

(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2020-536504

(P2020-536504A)

(43) 公表日 令和2年12月17日(2020.12.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B 0 6 5
C O 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28	4 C 0 8 5
C O 7 K 16/46 (2006.01)	C O 7 K 16/46	4 H 0 4 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 4 O B 40/06 (2006.01)	C 4 O B 40/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 139 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2020-514490 (P2020-514490)	(71) 出願人	516040017
(86) (22) 出願日	平成30年9月11日 (2018.9.11)		ツイスト バイオサイエンス コーポレー ション
(85) 翻訳文提出日	令和2年5月8日 (2020.5.8)		アメリカ合衆国 9 4 1 5 8 カリフォル ニア州 サンフランシスコ ミッション・ ベイ・ブールバード サウス 4 5 5 ス イート 5 4 5
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/050511	(74) 代理人	100082072
(87) 国際公開番号	W02019/051501		弁理士 清原 義博
(87) 国際公開日	平成31年3月14日 (2019.3.14)	(72) 発明者	グランヴィル, ジェイコブ
(31) 優先権主張番号	62/556, 863		アメリカ合衆国 9 4 1 1 8 カリフォル ニア州 サンフランシスコ レイク・スト リート 4 1 4 アpartment 1
(32) 優先日	平成29年9月11日 (2017.9.11)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 GPCR結合タンパク質およびその合成

(57) 【要約】

本明細書には、Gタンパク質結合受容体 (GPCR) に関連する方法および組成物が提供され、GPCRは、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を有している。本明細書に記載されるライブラリーは、少なくとも1つの予め決められた基準核酸配列の予め決められた変異体を各々がコードする核酸を含む、多様なライブラリーを含む。さらに本明細書には、核酸ライブラリーの翻訳時に生成され得るタンパク質ライブラリーが記載される。さらに本明細書には、本明細書に記載される多様な核酸ライブラリーを発現する細胞ライブラリーが提供される。

【選択図】 図3

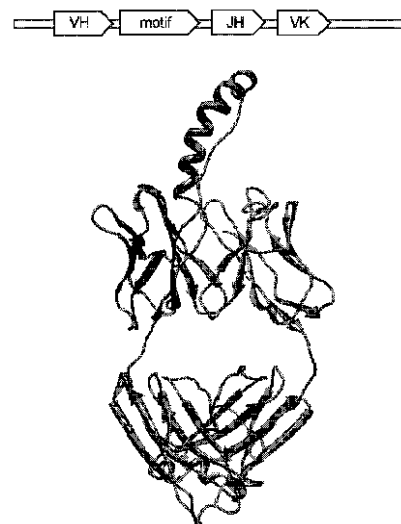


FIG. 3

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

抗体であって、SEQ ID NO: 2420 ~ 2436 のいずれか 1 つの配列を含む CDR - H3 を含む、抗体。

【請求項 2】

抗体であって、該抗体は、SEQ ID NO: 2420 ~ 2436 のいずれか 1 つの配列を含む CDR - H3 を含み；および、抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二重特異性抗体、多特異性抗体、移植抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、ラクダ化抗体、単鎖 Fv (scFv)、単鎖抗体、Fab フラグメント、F(ab)2 フラグメント、Fd フラグメント、Fv フラグメント、単ドメイン抗体、単離された相補性決定領域 (CDR)、ダイアボディ、単一モノマー可変ドメインのみから成るフラグメント、ジスルフィド結合 Fv (sdFv)、イントラボディ、抗イディオタイプ (抗 Id) 抗体、又はそれらの ab 抗原結合フラグメントである、抗体。

10

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載の抗体を投与する工程を含む、GLP1R 活性を阻害する方法。

【請求項 4】

被験体に請求項 1 または 2 に記載の抗体を投与する工程を含む、代謝異常の処置のための方法。

【請求項 5】

代謝異常は I 型糖尿病または肥満症である、請求項 4 に記載の方法。

20

【請求項 6】

複数の核酸を含む核酸ライブラリーであって、各核酸は、翻訳時に免疫グロブリンスキャホールドをコードする配列をコードし、免疫グロブリンスキャホールドは GPCR 結合ドメインを含む CDR - H3 ループを含み、各核酸は GPCR 結合ドメインの配列変異体をコードする配列を含む、核酸ライブラリー。

【請求項 7】

CDR - H3 ループの長さは約 20 ~ 約 80 のアミノ酸である、請求項 6 に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 8】

CDR - H3 ループの長さは約 80 ~ 約 230 の塩基対である、請求項 6 に記載の核酸ライブラリー。

30

【請求項 9】

免疫グロブリンスキャホールドは更に、軽鎖可変 (VL) ドメイン、重鎖可変 (VH) ドメイン、軽鎖定常 (CL) ドメイン、および重鎖定常 (CH) ドメインから選択された 1 つ以上のドメインを含む、請求項 6 に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 10】

