	Q	1	0.00	0.00	0.03	1.41	0.97	2.01	2.95	0.01	-0.95
410	L	1	0.72	0.81	0.88	1.07	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
411	S	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.14	-0.37	-0.51	0.49	-0.35
412	A	1	0.00	0.16	0.97	0.57	0.03	-0.11	-0.38	-0.20	0.46
413	R	1	0.03	0.03	0.13	1.67	1.08	-0.96	1.96	-2.09	-0.82
414	D	0	0.00	0.00	0.06	0.60	0.37	-1.69	1.39	-2.86	-0.23
415	L	1	0.97	1.00	1.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
416	T	1	0.00	0.00	0.03	0.14	0.14	2.54	1.14	1.55	-0.16
417	W	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.11	-1.16	2.41	-3.01	-0.56
418	S	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.14	3.98	2.69	1.48	-0.20
419	Y	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.11	-1.95	1.65	-3.11	-0.48
420	A	0	0.00	0.00	0.97	0.14	0.14	3.41	2.41	0.50	0.50
421	A	0	0.00	0.00	0.75	0.66	0.66	-5.26	-4.30	-1.27	0.32
422	L	0	0.50	0.53	0.53	1.11	0.34	0.00	0.00	0.00	0.00
423	L	1	0.97	1.00	1.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
424	T	0	0.00	0.00	0.00	0.51	0.14	-3.18	-1.30	-1.44	-0.44

10

20

30

40

【表 19 - 12】

425	A	0	0.03	0.19	1.00	0.57	0.00	0.80	0.35	0.02	0.43
426	N	1	0.00	0.03	0.44	1.72	1.05	-3.65	-0.13	-3.19	-0.33
427	N	1	0.06	0.06	0.56	1.79	0.94	-4.78	-1.06	-3.44	-0.28
428	R	0	0.00	0.00	0.03	0.14	0.14	2.29	2.88	0.55	-1.15
429	R	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.14	-0.19	2.98	-1.61	-1.56
430	N	1	0.00	0.00	0.38	0.99	0.86	-2.90	0.63	-3.23	-0.31
431	S	1	0.00	0.00	0.16	0.99	0.99	-0.46	-2.59	1.86	0.26
432	V	0	0.03	0.88	0.91	1.05	0.37	0.44	-0.85	0.80	0.50
433	V	0	0.00	0.91	0.94	0.41	0.28	2.45	1.62	0.36	0.47
434	P	1	0.00	0.03	0.03	0.28	0.28	-1.42	-1.84	-0.32	0.74
435	A	0	0.00	0.03	0.41	1.41	0.89	-4.69	-1.96	-3.01	0.29
436	S	0	0.00	0.00	0.00	0.79	0.56	-2.34	-2.22	0.18	-0.31
437	W	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.11	7.00	4.78	2.19	0.03
438	G	0	0.00	0.03	0.09	0.91	0.70	1.33	-0.01	1.17	0.16
439	E	1	0.00	0.03	0.31	1.56	1.14	-2.52	1.49	-2.78	-1.23
440	T	0	0.00	0.00	0.31	1.68	1.33	-3.61	-0.79	-2.16	-0.66
441	S	1	0.00	0.00	0.16	1.37	0.66	-0.98	-0.29	-0.49	-0.21
442	A	0	0.00	0.00	0.88	0.55	0.45	2.49	1.46	0.51	0.52
443	S	0	0.00	0.00	0.00	1.51	0.59	-0.72	-1.72	1.31	-0.30
444	S	1	0.03	0.06	0.10	1.46	0.86	-2.62	0.26	-2.54	-0.34
445	V	0	0.19	0.94	0.97	1.22	0.14	-0.68	0.13	-0.99	0.18
446	P	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	-2.51	0.10	-2.87	0.25
447	G	0	0.00	0.00	0.06	1.60	0.95	-4.22	-0.28	-2.94	-1.00
448	T	1	0.00	0.06	0.13	1.45	0.40	0.49	-0.04	0.52	0.01
449	C	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.14	NaN	NaN	NaN	NaN
450	A	0	0.06	0.16	0.31	1.62	0.85	-3.88	-0.89	-2.78	-0.21
451	A	1	0.00	0.00	0.53	1.62	1.00	-4.35	-1.27	-2.80	-0.28
452	T	0	0.00	0.00	0.00	1.15	0.48	0.04	-0.74	1.04	-0.26
453	S	0	0.00	0.00	0.03	0.78	0.37	0.70	-1.51	1.94	0.27
454	A	0	0.00	0.19	0.94	0.75	0.23	-0.95	-1.81	0.29	0.57
455	I	1	0.00	0.19	0.38	1.95	1.00	-3.49	-0.52	-3.04	0.07
456	G	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.03	6.40	5.71	0.59	0.10
457	T	0	0.00	0.06	0.06	1.31	0.83	0.85	-0.07	1.08	-0.16
458	Y	0	0.00	0.00	0.03	0.28	0.11	-0.92	2.72	-3.16	-0.48
459	S	0	0.00	0.00	0.06	1.28	0.23	-3.99	-1.69	-2.55	0.25
460	S	1	0.03	0.03	0.13	1.26	0.51	-0.65	0.11	-0.55	-0.21
461	V	0	0.00	0.16	0.91	0.79	0.37	0.98	1.26	-0.59	0.31
462	T	0	0.00	0.06	0.06	0.46	0.46	0.49	-0.69	1.18	-0.01
463	V	0	0.00	0.44	0.81	1.47	0.57	0.41	0.61	-0.47	0.27

10

20

30

40

【表 19 - 13】

464	T	0	0.00	0.00	0.03	0.28	0.14	0.43	-0.73	1.06	0.10
465	S	0	0.00	0.00	0.16	1.44	0.98	-2.49	0.50	-2.63	-0.36
466	W	0	0.00	0.00	0.03	0.69	0.11	0.99	4.44	-3.03	-0.42
467	P	0	0.06	0.08	0.19	2.12	1.27	-3.31	-0.92	-2.96	0.56
468	S	0	0.00	0.04	0.25	1.45	1.08	0.65	-0.48	1.09	0.04
469	I	0	0.00	0.09	0.13	0.64	0.38	-3.01	0.06	-2.94	-0.13
470	V	1	0.22	0.34	0.34	1.41	0.91	-2.94	0.16	-2.97	-0.13
471	A	0	0.00	0.06	0.19	1.56	0.76	-0.84	-1.58	0.49	0.25
472	T	1	0.00	0.00	0.23	1.66	1.16	-3.26	0.22	-2.81	-0.67
473	G	0	0.00	0.00	0.06	1.77	1.13	9.92	9.02	0.78	0.13
474	G	0	0.00	0.05	0.19	1.69	1.04	77.22	74.99	2.17	0.06
475	T	1	0.00	0.10	0.14	1.45	0.80	-2.60	-1.98	-0.32	-0.30
476	T	0	0.00	0.07	0.14	1.54	0.89	-1.09	-1.37	0.60	-0.32
477	T	1	0.00	0.20	0.27	1.49	1.06	-3.87	-0.57	-2.88	-0.42
478	T	1	0.00	0.00	0.00	0.99	0.83	-2.50	0.57	-2.63	-0.44
479	A	0	0.00	0.06	0.31	1.49	1.02	-4.51	-1.87	-2.97	0.33
480	T	1	0.00	0.00	0.00	0.60	0.38	0.81	0.28	0.76	-0.23
481	P	0	0.00	0.13	0.19	1.84	1.04	-3.27	-0.35	-2.69	-0.22
482	T	1	0.00	0.00	0.13	1.66	1.10	0.76	-1.56	2.46	-0.15
483	G	0	0.00	0.00	0.33	1.32	0.97	-3.61	-0.45	-2.62	-0.55
484	S	0	0.00	0.07	0.27	1.49	1.02	-0.96	-0.95	0.25	-0.26
485	G	0	0.00	0.00	0.07	1.40	0.90	-0.23	0.37	-0.08	-0.52
486	S	0	0.00	0.00	0.00	0.92	0.30	0.02	-0.80	0.83	-0.01
487	V	1	0.00	0.40	0.50	1.42	0.94	0.97	3.66	-2.70	0.01
488	T	0	0.00	0.00	0.00	0.94	0.64	2.45	-0.57	2.97	0.05
489	S	1	0.00	0.00	0.14	1.28	0.80	7.32	4.45	2.96	-0.10
490	T	0	0.00	0.00	0.17	1.24	0.87	1.16	-0.28	1.55	-0.11
491	S	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-5.15	-2.02	-2.57	-0.56
492	K	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.39	0.35	1.04	-1.00
493	T	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.73	-0.78	0.22	-0.17
494	T	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.85	2.22	0.69	-0.06
495	A	0	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01	-0.56	0.45	0.12
496	T	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.93	0.30	0.58	0.04
497	A	0	0.00	0.00	0.33	0.64	0.64	-2.81	0.64	-3.02	-0.43
498	S	0	0.00	0.00	0.10	1.09	0.64	2.66	1.14	1.69	-0.18
499	K	1	0.00	0.10	0.20	1.61	1.22	-2.37	0.74	-2.39	-0.72
500	T	1	0.00	0.00	0.00	0.61	0.00	-2.10	-1.07	-0.81	-0.22
501	S	0	0.00	0.00	0.08	0.79	0.27	-3.69	-1.44	-1.78	-0.47
502	T	0	0.00	0.00	0.11	1.16	0.75	-0.22	-0.17	0.02	-0.07

10

20

30

40

【表 19 - 14】

503	S	0	0.00	0.00	0.05	1.55	0.78	-4.51	-1.64	-2.65	-0.22
504	T	0	0.00	0.00	0.17	1.31	1.03	-4.08	-1.15	-2.53	-0.40
505	S	0	0.00	0.00	0.10	1.38	0.80	0.68	0.06	0.63	-0.01
506	S	1	0.00	0.00	0.13	1.65	1.22	-1.54	-2.31	0.51	0.27
507	T	1	0.03	0.06	0.10	1.56	0.94	-3.58	-0.56	-2.85	-0.17
508	S	1	0.00	0.00	0.16	1.73	1.20	0.69	-0.45	1.04	0.10
509	C	0	0.03	0.03	0.09	1.00	0.81	NaN	NaN	NaN	NaN
510	T	1	0.00	0.06	0.34	1.53	1.09	-2.92	-0.10	-2.51	-0.30
511	T	1	0.16	0.38	0.47	1.91	0.93	-1.24	-0.72	-0.50	-0.02
512	P	1	0.26	0.49	0.58	2.10	1.08	3.39	0.11	2.08	1.21
513	T	1	0.10	0.38	0.46	2.04	1.00	-3.29	0.07	-3.04	-0.32
514	A	0	0.02	0.06	0.19	2.41	1.15	0.06	-1.55	1.23	0.37
515	V	1	0.04	0.25	0.60	2.02	1.04	3.13	1.06	1.54	0.52
516	A	0	0.22	0.55	0.82	2.01	0.49	-1.50	-1.39	-0.74	0.63
517	V	0	0.12	0.48	0.48	2.08	1.01	-2.95	-0.08	-2.93	0.06
518	T	0	0.00	0.01	0.05	1.98	0.89	-0.87	-0.39	-0.22	-0.25
519	F	0	0.03	0.05	0.09	1.24	0.40	-1.50	1.66	-2.99	-0.16
520	D	0	0.00	0.01	0.28	2.03	1.30	-1.21	-0.62	-0.43	-0.15
521	L	1	0.04	0.33	0.37	1.72	0.95	0.00	0.00	0.00	0.00
522	T	1	0.12	0.19	0.22	2.37	1.25	-3.70	-0.91	-2.36	-0.43
523	A	1	0.00	0.20	0.63	1.45	0.50	-0.31	-0.99	0.19	0.50
524	T	1	0.20	0.28	0.36	1.91	0.90	-3.52	-0.64	-2.56	-0.32
525	T	0	0.03	0.04	0.11	1.43	0.83	0.11	-0.29	0.62	-0.22
526	T	1	0.04	0.33	0.40	2.34	1.03	-0.54	-1.50	0.95	0.01
527	Y	1	0.15	0.46	0.53	2.16	0.64	-4.48	-1.18	-2.98	-0.32
528	G	0	0.00	0.03	0.09	1.27	1.01	2.83	1.50	1.44	-0.11
529	E	1	0.01	0.03	0.06	1.67	0.89	-3.40	1.98	-4.40	-0.98
530	N	1	0.00	0.01	0.01	2.04	0.70	-3.97	-0.25	-3.35	-0.37
531	I	0	0.01	0.66	0.79	1.70	0.64	-2.16	1.12	-3.13	-0.16
532	Y	0	0.01	0.02	0.05	2.01	0.99	-2.70	0.66	-2.87	-0.49
533	L	0	0.19	0.64	0.72	2.10	0.89	0.00	0.00	0.00	0.00
534	V	0	0.01	0.35	0.42	2.01	1.11	-0.65	2.09	-2.81	0.07
535	G	0	0.02	0.02	0.03	0.25	0.16	9.93	9.93	0.27	-0.26
536	S	0	0.00	0.00	0.05	1.61	0.78	-1.55	-0.67	-0.53	-0.35
537	I	0	0.24	0.73	0.86	1.86	0.51	-2.43	0.45	-2.72	-0.16
538	S	1	0.00	0.00	0.37	1.31	1.15	-0.18	-0.69	0.43	0.07
539	Q	0	0.01	0.01	0.24	1.21	1.04	-2.01	2.26	-2.90	-1.38
540	L	1	0.65	0.65	0.65	0.69	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00
541	G	0	0.00	0.06	0.06	0.97	0.44	5.31	3.39	1.86	0.05

10

20

30

40

【表 19 - 15】

542	D	0	0.01	0.01	0.03	1.50	0.80	-5.65	-0.18	-5.17	-0.31
543	W	0	0.02	0.02	0.02	1.08	0.61	-0.57	3.29	-3.06	-0.80
544	E	1	0.00	0.03	0.07	1.85	0.91	-1.63	-0.44	-1.07	-0.12
545	T	0	0.00	0.08	0.11	1.66	1.16	-3.14	0.14	-2.73	-0.54
546	S	1	0.01	0.01	0.34	1.74	1.26	-3.28	-0.72	-2.36	-0.20
547	D	0	0.16	0.17	0.24	2.04	1.16	-6.42	-1.07	-5.05	-0.29
548	G	0	0.00	0.00	0.44	0.82	0.74	11.83	10.63	1.17	0.03
549	I	0	0.07	0.58	0.64	2.20	0.87	1.13	0.33	0.74	0.06
550	A	1	0.06	0.06	0.37	2.16	1.26	-3.37	-1.47	-1.82	-0.09
551	L	1	0.50	0.65	0.70	1.79	0.89	0.00	0.00	0.00	0.00
552	S	1	0.02	0.02	0.04	1.47	1.05	-0.74	-1.43	0.91	-0.22
553	A	0	0.01	0.03	0.68	1.25	0.86	-2.21	0.33	-2.51	-0.03
554	D	1	0.01	0.06	0.35	2.14	1.15	-3.32	-1.66	-1.89	0.22
555	K	1	0.01	0.03	0.13	2.26	1.15	1.75	1.83	1.01	-1.08
556	Y	1	0.37	0.40	0.42	1.03	0.50	-1.80	1.26	-2.52	-0.54
557	T	0	0.00	0.04	0.09	1.33	0.96	-2.33	-1.80	-0.50	-0.03
558	S	0	0.00	0.00	0.15	1.75	1.09	-3.53	-0.87	-2.41	-0.25
559	S	0	0.01	0.01	0.04	1.48	0.46	1.60	-0.11	2.03	-0.32
560	D	1	0.00	0.01	0.01	1.42	0.85	-6.37	-0.90	-5.34	-0.12
561	P	0	0.00	0.00	0.01	0.80	0.68	2.44	-1.34	2.90	0.88
562	L	0	0.31	0.71	0.73	1.73	0.74	0.00	0.00	0.00	0.00
563	W	1	0.00	0.00	0.00	0.03	0.02	4.54	3.61	1.03	-0.10
564	Y	0	0.00	0.01	0.01	1.63	0.68	-3.21	0.68	-3.09	-0.81
565	V	0	0.08	0.26	0.34	2.10	0.99	-2.61	0.50	-3.11	-0.01
566	T	0	0.01	0.05	0.27	1.81	1.20	0.82	-0.21	1.11	-0.08
567	V	1	0.07	0.61	0.80	1.62	0.54	0.60	0.92	-0.58	0.27
568	T	0	0.06	0.13	0.20	2.33	1.08	-3.36	-0.36	-2.62	-0.38
569	L	0	0.76	0.90	0.93	0.94	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
570	P	1	0.00	0.00	0.07	1.48	1.01	-3.02	-0.20	-2.83	0.01
571	A	1	0.00	0.07	0.79	1.32	0.72	6.93	7.72	-1.11	0.32
572	G	1	0.03	0.14	0.29	1.89	1.07	2.02	2.11	-0.03	-0.06
573	E	1	0.00	0.05	0.15	2.15	1.01	-5.25	0.72	-5.19	-0.78
574	S	1	0.02	0.05	0.41	2.04	1.10	-0.52	-0.49	0.06	-0.08
575	F	1	0.02	0.32	0.32	1.48	0.77	2.43	0.83	1.37	0.24
576	E	0	0.02	0.02	0.10	1.65	0.97	-5.36	-0.13	-4.71	-0.52
577	Y	1	0.00	0.00	0.04	1.44	0.74	-2.45	1.08	-3.03	-0.50
578	K	0	0.04	0.14	0.18	1.19	0.75	1.81	1.56	1.43	-1.18
579	F	0	0.07	0.21	0.23	1.58	0.48	-1.64	1.55	-3.02	-0.17
580	I	1	0.11	0.63	0.66	1.84	0.70	3.01	0.87	1.85	0.29

10

20

30

40

【表 1 9 - 1 6】

581	R	0	0.01	0.07	0.15	1.78	0.92	-1.31	2.40	-1.78	-1.92
582	I	1	0.03	0.25	0.27	1.58	1.07	-2.99	0.01	-2.92	-0.08
583	E	0	0.00	0.00	0.06	2.19	1.01	-3.94	2.25	-5.18	-1.01
584	S	0	0.00	0.02	0.27	1.91	1.27	-4.33	-1.50	-2.51	-0.32
585	D	1	0.00	0.01	0.14	1.69	1.14	-4.16	0.24	-4.21	-0.20
586	D	0	0.01	0.01	0.08	1.01	0.78	-4.86	0.25	-4.78	-0.33
587	S	1	0.00	0.02	0.12	1.91	0.87	-3.05	0.18	-2.73	-0.50
588	V	0	0.02	0.77	0.89	1.32	0.44	-0.09	2.51	-2.55	-0.05
589	E	0	0.03	0.24	0.26	1.83	1.04	-4.81	0.83	-4.90	-0.74
590	W	0	0.00	0.03	0.05	0.98	0.53	-1.79	2.07	-3.03	-0.83
591	E	1	0.03	0.13	0.13	0.78	0.61	1.37	2.00	0.29	-0.92
592	S	0	0.00	0.00	0.03	1.58	0.85	-0.09	-0.86	0.75	0.03
593	D	0	0.01	0.01	0.03	1.58	1.18	-4.49	-0.13	-4.07	-0.29
594	P	1	0.00	0.03	0.20	1.91	1.16	0.59	0.61	-0.07	0.05
595	N	1	0.00	0.00	0.00	0.55	0.49	0.01	0.00	-0.09	0.10
596	R	0	0.00	0.02	0.05	1.04	0.55	-0.57	3.10	-2.23	-1.44
597	E	0	0.01	0.10	0.19	2.13	1.02	-4.92	0.15	-4.72	-0.35
598	Y	0	0.15	0.20	0.32	1.86	0.75	-1.87	1.50	-2.88	-0.49
599	T	1	0.00	0.04	0.08	1.37	0.54	-2.95	-0.06	-2.52	-0.37
600	V	0	0.01	0.57	0.67	1.38	0.74	3.80	1.29	2.05	0.46
601	P	1	0.00	0.00	0.04	1.31	0.75	1.08	-0.08	0.46	0.71
602	Q	0	0.01	0.04	0.30	2.24	1.33	-2.73	0.67	-2.90	-0.50
603	A	1	0.00	0.02	0.15	1.86	1.12	-4.37	-1.21	-2.83	-0.33
604	C	0	0.01	0.02	0.05	1.75	0.94	NaN	NaN	NaN	NaN
605	G	0	0.00	0.05	0.26	1.64	1.18	2.47	1.63	0.74	0.10
606	T	0	0.01	0.12	0.17	1.86	1.18	-1.57	1.23	-2.26	-0.55
607	S	1	0.18	0.31	0.47	2.31	1.19	-3.90	-0.74	-2.81	-0.35
608	T	1	0.01	0.06	0.28	1.62	0.93	-3.78	-0.93	-2.75	-0.10
609	A	0	0.27	0.55	0.79	1.99	0.66	3.80	1.19	1.99	0.62
610	T	1	0.00	0.12	0.18	1.91	0.91	-0.18	-0.65	0.69	-0.22
611	V	1	0.06	0.32	0.42	2.44	1.17	0.54	-0.97	1.09	0.42
612	T	0	0.00	0.01	0.08	2.42	1.03	-1.20	-1.03	0.04	-0.21
613	D	0	0.03	0.17	0.19	1.81	1.20	-3.50	1.12	-4.50	-0.11
614	T	0	0.00	0.06	0.08	1.73	0.55	-3.54	-0.27	-2.97	-0.30
615	W	0	0.02	0.05	0.05	0.83	0.46	1.27	4.86	-2.81	-0.78
616	R	1	0.01	0.01	0.03	1.31	0.64	-2.02	1.60	-2.50	-1.13

【 0 6 1 7】

10

20

30

40

【表 20-1】

表 2 : (配列番号 2)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプPos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	V	1	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.41	1.22	0.04	0.14
2	P	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.28	0.22	-0.74	0.25
3	H	1	0.14	0.14	0.14	1.55	1.28	-1.71	-1.75	-0.20	0.24
4	G	1	0.10	0.20	0.30	1.61	1.03	1.06	1.81	-0.43	-0.32
5	S	0	0.00	0.00	0.15	1.48	1.07	-1.43	-1.63	0.13	0.07
6	G	1	0.00	0.00	0.09	1.38	1.06	67.63	67.71	-0.08	0.01
7	H	1	0.04	0.04	0.04	2.08	1.16	-0.64	-0.40	-0.27	0.03
8	K	0	0.00	0.00	0.05	1.28	0.70	0.18	-0.07	0.57	-0.32
9	K	1	0.00	0.00	0.05	1.15	0.72	0.02	-0.08	0.07	0.03
10	R	1	0.00	0.00	0.02	1.60	0.66	0.43	0.74	0.70	-1.02
11	A	1	0.00	0.00	0.41	1.48	1.07	2.57	1.35	0.43	0.79
12	S	1	0.00	0.00	0.21	1.85	1.11	0.66	-0.94	1.20	0.40
13	V	0	0.00	0.18	0.28	1.84	1.27	-0.32	-0.54	0.02	0.20
14	F	0	0.50	0.55	0.58	1.24	0.53	1.20	1.04	-0.11	0.28
15	E	0	0.03	0.08	0.08	1.86	0.90	-1.17	-0.27	-0.39	-0.51
16	W	0	0.06	0.06	0.06	1.23	0.29	2.69	3.94	-0.81	-0.44
17	F	0	0.06	0.35	0.61	1.81	0.61	0.93	0.83	-0.05	0.16
18	G	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.18	13.85	-0.53	-0.14
19	S	1	0.03	0.85	0.89	1.16	0.38	0.82	0.78	0.14	-0.11
20	N	0	0.00	0.00	0.02	0.51	0.17	1.08	2.04	-0.97	0.01
21	E	0	0.55	0.65	0.66	1.36	0.84	-1.56	0.36	-0.85	-1.07
22	S	0	0.00	0.00	0.35	0.81	0.78	0.14	-0.37	0.59	-0.08
23	G	0	0.00	0.00	0.01	0.35	0.12	6.06	6.23	-0.16	-0.02
24	A	0	0.02	0.02	0.77	0.91	0.53	-1.23	-0.90	-0.68	0.35
25	E	0	0.00	0.00	0.03	0.76	0.44	-1.69	1.09	-2.14	-0.64
26	F	0	0.01	0.11	0.11	0.74	0.29	-1.37	-0.36	-1.01	0.00
27	G	0	0.00	0.00	0.15	1.23	0.97	-2.87	-1.60	-0.72	-0.56
28	T	1	0.01	0.03	0.08	1.97	1.04	-0.12	-0.55	0.35	0.09
29	N	1	0.01	0.04	0.06	2.12	1.04	-1.06	-0.30	-0.55	-0.21
30	I	1	0.24	0.48	0.51	2.07	0.97	1.17	-0.31	0.83	0.66
31	P	1	0.00	0.00	0.00	0.75	0.48	-1.92	-2.36	-0.22	0.66
32	G	1	0.00	0.00	0.02	0.25	0.24	12.96	12.59	0.43	-0.06
33	V	1	0.02	0.43	0.45	1.91	1.10	-0.64	-0.90	0.00	0.26
34	W	1	0.44	0.47	0.50	1.87	0.77	0.09	0.23	-0.23	0.09
35	G	1	0.01	0.01	0.02	1.34	0.85	0.94	0.84	0.40	-0.29

10

20

30

40

【表 20 - 2】

36	T	1	0.01	0.13	0.13	1.80	1.04	-0.25	-0.39	0.09	0.05
37	D	0	0.00	0.00	0.01	1.24	0.63	0.72	2.32	-1.63	0.03
38	Y	0	0.00	0.00	0.01	0.70	0.29	1.84	1.76	0.16	-0.09
39	I	0	0.07	0.38	0.49	2.10	1.05	0.21	0.16	-0.18	0.23
40	F	0	0.00	0.02	0.05	1.27	0.25	1.66	2.32	-0.58	-0.08
41	P	0	0.00	0.03	0.08	0.49	0.37	3.43	1.75	0.52	1.16
42	D	0	0.00	0.03	0.28	1.99	1.30	-2.38	-0.64	-1.68	-0.06
43	P	0	0.04	0.07	0.41	2.12	1.29	0.61	0.05	0.14	0.42
44	S	0	0.00	0.01	0.14	1.84	1.05	0.06	-0.03	0.28	-0.19
45	T	0	0.00	0.01	0.08	2.05	0.98	-2.47	-2.34	0.05	-0.18
46	I	0	0.10	0.55	0.60	1.58	0.31	0.04	-0.11	-0.10	0.25
47	S	0	0.01	0.01	0.15	2.19	1.18	-0.63	-1.27	0.52	0.12
48	T	0	0.01	0.06	0.06	1.71	0.85	-1.75	-0.32	-0.84	-0.59
49	L	0	0.22	0.26	0.28	1.48	0.48	0.00	0.00	0.00	0.00
50	I	0	0.04	0.21	0.68	2.02	0.88	-1.20	-0.26	-1.01	0.07
51	G	0	0.00	0.00	0.12	1.88	1.32	-2.14	-1.26	-0.29	-0.60
52	K	0	0.03	0.09	0.20	1.85	1.01	-1.42	-0.25	0.24	-1.42
53	G	0	0.00	0.00	0.00	0.69	0.55	17.53	18.60	-0.85	-0.23
54	M	0	0.08	0.22	0.87	1.35	0.17	-0.55	1.01	-0.76	-0.80
55	N	0	0.00	0.00	0.00	0.89	0.47	1.27	1.36	-0.21	0.12
56	F	0	0.21	0.56	0.62	1.68	0.66	1.18	1.01	0.01	0.16
57	F	0	0.02	0.58	0.58	1.32	0.38	0.62	1.52	-0.86	-0.05
58	R	0	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	4.05	5.30	-0.06	-1.18
59	V	0	0.55	0.92	0.92	1.14	0.08	-0.99	-0.94	-0.45	0.41
60	Q	0	0.00	0.00	0.07	0.87	0.62	0.10	2.11	-1.03	-0.98
61	F	0	0.01	0.37	0.38	1.00	0.39	0.32	0.47	-0.39	0.24
62	M	0	0.51	0.55	0.67	1.65	0.89	-1.48	-0.58	-0.38	-0.52
63	M	0	0.05	0.05	0.29	0.94	0.45	-0.55	-0.24	0.05	-0.36
64	E	0	0.00	0.00	0.00	0.36	0.30	-3.00	0.43	-2.60	-0.83
65	R	0	0.01	0.01	0.01	0.51	0.25	4.60	4.82	0.83	-1.05
66	L	0	0.71	0.90	1.00	0.93	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
67	L	0	0.03	0.19	0.24	1.27	0.65	0.00	0.00	0.00	0.00
68	P	0	0.02	0.03	0.04	0.73	0.57	0.47	-0.26	-0.09	0.82
69	D	0	0.01	0.05	0.15	2.36	1.19	-3.17	-1.32	-1.69	-0.15
70	S	0	0.35	0.37	0.60	2.11	1.07	-1.29	-1.13	0.07	-0.22
71	M	0	0.18	0.23	0.34	2.19	1.31	-1.62	-0.04	-0.76	-0.82
72	T	0	0.00	0.02	0.04	1.38	0.96	-1.07	-0.89	0.03	-0.21
73	G	0	0.00	0.00	0.10	0.86	0.76	-1.93	-1.98	0.09	-0.04
74	S	0	0.00	0.02	0.15	2.22	1.36	-1.85	-0.60	-1.01	-0.25
75	Y	0	0.67	0.72	0.74	1.15	0.38	-1.61	-1.40	-0.28	0.07

10

20

30

40

【表 20-3】

76	D	0	0.00	0.00	0.01	0.89	0.60	-2.92	-1.13	-1.95	0.16
77	E	0	0.00	0.01	0.28	1.99	1.37	-1.69	-0.20	-1.42	-0.06
78	E	0	0.01	0.02	0.37	2.00	1.19	-1.19	0.27	-1.48	0.03
79	Y	0	0.04	0.06	0.06	1.67	0.88	2.46	3.09	-0.49	-0.14
80	L	0	0.66	0.71	0.82	1.50	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00
81	A	0	0.02	0.03	0.38	2.12	1.32	-0.80	-1.13	0.18	0.16
82	N	0	0.35	0.36	0.39	2.04	1.18	-1.87	-0.78	-0.93	-0.15
83	L	0	0.46	0.79	0.83	1.63	0.47	0.00	0.00	0.00	0.00
84	T	0	0.03	0.07	0.09	1.94	0.91	-0.79	-0.94	0.29	-0.14
85	T	0	0.02	0.03	0.10	2.21	1.09	-0.48	-1.47	0.59	0.40
86	V	0	0.09	0.25	0.50	1.96	0.76	0.98	1.40	-0.66	0.24
87	V	0	0.14	0.94	0.96	1.06	0.14	-1.93	-2.22	-0.07	0.36
88	K	0	0.00	0.00	0.22	2.09	1.18	-2.07	-1.25	-0.61	-0.20
89	A	0	0.07	0.09	0.37	2.38	1.08	-1.86	-1.60	-0.60	0.34
90	V	0	0.01	0.41	0.94	1.28	0.27	-0.52	-1.12	0.07	0.52
91	T	0	0.07	0.07	0.11	1.83	0.97	2.55	2.35	0.22	-0.02
92	D	0	0.01	0.01	0.41	1.88	1.22	-2.30	-0.84	-1.41	-0.04
93	G	0	0.04	0.07	0.29	2.40	1.20	-2.63	-2.87	-0.06	0.30
94	G	0	0.00	0.00	0.00	1.20	0.84	1.43	1.11	0.19	0.13
95	A	0	0.08	0.18	0.73	1.92	0.76	2.10	0.63	0.55	0.92
96	H	0	0.00	0.04	0.09	1.94	0.91	3.01	3.16	0.00	-0.16
97	A	0	0.20	0.66	0.94	1.49	0.27	1.81	1.31	0.00	0.49
98	L	0	0.14	0.95	1.00	1.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
99	I	0	0.62	0.98	0.99	1.01	0.04	-0.63	0.13	-0.74	-0.02
100	D	0	0.00	0.00	0.00	0.27	0.15	-4.02	-1.31	-2.77	0.06
101	P	0	0.26	0.54	0.61	1.60	0.72	0.77	0.34	-0.35	0.78
102	H	0	0.00	0.00	0.00	0.12	0.08	2.06	0.85	1.24	-0.04
103	N	0	0.00	0.00	0.02	0.36	0.23	0.59	0.50	0.02	0.07
104	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.49	0.03	-0.77	0.39	-0.86	-0.30
105	G	0	0.00	0.01	0.51	1.19	0.79	3.49	4.84	-1.12	-0.23
106	R	0	0.00	0.01	0.03	1.36	0.49	-0.11	1.04	0.08	-1.24
107	Y	0	0.00	0.01	0.03	0.93	0.35	0.66	2.07	-1.02	-0.39
108	N	0	0.00	0.00	0.03	1.97	0.93	-2.00	-1.56	-0.29	-0.14
109	G	0	0.00	0.00	0.00	0.76	0.60	-0.95	-0.06	-0.30	-0.59
110	E	0	0.01	0.02	0.08	2.37	1.05	-1.81	0.38	-1.90	-0.28
111	I	0	0.14	0.59	0.66	2.06	0.91	-0.30	-0.73	0.04	0.40
112	I	0	0.03	0.89	0.91	0.99	0.37	0.91	1.04	-0.38	0.25
113	S	0	0.01	0.03	0.09	1.36	0.92	-1.56	-0.87	-0.50	-0.18
114	S	0	0.00	0.01	0.05	1.55	0.74	-1.61	-0.87	-0.39	-0.35
115	T	0	0.00	0.19	0.28	2.06	1.06	-1.02	0.03	-0.65	-0.40