VH ドメインがIGHV1 - 18、IGHV1 - 69、IGHV1 - 8、IGHV3 - 21、IGHV3 - 23、IGHV3 - 30 / 33 rn、IGHV3 - 28、IGHV3 - 74、IGHV4 - 39、またはIGHV4 - 59 / 61 である、請求項 9 に記載の核酸ライブラリー。

40

【請求項 11】

VL ドメインが、IGKV1 - 39、IGKV1 - 9、IGKV2 - 28、IGKV3 - 11、IGKV3 - 15、IGKV3 - 20、IGKV4 - 1、IGLV1 - 51、またはIGLV2 - 14 である、請求項 9 に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 12】

VH ドメインの長さは約 90 ~ 約 100 のアミノ酸である、請求項 9 に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 13】

VL ドメインの長さは約 90 ~ 約 120 のアミノ酸である、請求項 9 に記載の核酸ライ

50

ブラリー。

【請求項 14】

VHドメインの長さは約280～約300の塩基対である、請求項9に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 15】

VLドメインの長さは約300～約350の塩基対である、請求項9に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 16】

ライブラリーは少なくとも 10^5 の非同一核酸を含む、請求項6に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 17】

免疫グロブリンスキャホールドは単一の免疫グロブリンドメインを含む、請求項6に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 18】

免疫グロブリンスキャホールドは多くとも100のアミノ酸のペプチドを含む、請求項6に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 19】

GPCR結合ドメインはペプチド模倣体または小分子模倣体を含む、請求項6に記載の核酸ライブラリー。

【請求項 20】

複数のタンパク質を含むタンパク質ライブラリーであって、複数のタンパク質の各々は免疫グロブリンスキャホールドを含み、免疫グロブリンスキャホールドはGPCR結合ドメインの配列変異体を含むCDR-H3ループを含む、タンパク質ライブラリー。

【請求項 21】

CDR-H3ループの長さは約20～約80のアミノ酸である、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 22】

免疫グロブリンスキャホールドは更に、軽鎖可変(VL)ドメイン、重鎖可変(VH)ドメイン、軽鎖定常(CL)ドメイン、および重鎖定常(CH)ドメインから選択された1つ以上のドメインを含む、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 23】

VHドメインがIGHV1-18、IGHV1-69、IGHV1-8、IGHV3-21、IGHV3-23、IGHV3-30/33rn、IGHV3-28、IGHV3-74、IGHV4-39、またはIGHV4-59/61である、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 24】

VLドメインが、IGKV1-39、IGKV1-9、IGKV2-28、IGKV3-11、IGKV3-15、IGKV3-20、IGKV4-1、IGLV1-51、またはIGLV2-14である、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 25】

VHドメインの長さは約90～約100のアミノ酸である、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 26】

VLドメインの長さは約90～約120のアミノ酸である、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 27】

複数のタンパク質はペプチド模倣ライブラリーを生成するために使用される、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 28】

タンパク質ライブラリーは抗体を含む、請求項20に記載のタンパク質ライブラリー。

10

20

30

40

50

【請求項 29】

複数のタンパク質を含むタンパク質ライブラリーであって、複数のタンパク質は、異なるGPCR結合ドメインをコードする配列を含み、各GPCR結合ドメインの長さは約20～約80のアミノ酸である、タンパク質ライブラリー。

【請求項 30】

タンパク質ライブラリーはペプチドを含む、請求項29に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 31】

タンパク質ライブラリーは免疫グロブリンを含む、請求項29に記載のタンパク質ライブラリー。

10

【請求項 32】

タンパク質ライブラリーは抗体を含む、請求項29に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 33】

複数のタンパク質はペプチド模倣ライブラリーを生成するために使用される、請求項29に記載のタンパク質ライブラリー。

【請求項 34】

請求項6-19のいずれか1つに記載の核酸ライブラリーを含むベクターライブラリー。

【請求項 35】

請求項6-19のいずれか1つに記載の核酸ライブラリーを含む細胞ライブラリー。

20

【請求項 36】

請求項20-33のいずれか1つに記載のタンパク質ライブラリーを含む細胞ライブラリー。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2017年9月11日出願の米国仮特許出願62/556,863号の利益を主張するものであり、当該文献は参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

30

【0002】

Gタンパク質結合受容体(GPCR)は、種々様々な疾患に関係する。GPCRが大抵は細胞中に低レベルで発現され、精製時に非常に不安定であるので、適切な抗原を得る際の問題により、GPCRに対する抗体産生は困難であった。故に、GPCRを標的とする治療的介入のための薬剤の改善が必要とされる。

【0003】

引用による組み込み

本明細書で言及される出願公開、特許、および特許出願は全て、あたかも個々の出願公開、特許、または特許出願がそれぞれ参照により組み込まれるように具体的且つ個々に指示されるように同じ程度にまで、参照により本明細書に組込まれる。

40

【発明の概要】

【0004】

本明細書には、SEQ ID NO: 2420～2436のいずれか1つの配列を含むCDR-H3を含む抗体が提供される。本明細書には、SEQ ID NO: 2420～2436のいずれか1つの配列を含むCDR-H3を含む抗体が提供され；および、抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二重特異性抗体、多特異性抗体、移植抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、ラクダ化抗体、単鎖Fv(scFv)、単鎖抗体、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fdフラグメント、Fvフラグメント、単ドメイン抗体、単離された相補性決定領域(CDR)、ダイアボディ、単一モノマー可変ドメインのみから成るフラグメント、ジスルフィド結合Fv(s

50

d F v)、イントラボディ、抗イディオタイプ (抗 I d) 抗体、またはそれらの a b 抗原結合フラグメントである。本明細書には、V H ドメインが I G H V 1 - 1 8、I G H V 1 - 6 9、I G H V 1 - 8、I G H V 3 - 2 1、I G H V 3 - 2 3、I G H V 3 - 3 0 / 3 3 r n、I G H V 3 - 2 8、I G H V 3 - 7 4、I G H V 4 - 3 9、または I G H V 4 - 5 9 / 6 1 である、抗体が提供される。本明細書には、V L ドメインが、I G K V 1 - 3 9、I G K V 1 - 9、I G K V 2 - 2 8、I G K V 3 - 1 1、I G K V 3 - 1 5、I G K V 3 - 2 0、I G K V 4 - 1、I G L V 1 - 5 1、または I G L V 2 - 1 4 である、抗体が提供される。本明細書には、G L P 1 R 活性を阻害する方法が提供され、該方法は、本明細書に記載されるような抗体を投与する工程を含む。本明細書には、代謝異常の処置のための方法が提供され、該方法は、必要とする被験体に本明細書に記載されるような抗体を投与する工程を含む。いくつかの例において、抗体は、S E Q I D N O : 2 4 2 0 ~ 2 4 3 6 のいずれか 1 つの配列を含む C D R - H 3 を含む。本明細書には、代謝異常または肥満症の処置のための方法が提供され、代謝異常は I I 型糖尿病である。本明細書には、S E Q I D N O : 2 4 2 0 ~ 2 4 3 6 のいずれか 1 つの配列を含むタンパク質をコードする核酸が提供される。

10

【 0 0 0 5 】

本明細書には、複数の核酸を含む核酸ライブラリーが提供され、各核酸は、翻訳時に免疫グロブリンスキャホールドをコードする配列をコードし、免疫グロブリンスキャホールドは G P C R 結合ドメインを含む C D R - H 3 ループを含み、各核酸は G P C R 結合ドメインの配列変異体をコードする配列を含む。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、C D R - H 3 ループの長さは約 2 0 ~ 約 8 0 のアミノ酸である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、C D R - H 3 ループの長さは約 8 0 ~ 約 2 3 0 の塩基対である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、免疫グロブリンスキャホールドは更に、軽鎖可変 (V L) ドメイン、重鎖可変 (V H) ドメイン、軽鎖定常 (C L) ドメイン、および重鎖定常 (C H) ドメインから選択された 1 つ以上のドメインを含む。本明細書には、V H ドメインが I G H V 1 - 1 8、I G H V 1 - 6 9、I G H V 1 - 8、I G H V 3 - 2 1、I G H V 3 - 2 3、I G H V 3 - 3 0 / 3 3 r n、I G H V 3 - 2 8、I G H V 3 - 7 4、I G H V 4 - 3 9、または I G H V 4 - 5 9 / 6 1 である、核酸ライブラリーが提供される。本明細書には、V L ドメインが、I G K V 1 - 3 9、I G K V 1 - 9、I G K V 2 - 2 8、I G K V 3 - 1 1、I G K V 3 - 1 5、I G K V 3 - 2 0、I G K V 4 - 1、I G L V 1 - 5 1、または I G L V 2 - 1 4 である、核酸ライブラリーが提供される。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、V H ドメインの長さは約 9 0 ~ 約 1 0 0 のアミノ酸である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、V L ドメインの長さは約 9 0 ~ 約 1 2 0 のアミノ酸である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、V H ドメインの長さは約 2 8 0 ~ 約 3 0 0 の塩基対である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、V L ドメインの長さは約 3 0 0 ~ 約 3 5 0 の塩基対である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、ライブラリーは、少なくとも 1 0 ⁵ の非同義核酸を含む。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、免疫グロブリンスキャホールドは単一の免疫グロブリンドメインを含む。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、免疫グロブリンスキャホールドは多くとも 1 0 0 のアミノ酸のペプチドを含む。本明細書には、本明細書に記載されるような核酸ライブラリーを含むベクターライブラリーが提供される。本明細書には、本明細書に記載されるような核酸ライブラリーを含む細胞ライブラリーが提供される。