10

20

30

40

【表 20 - 4】

116	S	0	0.01	0.01	0.30	1.80	1.19	0.38	-0.11	0.26	0.23
117	D	0	0.00	0.02	0.37	1.72	1.20	-2.03	-1.01	-1.30	0.28
118	F	0	0.19	0.19	0.20	0.95	0.39	0.50	1.34	-0.78	-0.06
119	Q	0	0.00	0.05	0.50	1.95	1.21	-1.70	-0.14	-0.38	-1.18
120	T	0	0.00	0.00	0.17	1.47	1.03	-1.67	-0.87	-0.38	-0.41
121	F	0	0.41	0.53	0.55	1.37	0.33	0.89	0.58	0.08	0.23
122	W	0	0.01	0.01	0.03	0.24	0.15	3.69	4.12	-0.37	-0.06
123	Q	0	0.01	0.05	0.13	2.00	1.13	-1.50	0.43	-0.99	-0.94
124	N	0	0.00	0.01	0.05	1.61	0.81	-1.88	-0.51	-1.21	-0.16
125	L	0	0.70	0.95	0.96	0.97	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00
126	A	0	0.00	0.01	0.92	0.43	0.34	10.20	9.35	0.26	0.58
127	G	0	0.18	0.31	0.39	2.44	1.29	-1.57	-1.03	-0.44	-0.11
128	Q	0	0.05	0.12	0.29	2.01	0.96	-2.21	-0.08	-0.98	-1.15
129	Y	0	0.03	0.05	0.05	0.81	0.20	1.29	1.75	-0.49	0.03
130	K	0	0.01	0.06	0.31	1.78	1.19	-1.25	-0.39	-0.64	-0.22
131	D	0	0.00	0.00	0.01	1.77	0.99	-2.29	-0.51	-1.56	-0.22
132	N	0	0.00	0.00	0.01	1.64	0.81	-1.63	-0.68	-0.85	-0.09
133	D	0	0.00	0.00	0.05	2.13	1.19	-2.28	-1.05	-1.49	0.26
134	L	0	0.14	0.19	0.46	2.19	1.15	0.00	0.00	0.00	0.00
135	V	0	0.03	0.90	0.91	0.79	0.15	-0.25	-0.94	0.16	0.53
136	M	0	0.09	0.69	0.85	1.62	0.47	-1.85	-0.76	-0.34	-0.75
137	F	0	0.01	0.02	0.02	0.59	0.12	1.66	1.82	-0.28	0.12
138	D	0	0.01	0.01	0.02	0.84	0.77	1.78	1.04	0.64	0.10
139	T	0	0.60	0.76	0.76	1.11	0.61	2.89	2.87	0.19	-0.18
140	N	0	0.00	0.00	0.73	0.79	0.63	-0.56	-0.20	-0.37	0.01
141	N	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-1.79	-1.78	-0.18	0.17
142	E	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.22	2.94	-2.53	-0.63
143	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.68	0.21	1.00	2.22	-0.86	-0.36
144	Y	0	0.00	0.01	0.02	1.30	0.80	0.57	0.48	0.31	-0.22
145	D	0	0.01	0.01	0.03	1.70	1.04	-1.78	0.15	-1.65	-0.28
146	M	0	0.11	0.49	0.85	1.81	0.53	-1.10	0.15	-0.64	-0.60
147	D	0	0.01	0.07	0.14	2.13	1.27	-2.55	-0.90	-1.62	-0.03
148	Q	1	0.02	0.08	0.43	1.95	1.12	-1.23	0.91	-0.86	-1.29
149	D	1	0.01	0.02	0.11	2.21	1.18	-2.74	-0.77	-1.74	-0.23
150	L	1	0.30	0.34	0.44	2.13	1.14	0.00	0.00	0.00	0.00
151	V	0	0.01	0.29	0.29	0.91	0.55	1.62	0.99	0.11	0.52
152	L	0	0.30	0.37	0.75	1.78	0.63	0.00	0.00	0.00	0.00
153	N	0	0.00	0.02	0.15	2.33	1.26	-1.39	-0.70	-0.71	0.03
154	L	0	0.27	0.34	0.80	1.70	0.62	0.00	0.00	0.00	0.00
155	N	0	0.03	0.14	0.68	1.32	0.73	1.21	1.34	-0.21	0.08

10

20

30

40

【表 20 - 5】

156	Q	0	0.01	0.01	0.01	0.57	0.18	-1.99	-0.34	-0.85	-0.80
157	A	0	0.00	0.01	0.74	1.20	0.79	9.26	8.47	-0.11	0.90
158	A	0	0.01	0.12	0.74	1.31	0.75	0.94	0.28	0.01	0.64
159	I	0	0.06	0.98	1.00	0.81	0.03	0.66	0.36	-0.04	0.34
160	N	0	0.01	0.02	0.11	1.58	0.96	-1.16	-0.53	-0.45	-0.18
161	G	0	0.00	0.00	0.62	1.04	0.95	48.40	49.43	-0.70	-0.33
162	I	0	0.04	1.00	1.00	0.40	0.00	0.56	1.18	-0.59	-0.03
163	R	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-1.12	0.07	-0.54	-0.65
164	A	0	0.00	0.00	0.35	1.89	1.23	-1.24	-1.88	0.12	0.52
165	A	0	0.00	0.19	0.58	1.50	0.82	16.87	16.63	-0.40	0.64
166	G	0	0.00	0.00	0.01	0.75	0.65	-1.60	-0.23	-0.98	-0.40
167	A	0	0.00	0.03	0.84	0.83	0.56	3.22	2.71	-0.04	0.55
168	S	0	0.00	0.01	0.02	2.01	0.76	-1.18	-0.54	-0.34	-0.30
169	Q	0	0.00	0.00	0.00	1.25	0.36	1.69	2.29	0.18	-0.78
170	Y	0	0.49	0.56	0.59	1.70	0.70	-1.41	0.11	-0.72	-0.80
171	I	0	0.08	1.00	1.00	0.61	0.00	0.36	0.38	-0.26	0.23
172	F	0	0.53	0.59	0.65	1.29	0.38	0.75	0.92	-0.39	0.23
173	V	0	0.08	0.93	0.98	0.87	0.10	0.62	0.05	-0.03	0.60
174	E	0	0.00	0.00	0.03	1.17	0.90	3.53	3.95	0.36	-0.77
175	G	0	0.00	0.00	0.01	0.10	0.10	3.14	3.67	-0.45	-0.08
176	N	0	0.00	0.06	0.20	1.68	0.82	-0.32	-0.17	-0.25	0.10
177	S	0	0.16	0.17	0.39	2.16	1.25	-1.57	-1.22	0.07	-0.41
178	W	0	0.00	0.00	0.00	0.83	0.04	0.05	1.44	-0.94	-0.45
179	T	0	0.00	0.00	0.04	1.07	0.35	5.34	5.53	0.04	-0.24
180	G	0	0.00	0.00	0.02	0.88	0.76	-3.78	-2.93	-0.67	-0.18
181	A	0	0.03	0.04	0.95	0.48	0.22	-0.99	-1.06	-0.48	0.56
182	W	0	0.02	0.03	0.05	1.80	0.80	0.20	1.53	-0.83	-0.50
183	T	0	0.00	0.00	0.05	1.62	0.74	-0.99	-1.27	0.32	-0.04
184	W	0	0.00	0.01	0.01	0.49	0.09	3.19	3.67	-0.24	-0.23
185	V	0	0.03	0.27	0.33	2.42	1.28	-1.34	-1.04	-0.61	0.31
186	D	0	0.02	0.03	0.10	2.00	0.96	-2.49	-1.59	-1.33	0.42
187	V	0	0.03	0.19	0.25	2.36	1.08	0.25	0.06	-0.36	0.55
188	N	0	0.00	0.02	0.03	1.68	0.77	2.19	2.48	-0.28	-0.01
189	D	0	0.00	0.00	0.06	2.00	1.10	-2.11	-0.43	-1.47	-0.21
190	N	0	0.01	0.07	0.23	2.10	1.21	-3.04	-2.35	-0.56	-0.13
191	M	0	0.43	0.51	0.82	1.72	0.45	-0.78	-0.54	0.20	-0.44
192	K	0	0.16	0.24	0.41	2.12	1.19	-0.10	0.61	0.36	-1.07
193	N	0	0.00	0.02	0.17	2.10	1.19	-0.72	0.29	-0.98	-0.04
194	L	0	0.49	0.90	0.97	1.31	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
195	T	0	0.00	0.07	0.08	2.02	1.00	-0.38	0.05	-0.51	0.08

10

20

30

40

【表 20 - 6】

196	D	0	0.00	0.00	0.00	0.29	0.26	-0.19	0.57	-1.08	0.32
197	P	0	0.00	0.00	0.00	0.18	0.13	0.40	-0.24	0.01	0.62
198	E	0	0.24	0.24	0.41	2.22	1.30	-2.79	-0.98	-1.30	-0.51
199	D	0	0.00	0.00	0.00	1.47	0.96	-2.04	-1.32	-0.91	0.18
200	K	0	0.02	0.02	0.02	1.69	0.95	-2.03	-0.89	-0.43	-0.72
201	I	0	0.43	0.62	0.67	1.53	0.42	-1.53	-1.30	-0.24	0.02
202	V	0	0.02	0.53	0.96	1.36	0.17	0.06	-0.46	0.12	0.40
203	Y	0	0.01	0.15	0.18	1.18	0.31	0.93	2.18	-0.88	-0.36
204	E	1	0.00	0.00	0.01	0.78	0.36	0.06	1.82	-0.70	-1.06
205	M	1	0.00	0.44	0.98	1.36	0.04	-0.66	0.21	-0.23	-0.63
206	H	1	0.00	0.00	0.00	0.08	0.06	3.12	1.17	1.97	-0.01
207	Q	1	0.02	0.09	0.13	1.32	0.80	-0.33	0.90	-0.31	-0.92
208	Y	1	0.00	0.00	0.00	0.06	0.03	1.38	2.91	-1.15	-0.38
209	L	1	0.79	0.81	0.82	0.73	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00
210	D	1	0.00	0.00	0.00	0.18	0.16	0.74	1.01	-0.56	0.29
211	S	1	0.00	0.05	0.25	2.10	1.24	-0.20	0.04	-0.27	0.03
212	D	1	0.00	0.00	0.00	0.47	0.34	-2.40	-0.77	-1.81	0.19
213	G	1	0.00	0.00	0.06	1.66	0.91	0.41	0.21	0.06	0.14
214	S	1	0.00	0.00	0.00	0.44	0.17	-0.95	-1.17	0.26	-0.05
215	G	1	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	2.37	2.74	-0.23	-0.13
216	T	1	0.00	0.00	0.01	1.01	0.50	-1.71	-0.96	-0.60	-0.15
217	S	1	0.00	0.00	0.02	1.82	0.89	-1.86	-1.68	-0.14	-0.04
218	E	1	0.01	0.02	0.23	2.17	1.38	-2.55	-0.89	-1.83	0.17
219	T	1	0.01	0.12	0.21	2.14	1.28	-1.74	-1.07	-0.48	-0.19
220	C	1	0.00	0.03	0.05	0.94	0.61	NaN	NaN	NaN	NaN
221	V	1	0.02	0.66	0.72	1.71	0.81	-1.66	-1.10	-0.69	0.12
222	S	1	0.00	0.03	0.09	1.65	0.93	-0.91	-0.66	0.02	-0.27
223	G	1	0.00	0.02	0.25	2.15	1.33	-1.00	-0.99	-0.10	0.10
224	T	1	0.00	0.02	0.08	1.71	0.86	0.54	-0.18	0.60	0.12
225	I	1	0.02	0.75	0.80	1.59	0.67	1.45	0.30	0.58	0.57
226	G	1	0.01	0.05	0.16	1.14	0.78	0.22	0.67	-0.44	-0.01
227	K	1	0.02	0.33	0.61	2.07	1.00	-1.37	-0.63	-0.08	-0.66
228	E	1	0.00	0.00	0.09	1.52	0.77	-0.99	0.62	-1.37	-0.24
229	R	1	0.00	0.03	0.14	1.29	0.63	1.96	2.89	0.31	-1.24
230	I	1	0.57	0.90	0.94	1.25	0.13	-0.13	-0.19	-0.18	0.24
231	T	1	0.01	0.06	0.25	2.06	1.05	-1.83	-0.86	-0.48	-0.48
232	D	1	0.00	0.00	0.21	2.07	1.34	-3.45	-1.83	-1.93	0.30
233	A	1	0.06	0.20	0.48	1.31	0.44	4.14	3.45	0.12	0.58
234	T	1	0.03	0.22	0.28	1.05	0.67	-0.64	-0.42	0.16	-0.38
235	Q	1	0.00	0.00	0.17	2.16	1.14	-1.31	0.03	-0.99	-0.35

10

20

30

40

【表 20-7】

236	W	0	0.03	0.03	0.05	0.34	0.14	0.81	1.22	-0.17	-0.24
237	L	0	0.90	0.92	0.98	0.46	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
238	K	1	0.00	0.01	0.03	1.32	0.44	-0.60	0.50	-0.04	-1.06
239	D	1	0.06	0.06	0.26	2.14	1.11	-2.44	-0.94	-1.70	0.19
240	N	1	0.00	0.00	0.01	1.10	0.53	1.59	2.43	-0.93	0.08
241	K	1	0.00	0.00	0.00	1.62	1.07	-2.13	-0.90	-1.01	-0.22
242	K	1	0.08	0.10	0.14	1.65	0.82	0.24	0.22	0.79	-0.77
243	V	1	0.02	0.12	0.12	1.66	0.78	0.40	-0.07	-0.03	0.50
244	G	1	0.03	0.06	0.21	0.71	0.52	-0.86	-0.56	-0.27	-0.02
245	F	1	0.03	0.26	0.31	1.25	0.42	1.25	0.85	0.00	0.39
246	I	1	0.73	0.99	1.00	0.74	0.00	-0.36	-0.88	0.15	0.37
247	G	0	0.00	0.00	0.08	0.69	0.61	-2.34	-3.72	1.06	0.32
248	E	1	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	-3.19	0.40	-3.03	-0.56
249	Y	1	0.00	0.02	0.03	1.03	0.49	0.79	1.53	-0.65	-0.08
250	A	1	0.00	0.00	0.33	0.63	0.63	0.18	-1.21	0.56	0.82
251	G	1	0.00	0.17	0.33	1.69	1.11	1.01	0.86	0.12	0.03
252	G	1	0.00	0.01	0.29	1.34	0.94	16.46	17.34	-1.01	0.13
253	S	1	0.00	0.07	0.24	2.11	1.22	-1.30	-1.11	0.12	-0.31
254	N	1	0.00	0.01	0.01	1.33	0.58	-0.99	-0.11	-0.84	-0.04
255	D	1	0.00	0.03	0.26	2.09	1.35	-1.43	-0.16	-1.29	0.03
256	V	1	0.01	0.30	0.34	2.03	1.12	-1.00	-0.91	-0.48	0.39
257	C	0	0.00	0.00	0.03	0.58	0.35	NaN	NaN	NaN	NaN
258	R	1	0.12	0.21	0.31	2.45	1.20	1.02	1.42	0.42	-0.82
259	S	1	0.07	0.09	0.29	2.21	1.16	-1.54	-1.62	-0.02	0.10
260	A	1	0.03	0.07	0.80	1.20	0.56	8.55	8.20	-0.24	0.59
261	V	1	0.59	0.89	0.94	1.25	0.22	-1.33	-1.55	-0.15	0.37
262	S	1	0.00	0.00	0.07	2.35	1.11	-2.23	-2.22	0.01	-0.02
263	G	1	0.01	0.02	0.07	1.67	1.14	-2.45	-2.89	-0.17	0.61
264	M	1	0.17	0.27	0.87	1.49	0.46	-1.20	-0.40	-0.33	-0.48
265	L	1	0.83	0.91	0.93	0.73	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00
266	E	1	0.01	0.01	0.28	2.10	1.34	-1.86	-0.12	-1.57	-0.16
267	Y	0	0.02	0.04	0.07	1.43	0.68	-0.89	0.56	-0.90	-0.55
268	M	0	0.32	0.48	0.99	1.14	0.03	-1.39	0.10	-0.68	-0.80
269	A	0	0.01	0.02	0.14	2.06	1.04	-0.74	-1.67	0.17	0.76
270	N	1	0.01	0.01	0.15	2.25	1.17	-1.50	-0.47	-1.13	0.10
271	N	1	0.00	0.00	0.04	0.70	0.36	0.25	1.33	-0.90	-0.18
272	T	1	0.00	0.00	0.23	1.84	1.10	-2.41	-2.02	-0.02	-0.37
273	D	1	0.00	0.01	0.02	0.62	0.37	-1.39	-0.50	-0.77	-0.12
274	V	0	0.00	0.86	0.88	0.64	0.40	1.06	0.93	-0.10	0.23
275	W	0	0.05	0.44	0.44	1.06	0.42	4.03	3.53	0.33	0.18

10

20

30

40

【表 20-8】

276	K	0	0.36	0.51	0.64	2.15	0.85	-1.03	0.72	-0.21	-1.53
277	G	0	0.01	0.01	0.02	0.19	0.11	6.28	5.90	0.22	0.16
278	A	0	0.03	0.04	0.41	1.36	0.53	-1.71	-2.27	-0.09	0.65
279	S	0	0.22	0.31	0.46	1.81	0.92	0.03	0.30	0.04	-0.30
280	W	1	0.00	0.05	0.11	1.11	0.42	2.98	3.59	-0.54	-0.07
281	W	1	0.00	0.00	0.00	0.09	0.07	1.69	2.41	-0.51	-0.21
282	A	1	0.00	0.01	0.80	0.78	0.63	-1.68	-2.35	0.20	0.48
283	A	1	0.00	0.00	0.81	0.59	0.55	-1.05	-2.05	0.17	0.83
284	G	1	0.00	0.00	0.01	0.28	0.21	20.38	19.59	0.56	0.24
285	P	1	0.00	0.00	0.18	1.09	0.94	0.42	-0.54	0.10	0.87
286	W	1	0.04	0.04	0.07	0.81	0.33	-2.15	-1.28	-0.90	0.03
287	W	1	0.01	0.01	0.04	0.66	0.36	0.95	1.93	-0.43	-0.54
288	G	1	0.00	0.01	0.07	1.55	1.05	-1.30	0.16	-0.71	-0.75
289	D	1	0.00	0.00	0.01	1.41	0.87	-2.20	-0.03	-1.98	-0.19
290	Y	1	0.01	0.02	0.02	0.24	0.18	-1.56	-1.35	-0.38	0.18
291	I	1	0.00	0.23	0.73	1.65	0.68	0.92	0.70	-0.12	0.34
292	F	1	0.12	0.12	0.12	1.26	0.44	1.00	1.88	-0.86	-0.03
293	S	1	0.00	0.00	0.03	1.22	0.33	9.67	8.65	0.94	0.08
294	L	1	0.25	0.65	0.86	1.76	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00
295	E	1	0.00	0.00	0.00	1.13	0.71	-2.71	0.91	-2.88	-0.73
296	P	0	0.01	0.01	0.03	0.24	0.23	2.49	1.90	-0.16	0.75
297	P	0	0.00	0.01	0.03	1.87	1.06	-0.35	-0.86	0.09	0.42
298	D	1	0.00	0.00	0.02	1.83	0.88	-2.76	-0.14	-2.44	-0.18
299	G	1	0.00	0.00	0.02	1.01	0.89	2.46	2.21	0.13	0.11
300	T	1	0.00	0.21	0.32	1.85	1.10	-0.06	-0.27	0.36	-0.15
301	A	1	0.00	0.01	0.46	1.48	1.26	1.16	0.49	0.13	0.54
302	Y	0	0.02	0.05	0.05	1.63	0.62	0.97	2.51	-0.84	-0.69
303	T	0	0.01	0.12	0.14	2.00	1.21	-0.62	-0.39	0.03	-0.26
304	G	1	0.04	0.04	0.05	2.16	1.10	-2.14	-1.63	-0.40	-0.11
305	M	1	0.02	0.12	0.33	1.59	0.72	-1.11	-0.36	-0.19	-0.55
306	L	1	0.40	0.42	0.70	1.62	0.68	0.00	0.00	0.00	0.00
307	D	1	0.03	0.13	0.28	2.12	1.38	-1.97	-0.86	-1.36	0.25
308	I	1	0.24	0.81	0.88	1.53	0.44	-0.80	-0.30	-0.71	0.21
309	L	1	0.79	0.90	0.98	0.81	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
310	E	1	0.00	0.03	0.03	1.87	0.99	-3.00	-0.46	-1.72	-0.82
311	T	1	0.00	0.00	0.06	2.02	1.20	-0.29	0.37	-0.47	-0.20
312	Y	1	0.09	0.09	0.10	0.82	0.38	1.50	1.62	0.03	-0.14
313	L	1	0.30	0.55	0.59	1.38	0.31	0.00	0.00	0.00	0.00

10

20

30

40

【0618】

【表 2 1 - 1】

表 3 : (配列番号 3)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプPos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	Q	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-1.15	0.23	-0.24	-1.14
2	Q	1	0.01	0.02	0.05	0.77	0.53	-0.89	0.47	-0.79	-0.56
3	V	1	0.00	0.70	0.87	1.32	0.48	-0.88	-1.80	0.55	0.38
4	G	1	0.00	0.05	0.05	0.64	0.27	4.86	3.65	1.09	0.13
5	T	1	0.00	0.02	0.02	1.37	0.79	-1.21	-0.88	-0.33	-0.01
6	Y	1	0.31	0.35	0.39	2.25	1.08	-1.30	-1.08	-0.34	0.12
7	T	1	0.02	0.15	0.17	1.56	0.77	-0.01	-1.40	1.26	0.14
8	T	1	0.00	0.00	0.33	1.62	1.27	0.06	-0.41	0.49	-0.02
9	E	1	0.00	0.00	0.02	0.15	0.09	-1.90	2.66	-3.55	-1.01
10	T	1	0.01	0.37	0.38	1.68	0.90	0.02	-0.35	0.40	-0.02
11	H	1	0.00	0.00	0.00	0.59	0.42	1.63	0.45	1.55	-0.37
12	P	1	0.01	0.02	0.03	0.21	0.18	-0.56	-1.50	0.14	0.80
13	S	0	0.00	0.00	0.06	1.83	1.21	-0.80	-1.03	0.23	0.00
14	L	0	0.70	0.80	0.95	0.90	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
15	T	0	0.01	0.03	0.04	1.53	0.87	-0.87	-0.46	-0.29	-0.12
16	W	0	0.00	0.13	0.14	1.23	0.68	2.75	3.09	-0.11	-0.22
17	Q	0	0.00	0.00	0.01	1.63	0.62	-2.49	1.26	-2.53	-1.22
18	T	0	0.00	0.04	0.04	1.84	0.77	-0.58	-0.69	0.46	-0.35
19	C	0	0.00	0.01	0.01	0.05	0.05	N/A	N/A	N/A	N/A
20	T	0	0.00	0.00	0.06	0.94	0.53	-0.16	-0.01	-0.04	-0.10
21	S	0	0.03	0.07	0.33	1.96	1.25	-1.35	-0.41	-0.57	-0.37
22	D	0	0.01	0.01	0.16	2.18	1.36	-2.21	-0.02	-2.18	0.00
23	G	0	0.00	0.00	0.05	0.71	0.61	0.89	1.47	-0.12	-0.46
24	S	0	0.00	0.01	0.01	1.29	0.84	-0.96	-0.74	-0.15	-0.07
25	C	0	0.00	0.00	0.00	0.09	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
26	T	0	0.01	0.17	0.19	1.60	0.87	-2.21	0.61	-2.39	-0.43
27	T	0	0.00	0.07	0.12	2.25	1.10	0.59	-1.02	1.27	0.33
28	N	0	0.03	0.38	0.39	1.93	1.05	-1.03	-0.76	-0.31	0.05
29	D	0	0.00	0.00	0.08	1.96	0.87	-2.92	-0.09	-2.79	-0.03
30	G	0	0.00	0.00	0.09	1.30	1.01	-2.66	-3.65	0.89	0.10
31	E	0	0.01	0.01	0.04	1.52	0.91	-3.90	-0.66	-2.48	-0.75
32	V	0	0.07	0.98	1.00	0.90	0.00	1.07	-0.12	0.71	0.49
33	V	0	0.00	0.79	0.79	0.51	0.51	7.36	4.45	1.87	1.04
34	I	0	0.49	0.95	0.99	1.13	0.05	-0.95	-0.42	-0.54	0.01
35	D	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.85	0.82	-0.68	0.71

10

20

30

40

【表 2 1 - 2】

36	A	1	0.00	0.03	0.62	1.11	0.78	-3.50	-3.29	-0.49	0.28
37	N	1	0.04	0.05	0.09	1.08	0.76	-0.46	0.27	-0.56	-0.17
38	W	1	0.01	0.03	0.07	1.25	0.52	0.69	1.88	-0.78	-0.41
39	R	1	0.00	0.00	0.00	0.51	0.00	3.90	3.55	1.59	-1.25
40	W	1	0.00	0.00	0.01	0.78	0.43	1.03	1.66	-0.10	-0.53
41	V	0	0.30	0.70	0.76	1.70	0.57	-0.13	-0.20	-0.39	0.45
42	H	0	0.01	0.01	0.02	0.60	0.28	1.74	0.41	1.38	-0.05
43	S	0	0.01	0.16	0.18	2.21	0.98	-1.17	-1.44	0.23	0.04
44	T	1	0.04	0.36	0.47	2.01	1.09	0.47	0.08	0.53	-0.14
45	S	1	0.00	0.00	0.03	1.92	1.13	-2.79	-0.74	-1.99	-0.06
46	S	1	0.00	0.00	0.06	1.31	1.01	-1.52	-0.88	-0.38	-0.26
47	A	1	0.00	0.01	0.07	1.99	0.90	-1.54	-0.83	-0.77	0.06
48	T	1	0.02	0.06	0.08	1.62	0.77	-1.28	-0.99	-0.08	-0.22
49	N	1	0.00	0.00	0.01	1.07	0.44	-2.39	-1.75	-0.71	0.08
50	C	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	N/A	N/A	N/A	N/A
51	Y	1	0.00	0.04	0.06	1.28	0.73	0.29	1.51	-0.78	-0.44
52	T	1	0.01	0.05	0.07	1.40	0.82	-2.06	-1.91	-0.20	0.05
53	G	1	0.00	0.01	0.04	0.50	0.43	-1.81	-0.88	-0.63	-0.29
54	N	1	0.00	0.00	0.01	1.02	0.53	-1.54	-0.77	-0.72	-0.05
55	E	1	0.02	0.02	0.11	1.95	1.00	-2.64	-0.40	-2.26	0.03
56	W	1	0.00	0.00	0.02	0.72	0.52	3.32	4.14	-0.48	-0.33
57	D	1	0.09	0.16	0.17	1.66	1.19	-2.16	-1.22	-1.31	0.37
58	T	1	0.00	0.00	0.11	1.94	1.01	0.44	0.05	0.32	0.07
59	S	1	0.00	0.01	0.10	1.50	0.68	-0.43	-0.35	-0.10	0.02
60	I	1	0.43	0.73	0.87	1.68	0.33	-2.76	-0.13	-2.50	-0.13
61	C	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
62	T	1	0.00	0.00	0.03	1.35	0.94	-0.91	-0.49	-0.31	-0.11
63	D	1	0.00	0.00	0.00	0.82	0.64	-2.01	-0.98	-1.03	0.00
64	D	0	0.01	0.03	0.21	2.00	1.37	-2.00	0.11	-2.53	0.42
65	V	0	0.00	0.07	0.36	1.82	1.08	0.72	-0.66	0.83	0.55
66	T	0	0.00	0.02	0.13	1.47	0.81	-0.39	1.91	-1.90	-0.40
67	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
68	A	0	0.00	0.00	0.85	0.57	0.45	1.85	1.99	-0.56	0.42
69	A	0	0.00	0.00	0.16	1.90	1.02	-2.18	-1.99	-0.60	0.41
70	N	0	0.00	0.01	0.02	1.10	0.61	-1.40	-0.68	-0.50	-0.21
71	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
72	A	0	0.02	0.20	0.78	1.55	0.69	1.29	0.41	0.20	0.69
73	L	0	0.53	0.91	0.99	1.21	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
74	D	1	0.00	0.00	0.00	0.90	0.21	2.20	2.74	-0.71	0.18
75	G	1	0.00	0.00	0.00	0.29	0.05	14.82	14.39	0.29	0.13