20

30

40

【 0 0 0 6 】

本明細書には、複数の核酸を含む核酸ライブラリーが提供され、各核酸は、翻訳時に G P C R 結合ドメインをコードする配列をコードし、各核酸は、約 2 0 ~ 約 8 0 のアミノ酸の異なる G P C R 結合ドメインをコードする配列を含む。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、G P C R 結合ドメインの長さは約 8 0 ~ 約 2 3 0 の塩基対である。本明細書には核酸ライブラリーが提供され、G P C R 結合ドメインは、立体構造リガンド相互作用、ペプチド - リガンド相互作用、小分子リガンド相互作用、G P C R の細胞外ドメイン、または G P C R を標的とする抗体に基づいて設計されている。本明細書には、本明細書に

50

記載されるような核酸ライブラリーを含むベクターライブラリーが提供される。本明細書には、本明細書に記載されるような核酸ライブラリーを含む細胞ライブラリーが提供される。

【0007】

本明細書には複数のタンパク質を含むタンパク質ライブラリーが提供され、複数のタンパク質の各々は免疫グロブリンスキャホールドを含み、免疫グロブリンスキャホールドはGPCR結合ドメインの配列変異体を含むCDR-H3ループを含む。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、CDR-H3ループの長さは約20～約80のアミノ酸である。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、免疫グロブリンスキャホールドは更に、軽鎖可変(VL)ドメイン、重鎖可変(VH)ドメイン、軽鎖定常(CL)ドメイン、および重鎖定常(CH)ドメインから選択された1つ以上のドメインを含む。本明細書には、VHドメインがIGHV1-18、IGHV1-69、IGHV1-8、IGHV3-21、IGHV3-23、IGHV3-30/33rn、IGHV3-28、IGHV3-74、IGHV4-39、またはIGHV4-59/61である、タンパク質ライブラリーが提供される。本明細書には、VLドメインが、IGKV1-39、IGKV1-9、IGKV2-28、IGKV3-11、IGKV3-15、IGKV3-20、IGKV4-1、IGLV1-51、またはIGLV2-14である、タンパク質ライブラリーが提供される。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、VHドメインの長さは約90～約100のアミノ酸である。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、VLドメインの長さは約90～約120のアミノ酸である。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、複数のタンパク質はペプチド模倣ライブラリーを生成するために使用される。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、タンパク質ライブラリーはペプチドを含む。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、タンパク質ライブラリーは免疫グロブリンを含む。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、タンパク質ライブラリーは抗体を含む。本明細書には、本明細書に記載されるようなタンパク質ライブラリーを含む細胞ライブラリーが提供される。

10

20

30

40

50

【0008】

本明細書には、複数のタンパク質を含むタンパク質ライブラリーが提供され、複数のタンパク質は、異なるGPCR結合ドメインをコードする配列を含み、各GPCR結合ドメインの長さは約20～約80のアミノ酸である。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、タンパク質ライブラリーはペプチドを含む。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、タンパク質ライブラリーは免疫グロブリンを含む。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、タンパク質ライブラリーは抗体を含む。本明細書にはタンパク質ライブラリーが提供され、複数のタンパク質はペプチド模倣ライブラリーを生成するために使用される。本明細書には、本明細書に記載されるようなタンパク質ライブラリーを含む細胞ライブラリーが提供される。

【0009】

本明細書には、本明細書に記載される核酸ライブラリーを含むベクターライブラリーが提供される。本明細書には、本明細書に記載される核酸ライブラリーを含む細胞ライブラリーが提供される。本明細書には、本明細書に記載されるタンパク質ライブラリーを含む細胞ライブラリーが提供される。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】Gタンパク質結合受容体(GPCR)リガンド相互作用表面の概略図を表わす。

【図2A】免疫グロブリンスキャホールドの第1の概略図を表わす。

【図2B】免疫グロブリンスキャホールドの第2の概略図を表わす。

【図3】スキャホールドにおける配置のためのモチーフの概略図を表わす。

【図4】GPCRの概略図を表わす。

【図5】クローンフラグメントおよび非クローンフラグメントのアセンブリのためのセグメントの概略図を表わす。

【図 6】クローンフラグメントおよび非クローンフラグメントのアセンブリのためのセグメントの概略図を表わす。

【図 7】本明細書に開示されるような遺伝子合成のための典型的なプロセスワークフローを実証する工程の図を提示する。

【図 8】コンピューターシステムの例を例示する。

【図 9】コンピューターシステムの構造を例示するブロック図である。

【図 10】複数のコンピューターシステム、複数の携帯電話、および個人用携帯情報端末、およびネットワーク接続ストレージ (NAS) を組み込むように構成されたネットワークを実証する図である。

【図 11】共有仮想アドレスメモリ空間を用いるマルチプロセッサコンピューターシステムのブロック図である。

【図 12A】免疫グロブリンスキャホールドの配列を表わす。

【図 12B】免疫グロブリンスキャホールドの配列を表わす。

【図 12C】免疫グロブリンスキャホールドの配列を表わす。

【図 13】Gタンパク質結合受容体スキャホールドの配列を表わす。

【図 14】重鎖可変ドメインのためのライブラリーに対する標準化された読み取りのグラフである。

【図 15】軽鎖可変ドメインのためのライブラリーに対する標準化された読み取りのグラフである。

【図 16】重鎖相補性決定領域 3 のためのライブラリーに対する標準化された読み取りのグラフである。

【図 17A】フォールディングに対して分析された軽鎖フレームワークのプロットである。

【図 17B】耐熱性に対して分析された軽鎖フレームワークのプロットである。

【図 17C】FLAGタグを使用してモチーフ表示に対して分析された軽鎖フレームワークのプロットである。

【図 17D】Hisタグを使用してモチーフ表示に対して分析された軽鎖フレームワークのプロットである。

【図 18A】フォールディングに対して分析された重鎖フレームワークのプロットである。

【図 18B】安定性に対して分析された重鎖フレームワークのプロットである。

【図 18C】FLAGタグを使用してモチーフ表示に対して分析された重鎖フレームワークのプロットである。

【図 18D】Hisタグを使用してモチーフ表示に対して分析された重鎖フレームワークのプロットである。

【図 18E】発現に対して分析された重鎖フレームワークのプロットである。

【図 18F】選択特異性に対して分析された重鎖フレームワークのプロットである。

【図 19A】蛍光抗体により視覚化されたGタンパク質結合受容体の画像を表わす。

【図 19B】蛍光抗体により視覚化されたGタンパク質結合受容体の画像を表わす。

【図 19C】蛍光抗体により視覚化されたGタンパク質結合受容体の画像を表わす。

【図 20A】自己蛍光タンパク質により視覚化されたGタンパク質結合受容体の画像を表わす。

【図 20B】自己蛍光タンパク質により視覚化されたGタンパク質結合受容体の画像を表わす。

【図 20C】自己蛍光タンパク質により視覚化されたGタンパク質結合受容体の画像を表わす。

【図 21A】リンカーを使用してVLドメインに付けられたVHドメインを含む免疫グロブリンスキャホールドの概略図を表わす。

【図 21B】リンカー、リーダー配列、およびpIII配列を使用してVLドメインに付けられたVHドメインを含む免疫グロブリンスキャホールドの、完全ドメインの構造の概

10

20

30

40

50

略図を表わす。

【図 2 1 C】V L または V H ドメインに対する 4 つのフレームワーク要素 (F W 1、F W 2、F W 3、F W 4) および可変 3 C D R (L 1、L 2、L 3) 要素の概略図を表わす。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

本開示は、別段の定めのない限り、当該技術の範囲内である従来の分子生物学的技術を採用する。別段の定めのない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、当業者により共通して理解されるものと同じ意味を有する。

【 0 0 1 2 】

定義

10

【 0 0 1 3 】

本開示の全体にわたって、様々な実施形態は範囲表示形式で提示される。範囲表示形式での記載は単に利便性と簡潔さのためのものに過ぎず、任意の実施形態の範囲に対する確固たる限定として解釈されてはならないということを理解されたい。従って、範囲の記載は、文脈で別段の定めのない限り、全ての可能な下位範囲と、下限の単位の小数第 2 位までのその範囲内の個々の数値を具体的に開示したと考えられなければならない。例えば、1 ~ 6 などの範囲の記載は、1 ~ 3、1 ~ 4、1 ~ 5、2 ~ 4、2 ~ 6、3 ~ 6 などの下位範囲と、その範囲内の個々の数値、例えば、1、1、2、2、3、5、および 5、9 を具体的に開示したと考えられなければならない。これは、範囲の広さにかかわらず適用される。これらの介在する範囲の上限と下限は、より小さな範囲に独立して含まれることもあり、記載された範囲の任意の具体的に除外された限界に従って、本開示内にも含まれる。記載された範囲が 1 つまたは両方の限界を含む場合、そのような含まれる限界の一方または両方を除外する範囲は、文脈に特段の定めのない限り、本開示にも含まれる。

20

【 0 0 1 4 】

本明細書で使用される用語は、特定の実施形態のみを記載するためにあり、任意の実施形態を制限することを意図していない。本明細書で使用されるように、単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈上他の意味を明白に示すものでない限り、同様に複数形を含むことを意図している。用語「含む」および「または含むこと」は、本明細書での使用時に、明示された特徴、整数、工程、操作、要素、および「または構成要素の存在を特定するが、1 以上の他の特徴、整数、工程、操作、要素、構成要素、および「またはそれらの群の存在または追加を妨げないことが、更に理解される。本明細書で使用されるように、用語「および「または」は、関連する列挙された項目の 1 つ以上のあらゆる組み合わせを含む。