10

20

30

40

【表 2 1 - 3】

76	A	1	0.00	0.22	0.95	0.92	0.23	1.75	0.27	0.91	0.57
77	T	1	0.00	0.00	0.01	1.45	0.72	-0.93	-0.21	-0.31	-0.41
78	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.72	0.48	2.36	2.09	0.32	-0.05
79	E	0	0.00	0.01	0.12	2.00	1.09	-1.79	-0.04	-1.59	-0.16
80	A	0	0.00	0.00	0.15	1.86	1.27	-0.68	-1.19	0.22	0.28
81	T	0	0.01	0.06	0.12	1.18	0.58	-0.59	-0.86	0.47	-0.19
82	Y	0	0.05	0.06	0.11	1.18	0.62	1.24	2.29	-0.67	-0.38
83	G	1	0.00	0.00	0.02	0.13	0.08	-0.76	-0.58	-0.08	-0.10
84	V	0	0.00	0.89	1.00	0.97	0.00	-0.36	-0.69	-0.04	0.37
85	T	0	0.01	0.01	0.06	1.51	0.55	-1.96	-1.13	-0.74	-0.09
86	T	0	0.00	0.01	0.11	0.74	0.40	6.12	4.01	1.72	0.39
87	S	0	0.00	0.01	0.02	1.36	0.66	-0.80	-1.24	0.40	0.03
88	G	0	0.00	0.00	0.02	0.79	0.61	0.36	3.89	-2.57	-0.96
89	S	0	0.00	0.00	0.02	1.59	0.93	-1.48	-1.79	0.29	0.02
90	E	0	0.01	0.01	0.37	1.52	1.03	-1.84	0.71	-2.10	-0.45
91	L	0	0.86	0.97	0.99	0.56	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
92	R	0	0.01	0.01	0.02	1.55	0.74	1.40	1.14	1.02	-0.77
93	L	0	0.85	0.90	0.97	0.57	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00
94	N	0	0.00	0.00	0.00	1.89	0.70	-1.08	-1.30	0.13	0.09
95	F	1	0.11	0.13	0.15	1.25	0.57	0.89	1.54	-0.63	-0.03
96	V	1	0.15	0.84	0.85	1.39	0.31	0.10	0.21	-0.55	0.43
97	T	1	0.02	0.06	0.06	1.16	0.50	0.36	0.43	0.33	-0.40
98	Q	1	0.00	0.01	0.01	2.22	1.04	-0.18	-0.37	0.18	0.00
99	G	1	0.00	0.01	0.04	1.60	1.08	-1.28	-0.45	-0.33	-0.50
100	S	1	0.00	0.00	0.08	2.00	1.26	-0.58	-0.28	-0.17	-0.12
101	S	1	0.04	0.07	0.13	2.12	1.11	-0.92	-0.44	-0.30	-0.18
102	K	1	0.02	0.05	0.14	1.90	1.05	-0.73	-0.18	0.38	-0.93
103	N	1	0.02	0.03	0.06	1.26	0.55	-1.47	-0.31	-1.10	-0.06
104	I	1	0.02	0.84	0.93	1.36	0.26	1.18	1.13	-0.27	0.32
105	G	1	0.00	0.00	0.03	0.94	0.78	8.55	9.45	-0.73	-0.16
106	S	0	0.00	0.00	0.04	0.87	0.76	-1.69	-1.54	0.20	-0.35
107	R	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.41	2.30	1.42	-1.31
108	L	0	0.29	0.74	0.76	1.37	0.53	0.00	0.00	0.00	0.00
109	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.27	0.04	3.64	1.99	1.42	0.23
110	L	0	0.89	0.89	0.96	0.46	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
111	M	0	0.37	0.39	0.98	0.84	0.12	-1.34	-0.95	0.24	-0.63
112	S	1	0.00	0.00	0.32	1.88	1.21	-1.37	-0.43	-0.45	-0.48
113	D	1	0.00	0.00	0.06	1.97	1.18	-3.58	-1.05	-2.65	0.12
114	D	1	0.00	0.00	0.09	1.72	0.95	-3.03	-1.23	-1.68	-0.12
115	S	1	0.00	0.00	0.02	2.07	0.97	-2.80	-0.36	-2.14	-0.30

10

20

30

40

【表 2 1 - 4】

116	N	1	0.00	0.00	0.02	1.99	0.86	-0.94	-0.53	-0.27	-0.14
117	Y	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.12	1.94	-0.49	-0.34
118	E	1	0.00	0.07	0.07	1.64	0.90	-4.41	-0.61	-2.97	-0.83
119	L	1	0.11	0.16	0.79	1.54	0.73	0.00	0.00	0.00	0.00
120	F	1	0.21	0.24	0.27	0.93	0.35	1.16	1.18	-0.20	0.19
121	K	1	0.00	0.01	0.02	1.99	0.80	0.00	0.26	0.44	-0.69
122	L	1	0.95	0.97	0.97	0.24	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
123	L	1	0.68	0.73	0.76	1.16	0.71	0.00	0.00	0.00	0.00
124	G	1	0.00	0.00	0.02	0.93	0.88	-0.88	0.11	-0.89	-0.11
125	Q	0	0.00	0.00	0.04	1.33	0.65	0.83	0.55	0.95	-0.67
126	E	0	0.00	0.00	0.00	0.19	0.14	-0.71	2.25	-2.13	-0.83
127	F	0	0.15	0.20	0.20	0.65	0.32	-0.73	0.26	-1.02	0.02
128	T	0	0.00	0.00	0.11	0.91	0.47	-0.59	-2.33	1.52	0.23
129	F	0	0.01	0.03	0.04	0.21	0.13	1.93	2.40	-0.44	-0.03
130	D	0	0.00	0.00	0.00	0.57	0.30	-3.86	-1.07	-2.80	0.01
131	V	0	0.00	0.98	1.00	0.13	0.00	-0.80	1.59	-2.42	0.02
132	D	0	0.00	0.00	0.00	0.24	0.11	-3.44	-0.90	-2.66	0.12
133	V	1	0.15	0.76	0.96	1.31	0.15	3.45	-0.95	3.08	1.32
134	S	1	0.00	0.00	0.00	0.34	0.13	-0.10	0.67	-0.52	-0.24
135	N	1	0.00	0.00	0.04	1.70	0.96	-1.81	-0.95	-0.71	-0.16
136	L	1	0.76	0.97	0.97	0.78	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00
137	P	1	0.00	0.02	0.03	1.00	0.56	-1.96	0.72	-2.62	-0.05
138	C	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
139	G	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	17.31	14.47	2.31	0.54
140	L	0	0.55	0.67	0.86	1.41	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
141	N	0	0.00	0.00	0.01	0.18	0.16	1.27	1.91	-0.67	0.02
142	G	0	0.00	0.00	0.07	0.64	0.64	3.19	2.19	0.89	0.11
143	A	0	0.00	0.00	0.99	0.05	0.05	1.55	0.30	0.68	0.58
144	L	0	0.87	0.98	0.98	0.48	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
145	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.10	0.08	1.96	2.17	-0.05	-0.16
146	F	0	0.24	0.24	0.24	0.55	0.34	-0.26	0.41	-0.67	0.01
147	V	0	0.00	0.56	0.60	1.17	0.67	2.76	1.94	0.41	0.41
148	A	1	0.00	0.01	0.19	1.59	1.16	1.50	0.61	0.24	0.66
149	M	1	0.02	0.02	1.00	0.08	0.00	-2.20	-0.41	-1.08	-0.70
150	D	1	0.07	0.07	0.12	1.40	0.76	-4.24	-1.36	-3.12	0.23
151	A	1	0.04	0.07	0.68	1.40	0.86	-1.94	-1.84	-0.42	0.32
152	D	1	0.00	0.00	0.01	0.77	0.53	-1.15	0.04	-1.30	0.11
153	G	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	26.06	26.28	-0.12	-0.10
154	G	1	0.00	0.00	0.02	0.22	0.20	-3.04	-2.55	-0.43	-0.07
155	T	1	0.14	0.28	0.52	1.97	0.91	-0.79	-0.70	0.36	-0.45

10

20

30

40

【表 2 1 - 5】

156	S	1	0.00	0.01	0.16	1.31	0.97	-0.72	-0.98	0.23	0.02
157	E	1	0.01	0.04	0.04	1.40	0.61	-2.85	0.54	-2.97	-0.41
158	Y	1	0.00	0.01	0.02	1.65	0.76	0.55	2.13	-1.03	-0.55
159	S	1	0.01	0.01	0.07	1.85	1.26	-0.60	-0.21	-0.46	0.07
160	G	1	0.19	0.19	0.23	1.91	1.08	-2.84	-2.47	-0.58	0.20
161	N	1	0.00	0.00	0.01	0.19	0.14	-0.23	-0.46	0.11	0.12
162	K	1	0.00	0.00	0.06	1.45	1.00	-2.35	0.19	-2.29	-0.26
163	A	1	0.00	0.01	0.86	0.48	0.40	0.76	0.69	-0.35	0.42
164	G	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.92	1.45	-0.75	0.22
165	A	0	0.00	0.00	0.99	0.05	0.05	12.75	9.93	1.73	1.09
166	K	0	0.00	0.00	0.07	1.53	0.85	-0.38	-0.12	0.59	-0.85
167	Y	0	0.00	0.00	0.01	0.39	0.12	1.69	2.50	-0.59	-0.22
168	G	1	0.00	0.01	0.01	0.05	0.05	8.93	5.94	2.34	0.65
169	T	1	0.00	0.03	0.03	0.54	0.27	-2.26	-1.39	-0.45	-0.42
170	G	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01	2.65	0.12	1.93	0.60
171	Y	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.07	1.74	1.73	0.24	-0.23
172	C	1	0.01	0.01	0.01	0.10	0.10	N/A	N/A	N/A	N/A
173	D	1	0.00	0.00	0.00	0.10	0.10	-4.90	0.18	-4.87	-0.22
174	S	1	0.00	0.00	0.62	0.82	0.74	-1.66	1.15	-2.20	-0.62
175	Q	1	0.01	0.01	0.02	0.32	0.17	-1.56	0.35	-0.84	-1.07
176	C	1	0.00	0.00	0.00	0.14	0.06	N/A	N/A	N/A	N/A
177	P	1	0.00	0.00	0.09	1.11	0.57	-1.11	-1.30	-0.45	0.65
178	R	1	0.00	0.14	0.14	1.58	0.89	5.16	4.24	2.05	-1.13
179	D	1	0.00	0.01	0.03	0.55	0.40	-4.33	-0.81	-3.50	-0.02
180	L	1	0.43	0.70	0.74	1.79	0.76	0.00	0.00	0.00	0.00
181	K	1	0.00	0.00	0.06	1.21	0.82	-0.11	1.29	-0.13	-1.27
182	F	1	0.00	0.00	0.00	0.78	0.15	1.59	1.48	0.03	0.08
183	I	1	0.02	0.89	0.90	0.99	0.27	-1.21	-0.07	-1.06	-0.08
184	N	1	0.00	0.02	0.03	1.20	0.80	-1.21	-0.69	-0.47	-0.05
185	G	1	0.01	0.01	0.02	0.23	0.22	6.16	6.84	-0.73	0.05
186	E	1	0.03	0.13	0.17	1.99	1.08	-2.57	0.31	-2.51	-0.37
187	A	1	0.10	0.12	0.82	0.92	0.53	0.56	-0.16	0.12	0.60
188	N	1	0.00	0.01	0.03	0.29	0.25	4.09	4.34	-0.10	-0.14
189	C	1	0.03	0.62	0.65	1.74	0.78	1.68	-0.06	0.20	1.54
190	D	1	0.04	0.12	0.17	1.58	0.78	-3.14	-0.69	-2.38	-0.07
191	G	1	0.02	0.04	0.07	1.14	0.86	1.31	0.74	0.76	-0.19
192	W	1	0.02	0.02	0.03	1.20	0.74	3.53	4.78	-0.92	-0.34
193	E	1	0.00	0.11	0.14	2.39	1.29	0.18	3.51	-2.84	-0.49
194	P	1	0.02	0.03	0.10	1.54	0.86	-0.21	-0.40	-0.37	0.57
195	S	1	0.00	0.01	0.03	0.67	0.44	-0.20	0.69	-0.71	-0.19

10

20

30

40

【表 2 1 - 6】

196	S	1	0.00	0.00	0.08	1.87	1.16	-2.30	0.77	-2.36	-0.72
197	N	1	0.00	0.00	0.04	1.50	0.57	-2.00	-0.91	-0.81	-0.27
198	N	1	0.00	0.00	0.00	0.84	0.62	-0.59	-0.18	-0.42	0.01
199	V	1	0.01	0.10	0.34	2.01	1.34	1.40	-0.78	1.54	0.64
200	N	1	0.00	0.00	0.03	0.45	0.31	-1.41	-0.52	-0.72	-0.17
201	T	1	0.01	0.04	0.61	1.20	0.79	-1.25	-0.53	-0.38	-0.34
202	G	1	0.00	0.02	0.02	0.18	0.18	2.38	0.34	1.53	0.51
203	V	1	0.04	0.49	0.51	1.96	1.02	5.26	4.78	-0.04	0.52
204	G	1	0.00	0.00	0.00	0.11	0.11	19.54	14.61	4.09	0.84
205	D	1	0.00	0.00	0.04	2.11	1.17	-5.14	-1.44	-3.65	-0.05
206	H	0	0.10	0.16	0.28	1.67	0.81	0.52	-0.70	1.59	-0.37
207	G	0	0.01	0.01	0.01	0.20	0.20	12.09	11.74	0.36	-0.01
208	S	0	0.01	0.10	0.37	1.67	0.90	-3.02	-2.50	-0.04	-0.48
209	C	0	0.01	0.02	0.03	0.24	0.17	N/A	N/A	N/A	N/A
210	C	0	0.01	0.01	0.01	0.10	0.10	N/A	N/A	N/A	N/A
211	A	0	0.00	0.00	0.37	1.55	1.09	3.56	2.61	0.44	0.51
212	E	0	0.00	0.00	0.00	0.18	0.05	1.29	1.84	0.39	-0.94
213	M	0	0.08	0.15	0.94	0.79	0.14	-1.89	-2.00	0.57	-0.45
214	D	0	0.00	0.00	0.00	0.15	0.14	-0.01	-0.10	0.08	0.01
215	V	0	0.07	0.98	0.99	0.77	0.05	-1.35	-1.62	-0.05	0.32
216	W	0	0.07	0.07	0.07	0.43	0.26	4.15	3.89	0.35	-0.08
217	E	0	0.00	0.00	0.00	0.10	0.06	0.57	1.40	0.15	-0.98
218	A	0	0.00	0.00	0.84	0.52	0.52	3.02	2.32	0.10	0.60
219	N	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	4.39	3.50	0.80	0.09
220	S	0	0.01	0.01	0.12	1.16	0.81	-2.32	-2.15	0.13	-0.30
221	I	0	0.01	0.45	0.59	1.95	0.83	-0.06	-0.12	0.00	0.06
222	S	0	0.00	0.02	0.44	0.80	0.73	12.32	8.87	2.98	0.47
223	N	0	0.00	0.01	0.08	1.58	0.54	2.22	-0.19	1.75	0.66
224	A	0	0.00	0.02	0.78	0.96	0.74	-3.10	-3.49	-0.23	0.62
225	F	0	0.12	0.31	0.34	1.58	0.41	1.74	3.61	-1.69	-0.17
226	T	0	0.00	0.01	0.11	0.62	0.47	-1.95	-0.91	-0.79	-0.25
227	A	0	0.00	0.01	0.05	0.43	0.38	-0.02	-0.87	0.25	0.60
228	H	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	4.02	2.22	2.00	-0.20
229	P	1	0.00	0.07	0.12	1.02	0.74	8.87	7.40	0.57	0.91
230	C	1	0.01	0.01	0.01	0.10	0.10	N/A	N/A	N/A	N/A
231	D	1	0.00	0.05	0.08	2.16	0.95	-3.95	-1.20	-2.63	-0.12
232	S	1	0.00	0.17	0.20	2.25	1.22	-1.19	-1.13	-0.34	0.28
233	V	1	0.05	0.20	0.27	2.36	1.29	1.03	0.28	0.65	0.10
234	S	1	0.00	0.00	0.08	2.01	1.27	-3.02	-2.48	-0.57	0.03
235	Q	1	0.14	0.22	0.26	1.90	1.07	-0.41	0.65	-0.09	-0.97

10

20

30

40

【表 2 1 - 7】

236	T	0	0.01	0.06	0.11	2.00	0.92	-1.97	-1.90	-0.11	0.04
237	M	0	0.07	0.30	0.49	2.14	1.12	-1.17	-0.09	-0.46	-0.62
238	C	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	N/A	N/A	N/A	N/A
239	D	0	0.00	0.00	0.02	1.70	0.77	-2.71	0.02	-2.75	0.02
240	G	1	0.00	0.00	0.02	0.86	0.66	-1.62	-0.64	-0.59	-0.39
241	D	1	0.00	0.02	0.15	1.60	0.92	-2.83	-0.39	-2.59	0.15
242	S	1	0.00	0.00	0.15	1.91	1.06	-1.75	-1.36	-0.33	-0.06
243	C	1	0.00	0.00	0.01	0.21	0.21	N/A	N/A	N/A	N/A
244	G	1	0.01	0.01	0.02	0.95	0.61	60.25	61.28	-0.80	-0.23
245	G	1	0.01	0.03	0.09	1.63	1.13	11.79	14.88	-2.64	-0.45
246	T	1	0.00	0.01	0.04	1.06	0.71	-1.18	-1.75	0.62	-0.05
247	Y	1	0.00	0.00	0.03	1.16	0.69	0.23	1.61	-1.05	-0.33
248	S	1	0.00	0.00	0.05	0.91	0.79	21.91	20.70	1.40	-0.19
249	A	1	0.01	0.03	0.20	2.23	1.30	-3.01	-0.28	-2.50	-0.23
250	S	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.05	-0.10	0.45	-0.40
251	G	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-1.96	-1.23	-0.06	-0.67
252	D	1	0.00	0.01	0.08	1.65	1.08	-3.90	-1.61	-2.21	-0.07
253	R	1	0.00	0.00	0.00	0.21	0.15	2.13	2.49	0.86	-1.22
254	Y	1	0.01	0.01	0.01	0.79	0.35	-0.34	1.08	-0.94	-0.48
255	S	1	0.00	0.02	0.33	2.07	1.37	-0.18	-0.88	1.16	-0.46
256	G	1	0.00	0.00	0.02	0.34	0.34	7.47	7.07	0.42	-0.02
257	T	1	0.17	0.54	0.55	1.80	1.02	-1.82	-1.67	-0.39	0.24
258	C	1	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	N/A	N/A	N/A	N/A
259	D	1	0.00	0.00	0.01	0.15	0.15	2.68	4.78	-2.18	0.07
260	P	1	0.00	0.00	0.15	1.46	1.08	8.68	10.60	-2.29	0.37
261	D	1	0.00	0.00	0.03	1.46	0.94	-3.49	-1.01	-2.73	0.24
262	G	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	27.43	22.83	3.82	0.78
263	C	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	N/A	N/A	N/A	N/A
264	D	0	0.00	0.00	0.03	0.93	0.88	-5.94	-1.32	-4.42	-0.20
265	Y	0	0.03	0.07	0.08	1.19	0.32	-1.66	1.36	-2.51	-0.51
266	N	0	0.00	0.00	0.06	0.36	0.23	-1.51	-1.29	-0.14	-0.08
267	P	0	0.00	0.00	0.06	1.03	0.95	0.62	0.03	-0.20	0.79
268	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.83	0.18	-1.15	-1.34	0.83	-0.63
269	R	0	0.00	0.00	0.11	0.84	0.59	6.04	5.50	1.62	-1.08
270	L	0	0.25	0.36	0.73	1.81	0.69	0.00	0.00	0.00	0.00
271	G	0	0.00	0.00	0.02	0.48	0.43	0.42	0.23	0.15	0.04
272	N	0	0.00	0.14	0.24	1.53	0.89	-0.45	-0.45	-0.19	0.18
273	T	0	0.00	0.01	0.01	1.88	0.96	-1.53	-0.71	-0.52	-0.30
274	D	0	0.00	0.00	0.00	1.75	0.84	-3.19	-0.80	-2.22	-0.17
275	F	0	0.00	0.00	0.00	0.52	0.00	-0.16	0.32	-0.44	-0.04

10

20

30

40

【表 2 1 - 8】

276	Y	0	0.02	0.03	0.03	0.58	0.11	1.87	2.69	-0.62	-0.20
277	G	0	0.00	0.00	0.02	0.09	0.09	9.41	11.84	-2.30	-0.13
278	P	0	0.01	0.01	0.04	1.59	1.06	0.20	-0.10	-0.14	0.44
279	G	0	0.00	0.00	0.02	0.78	0.64	-1.63	-0.26	-0.59	-0.77
280	L	0	0.14	0.14	0.28	1.75	1.01	0.00	0.00	0.00	0.00
281	T	0	0.03	0.08	0.10	1.19	0.78	-1.38	-0.89	-0.08	-0.42
282	V	0	0.07	1.00	1.00	0.75	0.00	0.23	-0.32	0.19	0.36
283	D	0	0.00	0.00	0.00	0.27	0.22	-2.61	-0.57	-2.23	0.19
284	T	0	0.00	0.00	0.01	0.41	0.05	2.36	2.22	0.29	-0.15
285	N	0	0.02	0.02	0.05	1.72	0.69	-0.42	-0.32	-0.03	-0.08
286	S	0	0.00	0.00	0.01	1.40	0.64	-0.54	-0.84	0.18	0.12
287	P	0	0.01	0.09	0.09	1.17	1.03	-0.47	-1.27	0.20	0.60
288	F	0	0.00	0.15	0.33	1.01	0.41	2.65	2.45	0.11	0.09
289	T	0	0.00	0.00	0.00	0.20	0.05	-0.29	-0.82	0.52	0.01
290	V	0	0.01	0.98	1.00	0.40	0.00	0.46	0.06	0.02	0.39
291	V	0	0.01	0.92	0.92	0.56	0.27	-1.44	-0.91	-0.85	0.32
292	T	0	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	-1.18	-0.49	-0.24	-0.45
293	Q	0	0.00	0.00	0.00	0.40	0.35	-0.82	0.67	-0.35	-1.14
294	F	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	2.35	2.31	-0.12	0.16
295	I	0	0.17	0.76	0.78	1.77	0.70	0.36	0.24	-0.25	0.36
296	T	0	0.00	0.00	0.10	1.39	0.99	2.53	2.29	0.30	-0.06
297	D	1	0.00	0.00	0.09	1.85	1.11	-2.60	-0.28	-2.14	-0.18
298	D	1	0.00	0.00	0.01	1.06	0.85	-1.79	0.40	-1.87	-0.32
299	G	1	0.00	0.01	0.04	1.09	0.86	-0.23	0.09	0.21	-0.53
300	T	1	0.00	0.00	0.04	0.90	0.52	-0.47	0.10	-0.06	-0.51
301	S	1	0.00	0.00	0.13	1.92	1.05	-1.50	-1.25	-0.33	0.09
302	S	1	0.00	0.00	0.07	1.65	0.95	-2.85	-0.77	-1.96	-0.11
303	G	1	0.00	0.00	0.00	0.17	0.17	-0.30	-0.64	0.09	0.26
304	T	1	0.00	0.08	0.22	2.07	1.19	-1.21	-1.73	0.55	-0.02
305	L	0	0.97	0.97	0.98	0.15	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
306	T	0	0.00	0.14	0.23	1.91	0.92	-1.59	-0.64	-0.52	-0.42
307	E	0	0.00	0.00	0.08	1.22	0.59	-2.26	0.94	-2.37	-0.83
308	I	0	0.08	0.97	0.98	0.59	0.09	-0.99	-0.49	-0.55	0.05
309	K	0	0.00	0.04	0.04	1.47	0.52	-0.16	0.30	-0.02	-0.44
310	R	0	0.00	0.00	0.00	0.38	0.35	1.68	3.79	-0.70	-1.40
311	L	0	0.29	0.37	0.38	1.72	0.79	0.00	0.00	0.00	0.00
312	Y	0	0.02	0.02	0.02	0.51	0.07	2.07	2.04	0.07	-0.04
313	V	0	0.03	0.93	0.95	0.88	0.23	0.30	0.26	-0.37	0.41
314	Q	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-1.60	-0.52	-0.46	-0.63
315	N	0	0.00	0.00	0.02	1.12	0.98	-1.64	-1.13	-0.68	0.17

10

20

30

40

【表 2 1 - 9】

316	G	0	0.00	0.00	0.00	0.29	0.29	-0.16	1.41	-0.77	-0.80
317	E	0	0.00	0.16	0.16	1.55	0.85	-2.43	-0.07	-2.14	-0.22
318	V	0	0.07	0.78	0.80	1.19	0.66	-1.98	0.43	-2.39	-0.03
319	I	0	0.01	0.87	0.87	0.76	0.29	-1.76	0.92	-2.34	-0.33
320	A	0	0.01	0.02	0.31	2.04	1.34	-0.82	-0.74	-0.15	0.07
321	N	1	0.00	0.07	0.10	1.47	0.55	1.33	1.83	-0.44	-0.06
322	G	1	0.00	0.00	0.21	1.64	1.25	-3.82	-3.55	-0.07	-0.20
323	A	1	0.00	0.10	0.31	2.31	1.34	-1.07	-1.31	0.13	0.11
324	S	1	0.00	0.16	0.18	1.47	0.91	3.48	1.48	1.79	0.20
325	T	1	0.00	0.16	0.28	1.87	1.05	0.45	0.16	0.40	-0.11
326	Y	1	0.04	0.64	0.68	1.95	0.67	-1.04	-0.26	-0.52	-0.25
327	S	1	0.00	0.00	0.13	1.94	1.34	-1.59	-1.13	-0.29	-0.17
328	S	1	0.02	0.04	0.13	1.20	0.85	-1.44	0.83	-1.97	-0.30
329	V	1	0.22	0.71	0.76	1.82	0.77	1.67	-1.44	2.19	0.91
330	N	1	0.00	0.08	0.18	2.32	1.31	-0.97	-0.21	-0.76	0.00
331	G	1	0.02	0.08	0.15	1.97	1.22	-3.23	-2.28	-0.69	-0.26
332	S	1	0.00	0.03	0.12	1.64	0.75	-1.09	-1.73	0.43	0.21
333	S	1	0.00	0.01	0.07	1.03	0.59	1.10	0.36	0.83	-0.08
334	I	0	0.13	0.91	0.98	0.96	0.09	-0.84	0.02	-0.92	0.07
335	T	0	0.00	0.01	0.01	0.79	0.32	-1.87	-1.36	-0.28	-0.22
336	S	0	0.00	0.02	0.09	2.10	1.15	-1.29	-1.90	0.39	0.23
337	A	0	0.00	0.01	0.11	1.97	1.09	-1.74	-0.98	-0.84	0.08
338	F	0	0.03	0.03	0.06	1.07	0.33	1.06	3.59	-2.34	-0.19
339	C	0	0.00	0.00	0.00	0.09	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
340	E	0	0.00	0.02	0.18	1.98	1.09	-2.34	-0.29	-2.00	-0.06
341	S	0	0.00	0.04	0.56	1.69	1.02	-1.53	-1.69	0.50	-0.33
342	E	0	0.03	0.07	0.14	1.66	0.73	-2.53	1.39	-2.64	-1.28
343	K	0	0.00	0.02	0.06	1.60	0.90	0.32	1.13	0.48	-1.29
344	T	0	0.00	0.06	0.12	2.03	0.96	-2.02	-1.39	-0.54	-0.09
345	L	0	0.14	0.37	0.93	1.23	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00
346	F	0	0.00	0.00	0.00	0.32	0.19	1.17	2.07	-0.89	-0.01
347	G	0	0.00	0.00	0.02	1.26	0.88	0.10	3.48	-2.35	-1.03
348	D	0	0.00	0.00	0.00	0.77	0.38	-3.96	1.01	-4.73	-0.24
349	E	0	0.00	0.08	0.19	2.52	1.25	-2.22	0.66	-2.08	-0.81
350	N	0	0.00	0.01	0.03	1.78	1.00	-1.87	-0.71	-0.95	-0.21
351	V	0	0.00	0.20	0.30	2.36	1.15	1.11	0.59	0.27	0.26
352	F	0	0.00	0.00	0.07	1.11	0.49	4.62	2.21	1.77	0.64
353	D	0	0.02	0.03	0.38	2.26	1.23	-4.75	-1.15	-3.56	-0.05
354	K	0	0.00	0.03	0.13	2.20	1.02	-0.01	0.59	0.24	-0.84
355	H	0	0.22	0.32	0.32	2.14	0.89	2.99	2.06	1.14	-0.21

10

20

30

40

【表 2 1 - 1 0】

356	G	0	0.00	0.00	0.00	0.17	0.17	1.01	1.16	0.13	-0.28
357	G	0	0.00	0.00	0.05	0.25	0.25	-0.54	-1.47	0.34	0.60
358	L	0	0.57	0.58	0.77	1.32	0.47	0.00	0.00	0.00	0.00
359	E	0	0.00	0.03	0.27	2.19	1.27	-4.04	0.64	-4.37	-0.31
360	G	0	0.00	0.00	0.17	2.00	1.35	-1.53	-3.59	1.47	0.59
361	M	0	0.08	0.10	0.95	0.65	0.16	-1.93	-1.80	0.41	-0.54
362	G	0	0.00	0.00	0.03	0.95	0.76	-1.57	-2.00	0.18	0.25
363	E	0	0.01	0.01	0.17	1.95	0.81	-2.75	0.02	-2.64	-0.12
364	A	0	0.01	0.03	0.81	0.85	0.62	7.70	3.84	2.58	1.28
365	M	0	0.73	0.77	0.96	0.89	0.04	-0.80	0.80	-0.88	-0.72
366	A	0	0.00	0.00	0.36	1.88	1.34	-2.89	-2.32	-0.98	0.41
367	K	0	0.02	0.05	0.13	2.07	0.99	0.28	0.38	0.59	-0.70
368	G	0	0.00	0.00	0.00	0.58	0.11	0.69	1.30	-0.75	0.15
369	M	0	0.03	0.03	0.92	0.43	0.28	1.51	4.20	-1.76	-0.93
370	V	0	0.00	0.97	0.98	0.18	0.09	-0.03	0.57	-0.79	0.20
371	L	0	0.94	0.95	0.98	0.28	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
372	V	0	0.00	0.77	0.95	1.01	0.20	-1.26	-1.66	0.08	0.33
373	L	0	0.28	0.29	0.82	1.11	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00
374	S	0	0.00	0.00	0.00	0.13	0.09	-1.92	-1.20	-0.29	-0.44
375	L	0	0.39	1.00	1.00	0.88	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
376	W	0	0.00	0.00	0.02	0.19	0.15	1.31	4.44	-2.46	-0.67
377	D	0	0.00	0.01	0.08	1.42	0.89	-4.66	-0.66	-3.98	-0.02
378	D	1	0.00	0.00	0.00	0.33	0.20	-1.46	0.21	-1.95	0.29
379	Y	1	0.00	0.00	0.15	1.62	0.81	0.35	0.68	-0.14	-0.19
380	A	1	0.01	0.03	0.26	2.20	1.26	0.55	-0.55	0.42	0.68
381	A	1	0.02	0.13	0.51	1.70	1.18	-2.16	-2.33	-0.20	0.36
382	D	1	0.00	0.00	0.03	1.90	0.78	-4.27	-0.26	-3.94	-0.07
383	M	1	0.01	0.02	0.96	0.33	0.20	-1.75	-1.12	-0.17	-0.46
384	L	0	0.55	0.55	0.63	1.52	0.88	0.00	0.00	0.00	0.00
385	W	0	0.01	0.01	0.01	0.18	0.15	2.38	3.56	-0.45	-0.73
386	L	0	0.97	0.97	0.97	0.13	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
387	D	0	0.00	0.02	0.02	0.13	0.13	-2.00	1.49	-3.01	-0.47
388	S	1	0.00	0.00	0.08	0.74	0.61	0.89	0.77	0.36	-0.24
389	D	1	0.01	0.12	0.15	1.93	0.99	-4.12	-1.07	-3.02	-0.03
390	Y	1	0.00	0.02	0.02	0.61	0.28	0.93	2.36	-1.09	-0.35
391	P	1	0.00	0.00	0.00	0.06	0.06	-2.42	-2.65	-0.31	0.55
392	V	1	0.07	0.26	0.34	1.80	1.18	-1.13	-0.48	-0.79	0.14
393	N	1	0.00	0.00	0.00	1.43	0.83	-3.14	0.36	-2.88	-0.62
394	S	1	0.00	0.00	0.41	1.51	1.19	-0.76	-1.24	0.90	-0.42
395	S	1	0.00	0.00	0.10	1.87	1.16	-1.52	0.62	-2.04	-0.10