30

【 0 0 1 5 】

別段の定めのない限りまたは文脈から明白でない限り、本明細書で使用されるように、数または数の範囲に関連する用語「約」とは、明示された数およびその数の + / - 10 %、または、ある範囲の列挙された値に対して列挙された下限の 10 % 以下および列挙された上限の 10 % 以上を意味する。

【 0 0 1 6 】

別段の定めのない限り、本明細書に使用されるように、用語「核酸」は、二本鎖または三本鎖の核酸に加え、一本鎖分子も包含する。二本鎖または三本鎖の核酸において、核酸鎖は同一の広がりをもつ必要はない (すなわち、二本鎖核酸は両方の鎖の全長に沿った二本鎖である必要はない)。他に明示されない限り、核酸配列は、提供されると、5' ~ 3' の方向に列挙される。本明細書に記載される方法は、単離された核酸の生成を提供する。本明細書に記載される方法は、単離かつ精製された核酸の生成を更に提供する。本明細書に言及されるような「核酸」は、長さが少なくとも 5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、1900、2000、またはそれ以上の

40

50

塩基を含み得る。更に、本明細書には、ヌクレオチド配列をコードする任意数のポリペプチドセグメントの合成のための方法が提供され、前記ヌクレオチド配列は、非リボソームペプチド (NRP) をコード化する配列、非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) モジュールおよび合成変異体をコードする配列、抗体などの他の調節タンパク質のポリペプチドセグメント、例えば、プロモーター、転写因子、エンハンサー、siRNA、shRNA、RNAi、miRNA、マイクロRNA由来の核小体低分子RNA、または対象の任意の機能的または構造的DNAまたはRNAユニットといった、調節配列などの非コードDNAまたはRNAを含む他のタンパク質ファミリーからのポリペプチドセグメントを含む。以下はポリヌクレオチドの非限定的な例である：遺伝子または遺伝子フラグメントのコードまたは非コード領域、遺伝子間DNA、連鎖解析から定義された遺伝子座（複数の遺伝子座）、エクソン、イントロン、メッセンジャーRNA (mRNA)、転移RNA、リボソームRNA、低分子干渉RNA (siRNA)、低分子ヘアピン型RNA (shRNA)、マイクロRNA (miRNA)、核小体低分子RNA、リボザイム、メッセンジャーRNA (mRNA) の逆転写または増幅によって通常得られるmRNAのDNA表現である相補的DNA (cDNA)；合成的にまたは増幅により生成されるDNA分子、ゲノムDNA、組み換えポリヌクレオチド、分枝鎖ポリヌクレオチド、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離されたDNA、任意の配列の単離されたRNA、核酸プローブ、およびプライマー。本明細書で言及される遺伝子または遺伝子フラグメントをコードするcDNAは、ゲノム等価配列に介入イントロン配列を含まないエクソン配列をコードする少なくとも1つの領域を含み得る。

10

20

【0017】

GPCRライブラリー

【0018】

本明細書には、Gタンパク質結合受容体 (GPCR) に関連する方法および組成物が提供され、GPCRは、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーに結合する。本明細書に記載されるようなスキャホールドは、GPCR結合ドメインを安定して支持できる。GPCR結合ドメインは、GPCRリガンドおよびGPCRの表面相互作用に基づいて設計され得る。本明細書に記載されるようなライブラリーは、少なくとも1つの予め決められた基準核酸配列の予め決められた変異体を各々がコードする核酸を含む、変異体ライブラリーを提供するために更に多様化 (variegated) され得る。更に本明細書には、核酸ライブラリーの翻訳時に生成され得るタンパク質ライブラリーが記載される。いくつかの例において、本明細書に記載されるような核酸ライブラリーは、細胞ライブラリーを生成するために細胞へと転写される。また本明細書には、本明細書に記載される方法を使用して合成されたライブラリーのための下流の適用が提供される。下流の適用は、生物学的に関連する機能、例えば、改善された安定性、親和性、結合、機能活性を増強した、およびGPCRシグナル伝達に関連する病状の処置または予防のための、変異体核酸またはタンパク質配列の同定を含む。

30

【0019】

スキャホールドライブラリー

【0020】

40

本明細書には、スキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、GPCR結合ドメインのための配列はスキャホールドに配置される。本明細書に記載されるスキャホールドは、未修飾のスキャホールドと比較して、スキャホールドへの挿入時に配列をコードするGPCR結合ドメインの範囲のための安定性の改善を可能にする。典型的なスキャホールドは、限定されないが、タンパク質、ペプチド、免疫グロブリン、それらの誘導体、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの例において、スキャホールドは免疫グロブリンである。本明細書に記載されるようなスキャホールドは、改善された機能活性、構造安定性、発現、特異性、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの例において、スキャホールドはGPCR結合ドメインの支持のために長い領域を含む。