10

20

30

40

【表 2 1 - 1 1】

396	A	1	0.00	0.01	0.19	1.58	1.00	-1.29	-0.69	-0.75	0.15
397	S	1	0.00	0.00	0.06	1.77	0.69	0.29	0.05	0.30	-0.06
398	T	1	0.03	0.03	0.17	1.86	1.12	0.21	0.03	-0.10	0.28
399	P	1	0.03	0.03	0.08	1.48	0.71	2.55	2.27	-0.39	0.67
400	G	1	0.00	0.02	0.03	0.98	0.72	11.10	8.32	2.34	0.43
401	V	1	0.00	0.40	0.67	1.82	0.93	1.50	1.13	-0.14	0.51
402	A	1	0.01	0.02	0.62	1.60	1.05	-2.24	-2.64	0.04	0.36
403	R	1	0.00	0.00	0.05	0.51	0.44	3.29	5.35	-0.56	-1.51
404	G	1	0.02	0.02	0.02	0.09	0.09	15.11	13.92	0.80	0.39
405	T	1	0.00	0.02	0.05	1.52	1.09	-1.30	-1.43	0.19	-0.06
406	C	1	0.00	0.00	0.01	0.05	0.05	N/A	N/A	N/A	N/A
407	S	1	0.02	0.02	0.14	1.96	1.34	-0.83	-0.97	0.31	-0.16
408	T	1	0.01	0.08	0.26	2.10	1.18	0.07	0.00	0.32	-0.25
409	D	1	0.00	0.00	0.01	1.71	0.89	-4.30	0.37	-4.31	-0.36
410	S	1	0.01	0.02	0.12	1.51	1.12	-1.97	-1.76	-0.30	0.08
411	G	1	0.00	0.00	0.00	0.17	0.17	26.35	26.22	0.22	-0.10
412	V	1	0.02	0.35	0.41	2.05	1.04	-0.51	-0.29	-0.46	0.23
413	P	0	0.00	0.00	0.02	0.22	0.22	2.56	1.55	0.24	0.77
414	A	0	0.01	0.02	0.37	1.90	1.19	-0.05	-0.74	0.66	0.03
415	T	0	0.08	0.12	0.14	2.12	1.04	-1.04	-1.58	0.29	0.25
416	V	0	0.05	0.93	0.95	1.09	0.20	3.30	3.04	0.00	0.25
417	E	0	0.06	0.15	0.16	1.39	0.85	-2.96	1.29	-3.41	-0.83
418	A	0	0.02	0.02	0.47	1.57	1.07	-1.14	-1.07	0.06	-0.14
419	E	0	0.02	0.10	0.16	2.10	1.02	-3.66	1.49	-4.51	-0.65
420	S	0	0.00	0.06	0.13	2.21	0.99	-2.95	-1.47	-0.89	-0.59
421	P	0	0.00	0.00	0.06	0.68	0.39	-1.13	-1.10	-0.47	0.44
422	N	0	0.00	0.00	0.02	1.62	0.94	-1.16	-0.88	-0.24	-0.03
423	A	0	0.00	0.03	0.59	1.32	0.90	0.75	0.24	-0.04	0.55
424	Y	0	0.00	0.01	0.04	2.19	0.88	-0.95	0.29	-0.73	-0.51
425	V	0	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	2.67	2.34	-0.18	0.51
426	T	0	0.02	0.47	0.52	1.60	0.89	-0.09	-1.56	1.28	0.19
427	Y	0	0.02	0.02	0.02	0.91	0.07	2.27	2.65	-0.25	-0.13
428	S	0	0.00	0.00	0.01	0.15	0.14	-2.36	-2.26	-0.12	0.02
429	N	0	0.00	0.00	0.01	0.74	0.40	-1.23	-0.65	-0.44	-0.14
430	I	0	0.04	0.98	1.00	0.57	0.00	-0.52	0.26	-0.84	0.06
431	K	0	0.00	0.01	0.01	0.68	0.05	1.65	1.61	1.23	-1.19
432	F	0	0.00	0.23	0.23	1.46	0.41	-0.37	2.23	-2.50	-0.10
433	G	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	28.63	28.29	0.26	0.07
434	P	0	0.00	0.00	0.04	1.12	0.86	-0.27	0.14	-0.59	0.18
435	I	1	0.07	0.98	0.99	0.49	0.01	0.83	0.50	0.13	0.21

10

20

30

40

【表 2 1 - 1 2】

436	G	1	0.00	0.00	0.00	0.39	0.39	1.18	1.03	0.69	-0.54
437	S	1	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	20.30	18.64	1.51	0.15
438	T	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.13	-0.69	0.56	0.00
439	Y	1	0.00	0.17	0.17	1.07	0.41	0.31	0.86	-0.26	-0.28
440	S	1	0.00	0.00	0.00	1.76	0.76	-0.01	-0.23	0.32	-0.11
441	S		0.00	0.04	0.08	1.65	1.11	N/A	N/A	N/A	N/A
442	G		0.08	0.08	0.08	1.08	0.65	N/A	N/A	N/A	N/A
443	S		0.00	0.00	0.00	1.45	0.96	N/A	N/A	N/A	N/A
444	S		0.00	0.04	0.07	1.19	1.02	N/A	N/A	N/A	N/A
445	S		0.00	0.00	0.07	1.53	0.86	N/A	N/A	N/A	N/A
446	G		0.00	0.00	0.00	1.69	0.97	N/A	N/A	N/A	N/A
447	S		0.00	0.00	0.00	1.46	0.79	N/A	N/A	N/A	N/A
448	G		0.00	0.04	0.04	1.32	0.80	N/A	N/A	N/A	N/A
449	S		0.00	0.03	0.03	1.44	0.80	N/A	N/A	N/A	N/A
450	S		0.00	0.00	0.00	1.45	0.68	N/A	N/A	N/A	N/A
451	S		0.00	0.00	0.00	1.09	0.61	N/A	N/A	N/A	N/A
452	S		0.00	0.11	0.16	1.59	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
453	S		0.00	0.00	0.10	1.26	0.52	N/A	N/A	N/A	N/A
454	S		0.00	0.04	0.13	1.46	0.92	N/A	N/A	N/A	N/A
455	S		0.04	0.17	0.17	1.66	1.08	N/A	N/A	N/A	N/A
456	T		0.04	0.13	0.17	1.67	1.20	N/A	N/A	N/A	N/A
457	T		0.00	0.08	0.16	1.54	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
458	T		0.00	0.15	0.15	1.30	0.72	N/A	N/A	N/A	N/A
459	K		0.00	0.08	0.12	1.74	1.01	N/A	N/A	N/A	N/A
460	A		0.00	0.08	0.21	1.78	1.24	N/A	N/A	N/A	N/A
461	T		0.00	0.00	0.13	1.08	0.54	N/A	N/A	N/A	N/A
462	S		0.00	0.04	0.21	1.40	0.84	N/A	N/A	N/A	N/A
463	T		0.00	0.06	0.06	1.12	0.58	N/A	N/A	N/A	N/A
464	T		0.00	0.00	0.06	1.58	0.83	N/A	N/A	N/A	N/A
465	L		0.18	0.18	0.24	0.89	0.75	N/A	N/A	N/A	N/A
466	K		0.00	0.00	0.04	1.24	0.82	N/A	N/A	N/A	N/A
467	T		0.00	0.00	0.04	1.16	0.56	N/A	N/A	N/A	N/A
468	T		0.00	0.00	0.08	1.20	0.71	N/A	N/A	N/A	N/A
469	S		0.00	0.04	0.19	1.66	1.14	N/A	N/A	N/A	N/A
470	T		0.00	0.00	0.08	0.71	0.44	N/A	N/A	N/A	N/A
471	T		0.00	0.00	0.16	1.39	0.70	N/A	N/A	N/A	N/A
472	S		0.00	0.00	0.04	1.23	0.62	N/A	N/A	N/A	N/A
473	S		0.00	0.04	0.19	1.71	0.82	N/A	N/A	N/A	N/A
474	G		0.00	0.00	0.08	1.67	0.88	N/A	N/A	N/A	N/A
475	S		0.00	0.00	0.17	1.80	1.10	N/A	N/A	N/A	N/A

10

20

30

40

【表 2 1 - 1 3】

476	S		0.00	0.00	0.07	1.70	1.01	N/A	N/A	N/A	N/A
477	S		0.00	0.00	0.03	1.54	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
478	T		0.00	0.03	0.27	1.53	1.06	N/A	N/A	N/A	N/A
479	S		0.00	0.00	0.03	1.11	0.82	N/A	N/A	N/A	N/A
480	A		0.00	0.21	0.34	1.67	0.98	N/A	N/A	N/A	N/A
481	A		0.00	0.17	0.63	1.20	0.83	N/A	N/A	N/A	N/A
482	Q		0.00	0.03	0.23	1.98	1.33	N/A	N/A	N/A	N/A
483	A		0.00	0.00	0.14	2.00	1.05	N/A	N/A	N/A	N/A
484	Y		0.00	0.00	0.03	1.19	0.48	N/A	N/A	N/A	N/A
485	G		0.00	0.00	0.30	1.19	1.13	N/A	N/A	N/A	N/A
486	Q		0.00	0.00	0.04	0.64	0.36	N/A	N/A	N/A	N/A
487	C		0.00	0.00	0.00	0.74	0.64	N/A	N/A	N/A	N/A
488	G		0.00	0.00	0.00	0.72	0.15	N/A	N/A	N/A	N/A
489	G		0.00	0.03	0.03	0.29	0.29	N/A	N/A	N/A	N/A
490	Q		0.00	0.27	0.27	1.51	1.06	N/A	N/A	N/A	N/A
491	G		0.00	0.03	0.07	1.37	1.02	N/A	N/A	N/A	N/A
492	W		0.00	0.00	0.00	1.39	0.45	N/A	N/A	N/A	N/A
493	T		0.00	0.00	0.00	1.37	0.23	N/A	N/A	N/A	N/A
494	G		0.00	0.00	0.00	0.87	0.58	N/A	N/A	N/A	N/A
495	P		0.00	0.00	0.07	1.04	0.49	N/A	N/A	N/A	N/A
496	T		0.00	0.03	0.03	0.72	0.72	N/A	N/A	N/A	N/A
497	T		0.00	0.10	0.23	1.13	0.54	N/A	N/A	N/A	N/A
498	C		0.00	0.07	0.23	0.96	0.82	N/A	N/A	N/A	N/A
499	V		0.00	0.30	0.57	1.69	1.09	N/A	N/A	N/A	N/A
500	S		0.00	0.00	0.31	0.98	0.86	N/A	N/A	N/A	N/A
501	G		0.00	0.00	0.00	1.30	0.57	N/A	N/A	N/A	N/A
502	Y		0.00	0.00	0.00	1.34	0.65	N/A	N/A	N/A	N/A
503	T		0.00	0.00	0.03	0.98	0.50	N/A	N/A	N/A	N/A
504	C		0.00	0.00	0.03	0.68	0.68	N/A	N/A	N/A	N/A
505	T		0.03	0.13	0.13	1.68	1.14	N/A	N/A	N/A	N/A
506	Y		0.00	0.17	0.21	1.53	0.91	N/A	N/A	N/A	N/A
507	E		0.17	0.48	0.62	2.12	0.90	N/A	N/A	N/A	N/A
508	N		0.07	0.07	0.07	0.97	0.50	N/A	N/A	N/A	N/A
509	A		0.00	0.00	0.10	1.61	1.20	N/A	N/A	N/A	N/A
510	Y		0.00	0.00	0.03	1.61	0.72	N/A	N/A	N/A	N/A
511	Y		0.00	0.00	0.00	0.51	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
512	S		0.00	0.00	0.00	0.62	0.26	N/A	N/A	N/A	N/A
513	Q		0.00	0.00	0.00	0.69	0.03	N/A	N/A	N/A	N/A
514	C		0.00	0.00	0.00	0.59	0.59	N/A	N/A	N/A	N/A
515	L		0.60	0.68	0.68	0.87	0.63	N/A	N/A	N/A	N/A

10

20

30

40

【表 2 2 - 1】

表 4 : (配列番号 4)

Pos. .	AA	LoopID	Leu Like.	BCA A Li ke.	Hydr o. Li ke.	Pos. Ent.	AAタイプ Pos. Ent.	$\Delta \Delta$ G_{fold} 合計	$\Delta \Delta$ G_{fold} VDW	$\Delta \Delta$ G_{fold} Elec.	$\Delta \Delta$ G_{fold} Ent.
1	S	1	0.00	0.00	0.55	0.97	0.69	-3.31	-2.72	-0.51	-0.08
2	A	1	0.00	0.00	0.84	0.55	0.44	0.00	-1.58	0.59	0.99
3	G	1	0.00	0.00	0.44	1.25	1.07	-1.20	-0.43	-0.17	-0.60
4	I	1	0.02	0.22	0.27	1.37	0.82	2.31	1.23	0.56	0.52
5	N	1	0.00	0.00	0.06	1.33	1.02	-0.85	-0.79	-0.15	0.10
6	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.52	0.31	0.56	0.62	0.02	-0.08
7	V	0	0.00	0.09	0.09	1.78	0.78	1.92	-0.26	1.19	0.99
8	Q	0	0.00	0.00	0.00	0.84	0.34	-0.84	0.84	-0.61	-1.07
9	N	0	0.00	0.00	0.00	1.29	0.57	-1.22	-1.20	-0.17	0.15
10	Y	0	0.07	0.08	0.10	1.43	0.36	0.44	0.83	-0.36	-0.03
11	N	1	0.00	0.07	0.07	1.78	0.73	-1.07	-0.83	-0.36	0.12
12	G	1	0.00	0.00	0.02	1.62	0.99	2.74	1.81	0.65	0.27
13	N	1	0.00	0.00	0.01	1.36	0.99	-1.17	-0.20	-0.83	-0.14
14	L	1	0.04	0.06	0.10	1.41	0.96	0.00	0.00	0.00	0.00
15	G	1	0.00	0.02	0.09	1.23	0.95	12.36	12.45	-0.09	0.00
16	D	1	0.00	0.10	0.10	2.02	1.08	-1.80	-0.77	-1.18	0.15
17	F	1	0.00	0.76	0.81	1.01	0.47	2.57	2.26	0.06	0.26
18	T	0	0.00	0.03	0.06	1.78	0.68	-1.15	-0.99	-0.24	0.08
19	Y	1	0.00	0.26	0.27	1.43	0.68	-0.56	0.00	-0.49	-0.07
20	D	1	0.00	0.01	0.03	1.67	0.54	-1.03	-0.56	-0.51	0.04
21	E	1	0.00	0.00	0.04	1.97	1.21	-0.92	0.99	-1.48	-0.43
22	S	1	0.00	0.00	0.04	1.97	0.78	-0.90	-1.13	0.03	0.20
23	A	1	0.00	0.00	0.16	1.25	1.02	-0.80	-0.95	0.00	0.15
24	G	1	0.00	0.00	0.00	0.27	0.23	0.47	0.99	-0.38	-0.14
25	T	0	0.00	0.00	0.04	1.38	0.64	-0.64	-0.43	-0.13	-0.08
26	F	0	0.00	0.00	0.01	0.58	0.05	0.70	1.13	-0.60	0.18
27	S	0	0.00	0.00	0.05	1.27	0.48	-1.67	-1.47	0.04	-0.24
28	M	0	0.07	0.63	0.69	1.46	0.70	0.72	1.90	-0.61	-0.58
29	Y	1	0.01	0.01	0.01	2.01	0.60	-2.29	-0.55	-1.26	-0.47
30	W	1	0.00	0.00	0.00	0.30	0.05	5.03	5.46	-0.33	-0.10
31	E	1	0.00	0.01	0.02	1.82	0.66	-1.83	-0.22	-1.48	-0.13
32	D	1	0.01	0.03	0.05	1.58	0.98	-2.94	-1.74	-1.19	-0.01
33	G	1	0.00	0.16	0.20	2.09	0.99	1.40	2.23	-0.54	-0.29

10

20

30

40

【表 2 2 - 2】

34	V	0	0.02	0.12	0.14	1.83	1.10	2.58	1.52	0.42	0.65
35	S	1	0.00	0.10	0.16	2.14	1.16	-0.05	0.05	-0.13	0.03
36	S	1	0.00	0.00	0.03	0.93	0.74	-0.73	-0.79	0.32	-0.26
37	D	1	0.01	0.01	0.01	0.78	0.64	-2.38	-0.81	-1.62	0.05
38	F	1	0.07	0.08	0.10	0.83	0.28	1.50	1.92	-0.61	0.20
39	V	1	0.07	0.94	0.94	0.56	0.21	-1.75	-1.52	-0.61	0.38
40	V	1	0.00	0.26	0.53	1.49	0.76	2.44	1.00	0.72	0.71
41	G	1	0.00	0.00	0.00	0.20	0.20	22.48	23.81	-1.13	-0.20
42	L	1	0.04	0.07	0.07	0.64	0.42	0.00	0.00	0.00	0.00
43	G	0	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	13.13	11.83	0.83	0.48
44	W	0	0.01	0.01	0.01	0.46	0.15	3.11	3.21	-0.02	-0.07
45	T	0	0.01	0.01	0.09	1.80	0.78	-0.15	-1.03	0.78	0.10
46	T	0	0.01	0.04	0.05	1.57	0.98	-0.44	-1.00	0.49	0.06
47	G	0	0.00	0.00	0.03	0.39	0.35	3.04	2.77	0.27	0.00
48	S	1	0.00	0.01	0.16	1.65	1.07	-0.87	-1.18	0.39	-0.08
49	S	1	0.00	0.01	0.21	2.18	1.32	-2.31	-2.15	-0.14	-0.02
50	K	1	0.01	0.01	0.02	1.03	0.41	-1.15	-1.01	-0.23	0.09
51	A	0	0.01	0.19	0.28	1.86	0.98	-0.03	-0.25	-0.35	0.58
52	I	0	0.04	0.94	0.94	1.07	0.21	-1.53	-1.32	-0.44	0.23
53	T	0	0.00	0.00	0.03	1.76	0.68	-1.25	-1.14	-0.07	-0.03
54	Y	0	0.00	0.01	0.02	0.78	0.22	1.61	3.09	-1.15	-0.32
55	S	0	0.00	0.02	0.02	1.50	0.59	-0.25	-0.90	0.32	0.33
56	A	0	0.01	0.03	0.25	0.88	0.68	3.40	3.40	-0.43	0.44
57	E	0	0.00	0.02	0.03	1.78	0.75	-1.46	-0.52	-1.19	0.24
58	Y	0	0.01	0.14	0.18	1.60	0.52	2.54	2.91	-0.25	-0.12
59	S	0	0.01	0.01	0.02	1.95	0.70	-1.05	-1.00	-0.18	0.13
60	A	0	0.00	0.08	0.30	1.64	1.06	3.50	3.33	-0.30	0.47
61	S	0	0.01	0.02	0.07	2.05	0.97	-0.29	-0.80	0.38	0.12
62	G	0	0.00	0.00	0.03	1.22	0.89	-2.34	-1.04	-0.65	-0.65
63	S	0	0.00	0.05	0.06	1.19	0.88	4.50	5.16	-0.33	-0.32
64	S	0	0.01	0.02	0.14	1.63	0.89	-1.79	-1.21	-0.22	-0.36
65	S	0	0.00	0.04	0.13	1.47	0.99	5.06	5.93	-0.56	-0.30
66	Y	0	0.06	0.08	0.09	0.82	0.45	1.52	1.50	-0.01	0.03
67	L	0	0.84	0.92	0.93	0.73	0.19	0.00	0.00	0.00	0.00
68	A	0	0.01	0.02	0.45	1.40	0.95	0.80	0.02	0.24	0.54
69	V	0	0.39	0.97	0.97	1.15	0.05	0.75	0.98	-0.62	0.39
70	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.04	1.77	1.35	0.30	0.12
71	G	0	0.00	0.00	0.01	0.07	0.07	5.48	4.71	0.60	0.17

10

20

30

40

【表 2 2 - 3】

72	W	0	0.00	0.00	0.00	0.08	0.04	3.70	2.99	0.55	0.16
73	V	0	0.01	0.03	0.07	0.73	0.29	-1.26	-1.18	-0.47	0.38
74	N	0	0.00	0.04	0.06	1.78	0.88	-1.95	-0.69	-1.20	-0.07
75	Y	0	0.00	0.00	0.02	1.19	0.70	-1.30	-0.88	-0.45	0.02
76	P	0	0.00	0.00	0.04	0.46	0.44	-0.35	-0.41	-0.43	0.49
77	Q	0	0.94	0.96	0.96	0.36	0.18	-0.04	1.07	-0.24	-0.88
78	A	0	0.00	0.92	0.94	1.00	0.24	-2.81	-2.74	-0.50	0.42
79	E	0	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	-1.24	0.85	-1.51	-0.58
80	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.40	0.04	1.11	2.31	-0.96	-0.24
81	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.08	0.07	1.10	1.35	-0.17	-0.08
82	I	0	0.00	1.00	1.00	0.67	0.00	1.84	2.04	-0.39	0.19
83	V	0	0.04	0.92	0.96	1.06	0.19	1.09	1.21	-0.55	0.43
84	E	0	0.00	0.00	0.00	0.69	0.06	-1.14	0.62	-1.16	-0.60
85	D	0	0.00	0.01	0.06	1.54	0.69	-1.20	-0.02	-1.41	0.22
86	Y	0	0.00	0.00	0.01	1.40	0.37	0.76	0.99	0.00	-0.23
87	G	0	0.00	0.03	0.07	0.78	0.65	12.86	11.59	1.09	0.18
88	D	1	0.00	0.03	0.04	1.48	0.56	-1.44	-0.50	-0.91	-0.02
89	Y	0	0.04	0.05	0.05	1.16	0.45	-1.58	-1.13	-0.18	-0.27
90	N	0	0.00	0.00	0.04	1.63	0.91	0.07	0.28	-0.24	0.03
91	P	0	0.00	0.00	0.01	0.28	0.12	1.00	-0.10	0.16	0.94
92	C	0	0.00	0.01	0.08	1.87	0.99	N/A	N/A	N/A	N/A
93	S	0	0.00	0.00	0.06	1.71	1.09	-2.19	-1.50	-0.62	-0.06
94	S	0	0.00	0.02	0.11	2.04	1.08	-2.16	-0.91	-1.19	-0.06
95	A	0	0.01	0.01	0.41	1.38	0.97	-3.53	-3.53	-0.58	0.59
96	T	0	0.01	0.02	0.03	1.62	0.63	-0.83	-1.35	0.32	0.19
97	S	0	0.04	0.10	0.12	2.42	1.07	-1.41	-0.87	-0.35	-0.18
98	L	0	0.18	0.22	0.30	1.65	0.83	0.00	0.00	0.00	0.00
99	G	0	0.00	0.00	0.00	0.24	0.20	1.53	1.12	0.50	-0.10
100	T	0	0.00	0.00	0.01	1.13	0.24	-1.33	-1.67	0.03	0.31
101	V	0	0.03	0.80	0.81	1.20	0.35	0.39	0.65	-0.54	0.28
102	Y	0	0.00	0.02	0.03	1.66	0.54	0.53	0.54	0.01	-0.01
103	S	0	0.01	0.25	0.28	1.52	0.86	2.59	2.58	0.31	-0.31
104	D	0	0.00	0.00	0.01	0.32	0.25	2.05	1.19	0.63	0.23
105	G	0	0.00	0.00	0.00	0.21	0.18	-1.80	-0.45	-0.72	-0.62
106	S	0	0.00	0.00	0.18	1.09	1.01	8.83	8.43	0.62	-0.22
107	T	0	0.00	0.10	0.10	1.08	0.53	-0.56	-0.85	0.34	-0.05
108	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.37	2.98	0.28	0.11
109	Q	0	0.00	0.01	0.02	1.41	0.59	-1.13	0.42	-0.69	-0.86

10

20

30

40

【表 2 2 - 4】

110	V	0	0.05	0.97	0.98	0.82	0.06	-0.78	-0.98	-0.31	0.52
111	C	0	0.06	0.07	0.12	1.30	0.53	N/A	N/A	N/A	N/A
112	T	0	0.00	0.04	0.08	1.96	0.90	-1.71	-0.81	-0.75	-0.15
113	D	0	0.02	0.04	0.11	1.61	0.76	-2.29	-1.52	-1.20	0.43
114	T	0	0.02	0.06	0.10	1.63	0.71	0.73	-0.41	1.06	0.08
115	R	0	0.00	0.00	0.01	0.51	0.30	1.06	1.32	0.86	-1.12
116	T	0	0.00	0.44	0.44	1.58	0.87	-0.39	0.06	-0.30	-0.14
117	N	0	0.00	0.00	0.00	0.75	0.34	-0.68	-0.37	-0.34	0.03
118	E	0	0.00	0.03	0.38	1.42	1.08	-1.30	0.70	-1.41	-0.59
119	P	0	0.00	0.00	0.01	0.27	0.18	-0.47	-0.21	-0.47	0.21
120	S	0	0.00	0.00	0.01	0.43	0.21	3.32	3.55	-0.14	-0.09
121	I	0	0.00	0.98	0.98	0.30	0.10	1.14	0.60	0.09	0.45
122	T	0	0.03	0.17	0.18	1.89	0.83	-0.22	0.05	-0.04	-0.24
123	G	0	0.00	0.00	0.00	0.07	0.05	1.63	1.80	0.15	-0.32
124	T	0	0.00	0.09	0.09	1.37	0.74	-0.76	-0.36	-0.32	-0.09
125	S	0	0.00	0.00	0.32	1.85	1.15	-2.50	-2.09	-0.22	-0.19
126	T	0	0.00	0.01	0.01	0.41	0.16	0.15	0.07	0.15	-0.07
127	F	0	0.01	0.02	0.02	0.20	0.12	1.24	1.31	-0.21	0.14
128	T	0	0.00	0.03	0.05	2.20	0.96	-0.72	-1.01	0.48	-0.19
129	Q	0	0.00	0.00	0.00	0.09	0.07	-1.65	-0.58	-0.09	-0.98
130	Y	0	0.02	0.03	0.03	0.70	0.18	1.65	1.94	-0.06	-0.22
131	F	0	0.00	0.08	0.08	0.72	0.24	0.29	0.27	-0.13	0.15
132	S	0	0.00	0.00	0.04	0.20	0.20	1.44	1.77	-0.10	-0.23
133	V	0	0.00	0.96	0.96	0.60	0.19	0.88	0.30	0.00	0.58
134	R	0	0.00	0.00	0.00	0.13	0.11	4.80	5.18	0.72	-1.11
135	E	0	0.00	0.03	0.04	1.61	0.67	-2.06	0.10	-1.84	-0.32
136	S	0	0.00	0.01	0.02	1.72	0.63	-0.46	-0.75	0.18	0.10
137	T	0	0.01	0.01	0.04	1.14	0.72	-0.90	-0.85	0.06	-0.11
138	R	0	0.00	0.00	0.01	0.64	0.23	4.11	4.68	0.69	-1.26
139	T	0	0.01	0.21	0.25	1.85	0.98	-0.72	-0.56	0.01	-0.17
140	S	0	0.00	0.02	0.02	1.46	0.89	0.56	-0.29	0.95	-0.09
141	G	0	0.00	0.00	0.00	0.10	0.10	4.81	4.49	0.38	-0.06
142	T	0	0.00	0.02	0.03	0.81	0.23	-0.38	-0.24	0.23	-0.37
143	V	0	0.00	1.00	1.00	0.70	0.00	0.22	-0.26	0.00	0.48
144	T	0	0.00	0.00	0.00	1.14	0.30	-1.07	-0.62	-0.16	-0.29
145	V	0	0.02	0.39	0.52	1.68	0.73	-0.07	-1.12	0.44	0.61
146	A	0	0.00	0.00	0.19	1.84	1.25	-1.13	-1.88	0.00	0.75
147	N	1	0.00	0.00	0.10	1.42	0.98	-1.55	-0.76	-0.81	0.02

10

20

30

40

【表 2 2 - 5】

148	H	0	0.00	0.00	0.00	0.12	0.02	0.79	1.25	-0.38	-0.09
149	F	0	0.00	0.15	0.18	0.68	0.31	1.44	1.41	-0.19	0.22
150	N	0	0.00	0.00	0.06	1.57	0.86	-0.67	-0.36	-0.37	0.05
151	F	0	0.00	0.01	0.83	0.83	0.50	1.20	1.20	-0.10	0.10
152	W	0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.59	4.62	-0.86	-0.16
153	A	0	0.00	0.00	0.42	1.66	1.06	-0.80	-0.89	-0.34	0.43
154	Q	0	0.00	0.00	0.10	1.82	0.97	-0.70	-0.24	-0.33	-0.12
155	H	0	0.25	0.30	0.54	2.18	0.95	0.00	0.31	-0.19	-0.12
156	G	0	0.00	0.00	0.00	0.10	0.08	0.46	1.20	-0.32	-0.43
157	F	0	0.31	0.31	0.91	1.04	0.20	1.37	1.36	-0.25	0.26
158	G	0	0.00	0.00	0.02	1.97	1.02	16.40	16.43	-0.02	-0.01
159	N	0	0.52	0.56	0.79	1.38	0.62	0.76	0.74	-0.20	0.22
160	S	0	0.00	0.00	0.00	0.67	0.52	-0.67	-0.50	-0.06	-0.11
161	D	0	0.00	0.00	0.03	1.81	0.62	-2.12	-0.91	-1.50	0.28
162	F	0	0.10	0.13	0.27	1.83	0.88	0.39	0.88	-0.56	0.07
163	N	0	0.01	0.04	0.08	1.91	0.96	-0.15	0.03	-0.29	0.11
164	Y	0	0.00	0.01	0.01	1.06	0.54	1.05	1.47	-0.27	-0.15
165	Q	0	0.00	0.19	0.43	1.41	0.73	-0.18	1.62	-0.83	-0.97
166	V	0	0.00	0.71	0.87	1.47	0.42	0.44	0.16	-0.16	0.44
167	M	0	0.45	0.73	0.94	1.29	0.06	-0.99	-0.32	-0.10	-0.58
168	A	0	0.03	0.12	0.79	1.26	0.67	-0.91	-1.47	0.01	0.55
169	V	0	0.02	0.36	0.38	1.03	0.71	1.77	0.19	0.85	0.73
170	E	0	0.00	0.00	0.00	0.08	0.03	-0.76	0.97	-0.73	-1.00
171	A	0	0.00	0.00	0.05	0.36	0.34	6.48	5.06	0.69	0.73
172	W	0	0.00	0.00	0.00	0.79	0.19	1.72	2.82	-0.68	-0.41
173	S	0	0.00	0.01	0.02	1.56	0.81	-1.69	-0.99	-0.42	-0.28
174	G	0	0.00	0.00	0.03	0.61	0.50	2.32	2.79	-0.23	-0.24
175	A	0	0.00	0.00	0.04	0.80	0.38	-0.25	-1.51	0.75	0.51
176	G	0	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	11.89	10.76	0.91	0.23
177	S	0	0.00	0.00	0.01	1.48	0.53	-1.83	-1.30	-0.46	-0.07
178	A	0	0.02	0.03	0.49	0.95	0.76	0.05	-0.23	-0.28	0.56
179	S	0	0.00	0.00	0.03	1.67	0.68	-1.58	-1.29	-0.08	-0.21
180	V	0	0.03	0.90	0.94	1.19	0.13	-0.72	-0.94	-0.24	0.46
181	T	0	0.00	0.00	0.01	0.77	0.26	-0.95	-0.53	-0.31	-0.11
182	I	0	0.05	0.96	0.97	0.67	0.10	0.68	0.54	-0.15	0.29
183	S	0	0.00	0.00	0.09	1.52	0.65	-1.98	-1.98	-0.37	0.36
184	S	1	0.00	0.00	0.15	1.22	0.43	-1.13	-0.67	-0.65	0.18