【0021】

50

本明細書には、スキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、スキャホールドは免疫グロブリンである。いくつかの例において、免疫グロブリンは抗体である。本明細書に使用されるように、抗体との用語は、典型的な抗体分子の特徴的な2群のY字形状を有するタンパク質の他、抗原に特異的に結合する能力を持つ抗体の1つ以上のフラグメントを含むと理解される。典型的な抗体は、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二重特異性抗体、多特異性抗体、移植抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、ラクダ化抗体、単一Fv(s c F v)(V LおよびV Hが、V LおよびV Hの領域が対になり単鎖F a bおよびs c F a bを含む形態の単価分子を形成する単一タンパク質鎖としての製造を可能にする合成または天然のリンカーによる組み換え方法を使用して結合される、フラグメントを含む)、単鎖抗体、F a bフラグメント(V L、V H、C L、およびC H 1ドメインを含む単価フラグメントを含む)、F(a b')2フラグメント(ヒンジ領域でのジスルフィド架橋により結合した2つのF a bフラグメントを含む二価フラグメントを含む)、F dフラグメント(V HおよびC H 1フラグメントを含むフラグメントを含む)、F vフラグメント(抗体の単一群のV LおよびV Hドメインを含むフラグメントを含む)、単一ドメイン抗体(d A bまたはs d A b)(V Hドメインを含むフラグメントを含む)、単離された相補性決定領域(C D R)、ダイアボディ(互いに結合され、かつ2つの異なる抗原を認識するための、2つのV LおよびV Hドメインなどの二価の二量体を含むフラグメントを含む)、単一モノマー可変ドメインのみから成るフラグメント、ジスルフィド結合F v(s d F v)、イントラボディ、抗イディオタイプ(抗I d)抗体、またはそれらのa b抗原結合フラグメントを含む。いくつかの例において、本明細書に開示されるライブラリーはスキャホールドをコードする核酸を含み、スキャホールドは、完全抗原認識部位および抗原結合部位を含む最小の抗体フラグメントで構成されたF v抗体を含む、F v抗体である。幾つかの実施形態において、F v抗体は、密な非共有結合会合における1つの重鎖および1つの軽鎖可変ドメインの二量体、および、V H-V L二量体の表面上の抗原結合部位を定めるための各可変ドメイン相互作用の3つの超可変領域から成る。いくつかの実施形態において、6つの超可変領域は抗体に抗原結合特異性を与える。幾つかの実施形態において、単一可変ドメイン(または、V H H抗体またはナノボディなどの1つの重鎖可変ドメインを含むラクダ科動物から単離された単一ドメイン抗体を含む、抗原に特異的なわずか3つの超可変領域のみを含むF vの半分)は、抗原を認識し結合する能力を持つ。いくつかの例において、本明細書に開示されるライブラリーは、スキャホールドをコードする核酸を含み、スキャホールドは、V H、V L、またはV HとV L両方のドメインを含む抗体フラグメントを含む、単鎖F vまたはs c F vであり、両ドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。幾つかの実施形態において、F vポリペプチドは更に、V HドメインとV Lドメインとの間にポリペプチドリナーを含み、s c F vが抗原結合性のために所望の構造を形成するのを可能にする。いくつかの例において、s c F vはF cフラグメントに結合され、または、V H HはF cフラグメント(ミニボディを含む)に結合される。いくつかの例において、抗体は免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性なフラグメント、例えば抗原結合部位を含む分子、を含む。免疫グロブリン分子は、任意のタイプ(例えばI g G、I g E、I g M、I g D、I g A、およびI g Y)、クラス(例えばI g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、およびI g A 2)、またはサブクラスの分子である。

【0022】

スキャホールドをコードする核酸を含む、本明細書に記載されるライブラリーは、免疫グロブリンの少なくとも1つの領域に変形を含み、スキャホールドは免疫グロブリンである。変形のための抗体の典型的な領域は、限定されないが、相補性決定領域(C D R)、可変ドメイン、または定常ドメインを含む。いくつかの例において、C D RはC D R 1、C D R 2、またはC D R 3である。いくつかの例において、C D Rは、C D R-H 1、C D R-H 2、およびC D R-H 3を含むがこれらに限定されない、重ドメインである。いくつかの例において、C D Rは、C D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3を含

むがこれらに限定されない、軽ドメインである。いくつかの例において、可変ドメインは、軽鎖可変（V L）ドメインまたは重鎖可変（V H）ドメインである。いくつかの例において、V Lドメインはカッパまたはラムダの鎖を含む。いくつかの例において、定常ドメインは、軽鎖定常（C L）ドメインまたは重鎖定常（C H）ドメインである。