10

20

30

40

【 0 6 2 0 】

【表 2 3】

表 5 : (配列番号 5)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプ Pos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	A	1	0.00	0.29	0.80	1.23	0.58	0.29	-0.01	0.05	0.26
2	A	1	0.00	0.20	0.84	1.03	0.48	6.06	5.76	-0.10	0.41
3	Q	1	0.00	0.01	0.30	2.00	1.34	-0.05	0.08	-0.17	0.04
4	A	1	0.15	0.29	0.53	2.38	1.12	-1.29	-1.60	0.04	0.27
5	Y	1	0.00	0.00	0.00	0.86	0.05	-0.38	-0.39	0.06	-0.05
6	G	1	0.00	0.00	0.14	1.01	0.80	-2.12	-1.86	0.09	-0.35
7	Q	1	0.00	0.00	0.00	0.13	0.12	-0.65	0.91	-0.51	-1.06
8	C	1	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	N/A	N/A	N/A	N/A
9	G	0	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	0.05	-0.01	-0.01	0.07
10	G	0	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	18.93	18.94	0.16	-0.17
11	Q	0	0.02	0.24	0.26	2.14	1.02	0.36	0.79	-0.01	-0.43
12	G	0	0.00	0.00	0.01	0.83	0.63	1.21	1.84	-0.02	-0.61
13	W	0	0.00	0.00	0.00	1.00	0.09	3.45	3.81	-0.13	-0.23
14	T	0	0.00	0.01	0.03	1.23	0.28	0.02	-0.25	0.29	-0.02
15	G	0	0.00	0.00	0.00	0.51	0.12	4.05	4.50	-0.02	-0.42
16	P	0	0.00	0.00	0.18	1.67	1.16	-0.07	-0.17	-0.09	0.19
17	T	0	0.00	0.00	0.01	0.70	0.39	-0.10	-0.39	0.38	-0.09
18	T	1	0.01	0.13	0.24	2.14	1.19	-0.29	-0.48	0.25	-0.05
19	C	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
20	V	1	0.00	0.28	0.66	1.79	0.96	-0.63	-0.55	-0.19	0.11
21	S	1	0.00	0.01	0.18	1.43	0.95	0.08	-0.32	0.41	-0.01
22	G	1	0.00	0.00	0.01	0.73	0.15	1.40	1.87	0.00	-0.46
23	Y	1	0.06	0.06	0.16	1.91	0.78	0.46	0.38	0.02	0.06
24	T	1	0.00	0.08	0.13	1.46	0.85	-0.53	-0.59	0.11	-0.04
25	C	1	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	N/A	N/A	N/A	N/A
26	T	1	0.00	0.22	0.25	2.04	1.04	-0.19	0.25	-0.01	-0.43
27	Y	1	0.01	0.27	0.42	2.20	1.02	-0.15	0.31	-0.18	-0.29
28	E	1	0.19	0.41	0.47	2.31	0.92	-0.90	0.32	-0.65	-0.57
29	N	0	0.00	0.00	0.00	0.55	0.25	-0.82	-0.64	-0.07	-0.10
30	A	1	0.00	0.01	0.11	1.81	1.27	-1.07	-1.20	-0.06	0.19
31	Y	1	0.00	0.00	0.01	1.03	0.14	-0.62	-0.45	0.04	-0.20
32	Y	1	0.00	0.00	0.01	0.33	0.09	-0.55	-0.31	-0.03	-0.21
33	S	1	0.00	0.00	0.07	0.84	0.57	0.05	0.08	0.32	-0.35
34	Q	1	0.00	0.00	0.01	0.31	0.12	0.63	1.90	-0.19	-1.09
35	C	1	0.00	0.01	0.01	0.07	0.04	N/A	N/A	N/A	N/A
36	L	1	0.62	0.99	1.00	0.96	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

10

20

30

40

【 0 6 2 1】

【表 2 4 - 1】

表 6 A : (配列番号 6)

Pos.	AA	Loop ID	Leu L ike.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. E nt.	AAタ イプP os. En t.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	C	0	0.00	0.00	0.02	0.09	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
2	T	1	0.02	0.18	0.46	1.70	1.02	0.26	-0.23	0.55	-0.06
3	T	1	0.00	0.09	0.36	1.73	1.01	0.85	0.45	0.49	-0.09
4	P	1	0.01	0.03	0.17	1.25	0.87	-1.48	-2.08	0.28	0.32
5	T	1	0.02	0.06	0.13	2.21	1.13	-1.52	-1.67	0.24	-0.09
6	A	0	0.05	0.08	0.27	2.36	1.23	-0.17	-1.43	0.53	0.73
7	V	0	0.03	0.84	0.87	1.15	0.49	-0.09	-1.35	0.66	0.61
8	A	0	0.02	0.05	0.27	2.40	1.31	0.66	-1.01	0.59	1.08
9	V	0	0.05	0.92	0.97	0.89	0.16	-0.60	-1.47	0.33	0.54
10	T	0	0.03	0.07	0.14	2.00	0.98	-0.02	-0.59	0.67	-0.10
11	F	0	0.03	0.11	0.11	0.57	0.29	1.46	0.45	0.54	0.47
12	D	0	0.01	0.13	0.17	2.51	1.16	-1.99	-0.31	-1.75	0.07
13	L	0	0.19	0.75	0.79	1.85	0.68	0.00	0.00	0.00	0.00
14	T	0	0.07	0.15	0.16	2.43	1.16	-0.30	-0.73	0.35	0.08
15	A	1	0.01	0.18	0.58	2.01	0.98	-0.32	-1.14	0.24	0.58
16	T	1	0.00	0.04	0.08	2.18	0.97	-0.43	-0.62	0.23	-0.03
17	T	1	0.06	0.13	0.15	1.21	0.74	2.88	1.41	1.21	0.26
18	T	1	0.06	0.16	0.29	2.45	1.04	-0.71	-1.95	0.68	0.56
19	Y	1	0.17	0.23	0.26	2.16	0.88	-0.94	-0.78	0.00	-0.17
20	G	1	0.00	0.02	0.03	0.48	0.35	0.24	0.78	-0.04	-0.50
21	E	1	0.00	0.01	0.01	1.27	0.75	5.81	7.48	-1.11	-0.56
22	N	0	0.00	0.08	0.12	2.26	0.90	1.09	0.67	0.06	0.35
23	I	0	0.19	0.87	0.91	1.47	0.16	1.10	-0.23	0.72	0.60
24	Y	0	0.04	0.09	0.22	1.93	0.83	0.41	0.65	-0.05	-0.19
25	L	0	0.33	0.94	1.00	1.32	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
26	V	0	0.05	0.55	0.61	1.56	0.87	2.82	2.13	0.21	0.48
27	G	0	0.00	0.00	0.00	0.04	0.03	8.30	7.99	0.34	-0.02
28	S	0	0.00	0.00	0.01	1.27	0.60	-1.70	-1.77	0.08	-0.01
29	I	1	0.02	0.49	0.53	2.37	1.17	2.36	0.96	0.82	0.58
30	S	1	0.00	0.02	0.22	2.12	1.37	0.42	-0.98	0.96	0.43
31	Q	1	0.02	0.05	0.26	1.92	1.14	0.43	0.35	0.47	-0.38
32	L	1	0.90	0.92	0.97	0.50	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00
33	G	1	0.00	0.00	0.02	0.30	0.23	-0.94	-2.25	0.84	0.46

10

20

30

40

【表 2 4 - 2】

34	D	1	0.04	0.04	0.09	1.89	0.96	-1.23	-0.18	-1.28	0.24
35	W	1	0.00	0.00	0.00	0.12	0.09	-0.28	0.14	-0.08	-0.34
36	E	1	0.00	0.01	0.05	1.85	0.88	-2.36	-1.88	-0.66	0.17
37	T	1	0.04	0.14	0.21	1.67	1.13	0.17	0.12	0.27	-0.21
38	S	1	0.01	0.02	0.25	2.30	1.25	-0.30	-0.59	0.20	0.10
39	D	1	0.05	0.05	0.13	2.31	1.11	-1.36	-0.54	-1.19	0.37
40	G	1	0.00	0.01	0.64	1.30	0.90	6.71	6.45	0.27	-0.01
41	I	0	0.16	0.80	0.83	1.81	0.58	1.07	0.75	0.07	0.25
42	A	0	0.05	0.08	0.30	2.31	1.33	-0.78	-1.36	0.32	0.26
43	L	0	0.63	0.67	0.85	1.21	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00
44	S	1	0.04	0.09	0.22	2.54	1.09	-1.31	-1.77	0.45	0.01
45	A	1	0.01	0.01	0.24	2.27	1.09	1.13	-0.62	0.81	0.94
46	D	1	0.01	0.06	0.18	2.23	1.13	-0.67	0.07	-0.49	-0.25
47	K	1	0.01	0.03	0.11	2.41	1.19	0.06	-0.23	0.17	0.12
48	Y	1	0.01	0.03	0.05	2.02	1.08	-0.21	-1.19	0.64	0.34
49	T	1	0.05	0.05	0.10	1.54	0.89	-0.16	-0.63	0.46	0.01
50	S	1	0.01	0.01	0.10	1.87	0.89	-0.47	-1.12	0.66	-0.01
51	S	1	0.01	0.04	0.12	2.20	1.00	-0.30	-1.18	1.11	-0.22
52	D	1	0.01	0.02	0.02	1.88	0.89	0.33	0.77	-1.11	0.67
53	P	1	0.02	0.03	0.06	1.70	1.04	-0.02	-0.90	0.10	0.78
54	L	1	0.24	0.48	0.49	2.34	1.09	0.00	0.00	0.00	0.00
55	W	1	0.00	0.00	0.01	0.28	0.08	4.63	5.47	-0.66	-0.18
56	Y	0	0.00	0.09	0.10	2.31	1.01	-0.59	-0.30	-0.11	-0.18
57	V	0	0.05	0.32	0.47	2.26	1.06	2.38	1.75	0.20	0.43
58	T	0	0.00	0.04	0.06	1.69	0.92	0.60	0.03	0.66	-0.09
59	V	0	0.15	0.87	0.92	1.50	0.30	-1.63	-2.01	-0.11	0.48
60	T	0	0.01	0.06	0.13	2.56	1.19	0.52	-0.47	0.92	0.07
61	L	0	0.63	0.94	0.96	1.11	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00
62	P	0	0.00	0.01	0.08	1.11	0.80	0.37	-0.09	0.05	0.40
63	A	1	0.02	0.12	0.66	1.87	1.00	3.03	2.16	0.27	0.60
64	G	1	0.00	0.01	0.06	1.52	1.07	5.58	5.06	0.34	0.17
65	E	1	0.01	0.08	0.12	2.30	1.10	-1.74	-1.52	-0.40	0.17
66	S	0	0.03	0.11	0.23	2.43	1.18	0.57	-0.45	0.76	0.26
67	F	0	0.12	0.62	0.64	1.72	0.46	1.61	0.64	0.48	0.49
68	E	0	0.00	0.01	0.03	1.26	0.71	-1.41	-1.10	-0.69	0.38
69	Y	0	0.00	0.01	0.01	0.95	0.10	0.05	0.58	-0.26	-0.27
70	K	0	0.00	0.00	0.01	0.54	0.17	-0.29	-0.81	1.51	-0.98
71	F	0	0.04	0.06	0.09	1.24	0.38	1.13	1.12	-0.13	0.14

10

20

30

40

【表 2 4 - 3】

72	I	0	0.14	0.77	0.80	1.72	0.36	0.36	0.21	-0.03	0.18
73	R	0	0.12	0.34	0.36	1.80	0.82	2.42	2.54	1.17	-1.29
74	I	0	0.04	0.33	0.37	2.12	1.11	-0.12	-0.68	0.27	0.29
75	E	1	0.00	0.02	0.07	2.31	1.07	-2.14	-0.45	-1.42	-0.27
76	S	1	0.00	0.03	0.18	2.24	1.33	-1.26	-1.77	0.68	-0.17
77	D	1	0.00	0.01	0.07	2.26	1.19	-0.64	0.07	-0.82	0.10
78	D	1	0.01	0.01	0.04	1.91	1.14	-1.48	-2.25	0.05	0.71
79	S	1	0.01	0.10	0.18	2.38	1.09	0.36	0.36	0.28	-0.28
80	V	0	0.06	0.72	0.80	1.81	0.67	-0.03	-0.86	0.39	0.44
81	E	0	0.03	0.24	0.27	2.39	1.15	-0.86	-0.72	-0.60	0.46
82	W	1	0.01	0.02	0.02	0.40	0.19	1.00	1.61	-0.06	-0.55
83	E	1	0.00	0.00	0.00	0.86	0.55	-2.14	-0.92	-0.95	-0.27
84	S	1	0.00	0.01	0.06	2.12	1.19	0.09	-1.40	1.08	0.41
85	D	1	0.01	0.04	0.05	1.53	1.02	-1.34	-1.48	-0.32	0.47
86	P	1	0.01	0.02	0.16	2.18	1.28	-0.14	-1.69	0.64	0.91
87	N	1	0.00	0.00	0.00	0.50	0.33	-0.89	-0.71	-0.18	0.00
88	R	0	0.00	0.01	0.02	1.07	0.44	-0.99	-1.91	0.49	0.43
89	E	0	0.03	0.20	0.24	2.37	1.01	-2.14	-1.79	-0.97	0.61
90	Y	0	0.22	0.33	0.43	1.84	0.55	-0.69	-0.74	0.07	-0.02
91	T	0	0.03	0.09	0.14	1.85	0.80	0.07	0.12	0.17	-0.21
92	V	1	0.11	0.60	0.68	1.71	0.79	-0.52	-1.57	0.44	0.61
93	P	1	0.00	0.01	0.04	1.15	0.72	0.49	-0.01	0.10	0.41
94	Q	1	0.02	0.03	0.23	2.27	1.16	-0.17	-0.38	0.09	0.11
95	A	1	0.00	0.05	0.16	2.06	1.27	-0.66	-0.81	0.19	-0.04
96	C	1	0.02	0.05	0.10	1.88	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
97	G	1	0.01	0.04	0.18	2.13	1.30	2.44	1.82	0.80	-0.18
98	T	1	0.00	0.09	0.28	2.24	1.30	0.49	0.01	0.46	0.01
99	S	1	0.04	0.07	0.12	2.06	0.97	-2.15	-2.68	0.60	-0.07
100	T	0	0.03	0.34	0.41	2.10	1.00	-0.35	-0.37	0.20	-0.18
101	A	0	0.11	0.34	0.60	2.36	0.93	-0.81	-1.32	0.32	0.20
102	T	0	0.07	0.42	0.46	1.91	0.99	0.15	-0.13	0.22	0.06
103	V	0	0.08	0.47	0.50	2.32	1.09	-0.43	-1.13	0.20	0.50
104	T	0	0.04	0.07	0.11	2.39	1.06	-0.08	-0.53	0.36	0.09
105	D	0	0.00	0.01	0.05	1.63	0.89	-1.92	-1.68	-0.71	0.47
106	T	0	0.00	0.09	0.16	2.09	0.96	0.23	0.50	-0.02	-0.25
107	W	0	0.02	0.04	0.05	0.74	0.38	2.39	2.86	-0.14	-0.33
108	R	1	0.00	0.00	0.00	1.15	0.39	0.11	-0.23	0.27	0.07

10

20

30

40

【 0 6 2 2 】

【表 2 5 - 1】

表 6 B : (配列番号 6)

Pos.	AA	LoopI D	Leu L ike.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. E nt.	AAタ イプP os. En t.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	C	0	0.00	0.00	0.02	0.09	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
2	T	1	0.01	0.18	0.46	1.70	1.02	0.54	-0.81	1.18	0.16
3	T	1	0.04	0.09	0.36	1.73	1.01	0.56	0.34	0.43	-0.21
4	P	1	0.00	0.03	0.17	1.25	0.87	-1.32	-1.32	0.00	0.00
5	T	1	0.00	0.06	0.13	2.21	1.13	-0.56	-0.71	0.40	-0.25
6	A	0	0.01	0.08	0.27	2.36	1.23	-1.25	-1.85	0.28	0.31
7	V	0	0.08	0.84	0.87	1.15	0.49	0.14	-0.37	0.23	0.28
8	A	0	0.01	0.05	0.27	2.40	1.31	-0.94	-1.76	0.28	0.54
9	V	0	0.10	0.92	0.97	0.89	0.16	-0.37	-1.01	0.31	0.34
10	T	0	0.01	0.07	0.14	2.00	0.98	-0.11	-1.26	1.09	0.06
11	F	0	0.01	0.11	0.11	0.57	0.29	0.65	-0.61	0.89	0.37
12	D	0	0.02	0.13	0.17	2.51	1.16	-1.60	0.24	-1.71	-0.14
13	L	0	0.18	0.75	0.79	1.85	0.68	1.29	0.60	0.65	0.04
14	T	0	0.05	0.15	0.16	2.43	1.16	0.67	-0.51	0.94	0.24
15	A	1	0.01	0.18	0.58	2.01	0.98	3.59	1.96	0.81	0.82
16	T	1	0.02	0.04	0.08	2.18	0.97	-0.78	-0.70	0.13	-0.21
17	T	1	0.00	0.13	0.15	1.21	0.74	0.63	1.04	0.02	-0.42
18	T	1	0.00	0.16	0.29	2.45	1.04	-0.07	-1.41	1.12	0.22
19	Y	1	0.02	0.23	0.26	2.16	0.88	-0.33	-0.44	0.31	-0.21
20	G	1	0.00	0.02	0.03	0.48	0.35	-0.07	0.16	0.39	-0.61
21	E	1	0.00	0.01	0.01	1.27	0.75	5.35	7.70	-1.61	-0.74
22	N	0	0.01	0.08	0.12	2.26	0.90	0.25	0.58	-0.19	-0.14
23	I	0	0.30	0.87	0.91	1.47	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00
24	Y	0	0.01	0.09	0.22	1.93	0.83	1.17	1.48	0.05	-0.36
25	L	0	0.27	0.94	1.00	1.32	0.02	1.00	0.86	0.20	-0.06
26	V	0	0.06	0.55	0.61	1.56	0.87	-0.68	-1.20	0.19	0.33
27	G	0	0.00	0.00	0.00	0.04	0.03	8.18	7.23	0.91	0.04
28	S	0	0.00	0.00	0.01	1.27	0.60	0.61	-0.23	0.68	0.16
29	I	1	0.22	0.49	0.53	2.37	1.17	0.00	0.00	0.00	0.00
30	S	1	0.00	0.02	0.22	2.12	1.37	0.69	-0.62	1.05	0.26
31	Q	1	0.01	0.05	0.26	1.92	1.14	0.16	0.75	0.07	-0.66
32	L	1	0.02	0.92	0.97	0.50	0.06	-1.08	-0.79	-0.13	-0.16
33	G	1	0.00	0.00	0.02	0.30	0.23	-0.69	-2.05	1.01	0.35

10

20

30

40

【表 2 5 - 2】

34	D	1	0.00	0.04	0.09	1.89	0.96	0.25	0.51	-0.57	0.31
35	W	1	0.00	0.00	0.00	0.12	0.09	-0.80	-0.13	-0.08	-0.58
36	E	1	0.00	0.01	0.05	1.85	0.88	-2.21	-1.57	-0.66	0.02
37	T	1	0.03	0.14	0.21	1.67	1.13	-1.73	-1.51	0.21	-0.42
38	S	1	0.00	0.02	0.25	2.30	1.25	-0.51	-0.67	0.14	0.02
39	D	1	0.00	0.05	0.13	2.31	1.11	-2.65	-1.56	-1.12	0.03
40	G	1	0.00	0.01	0.64	1.30	0.90	11.76	11.54	0.33	-0.11
41	I	0	0.36	0.80	0.83	1.81	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00
42	A	0	0.02	0.08	0.30	2.31	1.33	0.13	-0.08	-0.02	0.22
43	L	0	0.00	0.67	0.85	1.21	0.49	5.71	5.61	0.16	-0.06
44	S	1	0.02	0.09	0.22	2.54	1.09	-1.84	-1.91	0.18	-0.10
45	A	1	0.00	0.01	0.24	2.27	1.09	7.52	6.85	0.33	0.34
46	D	1	0.01	0.06	0.18	2.23	1.13	-0.02	-0.27	0.05	0.20
47	K	1	0.01	0.03	0.11	2.41	1.19	-0.22	-0.71	0.47	0.02
48	Y	1	0.01	0.03	0.05	2.02	1.08	-0.48	-0.72	0.38	-0.13
49	T	1	0.00	0.05	0.10	1.54	0.89	0.29	-0.65	0.91	0.04
50	S	1	0.00	0.01	0.10	1.87	0.89	-0.76	-0.12	-0.04	-0.60
51	S	1	0.02	0.04	0.12	2.20	1.00	0.44	-0.75	1.50	-0.30
52	D	1	0.00	0.02	0.02	1.88	0.89	0.02	1.63	-1.77	0.16
53	P	1	0.01	0.03	0.06	1.70	1.04	1.19	-0.17	0.54	0.82
54	L	1	0.07	0.48	0.49	2.34	1.09	-0.95	-0.72	-0.10	-0.14
55	W	1	0.00	0.00	0.01	0.28	0.08	6.41	6.32	0.07	0.01
56	Y	0	0.03	0.09	0.10	2.31	1.01	-0.39	0.48	-0.14	-0.74
57	V	0	0.08	0.32	0.47	2.26	1.06	0.61	-0.11	0.39	0.33
58	T	0	0.00	0.04	0.06	1.69	0.92	-0.38	-0.38	0.42	-0.42
59	V	0	0.25	0.87	0.92	1.50	0.30	-0.97	-1.42	0.15	0.30
60	T	0	0.01	0.06	0.13	2.56	1.19	-0.30	-0.10	0.20	-0.40
61	L	0	0.08	0.94	0.96	1.11	0.12	-0.65	-0.42	-0.06	-0.18
62	P	0	0.00	0.01	0.08	1.11	0.80	-0.69	-1.01	0.12	0.21
63	A	1	0.03	0.12	0.66	1.87	1.00	3.16	2.03	0.64	0.49
64	G	1	0.00	0.01	0.06	1.52	1.07	14.26	13.70	0.48	0.08
65	E	1	0.01	0.08	0.12	2.30	1.10	-0.45	-0.45	-0.13	0.14
66	S	0	0.00	0.11	0.23	2.43	1.18	-0.02	-1.01	0.69	0.29
67	F	0	0.28	0.62	0.64	1.72	0.46	1.73	0.78	0.62	0.33
68	E	0	0.00	0.01	0.03	1.26	0.71	-1.65	-0.54	-1.03	-0.07
69	Y	0	0.00	0.01	0.01	0.95	0.10	1.16	1.19	0.22	-0.25
70	K	0	0.00	0.00	0.01	0.54	0.17	0.46	-0.09	1.65	-1.10
71	F	0	0.01	0.06	0.09	1.24	0.38	1.42	1.45	0.00	-0.03

10

20

30

40

【表 2 5 - 3】

72	I	0	0.36	0.77	0.80	1.72	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00
73	R	0	0.11	0.34	0.36	1.80	0.82	1.46	2.17	0.90	-1.61
74	I	0	0.07	0.33	0.37	2.12	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00
75	E	1	0.00	0.02	0.07	2.31	1.07	-2.45	-0.65	-1.31	-0.49
76	S	1	0.00	0.03	0.18	2.24	1.33	-0.63	-1.07	0.79	-0.35
77	D	1	0.01	0.01	0.07	2.26	1.19	-0.89	0.50	-1.06	-0.33
78	D	1	0.00	0.01	0.04	1.91	1.14	-2.33	-1.58	-0.68	-0.06
79	S	1	0.02	0.10	0.18	2.38	1.09	-0.01	-0.01	0.41	-0.41
80	V	0	0.15	0.72	0.80	1.81	0.67	-0.15	-1.41	0.64	0.62
81	E	0	0.09	0.24	0.27	2.39	1.15	-1.57	-0.83	-0.97	0.23
82	W	1	0.01	0.02	0.02	0.40	0.19	1.93	1.61	0.46	-0.14
83	E	1	0.00	0.00	0.00	0.86	0.55	-1.64	-0.40	-1.09	-0.14
84	S	1	0.00	0.01	0.06	2.12	1.19	0.00	-1.26	1.13	0.13
85	D	1	0.03	0.04	0.05	1.53	1.02	-1.89	-1.10	-0.78	-0.01
86	P	1	0.00	0.02	0.16	2.18	1.28	-0.47	-1.83	0.63	0.74
87	N	1	0.00	0.00	0.00	0.50	0.33	0.33	-0.24	0.45	0.12
88	R	0	0.00	0.01	0.02	1.07	0.44	-0.02	-1.26	0.99	0.25
89	E	0	0.06	0.20	0.24	2.37	1.01	-2.14	-1.80	-0.84	0.50
90	Y	0	0.05	0.33	0.43	1.84	0.55	0.94	0.18	0.65	0.11
91	T	0	0.01	0.09	0.14	1.85	0.80	-0.48	-0.42	0.08	-0.14
92	V	1	0.05	0.60	0.68	1.71	0.79	-0.40	-1.78	0.82	0.56
93	P	1	0.00	0.01	0.04	1.15	0.72	0.04	-0.65	0.38	0.32
94	Q	1	0.00	0.03	0.23	2.27	1.16	0.54	0.59	0.26	-0.31
95	A	1	0.03	0.05	0.16	2.06	1.27	-0.75	-0.48	0.02	-0.29
96	C	1	0.02	0.05	0.10	1.88	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
97	G	1	0.00	0.04	0.18	2.13	1.30	1.76	2.11	0.30	-0.66
98	T	1	0.02	0.09	0.28	2.24	1.30	0.25	-0.29	0.59	-0.05
99	S	1	0.02	0.07	0.12	2.06	0.97	-2.11	-2.33	0.38	-0.15
100	T	0	0.09	0.34	0.41	2.10	1.00	-0.36	-0.17	0.09	-0.28
101	A	0	0.06	0.34	0.60	2.36	0.93	-0.04	-1.24	0.65	0.55
102	T	0	0.06	0.42	0.46	1.91	0.99	-0.02	-0.14	0.30	-0.18
103	V	0	0.11	0.47	0.50	2.32	1.09	0.20	-0.94	0.63	0.51
104	T	0	0.00	0.07	0.11	2.39	1.06	-0.18	-0.26	0.30	-0.22
105	D	0	0.00	0.01	0.05	1.63	0.89	-2.60	-2.21	-0.66	0.27
106	T	0	0.01	0.09	0.16	2.09	0.96	-0.12	0.05	0.13	-0.30
107	W	0	0.00	0.04	0.05	0.74	0.38	4.21	3.98	0.58	-0.35
108	R	1	0.00	0.00	0.00	1.15	0.39	0.87	-0.45	1.17	0.16

10

20

30

40

【 0 6 2 3】

【表 2 6 - 1】

表 6 C : (配列番号 6)

Pos.	AA	LoopI D	Leu L ike.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. E nt.	AAタ イプP os. En t.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	C	0	0.00	0.00	0.02	0.09	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
2	T	1	0.16	0.18	0.46	1.70	1.02	0.04	-0.71	0.79	-0.04
3	T	1	0.06	0.09	0.36	1.73	1.01	1.03	-0.02	0.98	0.07
4	P	1	0.03	0.03	0.17	1.25	0.87	-1.11	-1.10	0.01	-0.02
5	T	1	0.04	0.06	0.13	2.21	1.13	-0.14	0.08	0.14	-0.36
6	A	0	0.02	0.08	0.27	2.36	1.23	-0.92	-1.12	0.14	0.06
7	V	0	0.73	0.84	0.87	1.15	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00
8	A	0	0.02	0.05	0.27	2.40	1.31	-0.50	-0.70	-0.03	0.24
9	V	0	0.76	0.92	0.97	0.89	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00
10	T	0	0.03	0.07	0.14	2.00	0.98	-0.45	-0.52	0.44	-0.37
11	F	0	0.07	0.11	0.11	0.57	0.29	1.78	0.93	0.73	0.12
12	D	0	0.10	0.13	0.17	2.51	1.16	-1.61	0.92	-2.20	-0.34
13	L	0	0.38	0.75	0.79	1.85	0.68	2.00	2.22	0.15	-0.37
14	T	0	0.04	0.15	0.16	2.43	1.16	0.05	-0.31	0.38	-0.02
15	A	1	0.16	0.18	0.58	2.01	0.98	5.11	3.88	0.67	0.56
16	T	1	0.03	0.04	0.08	2.18	0.97	0.34	0.33	0.21	-0.21
17	T	1	0.07	0.13	0.15	1.21	0.74	1.49	1.49	0.43	-0.43
18	T	1	0.10	0.16	0.29	2.45	1.04	-0.47	-0.45	0.17	-0.19
19	Y	1	0.04	0.23	0.26	2.16	0.88	-0.27	0.21	0.12	-0.60
20	G	1	0.02	0.02	0.03	0.48	0.35	0.09	0.35	0.34	-0.60
21	E	1	0.00	0.01	0.01	1.27	0.75	6.40	9.06	-1.66	-1.00
22	N	0	0.06	0.08	0.12	2.26	0.90	1.03	0.82	0.28	-0.06
23	I	0	0.38	0.87	0.91	1.47	0.16	1.49	1.46	0.12	-0.09
24	Y	0	0.04	0.09	0.22	1.93	0.83	2.30	2.98	-0.08	-0.60
25	L	0	0.33	0.94	1.00	1.32	0.02	1.80	2.21	-0.04	-0.36
26	V	0	0.44	0.55	0.61	1.56	0.87	0.00	0.00	0.00	0.00
27	G	0	0.00	0.00	0.00	0.04	0.03	8.87	8.45	0.64	-0.22
28	S	0	0.00	0.00	0.01	1.27	0.60	-0.44	-0.70	0.44	-0.18
29	I	1	0.24	0.49	0.53	2.37	1.17	0.79	0.86	0.04	-0.11
30	S	1	0.01	0.02	0.22	2.12	1.37	0.44	0.16	0.43	-0.14
31	Q	1	0.03	0.05	0.26	1.92	1.14	1.71	1.98	0.41	-0.68
32	L	1	0.00	0.92	0.97	0.50	0.06	1.88	1.16	0.73	-0.01
33	G	1	0.00	0.00	0.02	0.30	0.23	-0.94	-1.54	0.73	-0.12

10

20

30

40

【表 2 6 - 2】

34	D	1	0.00	0.04	0.09	1.89	0.96	0.63	1.28	-0.56	-0.09
35	W	1	0.00	0.00	0.00	0.12	0.09	-0.42	0.07	0.08	-0.57
36	E	1	0.01	0.01	0.05	1.85	0.88	-1.49	-0.53	-0.80	-0.16
37	T	1	0.07	0.14	0.21	1.67	1.13	-0.72	-0.36	0.23	-0.59
38	S	1	0.01	0.02	0.25	2.30	1.25	-0.41	-0.65	0.20	0.04
39	D	1	0.00	0.05	0.13	2.31	1.11	-1.92	-0.72	-1.16	-0.05
40	G	1	0.00	0.01	0.64	1.30	0.90	8.88	8.95	0.29	-0.36
41	I	0	0.27	0.80	0.83	1.81	0.58	1.10	1.59	-0.21	-0.27
42	A	0	0.01	0.08	0.30	2.31	1.33	0.60	0.52	0.06	0.02
43	L	0	0.04	0.67	0.85	1.21	0.49	6.46	6.48	0.22	-0.25
44	S	1	0.03	0.09	0.22	2.54	1.09	-1.16	-1.29	0.33	-0.20
45	A	1	0.00	0.01	0.24	2.27	1.09	6.68	5.23	0.93	0.51
46	D	1	0.03	0.06	0.18	2.23	1.13	0.51	0.26	0.16	0.08
47	K	1	0.01	0.03	0.11	2.41	1.19	0.08	0.22	0.12	-0.26
48	Y	1	0.02	0.03	0.05	2.02	1.08	-0.04	-0.10	0.12	-0.05
49	T	1	0.00	0.05	0.10	1.54	0.89	0.20	-0.09	0.41	-0.12
50	S	1	0.00	0.01	0.10	1.87	0.89	0.76	0.43	0.62	-0.29
51	S	1	0.01	0.04	0.12	2.20	1.00	1.01	-0.07	1.46	-0.37
52	D	1	0.00	0.02	0.02	1.88	0.89	0.64	1.93	-1.45	0.16
53	P	1	0.01	0.03	0.06	1.70	1.04	1.12	0.67	0.00	0.44
54	L	1	0.18	0.48	0.49	2.34	1.09	1.25	0.64	0.65	-0.04
55	W	1	0.00	0.00	0.01	0.28	0.08	9.50	10.64	-0.59	-0.55
56	Y	0	0.05	0.09	0.10	2.31	1.01	-0.89	0.13	-0.17	-0.84
57	V	0	0.19	0.32	0.47	2.26	1.06	0.00	0.00	0.00	0.00
58	T	0	0.03	0.04	0.06	1.69	0.92	0.08	0.18	0.42	-0.52
59	V	0	0.47	0.87	0.92	1.50	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00
60	T	0	0.04	0.06	0.13	2.56	1.19	0.42	0.41	0.39	-0.38
61	L	0	0.23	0.94	0.96	1.11	0.12	1.51	0.70	0.82	0.00
62	P	0	0.00	0.01	0.08	1.11	0.80	-0.08	-0.23	0.04	0.11
63	A	1	0.07	0.12	0.66	1.87	1.00	1.63	0.45	0.74	0.44
64	G	1	0.00	0.01	0.06	1.52	1.07	14.75	13.93	0.79	0.02
65	E	1	0.06	0.08	0.12	2.30	1.10	0.28	0.57	-0.25	-0.05
66	S	0	0.08	0.11	0.23	2.43	1.18	0.03	-0.45	0.37	0.10
67	F	0	0.21	0.62	0.64	1.72	0.46	2.33	2.64	-0.05	-0.26
68	E	0	0.00	0.01	0.03	1.26	0.71	-1.22	0.52	-1.44	-0.30
69	Y	0	0.00	0.01	0.01	0.95	0.10	1.79	2.50	-0.09	-0.62
70	K	0	0.00	0.00	0.01	0.54	0.17	-0.18	0.85	0.76	-1.79
71	F	0	0.01	0.06	0.09	1.24	0.38	2.74	2.74	0.14	-0.14

10

20

30

40

【表 2 6 - 3】

72	I	0	0.27	0.77	0.80	1.72	0.36	1.44	1.55	0.08	-0.20
73	R	0	0.11	0.34	0.36	1.80	0.82	2.95	3.91	0.94	-1.90
74	I	0	0.22	0.33	0.37	2.12	1.11	-0.17	0.67	-0.49	-0.35
75	E	1	0.01	0.02	0.07	2.31	1.07	-0.88	0.67	-1.00	-0.56
76	S	1	0.03	0.03	0.18	2.24	1.33	0.14	0.38	0.32	-0.57
77	D	1	0.00	0.01	0.07	2.26	1.19	-0.82	0.47	-1.05	-0.24
78	D	1	0.00	0.01	0.04	1.91	1.14	-1.73	-0.71	-0.80	-0.22
79	S	1	0.06	0.10	0.18	2.38	1.09	0.69	-0.08	0.85	-0.08
80	V	0	0.51	0.72	0.80	1.81	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00
81	E	0	0.12	0.24	0.27	2.39	1.15	-0.99	0.25	-1.03	-0.20
82	W	1	0.00	0.02	0.02	0.40	0.19	1.52	2.08	-0.07	-0.48
83	E	1	0.00	0.00	0.00	0.86	0.55	-0.19	0.44	-0.38	-0.25
84	S	1	0.00	0.01	0.06	2.12	1.19	-0.56	-0.80	0.48	-0.23
85	D	1	0.00	0.04	0.05	1.53	1.02	-1.67	-0.79	-0.79	-0.09
86	P	1	0.01	0.02	0.16	2.18	1.28	-0.37	-0.94	0.15	0.42
87	N	1	0.00	0.00	0.00	0.50	0.33	0.61	0.07	0.45	0.08
88	R	0	0.00	0.01	0.02	1.07	0.44	0.94	0.66	0.39	-0.12
89	E	0	0.10	0.20	0.24	2.37	1.01	-2.02	-1.10	-0.95	0.03
90	Y	0	0.06	0.33	0.43	1.84	0.55	0.92	1.19	0.10	-0.36
91	T	0	0.05	0.09	0.14	1.85	0.80	0.07	-0.17	0.34	-0.10
92	V	1	0.44	0.60	0.68	1.71	0.79	0.00	0.00	0.00	0.00
93	P	1	0.01	0.01	0.04	1.15	0.72	0.42	0.26	0.08	0.09
94	Q	1	0.01	0.03	0.23	2.27	1.16	0.63	0.61	0.22	-0.20
95	A	1	0.02	0.05	0.16	2.06	1.27	-0.54	-0.24	-0.01	-0.30
96	C	1	0.02	0.05	0.10	1.88	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
97	G	1	0.03	0.04	0.18	2.13	1.30	1.95	2.20	0.41	-0.66
98	T	1	0.07	0.09	0.28	2.24	1.30	0.38	0.16	0.35	-0.13
99	S	1	0.02	0.07	0.12	2.06	0.97	-1.27	-1.33	0.45	-0.39
100	T	0	0.22	0.34	0.41	2.10	1.00	0.47	0.48	0.17	-0.18
101	A	0	0.17	0.34	0.60	2.36	0.93	0.73	-0.38	0.69	0.42
102	T	0	0.28	0.42	0.46	1.91	0.99	0.48	0.30	0.36	-0.18
103	V	0	0.27	0.47	0.50	2.32	1.09	0.00	0.00	0.00	0.00
104	T	0	0.03	0.07	0.11	2.39	1.06	0.27	0.28	0.31	-0.33
105	D	0	0.01	0.01	0.05	1.63	0.89	-1.10	-0.48	-0.73	0.10
106	T	0	0.08	0.09	0.16	2.09	0.96	-0.04	0.27	0.05	-0.35
107	W	0	0.02	0.04	0.05	0.74	0.38	3.36	4.50	0.00	-1.14
108	R	1	0.00	0.00	0.00	1.15	0.39	0.16	0.15	0.36	-0.35

10

20

30

40

【 0 6 2 4】

【表 27-1】

表 6D: (配列番号 6)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプ Pos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	C	0	0.00	0.00	0.00	0.09	0.09	N/A	N/A	N/A	N/A
2	T	1	0.00	0.02	0.02	1.70	1.02	0.54	-0.81	1.18	0.16
3	T	1	0.01	0.01	0.01	1.73	1.01	0.56	0.34	0.43	-0.21
4	P	1	0.00	0.00	0.02	1.25	0.87	-1.32	-1.32	0.00	0.00
5	T	1	0.02	0.06	0.18	2.21	1.13	-0.56	-0.71	0.40	-0.25
6	A	0	0.03	0.08	0.12	2.36	1.23	-1.25	-1.85	0.28	0.31
7	V	0	0.00	0.02	0.03	1.15	0.49	0.14	-0.37	0.23	0.28
8	A	0	0.06	0.13	0.19	2.40	1.31	-0.94	-1.76	0.28	0.54
9	V	0	0.00	0.00	0.00	0.89	0.16	-0.37	-1.01	0.31	0.34
10	T	0	0.20	0.27	0.29	2.00	0.98	-0.11	-1.26	1.09	0.06
11	F	0	0.01	0.01	0.01	0.57	0.29	0.65	-0.61	0.89	0.37
12	D	0	0.09	0.22	0.29	2.51	1.16	-1.60	0.24	-1.71	-0.14
13	L	0	0.00	0.02	0.04	1.85	0.68	1.29	0.60	0.65	0.04
14	T	0	0.12	0.28	0.34	2.43	1.16	0.67	-0.51	0.94	0.24
15	A	1	0.03	0.12	0.23	2.01	0.98	3.59	1.96	0.81	0.82
16	T	1	0.05	0.14	0.19	2.18	0.97	-0.78	-0.70	0.13	-0.21
17	T	1	0.00	0.01	0.02	1.21	0.74	0.63	1.04	0.02	-0.42
18	T	1	0.01	0.07	0.08	2.45	1.04	-0.07	-1.41	1.12	0.22
19	Y	1	0.00	0.01	0.03	2.16	0.88	-0.33	-0.44	0.31	-0.21
20	G	1	0.00	0.01	0.93	0.48	0.35	-0.07	0.16	0.39	-0.61
21	E	1	0.00	0.02	0.02	1.27	0.75	5.35	7.70	-1.61	-0.74
22	N	0	0.05	0.12	0.17	2.26	0.90	0.25	0.58	-0.19	-0.14
23	I	0	0.00	0.01	0.02	1.47	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00
24	Y	0	0.05	0.15	0.20	1.93	0.83	1.17	1.48	0.05	-0.36
25	L	0	0.00	0.00	0.00	1.32	0.02	1.00	0.86	0.20	-0.06
26	V	0	0.00	0.00	0.00	1.56	0.87	-0.68	-1.20	0.19	0.33
27	G	0	0.00	0.00	0.99	0.04	0.03	8.18	7.23	0.91	0.04
28	S	0	0.00	0.00	0.03	1.27	0.60	0.61	-0.23	0.68	0.16
29	I	1	0.05	0.13	0.22	2.37	1.17	0.00	0.00	0.00	0.00
30	S	1	0.01	0.09	0.12	2.12	1.37	0.69	-0.62	1.05	0.26
31	Q	1	0.01	0.05	0.06	1.92	1.14	0.16	0.75	0.07	-0.66
32	L	1	0.00	0.00	0.00	0.50	0.06	-1.08	-0.79	-0.13	-0.16
33	G	1	0.00	0.01	0.95	0.30	0.23	-0.69	-2.05	1.01	0.35

10

20

30

40

【表 2 7 - 2】

34	D	1	0.03	0.06	0.11	1.89	0.96	0.25	0.51	-0.57	0.31
35	W	1	0.00	0.00	0.00	0.12	0.09	-0.80	-0.13	-0.08	-0.58
36	E	1	0.01	0.07	0.07	1.85	0.88	-2.21	-1.57	-0.66	0.02
37	T	1	0.01	0.02	0.03	1.67	1.13	-1.73	-1.51	0.21	-0.42
38	S	1	0.01	0.11	0.18	2.30	1.25	-0.51	-0.67	0.14	0.02
39	D	1	0.05	0.33	0.38	2.31	1.11	-2.65	-1.56	-1.12	0.03
40	G	1	0.00	0.02	0.23	1.30	0.90	11.76	11.54	0.33	-0.11
41	I	0	0.00	0.03	0.04	1.81	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00
42	A	0	0.07	0.20	0.33	2.31	1.33	0.13	-0.08	-0.02	0.22
43	L	0	0.00	0.01	0.01	1.21	0.49	5.71	5.61	0.16	-0.06
44	S	1	0.03	0.10	0.13	2.54	1.09	-1.84	-1.91	0.18	-0.10
45	A	1	0.02	0.04	0.05	2.27	1.09	7.52	6.85	0.33	0.34
46	D	1	0.01	0.02	0.06	2.23	1.13	-0.02	-0.27	0.05	0.20
47	K	1	0.01	0.16	0.24	2.41	1.19	-0.22	-0.71	0.47	0.02
48	Y	1	0.01	0.04	0.28	2.02	1.08	-0.48	-0.72	0.38	-0.13
49	T	1	0.01	0.02	0.11	1.54	0.89	0.29	-0.65	0.91	0.04
50	S	1	0.00	0.00	0.08	1.87	0.89	-0.76	-0.12	-0.04	-0.60
51	S	1	0.01	0.03	0.08	2.20	1.00	0.44	-0.75	1.50	-0.30
52	D	1	0.01	0.03	0.07	1.88	0.89	0.02	1.63	-1.77	0.16
53	P	1	0.01	0.08	0.25	1.70	1.04	1.19	-0.17	0.54	0.82
54	L	1	0.01	0.04	0.08	2.34	1.09	-0.95	-0.72	-0.10	-0.14
55	W	1	0.00	0.00	0.01	0.28	0.08	6.41	6.32	0.07	0.01
56	Y	0	0.07	0.22	0.24	2.31	1.01	-0.39	0.48	-0.14	-0.74
57	V	0	0.02	0.04	0.20	2.26	1.06	0.61	-0.11	0.39	0.33
58	T	0	0.01	0.04	0.04	1.69	0.92	-0.38	-0.38	0.42	-0.42
59	V	0	0.00	0.02	0.02	1.50	0.30	-0.97	-1.42	0.15	0.30
60	T	0	0.04	0.10	0.13	2.56	1.19	-0.30	-0.10	0.20	-0.40
61	L	0	0.00	0.00	0.00	1.11	0.12	-0.65	-0.42	-0.06	-0.18
62	P	0	0.01	0.02	0.03	1.11	0.80	-0.69	-1.01	0.12	0.21
63	A	1	0.05	0.09	0.13	1.87	1.00	3.16	2.03	0.64	0.49
64	G	1	0.00	0.02	0.62	1.52	1.07	14.26	13.70	0.48	0.08
65	E	1	0.04	0.20	0.26	2.30	1.10	-0.45	-0.45	-0.13	0.14
66	S	0	0.03	0.08	0.11	2.43	1.18	-0.02	-1.01	0.69	0.29
67	F	0	0.00	0.01	0.02	1.72	0.46	1.73	0.78	0.62	0.33
68	E	0	0.01	0.05	0.06	1.26	0.71	-1.65	-0.54	-1.03	-0.07
69	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.95	0.10	1.16	1.19	0.22	-0.25
70	K	0	0.08	0.96	0.96	0.54	0.17	0.46	-0.09	1.65	-1.10
71	F	0	0.00	0.00	0.01	1.24	0.38	1.42	1.45	0.00	-0.03

10

20

30

40

【表 2 7 - 3】

72	I	0	0.00	0.01	0.02	1.72	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00
73	R	0	0.26	0.59	0.59	1.80	0.82	1.46	2.17	0.90	-1.61
74	I	0	0.05	0.41	0.43	2.12	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00
75	E	1	0.05	0.11	0.16	2.31	1.07	-2.45	-0.65	-1.31	-0.49
76	S	1	0.02	0.04	0.25	2.24	1.33	-0.63	-1.07	0.79	-0.35
77	D	1	0.02	0.06	0.17	2.26	1.19	-0.89	0.50	-1.06	-0.33
78	D	1	0.03	0.15	0.62	1.91	1.14	-2.33	-1.58	-0.68	-0.06
79	S	1	0.02	0.09	0.15	2.38	1.09	-0.01	-0.01	0.41	-0.41
80	V	0	0.00	0.04	0.05	1.81	0.67	-0.15	-1.41	0.64	0.62
81	E	0	0.09	0.14	0.17	2.39	1.15	-1.57	-0.83	-0.97	0.23
82	W	1	0.00	0.02	0.02	0.40	0.19	1.93	1.61	0.46	-0.14
83	E	1	0.01	0.02	0.03	0.86	0.55	-1.64	-0.40	-1.09	-0.14
84	S	1	0.00	0.04	0.20	2.12	1.19	0.00	-1.26	1.13	0.13
85	D	1	0.00	0.01	0.57	1.53	1.02	-1.89	-1.10	-0.78	-0.01
86	P	1	0.02	0.04	0.15	2.18	1.28	-0.47	-1.83	0.63	0.74
87	N	1	0.02	0.04	0.04	0.50	0.33	0.33	-0.24	0.45	0.12
88	R	0	0.72	0.86	1.00	1.07	0.44	-0.02	-1.26	0.99	0.25
89	E	0	0.02	0.09	0.10	2.37	1.01	-2.14	-1.80	-0.84	0.50
90	Y	0	0.00	0.01	0.02	1.84	0.55	0.94	0.18	0.65	0.11
91	T	0	0.02	0.07	0.08	1.85	0.80	-0.48	-0.42	0.08	-0.14
92	V	1	0.00	0.00	0.01	1.71	0.79	-0.40	-1.78	0.82	0.56
93	P	1	0.01	0.03	0.08	1.15	0.72	0.04	-0.65	0.38	0.32
94	Q	1	0.03	0.12	0.13	2.27	1.16	0.54	0.59	0.26	-0.31
95	A	1	0.00	0.03	0.23	2.06	1.27	-0.75	-0.48	0.02	-0.29
96	C	1	0.01	0.05	0.43	1.88	0.94	N/A	N/A	N/A	N/A
97	G	1	0.03	0.09	0.36	2.13	1.30	1.76	2.11	0.30	-0.66
98	T	1	0.00	0.01	0.23	2.24	1.30	0.25	-0.29	0.59	-0.05
99	S	1	0.00	0.06	0.11	2.06	0.97	-2.11	-2.33	0.38	-0.15
100	T	0	0.02	0.04	0.06	2.10	1.00	-0.36	-0.17	0.09	-0.28
101	A	0	0.01	0.04	0.06	2.36	0.93	-0.04	-1.24	0.65	0.55
102	T	0	0.03	0.04	0.04	1.91	0.99	-0.02	-0.14	0.30	-0.18
103	V	0	0.02	0.07	0.10	2.32	1.09	0.20	-0.94	0.63	0.51
104	T	0	0.03	0.04	0.08	2.39	1.06	-0.18	-0.26	0.30	-0.22
105	D	0	0.02	0.03	0.05	1.63	0.89	-2.60	-2.21	-0.66	0.27
106	T	0	0.03	0.05	0.05	2.09	0.96	-0.12	0.05	0.13	-0.30
107	W	0	0.01	0.01	0.01	0.74	0.38	4.21	3.98	0.58	-0.35
108	R	1	0.67	0.83	0.85	1.15	0.39	0.87	-0.45	1.17	0.16

10

20

30

40

【 0 6 2 5 】

【表 28-1】

表 7 : (配列番号 7)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプPos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	P	1	0.00	0.00	0.04	0.59	0.16	0.20	-0.70	-0.02	0.92
2	A	1	0.06	0.06	0.75	1.12	0.74	-0.78	-0.85	-0.05	0.12
3	G	0	0.00	0.00	0.02	0.51	0.42	0.12	0.56	-0.34	-0.10
4	G	0	0.00	0.02	0.03	0.89	0.34	-1.34	-0.59	-0.10	-0.66
5	G	0	0.00	0.03	0.11	1.16	0.93	1.14	0.60	0.48	0.05
6	A	1	0.18	0.27	0.33	1.96	1.30	-1.52	-1.94	-0.04	0.46
7	G	0	0.00	0.00	0.01	0.57	0.39	4.64	4.46	0.03	0.15
8	G	0	0.04	0.05	0.05	0.70	0.42	17.66	17.48	0.10	0.07
9	N	0	0.03	0.05	0.10	1.85	1.15	-0.47	-0.25	-0.15	-0.07
10	P	0	0.01	0.08	0.22	1.63	1.19	-1.18	-1.89	-0.03	0.74
11	R	0	0.00	0.02	0.19	2.08	1.10	-1.11	-0.01	-1.12	0.01
12	L	0	0.80	0.85	0.88	0.91	0.47	0.00	0.00	0.00	0.00
13	Y	0	0.02	0.03	0.08	1.97	0.70	-0.02	0.36	-0.02	-0.36
14	D	0	0.01	0.02	0.02	1.44	0.67	-0.07	-0.51	0.33	0.10
15	E	0	0.00	0.10	0.11	2.28	1.23	-0.23	0.30	-0.10	-0.42
16	L	0	0.08	0.37	0.49	2.45	1.09	0.00	0.00	0.00	0.00
17	I	0	0.27	0.76	0.85	1.77	0.27	-1.10	-1.17	-0.15	0.22
18	R	0	0.00	0.04	0.08	2.28	0.95	-0.99	0.75	-1.14	-0.60
19	V	0	0.06	0.84	0.96	1.06	0.08	0.39	0.10	-0.13	0.42
20	S	0	0.01	0.01	0.05	1.69	0.71	-0.78	-1.45	0.29	0.37
21	V	0	0.04	0.49	0.60	1.60	0.59	-0.45	-0.86	0.00	0.41
22	T	0	0.00	0.04	0.06	2.07	0.94	-0.29	-0.43	0.12	0.02
23	I	0	0.10	1.00	1.00	0.82	0.01	0.53	0.47	-0.15	0.20
24	K	1	0.00	0.02	0.08	1.76	0.92	-1.14	-0.30	-1.06	0.23
25	N	1	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	-1.21	-1.10	-0.14	0.03
26	T	1	0.00	0.08	0.11	1.15	0.55	-0.37	-0.55	-0.02	0.21
27	G	1	0.00	0.01	0.01	0.26	0.22	-0.88	-0.32	-0.15	-0.42
28	K	1	0.00	0.01	0.09	2.26	1.27	-1.00	-0.35	-0.69	0.04
29	V	1	0.05	0.44	0.49	1.80	0.88	-0.39	-0.30	-0.32	0.23
30	A	1	0.00	0.02	0.51	1.85	1.12	-0.59	-0.49	-0.21	0.11
31	G	1	0.00	0.00	0.07	0.31	0.31	-0.04	0.68	-0.16	-0.55
32	D	0	0.00	0.01	0.28	2.12	1.07	0.38	0.46	-0.36	0.27
33	E	0	0.00	0.01	0.07	0.84	0.48	-0.96	0.02	-0.40	-0.58
34	V	0	0.01	0.90	0.93	0.81	0.27	0.66	0.29	-0.19	0.56
35	P	0	0.01	0.50	0.81	1.27	0.56	3.04	2.23	-0.04	0.85

10

20

30

40

【表 28-2】

36	Q	0	0.00	0.00	0.00	0.11	0.10	-0.81	0.13	-0.06	-0.88
37	L	0	0.69	0.94	0.98	0.94	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
38	Y	0	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.50	0.97	-0.16	-0.31
39	V	0	0.22	0.91	0.95	1.41	0.20	1.09	0.58	-0.06	0.57
40	S	0	0.00	0.01	0.10	2.18	1.29	-1.28	-1.34	0.11	-0.05
41	L	0	0.06	0.13	0.25	2.34	1.17	0.00	0.00	0.00	0.00
42	G	1	0.00	0.00	0.00	0.69	0.00	-1.56	-1.95	-0.17	0.56
43	G	1	0.00	0.00	0.50	0.69	0.69	1.90	2.57	-0.35	-0.32
44	P	1	0.04	0.15	0.17	2.01	1.23	-0.02	-0.80	0.01	0.77
45	N	1	0.00	0.02	0.05	2.24	1.10	-0.66	-0.41	-0.32	0.07
46	E	1	0.01	0.02	0.05	1.90	0.90	-2.77	-0.78	-1.36	-0.62
47	P	1	0.00	0.00	0.06	0.69	0.46	-0.75	-1.11	-0.07	0.43
48	K	1	0.06	0.42	0.51	2.25	1.14	-1.29	-0.68	-0.75	0.14
49	I	0	0.06	0.10	0.11	1.37	0.59	0.54	0.29	-0.05	0.30
50	V	0	0.00	0.10	0.14	1.59	0.91	-1.31	-1.81	-0.08	0.57
51	L	0	0.99	0.99	1.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
52	R	0	0.02	0.09	0.14	1.25	0.48	2.33	3.78	-0.40	-1.05
53	Q	0	0.00	0.00	0.18	1.16	0.97	-0.58	0.29	-0.33	-0.54
54	F	0	0.00	0.00	0.00	0.49	0.10	-0.52	-0.40	-0.24	0.12
55	E	0	0.00	0.03	0.17	2.22	1.08	0.46	2.63	-1.42	-0.76
56	R	0	0.00	0.00	0.01	0.90	0.22	0.28	0.75	-0.18	-0.28
57	I	0	0.04	0.88	0.89	1.10	0.36	0.44	0.28	-0.07	0.24
58	T	1	0.04	0.08	0.17	2.70	1.14	-0.24	-0.23	-0.03	0.01
59	L	1	0.40	0.48	0.52	2.23	1.08	0.00	0.00	0.00	0.00
60	Q	1	0.81	0.89	0.92	0.89	0.37	-0.02	0.23	-0.17	-0.09
61	P	1	0.01	0.03	0.22	2.17	1.26	-0.05	-0.41	-0.04	0.41
62	S	1	0.00	0.02	0.17	1.11	0.71	-0.58	-0.29	-0.21	-0.08
63	K	1	0.00	0.00	0.01	0.51	0.38	-0.90	0.47	-1.02	-0.35
64	E	1	0.00	0.00	0.07	1.08	0.73	-0.56	-0.09	-0.72	0.25
65	T	0	0.00	0.07	0.20	2.06	1.35	-1.52	-1.57	0.19	-0.15
66	Q	0	0.01	0.07	0.10	2.12	1.01	1.31	2.79	-0.44	-1.04
67	W	0	0.10	0.93	0.99	0.94	0.04	0.34	0.54	-0.17	-0.03
68	S	0	0.00	0.10	0.12	2.10	0.97	0.43	-0.12	0.63	-0.08
69	T	0	0.17	0.45	0.51	1.44	0.38	-0.37	-0.55	0.20	-0.02
70	T	0	0.01	0.07	0.13	2.33	1.19	-2.09	-2.06	-0.02	-0.01
71	L	0	0.62	0.94	0.96	1.13	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
72	T	0	0.01	0.02	0.07	2.29	1.19	-1.50	-1.62	0.34	-0.22
73	R	0	0.03	0.11	0.18	2.21	1.07	1.37	2.15	0.36	-1.15
74	R	0	0.00	0.01	0.05	1.74	0.52	-0.28	0.25	-0.52	-0.02
75	D	0	0.03	0.04	0.29	1.70	1.05	-1.45	-1.31	-0.32	0.19

10

20

30

40

【表 2 8 - 3】

76	L	0	0.67	0.71	0.74	1.06	0.35	0.00	0.00	0.00	0.00
77	A	0	0.00	0.02	0.41	1.60	1.12	0.59	0.10	-0.18	0.66
78	N	0	0.05	0.22	0.23	2.05	0.81	-1.56	-1.03	-0.56	0.03
79	W	0	0.02	0.03	0.04	1.25	0.22	0.43	0.93	-0.35	-0.16
80	N	0	0.00	0.02	0.04	1.39	0.83	-0.88	-0.85	-0.12	0.09
81	V	1	0.01	0.31	0.40	2.26	1.26	-0.42	-0.56	-0.06	0.19
82	E	1	0.01	0.10	0.24	2.48	1.18	-0.82	-0.31	-0.66	0.15
83	T	1	0.08	0.14	0.32	2.61	1.21	-0.47	-1.04	0.62	-0.05
84	Q	1	0.00	0.02	0.08	2.23	1.12	-1.37	-1.41	-0.06	0.10
85	D	0	0.00	0.01	0.09	2.44	1.17	-1.11	0.02	-1.26	0.13
86	W	0	0.01	0.01	0.03	0.74	0.24	0.23	0.50	-0.26	0.00
87	E	0	0.04	0.41	0.46	2.42	1.09	-0.44	1.01	-0.77	-0.68
88	I	0	0.11	0.73	0.87	1.75	0.43	-0.07	-0.07	-0.23	0.22
89	T	0	0.01	0.06	0.13	1.85	1.11	-1.28	-1.01	-0.16	-0.11
90	S	0	0.00	0.03	0.22	2.08	1.33	-0.84	-0.51	0.06	-0.38
91	Y	0	0.00	0.01	0.01	0.43	0.33	-0.78	-0.83	-0.11	0.15
92	P	0	0.01	0.03	0.11	2.33	1.08	0.37	-0.40	0.04	0.73
93	K	0	0.02	0.07	0.08	1.35	0.47	0.74	1.72	0.15	-1.14
94	M	0	0.02	0.05	0.10	2.32	1.15	-1.31	-0.99	-0.22	-0.10
95	V	0	0.16	0.89	0.94	1.37	0.07	-1.80	-2.19	-0.09	0.47
96	F	0	0.23	0.26	0.45	2.44	0.98	-0.22	0.09	-0.16	-0.15
97	A	0	0.08	0.90	0.98	1.15	0.05	-2.11	-2.45	-0.18	0.52
98	G	0	0.00	0.00	0.04	0.25	0.21	1.34	0.97	0.12	0.25
99	S	0	0.00	0.01	0.37	2.06	1.26	-2.33	-2.14	0.06	-0.25
100	S	1	0.00	0.00	0.03	0.58	0.40	-0.78	-0.67	0.12	-0.23
101	S	0	0.00	0.06	0.13	0.57	0.42	-0.96	-0.92	-0.03	-0.01
102	R	0	0.02	0.03	0.13	1.77	0.80	-0.24	1.26	-0.65	-0.84
103	K	0	0.00	0.00	0.03	1.17	0.57	-0.08	0.65	-0.45	-0.28
104	L	0	0.31	0.92	0.94	1.24	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00
105	P	0	0.02	0.09	0.14	1.94	1.09	-0.67	-0.98	-0.06	0.38
106	L	0	0.84	0.87	0.93	0.77	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00
107	R	0	0.00	0.03	0.08	2.35	0.98	0.51	0.34	0.24	-0.07
108	A	0	0.02	0.05	0.32	2.01	1.31	-0.89	-1.48	-0.06	0.65
109	S	0	0.00	0.02	0.07	2.18	1.02	-0.83	-1.04	0.33	-0.12
110	L	0	0.31	0.68	0.72	1.61	0.35	0.00	0.00	0.00	0.00
111	P	0	0.01	0.24	0.36	2.35	1.31	-0.22	-0.60	-0.04	0.42
112	T	0	0.18	0.49	0.55	1.83	0.83	0.23	-0.55	0.90	-0.12
113	V	1	0.38	0.76	0.78	1.75	0.75	-1.16	-1.57	-0.03	0.43
114	H	1	0.06	0.09	0.24	1.51	0.87	-0.28	-0.14	-0.17	0.04

10

20

30

40

【表 29-1】

表 8 : (配列番号 8)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプ Pos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	S	1	0.00	0.00	0.00	1.15	0.64	-0.91	-0.95	0.03	0.00
2	N	1	0.00	0.00	0.00	1.08	0.29	-0.14	0.20	-0.28	-0.06
3	G	1	0.00	0.00	0.15	1.18	1.07	10.47	10.41	0.21	-0.15
4	N	1	0.08	0.08	0.08	1.84	1.03	-1.45	-0.88	-0.62	0.04
5	G	1	0.00	0.00	0.15	1.20	1.20	0.21	0.20	0.19	-0.18
6	N	1	0.00	0.00	0.05	1.69	0.95	0.56	0.87	-0.26	-0.05
7	V	1	0.29	0.84	0.94	1.44	0.17	2.34	2.19	-0.19	0.33
8	C	0	0.00	0.00	0.00	0.24	0.24	N/A	N/A	N/A	N/A
9	P	1	0.00	0.05	0.08	0.58	0.54	0.49	-0.13	-0.05	0.67
10	P	1	0.00	0.00	0.18	2.09	1.23	0.89	0.43	0.25	0.22
11	G	1	0.02	0.02	0.02	0.26	0.17	1.70	1.73	0.49	-0.52
12	L	1	0.84	0.91	0.94	0.72	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00
13	F	1	0.06	0.07	0.10	1.58	0.71	1.09	1.27	-0.09	-0.09
14	S	1	0.00	0.00	0.04	1.53	1.10	-1.05	-0.90	0.26	-0.40
15	N	0	0.00	0.00	0.00	1.11	0.07	0.08	0.66	-0.51	-0.07
16	P	0	0.01	0.04	0.20	0.86	0.69	3.52	2.48	0.23	0.81
17	Q	0	0.16	0.21	0.22	0.94	0.68	2.83	3.63	0.15	-0.95
18	C	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.08	N/A	N/A	N/A	N/A
19	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
20	A	0	0.00	0.01	0.53	1.48	1.08	-0.61	-1.50	0.43	0.46
21	T	0	0.03	0.18	0.24	0.94	0.62	-1.56	-1.34	-0.04	-0.18
22	Q	0	0.03	0.04	0.05	1.35	0.92	0.05	1.28	-0.20	-1.04
23	V	0	0.04	1.00	1.00	0.72	0.00	0.17	0.14	-0.21	0.24
24	L	0	0.94	0.96	0.99	0.32	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
25	G	0	0.00	0.00	0.00	0.59	0.56	-0.35	0.48	-0.12	-0.71
26	L	0	0.37	0.95	0.99	1.12	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
27	I	0	0.06	0.31	1.00	0.93	0.00	-0.61	-0.53	-0.15	0.07
28	G	0	0.00	0.03	0.10	1.70	1.27	18.96	19.12	-0.07	-0.09
29	L	0	0.90	0.95	0.95	0.46	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00
30	D	0	0.00	0.00	0.00	0.73	0.52	-1.42	-0.94	-0.36	-0.12
31	C	0	0.00	0.00	0.00	0.12	0.12	N/A	N/A	N/A	N/A
32	K	0	0.00	0.09	0.32	2.20	1.24	-0.50	-1.26	0.23	0.53
33	V	1	0.00	0.16	0.23	2.10	1.12	-0.80	-1.22	-0.13	0.55
34	P	1	0.00	0.04	0.05	0.24	0.21	1.60	0.48	0.28	0.84
35	S	1	0.00	0.00	0.08	1.73	1.18	0.02	-1.17	0.43	0.76

10

20

30

40

【表 2 9 - 2】

36	Q	1	0.00	0.12	0.26	2.25	1.19	-0.73	-0.17	-0.05	-0.50
37	N	1	0.04	0.25	0.45	1.97	1.11	-2.87	-2.50	-0.27	-0.11
38	V	1	0.09	0.32	0.32	1.34	0.90	3.52	3.29	-0.09	0.32
39	Y	1	0.04	0.09	0.20	2.15	0.94	-0.17	0.43	-0.27	-0.33
40	D	1	0.00	0.01	0.04	1.63	0.91	-0.68	-0.38	-0.37	0.07
41	G	0	0.04	0.19	0.45	1.94	1.03	9.06	8.86	0.24	-0.03
42	T	0	0.01	0.05	0.22	2.27	1.19	0.10	-0.35	0.39	0.06
43	D	0	0.00	0.05	0.13	2.14	1.07	-2.03	-1.47	-0.83	0.28
44	F	0	0.09	0.09	0.12	0.49	0.31	1.71	1.72	-0.13	0.11
45	R	0	0.00	0.08	0.08	1.95	1.07	-0.75	-0.53	-0.02	-0.20
46	N	0	0.00	0.00	0.35	1.88	1.13	-0.83	-0.73	-0.17	0.07
47	V	0	0.00	0.50	0.54	2.04	1.09	0.84	0.50	0.13	0.21
48	C	0	0.00	0.00	0.01	0.07	0.07	N/A	N/A	N/A	N/A
49	A	0	0.00	0.03	0.84	0.85	0.60	-1.37	-1.83	-0.21	0.68
50	K	0	0.00	0.00	0.34	1.90	1.08	-0.78	0.29	-0.48	-0.58
51	T	0	0.03	0.38	0.42	2.07	1.30	-0.44	-1.38	0.38	0.56
52	G	0	0.00	0.00	0.00	0.12	0.12	-0.17	0.66	-0.10	-0.73
53	A	0	0.10	0.10	0.17	1.86	1.09	0.34	0.04	-0.22	0.51
54	Q	0	0.00	0.03	0.04	1.81	0.83	0.02	0.17	-0.27	0.12
55	P	0	0.00	0.00	0.62	0.85	0.81	1.20	0.55	-0.06	0.70
56	L	0	0.17	0.19	0.25	1.74	0.91	0.00	0.00	0.00	0.00
57	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
58	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
59	V	1	0.10	0.62	0.72	1.54	0.68	-0.08	-0.35	-0.11	0.38
60	A	1	0.56	0.81	0.96	1.29	0.19	-1.57	-1.48	-0.13	0.05
61	P	1	0.00	0.00	0.01	0.72	0.49	0.16	-0.59	0.17	0.58
62	V	1	0.20	0.91	0.99	1.30	0.07	-0.25	-0.22	-0.17	0.14
63	A	1	0.47	0.50	0.92	1.12	0.27	-0.52	-1.06	0.15	0.39
64	G	0	0.00	0.00	0.01	1.00	0.77	-1.59	-1.59	0.21	-0.21
65	Q	0	0.26	0.33	0.33	1.02	0.78	0.38	0.37	0.00	0.01
66	A	0	0.00	0.00	0.51	1.10	1.04	-0.53	-0.98	0.24	0.20
67	L	0	0.57	0.97	0.99	1.08	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
68	L	0	0.68	0.95	0.96	1.01	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
69	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
70	Q	0	0.00	0.00	0.01	1.49	0.47	-0.24	0.26	0.11	-0.62
71	T	0	0.02	0.03	0.11	1.95	1.08	-1.02	-1.23	0.28	-0.07
72	A	1	0.00	0.05	0.35	0.87	0.72	2.21	1.60	0.11	0.50
73	V	1	0.05	0.69	0.86	1.64	0.48	0.00	-0.45	0.16	0.29
74	G	1	0.00	0.00	0.00	0.19	0.19	-2.54	-2.78	0.03	0.20
75	A	1	0.00	0.00	0.90	0.33	0.33	-1.22	-1.21	-0.13	0.12

【 0 6 2 7 】

【表 30-1】

表9：(配列番号9)

Pos.	AA	Loop ID	Leu Like.	BCAA Like.	Hydro. Like.	Pos. Ent.	AAタイプPos. Ent.	$\Delta \Delta G_f$ old 合計	$\Delta \Delta G_f$ old VD W	$\Delta \Delta G_f$ old Elec .	$\Delta \Delta G_f$ old Ent.
1	A	1	0.00	0.00	0.59	0.68	0.68	-1.69	-1.86	-0.07	0.24
2	V	1	0.31	0.97	0.97	1.13	0.03	3.17	2.89	-0.05	0.34
3	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
4	P	1	0.00	0.00	0.03	0.58	0.52	0.27	-0.23	-0.02	0.52
5	T	1	0.00	0.02	0.11	1.65	0.82	-0.04	0.02	-0.09	0.03
6	G	1	0.00	0.00	0.00	0.24	0.14	2.03	2.62	0.04	-0.62
7	L	1	0.78	0.86	0.89	0.92	0.41	0.00	0.00	0.00	0.00
8	F	1	0.27	0.28	0.34	1.62	0.72	0.80	0.86	0.07	-0.14
9	S	1	0.05	0.06	0.09	1.86	1.05	-1.30	-1.17	0.25	-0.37
10	N	0	0.00	0.00	0.02	1.47	0.88	0.67	1.17	-0.42	-0.08
11	P	0	0.01	0.04	0.21	0.89	0.71	0.47	-0.34	0.09	0.73
12	L	0	0.19	0.24	0.25	0.95	0.68	0.00	0.00	0.00	0.00
13	C	0	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	N/A	N/A	N/A	N/A
14	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
15	A	0	0.00	0.01	0.54	1.47	1.08	-0.76	-1.65	0.15	0.74
16	T	0	0.03	0.17	0.24	0.87	0.55	-1.59	-1.11	-0.18	-0.29
17	N	0	0.03	0.04	0.05	1.38	0.96	1.12	1.38	-0.32	0.05
18	V	0	0.05	1.00	1.00	0.75	0.00	-0.83	-1.19	0.06	0.30
19	L	0	0.92	0.95	0.99	0.37	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
20	D	0	0.00	0.00	0.00	0.63	0.60	-0.71	-0.50	-0.31	0.10
21	L	0	0.37	0.96	1.00	1.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22	I	0	0.07	0.32	1.00	0.94	0.00	-0.79	-0.94	0.08	0.08
23	G	0	0.00	0.03	0.08	1.65	1.25	13.50	13.64	-0.09	-0.05
24	V	0	0.89	0.96	0.96	0.43	0.19	-0.91	-0.96	-0.23	0.28
25	D	1	0.00	0.00	0.01	0.75	0.57	-0.69	-0.46	-0.26	0.02
26	C	0	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	N/A	N/A	N/A	N/A
27	K	1	0.00	0.08	0.32	2.16	1.25	-0.46	-0.20	-0.13	-0.13
28	T	1	0.00	0.15	0.21	2.05	1.08	-1.38	-1.37	-0.05	0.05
29	P	1	0.00	0.03	0.05	0.25	0.21	2.17	1.42	-0.02	0.77
30	T	1	0.00	0.03	0.11	1.90	1.25	-0.42	-0.83	0.28	0.13
31	I	1	0.00	0.14	0.28	2.28	1.23	0.00	0.26	-0.09	-0.17
32	A	1	0.04	0.26	0.47	1.88	1.05	-0.91	-0.93	0.03	-0.01
33	V	1	0.09	0.32	0.32	1.48	0.97	3.14	3.03	-0.14	0.26

10

20

30

40

【表 3 0 - 2】

34	D	1	0.04	0.08	0.17	2.14	0.93	-0.91	-0.48	-0.41	-0.02
35	T	1	0.00	0.01	0.04	1.62	0.91	-0.69	-0.79	0.17	-0.07
36	G	0	0.05	0.21	0.48	2.03	1.08	-1.99	-1.78	0.05	-0.25
37	A	0	0.01	0.05	0.23	2.25	1.16	-1.25	-1.35	-0.08	0.19
38	I	0	0.00	0.07	0.16	2.17	1.12	-0.15	-0.14	-0.13	0.13
39	F	0	0.08	0.08	0.11	0.40	0.24	1.19	1.19	-0.13	0.13
40	Q	0	0.00	0.08	0.09	1.91	1.04	0.07	0.62	0.08	-0.63
41	A	0	0.00	0.00	0.37	1.80	1.14	-1.21	-1.48	0.04	0.23
42	H	0	0.00	0.48	0.52	2.09	1.10	1.18	1.57	0.05	-0.45
43	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
44	A	0	0.00	0.14	0.84	1.11	0.58	-1.43	-1.95	0.08	0.44
45	S	0	0.01	0.01	0.49	1.77	1.09	-1.13	-1.24	0.10	0.01
46	K	0	0.01	0.34	0.36	2.28	1.27	-1.06	0.64	-0.42	-1.27
47	G	0	0.00	0.00	0.00	0.14	0.08	-0.98	-0.36	0.07	-0.70
48	S	0	0.05	0.05	0.11	1.86	0.94	-0.72	-0.72	0.24	-0.23
49	K	0	0.00	0.04	0.06	1.94	0.88	-0.85	0.04	-0.35	-0.55
50	P	0	0.00	0.00	0.63	0.85	0.81	6.60	5.50	0.30	0.80
51	L	0	0.17	0.20	0.25	1.71	0.90	0.00	0.00	0.00	0.00
52	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
53	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
54	V	1	0.11	0.63	0.73	1.55	0.66	0.39	0.12	-0.10	0.37
55	A	1	0.57	0.83	0.99	1.19	0.07	-1.35	-1.36	-0.08	0.09
56	P	1	0.00	0.00	0.03	0.69	0.49	-0.28	-0.64	-0.05	0.41
57	V	1	0.21	0.90	0.97	1.35	0.14	-0.37	-0.30	-0.13	0.06
58	A	1	0.48	0.51	0.89	1.17	0.39	-0.78	-1.22	-0.07	0.52
59	D	1	0.00	0.00	0.00	0.99	0.74	-1.80	-1.30	-0.48	-0.02
60	Q	1	0.26	0.32	0.32	1.03	0.81	0.09	0.20	-0.14	0.03
61	A	1	0.00	0.00	0.51	1.07	1.03	-0.05	0.07	-0.27	0.16
62	L	0	0.59	0.99	1.00	1.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
63	L	0	0.69	0.94	0.96	0.98	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
64	C	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A
65	Q	0	0.00	0.00	0.01	1.52	0.47	-0.47	0.15	-0.20	-0.43
66	K	0	0.00	0.02	0.09	1.99	1.04	-0.05	0.02	0.56	-0.63
67	A	1	0.00	0.03	0.36	0.76	0.65	-0.69	-1.33	0.07	0.58
68	I	1	0.07	0.71	0.86	1.63	0.49	-0.83	-1.12	0.03	0.26
69	G	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.62	0.05	-0.06	-0.62
70	T	1	0.00	0.00	0.07	0.72	0.24	2.22	2.59	-0.09	-0.28
71	F	1	0.00	0.00	0.00	0.45	0.00	0.14	0.92	-0.18	-0.61

10

20

30

40

【図 1】

図 1 A

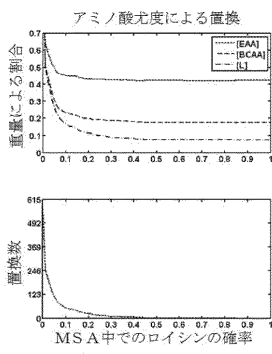


図 1 B

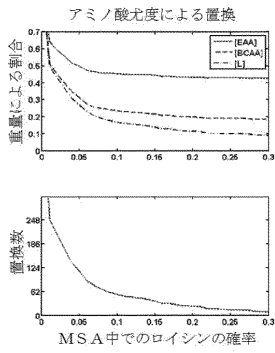


図 1 C

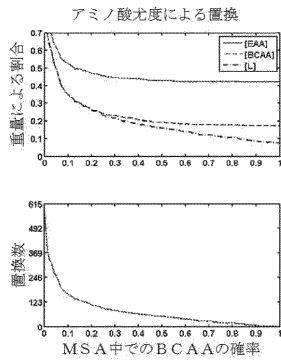
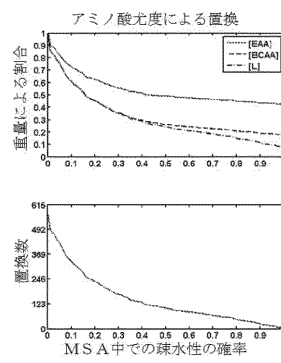


図 1 D



【図 2】

図 2 A

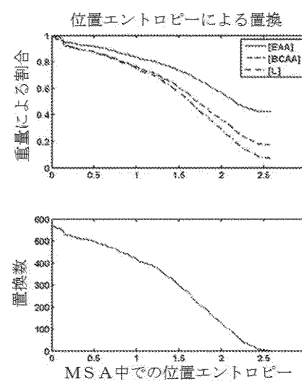
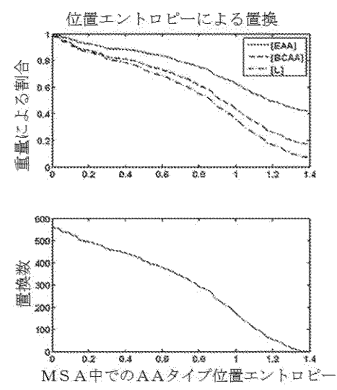
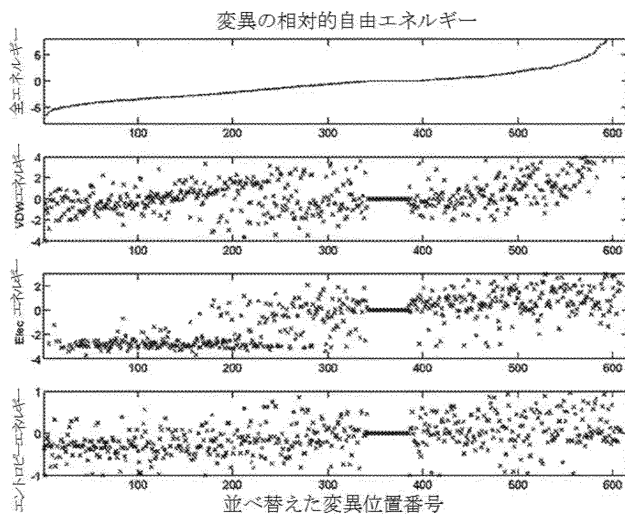


図 2 B



【図 3】

図 3



【図 4】

図 4 A

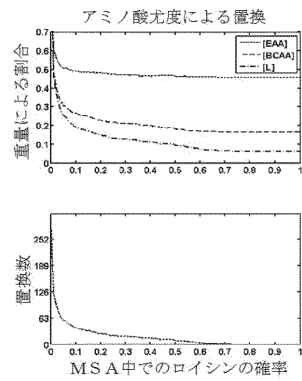


図 4 B

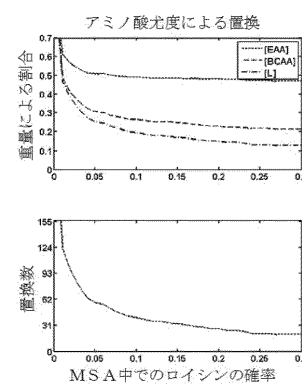


図 4 C

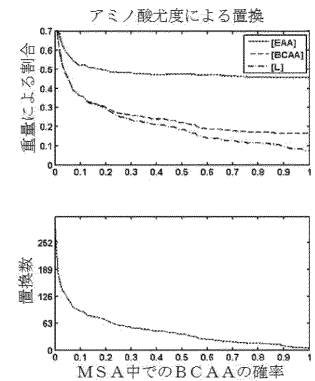
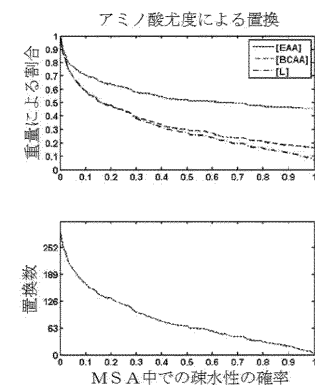


図 4 D



【図 5】

図 5 A

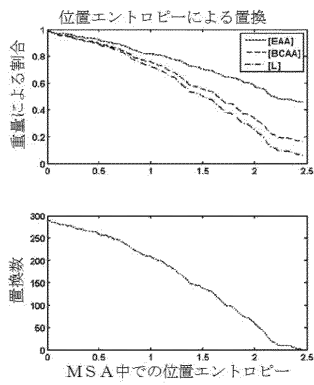
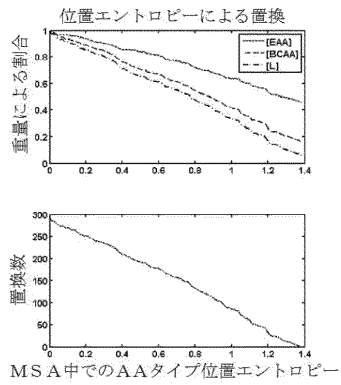
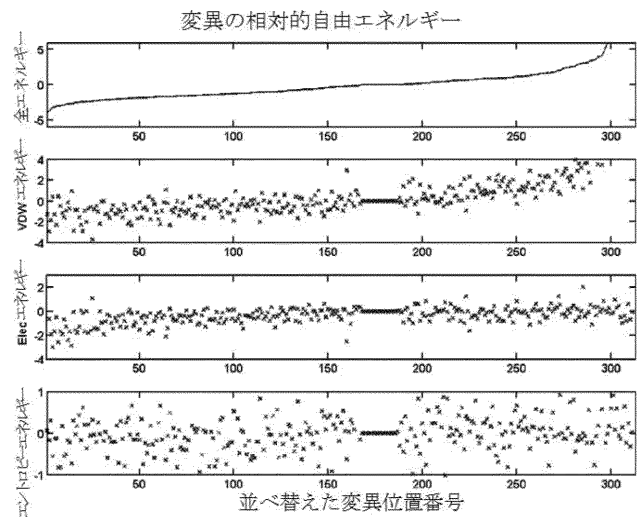


図 5 B



【図 6】

図 6



【図 7】

図 7 A

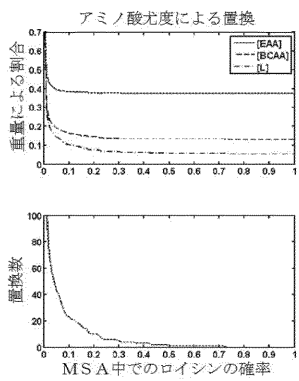


図 7 B

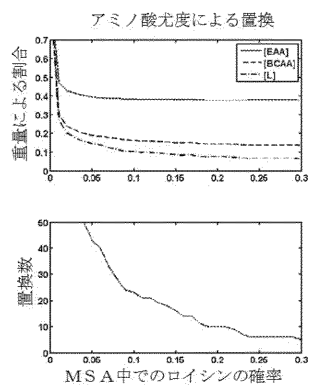


図 7 C

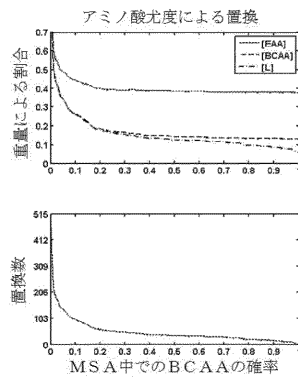
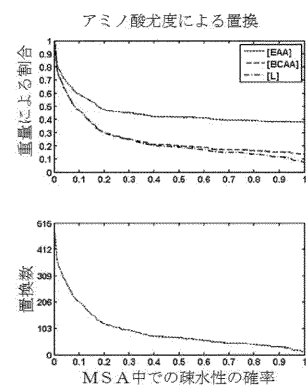


図 7 D



【図 8】

図 8 A

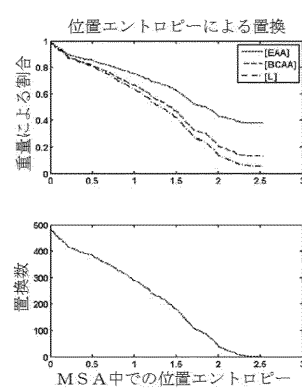
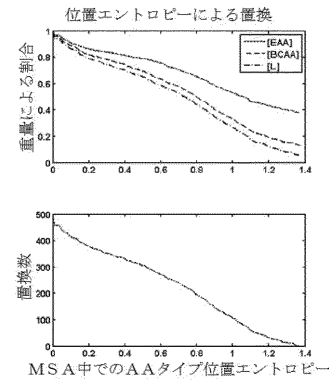
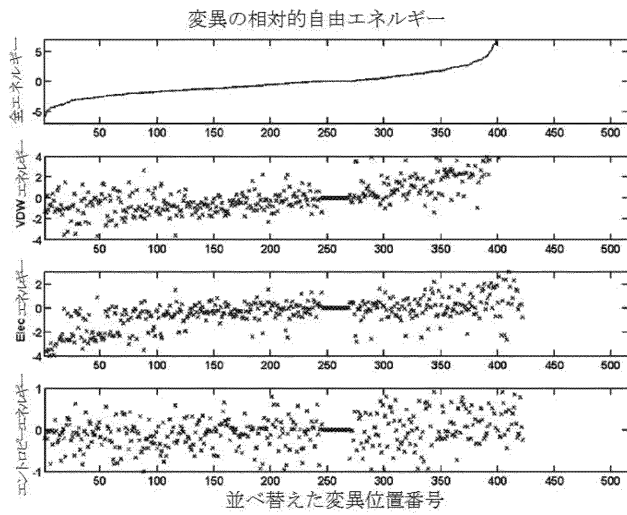


図 8 B



【図 9】

図 9



【図 10】

図 10 A

図 10 C

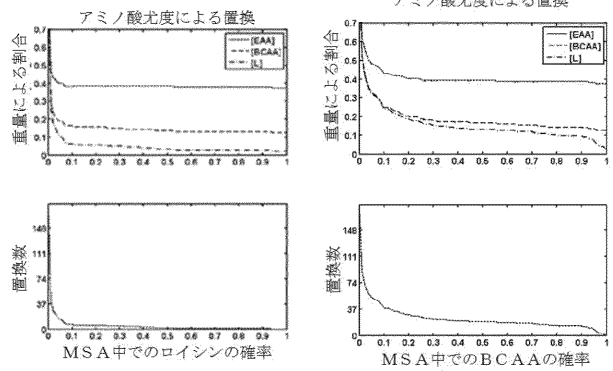
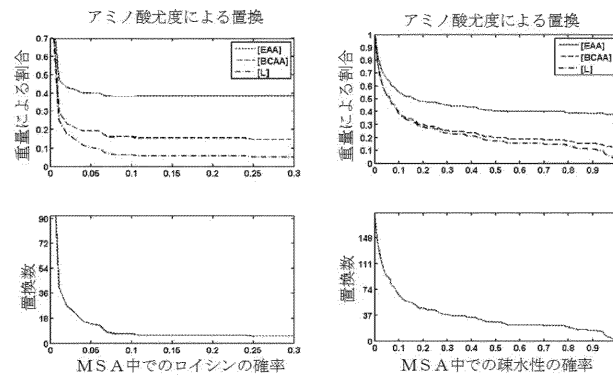


図 10 B

図 10 D



【図 11】

図 11 A

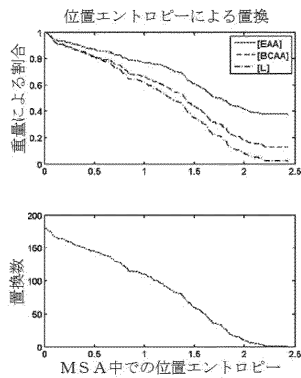
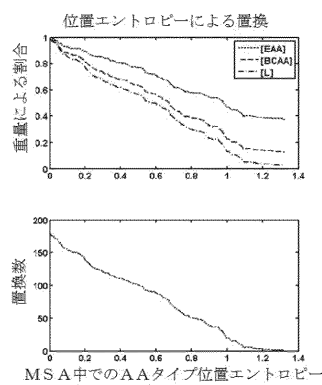
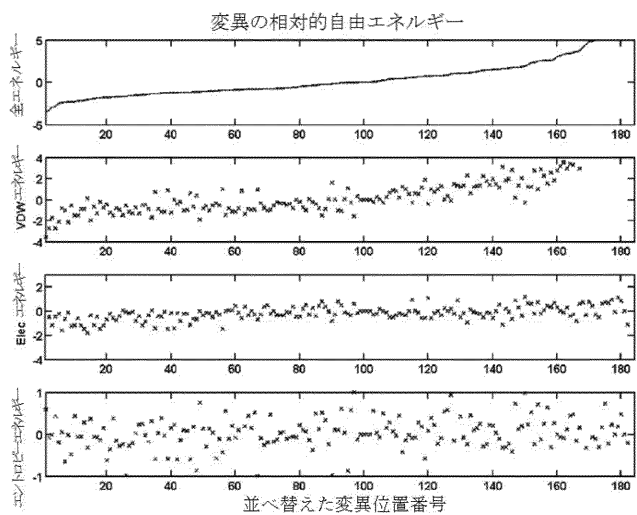


図 11 B



【図 12】

図 12



【図 13】

図 13 A

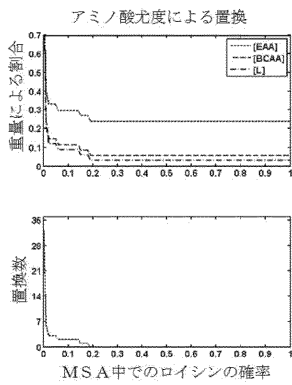


図 13 C

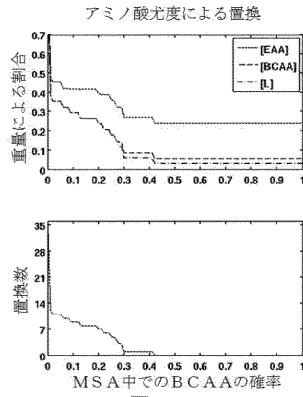


図 13 B

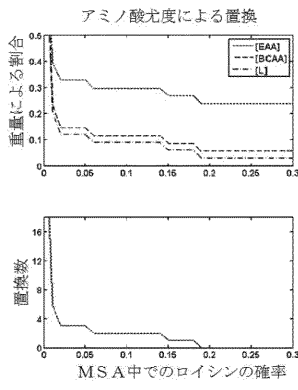
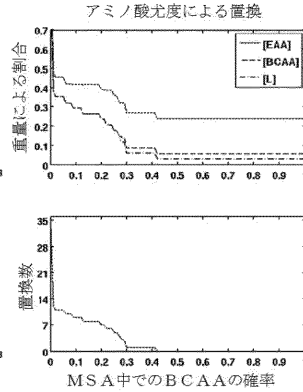


図 13 D



【図 14】

図 14 A

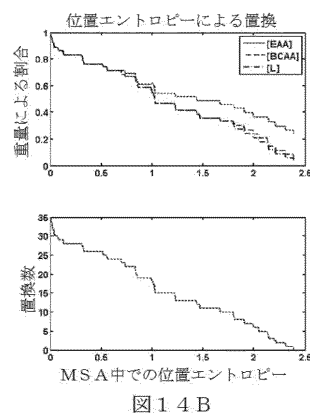
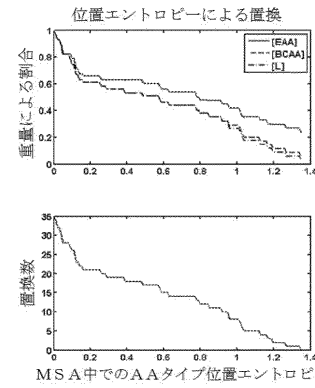
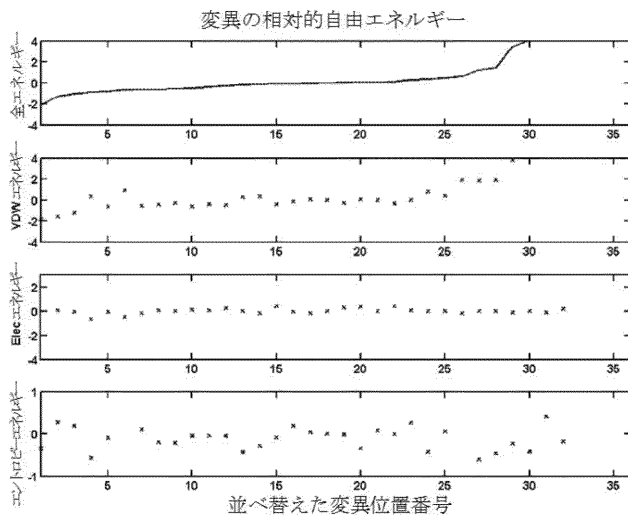


図 14 B



【図 15】

図 15



【図 16】

図 16 A

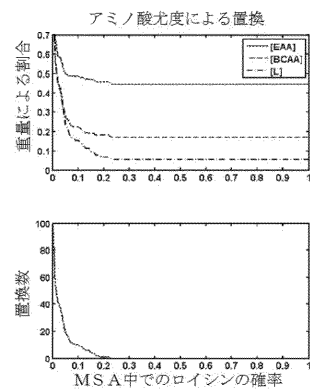


図 16 B

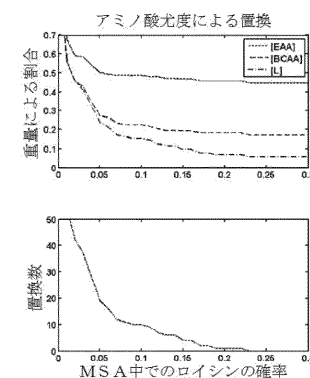


図 16 C

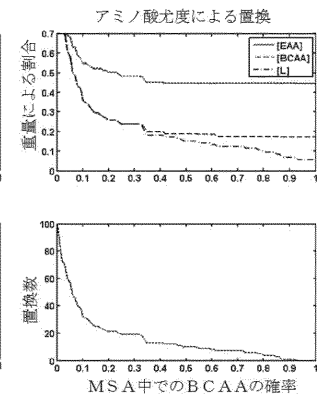
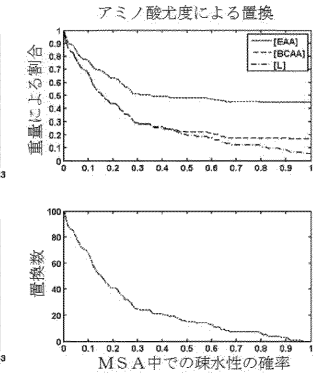


図 16 D



【図 17】

図 17 A

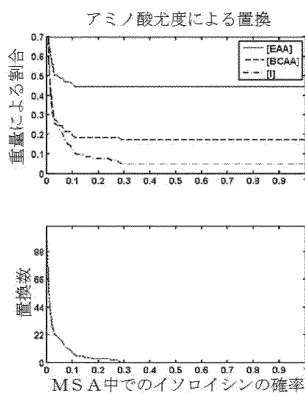


図 17 B

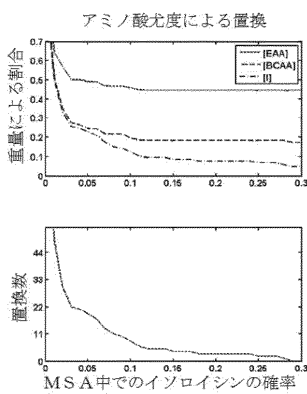


図 17 C

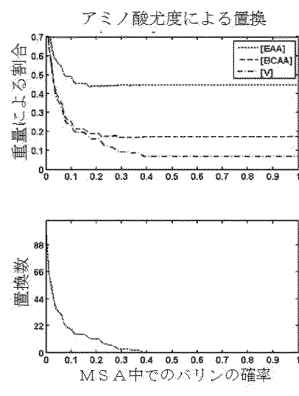
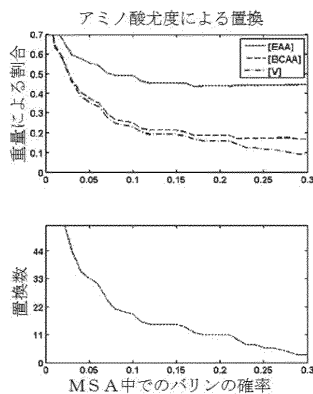


図 17 D



【図 18】

図 18 A

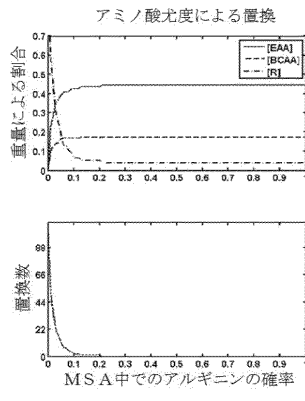


図 18 B

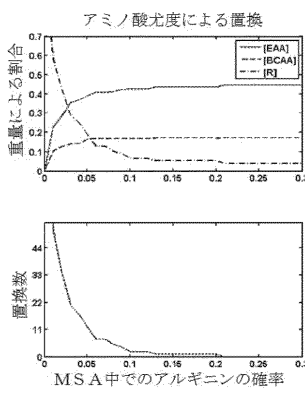


図 18 C

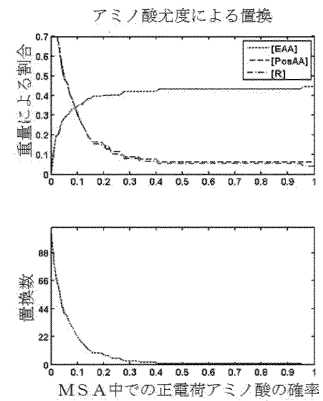
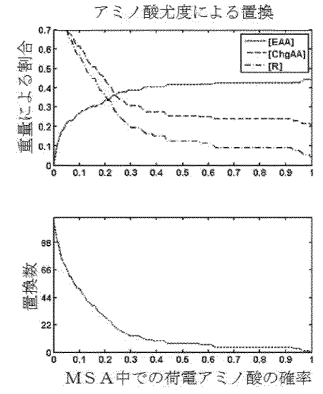


図 18 D



【図 19】

図 19 A

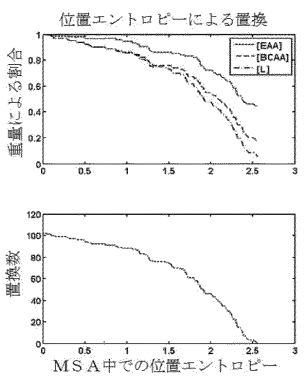
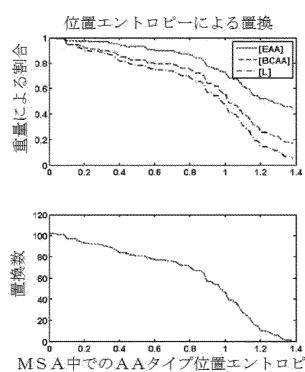
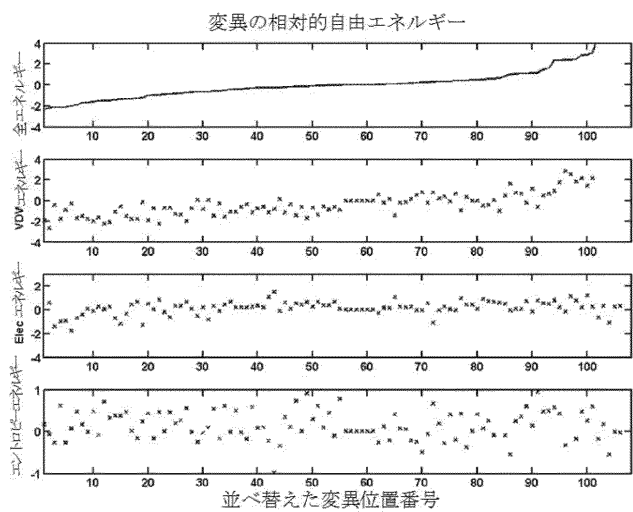


図 19 B



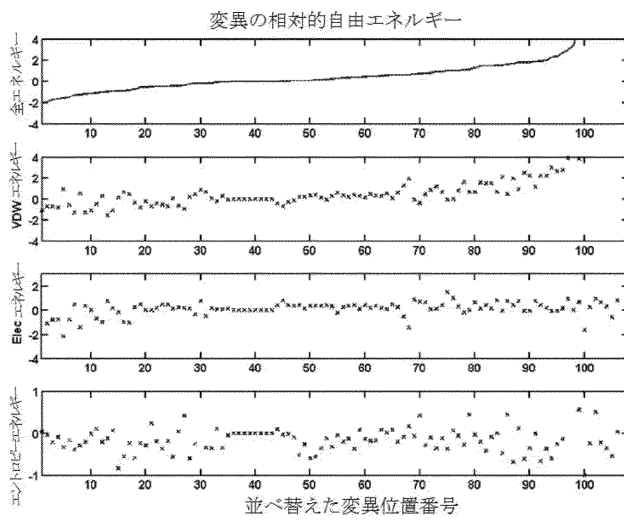
【図 20】

図 20



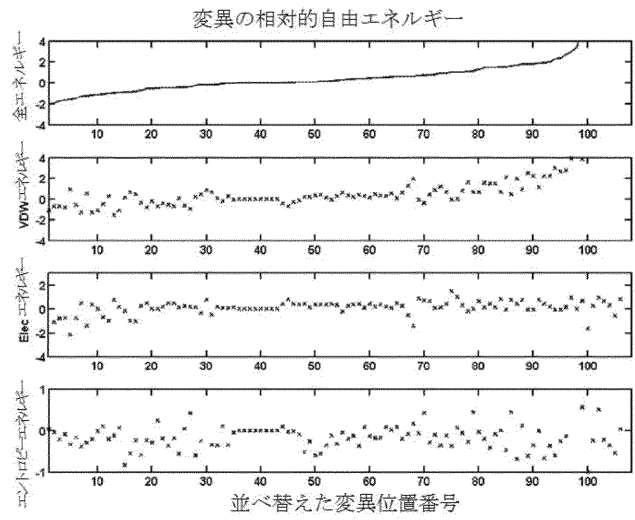
【図 2 1】

図 2 1



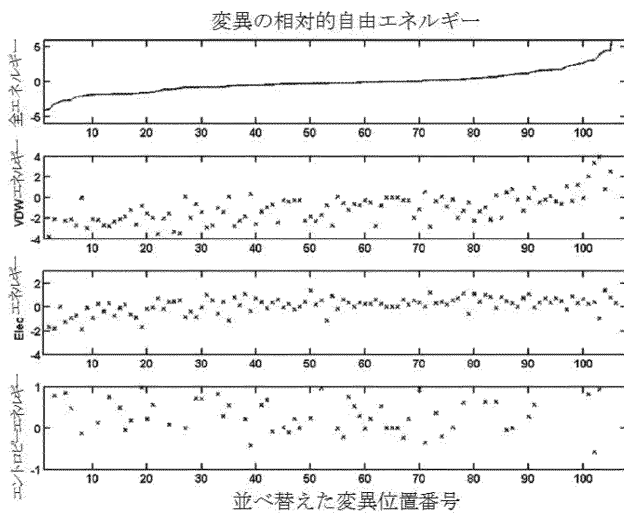
【図 2 2】

図 2 2



【図 2 3】

図 2 3



【図 2 4】

図 2 4 A

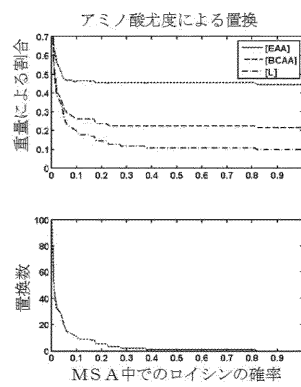


図 2 4 C

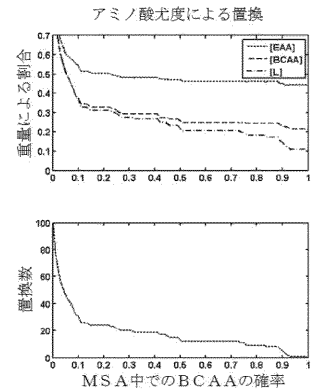


図 2 4 B

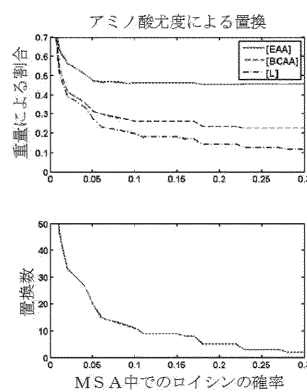
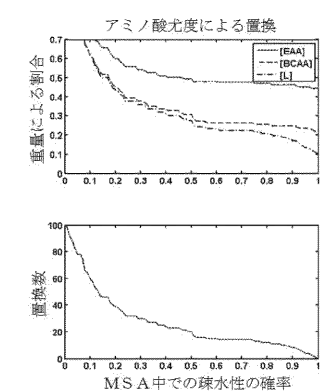


図 2 4 D



【図 25】

図 25 A

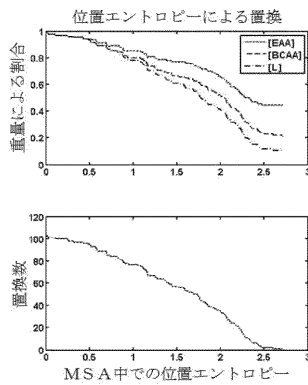
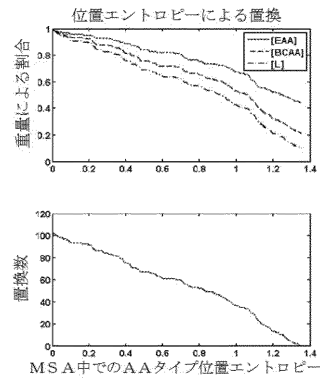
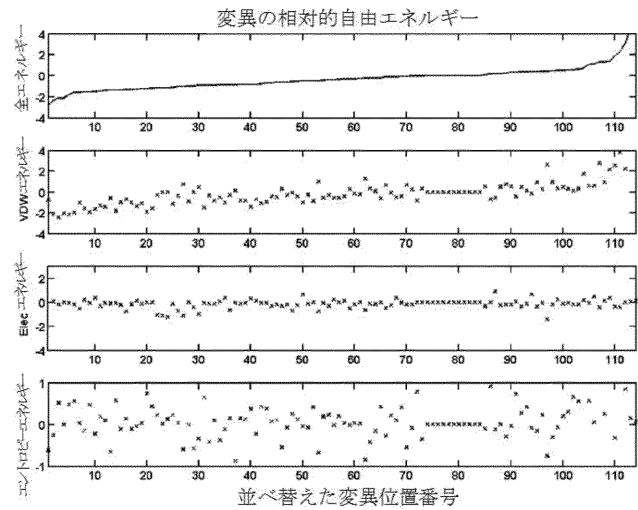


図 25 B



【図 26】

図 26



【図 27】

図 27 A

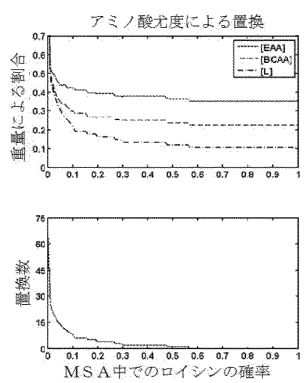


図 27 B

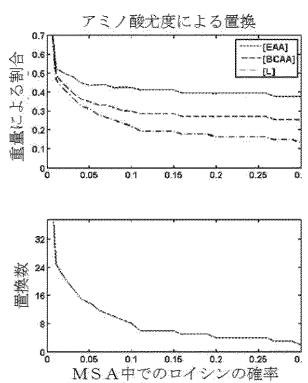


図 27 C

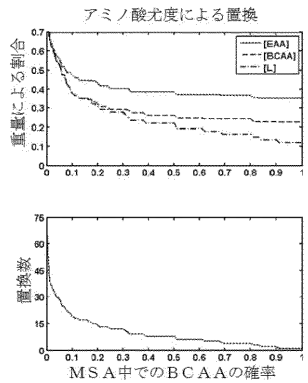
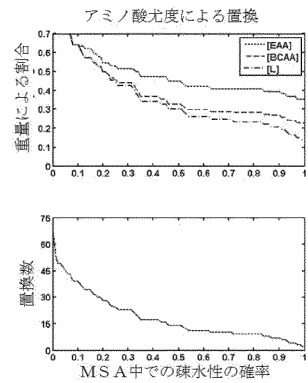


図 27 D



【図 28】

図 28 A

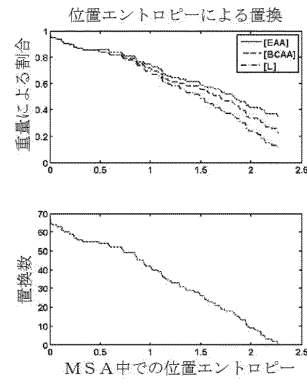
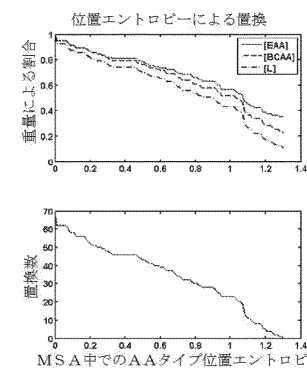
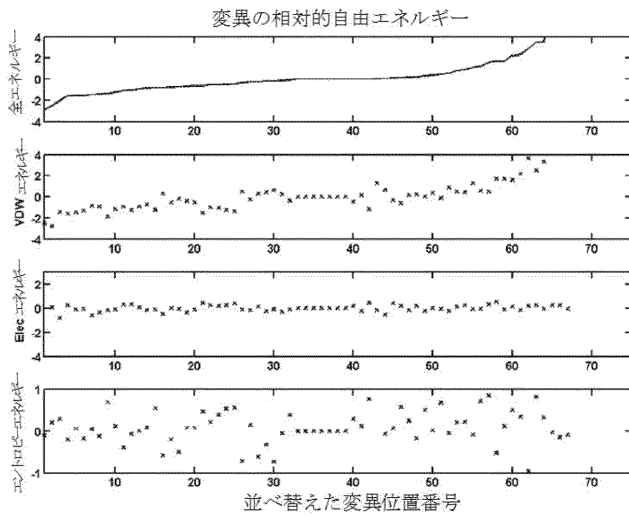


図 28 B



【図 29】

図 29



【図 30】

図 30 A

図 30 C

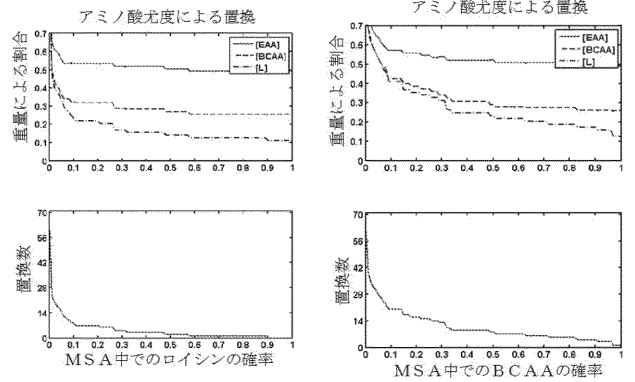
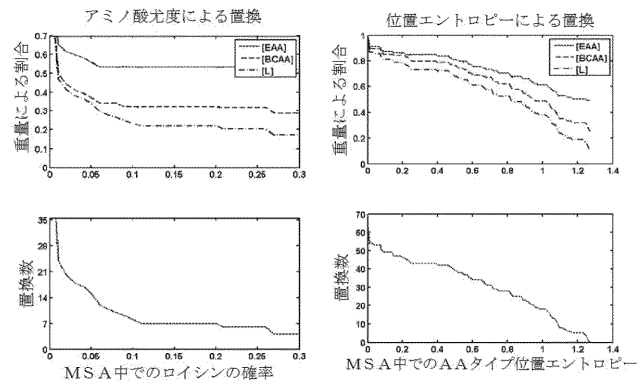


図 30 B

図 30 D



【図 31】

図 31 A

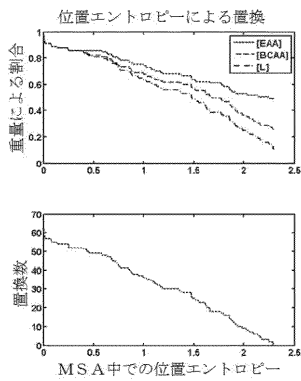
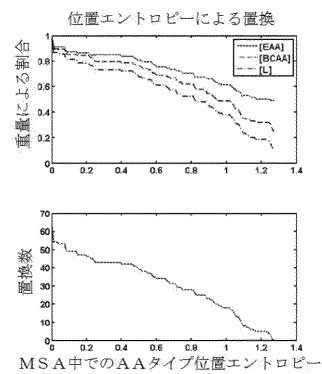
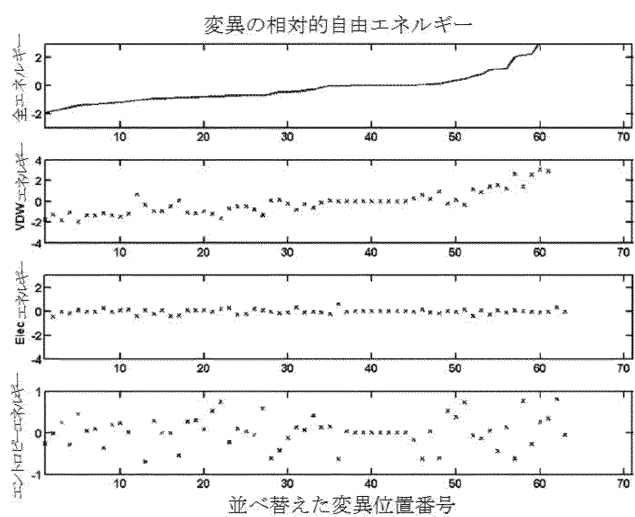


図 31 B



【図 32】

図 32



【配列表】

20165002500000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 13/71091

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A23L 1/305, A23L 1/29 (2014.01) USPC - 514/1.1, 426/656 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A23L 1/305, A23L 1/29 (2014.01) USPC - 514/1.1, 426/656 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 426/2, 426/72, 514/4.9, 514/4.8, 530/350 (keyword limited; terms below) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase, ProQuest Dialog, Google Scholar Search terms: essential amino acid, polypeptide, peptide, protein, nutritive, dietary, food, feed, edible, comestible, drink, beverage, secrete, engineered, recombinant, soluble, aggregation, thermostability, reference daily intake, solvation score, liquid, semi-liquid, gel, Q4WBW4, Q99034, A1DBP9, Q8NJP		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2005/0010973 A1 (RAO et al.) 13 January 2005 (13.01.2005) para [0022]-[0023], [0026], [0027], [0029], [0070], [0075], [0155]-[0159], [0163], [0165], [0176], [0203], [0223], [0224], [0238], [0287], [0300]	1-8, 11-13, 17, 19/(1-8, 11-13, 17), 21-22, 26-29, 31-35, 38 9-10, 14-16, 18, 19/(9-10, 14-16, 18), 20, 23-25, 30, 39
Y	CHENG et al. Protein solubility and differential proteomic profiling of recombinant Escherichia coli overexpressing double-tagged fusion proteins. Microb Cell Fact, 28 August 2010, Vol 9, pp 63. Especially p 1, col 1, para 1 - p 2, col 1, para 1	9-10, 14-16, 19/(9-10, 14-16), 20/(9-10, 14-16)
Y	US 2008/0032000 A1 (SCHNORR et al.) 07 February 2008 (07.02.2008) para [0009], [0012], [0023], [0106]-[0107], [0153]	18, 19/18, 20/18
Y	US 2006/0159724 A1 (BELL) 20 July 2006 (20.07.2006) abstract, para [0007], [0013], [0047]-[0048], [0061]	20, 23-25, 30, 39
X, P	US 2013/0296231 A1 (BERRY et al.) 07 November 2013 (07.11.2013) entire document	1-35, 38-39
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 April 2014 (15.04.2014)		Date of mailing of the international search report 02 MAY 2014
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 13/71091

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 100-104, 121-122, and 124
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-35 and 38-39, drawn to a formulation comprising an isolated nutritive polypeptide, and a method of formulating said nutritive polypeptide.

Group II: Claims 36-37 and 135-140, drawn to a recombinant unicellular organism or library comprising a recombinant nucleic acid

Group III: Claims 40-48, drawn to a method of selecting a nutritive composition for administration to a human subject based on the subject's essential amino acid nutritive need and on the subject's malnutrition status.

—please see continuation on extra sheet—

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-35 and 38-39

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 13/71091

Continuation of:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Group IV+: Claims 49-99, 105-120 and 123, drawn to an engineered protein, a formulation comprising an engineered protein, a nucleic acid sequence encoding an engineered protein, a vector comprising said nucleic acid sequence, a nutritive composition comprising an engineered protein and a method of providing said engineered protein to a subject. The first invention in Group IV+ is limited to an engineered protein comprising a sequence of at least 20 amino acids that comprise an altered amino acid sequence. It is believed that claims 49-67 and 85-86 read on this first named invention. [Note that claims 68-84 and 87-95 are drawn to a formulation comprising an isolated engineered protein; claims 96-99 are drawn to a nucleic acid sequence and vector encoding an engineered protein; claims 105-118 are drawn to a nutritive composition and method of making said composition; claims 119-120 and 123 are drawn to method of providing an engineered protein to a subject]. Applicants must indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. Another exemplary election would be: a formulation comprising an isolated engineered protein, i.e. claims 68-84 and 87-95.

Group V: Claims 125-134, drawn to a method of mutating a protein sequence to obtain an engineered protein.

The inventions listed as Groups I, II, III, IV+, and V do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Group I requires a formulation comprising an isolated nutritive polypeptide, not required by Groups II-V.

Group II requires a recombinant unicellular organism or library, not required by Groups I, III, IV+ and V.

Group III requires the selection of a nutritive composition for administration to a human subject based on the subject's essential amino acid nutritive need, not required by Groups I, II, IV+ and V.

Group IV+ requires a composition comprising an engineered protein or nucleic acid coding therefore, not required by Groups I, II, III and V.

Group V requires the method steps of mutating a reference secreted protein to obtain an engineered protein, not required by Groups I-IV+.

Common Technical Features

The feature shared by Groups I, II, III, IV+, and V is a nutritive composition comprising a protein having an essential amino acid. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by US 2005/0010973 A1 to Rao et al. (hereinafter 'Rao'). Rao discloses seeds that can be used food and/or feed compositions, where the seeds have higher levels of essential amino acid than wild type species of the same seeds (para [0022]-[0023]). As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The feature shared by Groups I, II, and IV+ is a polypeptide that comprises a ratio of one or more essential amino acids to total amino acids that is higher than the ratio of one or more essential amino acids to total amino acids in a reference secreted protein at least 50 amino acids in length. However, this shared technical feature does not represent a contribution over Rao, which teaches a polypeptide that comprises a ratio of one or more essential amino acids to total amino acids that is higher than the ratio of one or more essential amino acids to total amino acids in a reference protein (para [0026] - "It is an object of the present invention to provide expression of the present chymotrypsin inhibitor derivatives in plants to provide higher percentages of essential amino acid in plants than wild type plants," higher percentage of essential amino acid is equivalent to higher ratio of essential amino acid to total amino acids), wherein the reference protein is at least 50 amino acids in length (para [0029] - "methods for increasing the nutritional value of a protein by altering a CI-2-like polypeptide to enhance its nutritional value by substituting essential amino acids at positions corresponding to 1, 8, 11, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 31, 34, 38, 40, 41, 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 65, 67, 69, 73, 75, 76, 78, 79, 81, 82," indicating that the reference protein that is altered is at least 82 amino acids in length). Rao does not specifically teach that the reference protein is a secreted protein, but does teach use of the protein in a nutritive composition (para [0022]-[0023] food or feed compositions) and that the protein can be fused to a peptide that facilitates secretion of the protein from a cell (para [0023] - "a transit sequence, a transit peptide, a signal peptide"). Since a secreted protein would be easier to isolate and purify for incorporation into a nutritive composition, one of ordinary skill in the art would have found it obvious that the reference protein that is modified by the method of Rao can be a secreted protein. As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The feature shared by Groups I, III, and IV+ is a human nutritive formulation and administering to the human subject the nutritive formulation in an amount sufficient to treat a disease, disorder or condition. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is obvious in view of Rao in view of US 2006/0088574 A1 to Manning et al. (hereinafter 'Manning'). As previously discussed, Rao teaches a nutritive composition comprising a protein having an essential amino acid (para [0022]-[0023] modified seeds that have higher levels of essential amino acid, where the seeds that can be used in food and/or feed compositions). Rao does not specifically teach a human nutritive formulation and administering to the human subject the nutritive formulation in an amount sufficient to treat such disease, disorder or condition. However, such formulations and methods were known in the art, as evidenced by Manning, which discloses a human nutritive formulation (abstract, para [0117]) and administering to the human subject the nutritive formulation in an amount sufficient to treat a disease, disorder or condition (para [0118] - "The nutritional supplements of the invention are designed to assist in the dietary prevention, management and control of borderline diabetes, diabetes, --continued on next extra sheet--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 13/71091

Continuation of:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking

other glucose intolerance, cardiovascular disease, and other adverse health conditions"; para [0153] - "administering to the human a nutritional supplement of the invention in an amount that is effective for providing one or more nutritional, medical and/or other health benefits to the human"). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to formulate and administer the composition of Rao as a human nutritive formulation as disclosed by Manning, because Rao teaches use of its composition in a feed or food composition for dietary use in animals. As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The feature shared by Groups II and IV+ is a recombinant nucleic acid encoding a nutritive polypeptide. However, this shared technical feature does not represent a contribution over Rao which discloses a nutritive polypeptide (para [0022]-[0023], [0026]) and a vector comprising a nucleic acid encoding the nutritive polypeptide that can be expressed in a host cell (para [0168]). As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The feature shared by Groups IV+ and V is an engineered protein. However, this shared technical feature does not represent a contribution over Rao, which teaches an engineered protein (para [0207] - "CI-2 Engineering"; para [0212] - "engineered CI-2 containing 21 lysine residues (25.3%)"). As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The feature shared by Group IV+ is an engineered protein comprising: a sequence of at least 20 amino acids that comprise an altered amino acid sequence compared to the amino acid sequence of a reference secreted protein and a ratio of essential amino acids to total amino acids present in the engineered protein higher than the ratio of essential amino acids to total amino acids present in the reference secreted protein. However, this shared technical feature does not represent a contribution over Rao, which teaches an engineered protein comprising a sequence of at least 20 amino acids that comprise an altered amino acid sequence compared to the amino acid sequence of a reference protein (para [0207] - "CI-2 Engineering"; para [0212] - "engineered CI-2 containing 21 lysine residues (25.3%)"; para [0029] - "methods for increasing the nutritional value of a protein by altering a CI-2-like polypeptide to enhance its nutritional value by substituting essential amino acids at positions corresponding to 1, 8, 11, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 31, 34, 38, 40, 41, 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 65, 67, 69, 73, 75, 76, 78, 79, 81, 82"), and a ratio of essential amino acids to total amino acids present in the engineered protein higher than the ratio of essential amino acids to total amino acids present in the reference protein (para [0026] - "It is an object of the present invention to provide expression of the present chymotrypsin inhibitor derivatives in plants to provide higher percentages of essential amino acid in plants than wild type plants," higher percentage of essential amino acid is equivalent to higher ratio of essential amino acid to total amino acids). Rao does not specifically teach that the reference protein is a secreted protein, but does teach use of the protein in a nutritive composition (para [0022]-[0023] food or feed compositions) and that the protein can be fused to a peptide that facilitates secretion of the protein from a cell (para [0223] - "a transit sequence, a transit peptide, a signal peptide"). Since a secreted protein would be easier to isolate and purify for incorporation into a nutritive composition, one of ordinary skill in the art would have found it obvious that the reference protein that is modified by the method of Rao can be a secreted protein. As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another feature shared by Group IV+ is a method of providing to a subject a sufficient amount of an engineered protein or nutritive composition comprising said protein, wherein the method maintains or increases muscle mass, muscle strength, and functional performance, maintains or achieves a desirable body mass index, or addresses a protein-energy malnutrition. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is obvious over Rao in view of US 2005/0153019 A1 to Fuchs et al. (hereinafter "Fuchs"). As previously discussed, Rao teaches an engineered protein (para [0207], [0212]) and nutritive composition comprising said protein (para [0022]-[0023] food or feed compositions). Rao does not specifically teach providing said engineered protein or nutritive composition to a subject a sufficient amount of an engineered protein or nutritive composition comprising said protein, wherein the method maintains or increases muscle mass, muscle strength, and functional performance, maintains or achieves a desirable body mass index, or addresses a protein-energy malnutrition. Fuchs teaches a method of providing a sufficient amount of a protein in a nutritive composition to a subject (para [0009]), wherein the method maintains or increases muscle mass, muscle strength, and functional performance (para [0011] - "method of preventing muscle loss in an individual at risk of same is provided"; para [0012] - "method for accelerating muscle mass recovery in an individual is provided"), maintains or achieves a desirable body mass index (para [0022] - "the composition has a beneficial effect in persons requiring a nutritional supplement such as those suffering from muscle mass depletion and/or with limited appetite ... Remarkably, the composition enables such persons to retain or regain their strength quickly and therefore helps aid recovery of a convalescing patient," prevents muscle wasting in convalescing patient thereby maintaining or recovering desirable body mass index), or addresses a protein-energy malnutrition (para [0060] - "Therefore the nutritional supplement may be used to provide supplemental nutrition to elderly and sick and convalescing patients who are prone to anorexia and/or protein-energy malnutrition"). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to formulate and administer the engineered protein and nutritive composition of Rao as part of a method to maintain or increase muscle mass, muscle strength, and functional performance, maintain or achieves a desirable body mass index, or address a protein-energy malnutrition as taught by Fuchs, because the method of Fuchs calls for an edible protein source and Rao teaches use of its composition in a feed or food composition for dietary use in animals. As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I, II, III, IV+, and V therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I				テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1		4 C 0 8 4
C 0 7 K 14/00 (2006.01)	C 0 7 K	14/00			4 H 0 4 5
C 0 7 K 14/195 (2006.01)	C 0 7 K	14/195			
C 0 7 K 14/37 (2006.01)	C 0 7 K	14/37			
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P	21/02	C		
C 0 7 K 1/00 (2006.01)	C 0 7 K	1/00			
C 4 0 B 40/08 (2006.01)	C 4 0 B	40/08			
C 4 0 B 40/02 (2006.01)	C 4 0 B	40/02			
C 1 2 N 9/00 (2006.01)	C 1 2 N	9/00	1 0 1		
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K	37/02			
A 6 1 P 3/02 (2006.01)	A 6 1 P	3/02			

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

- (72)発明者 スバユ・バス
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド
- (72)発明者 キャサリン・ジー・ゴラ
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド
- (72)発明者 インージャ・チェン
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド
- (72)発明者 デイビッド・エム・ヤング
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド
- (72)発明者 ナサニエル・ダブリュー・シルバー
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド
- (72)発明者 マイケル・ハミル
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド
- (72)発明者 デイビッド・エイ・ベリー
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州ケンブリッジ、メモリアル・ドライブ 8 4 0 番、サード・フロア、プロニュートリア・インコーポレイテッド

F ターム(参考) 4B018 LE00 MD20 ME01 ME02 ME03 ME04 MF01 MF02
4B024 AA01 AA05 BA01 CA06 DA05 EA04 GA11 HA01
4B050 CC04 DD01 DD11 DD13 KK03 LL01 LL02
4B064 AG01 CA19 CC24 DA01 DA10
4B065 AA01X AA01Y AA57X AA57Y AA83X AA83Y AA87X AA87Y AB01 AC14
BA01 CA24 CA41 CA44