【0023】

本明細書に記載される方法は、スキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーの合成を提供し、各核酸は少なくとも1つの予め決められた基準核酸配列の予め決められた変異体をコードする。場合によっては、予め決められた基準配列はタンパク質をコードする核酸配列であり、変異体ライブラリーは、合成された核酸によってコードされた後続するタンパク質中の単一の残基の複数の様々な変異体が標準的な翻訳プロセスによって生成されるように、少なくとも1つのコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、スキャホールドライブラリーは、複数の位置にて変異を総体的にコードする変異核酸を含む。いくつかの例において、変異体ライブラリーは、C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、C D R - L 3、V Lドメイン、またはV Hドメインの少なくとも単一のコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、異なるライブラリーは、C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、C D R - L 3、V Lドメイン、またはV Hドメインの複数のコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、異なるライブラリーは、フレームワーク要素1（F W 1）、フレームワーク要素2（F W 2）、フレームワーク要素3（F W 3）、またはフレームワーク要素4（F W 4）の複数のコドンの変異をコードする配列を含む。変異に対するコドンの典型的な数は、限定されないが、少なくともまたは約1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、225、250、275、300、または300を超えるコドンを含む。

【0024】

いくつかの例において、変異に対する免疫グロブリンの少なくとも1つの領域は、重鎖V遺伝子ファミリー、重鎖D遺伝子ファミリー、重鎖J遺伝子ファミリー、軽鎖V遺伝子ファミリー、または軽鎖J遺伝子ファミリーに由来する。いくつかの例において、軽鎖V遺伝子ファミリーは免疫グロブリンカッパ（I G K）遺伝子または免疫グロブリンラムダ（I G L）を含む。典型的な遺伝子には、限定されないが、I G H V 1 - 18、I G H V 1 - 69、I G H V 1 - 8、I G H V 3 - 21、I G H V 3 - 23、I G H V 3 - 30 / 33 r n、I G H V 3 - 28、I G H V 1 - 69、I G H V 3 - 74、I G H V 4 - 39、I G H V 4 - 59 / 61、I G K V 1 - 39、I G K V 1 - 9、I G K V 2 - 28、I G K V 3 - 11、I G K V 3 - 15、I G K V 3 - 20、I G K V 4 - 1、I G L V 1 - 51、およびI G L V 2 - 14が挙げられる。

【0025】

本明細書には、免疫グロブリンスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、ライブラリーは、様々な数のフラグメントにより合成される。いくつかの例において、フラグメントは、C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、C D R - L 3、V Lドメイン、またはV Hドメインを含む。いくつかの例において、フラグメントは、フレームワーク要素1（F W 1）、フレームワーク要素2（F W 2）、フレームワーク要素3（F W 3）、またはフレームワーク要素4（F W 4）を含む。いくつかの例において、スキャホールドライブラリーは、少なくともまたは約2つのフラグメント、3つのフラグメント、4つのフラグメント、5つのフラグメント、または5つを超えるフラグメントにより合成される。合成された核酸の核酸フラグメントの各々の長さ、または核酸の平均長さは、少なくともまたは約50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、または600を超える塩基対でもよい。いくつかの例において、長さは、約50～600、75～575、100～550、125～525、150～500、175～475、200～

450、225～425、250～400、275～375、または300～350の塩基対である。

【0026】

本明細書に記載されるような免疫グロブリンスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーは、翻訳時に様々な長さのアミノ酸を含む。いくつかの例において、合成されたアミノ酸のアミノ酸フラグメントの各々の長さ、またはアミノ酸の平均長さは、少なくともまたは約15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、または150を超えるアミノ酸でもよい。いくつかの例において、アミノ酸の長さは、約15～150、20～145、25～140、30～135、35～130、40～125、45～120、50～115、55～110、60～110、65～105、70～100、または75～95のアミノ酸である。いくつかの例において、アミノ酸の長さは約22～約75のアミノ酸である。いくつかの例において、免疫グロブリンスキャホールドは、少なくともまたは約100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、または5000を超えるアミノ酸を含む。

10

【0027】

変異に対する免疫グロブリンの少なくとも1つの領域の多数の変異体配列は、本明細書に記載されるような方法を使用してデノボ合成される。いくつかの例において、多数の変異体配列は、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、VL、VH、またはそれらの組み合わせに対してデノボ合成される。いくつかの例において、多数の変異体配列は、フレームワーク要素1(FW1)、フレームワーク要素2(FW2)、フレームワーク要素3(FW3)、またはフレームワーク要素4(FW4)に対してデノボ合成される。変異体配列の数は、少なくともまたは約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、または500を超える配列でもよい。いくつかの例において、変異体配列の数は、少なくともまたは約500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、または8000を超える配列である。いくつかの例において、変異体配列の数は、約10～500、25～475、50～450、75～425、100～400、125～375、150～350、175～325、200～300、225～375、250～350、または275～325の配列である。

20

30

【0028】

免疫グロブリンの少なくとも1つの領域の変異体配列は、いくつかの例において、長さまたは配列において変動する。いくつかの例において、デノボ合成される少なくとも1つの領域は、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、VL、VH、またはそれらの組み合わせを対象とする。いくつかの例において、デノボ合成される少なくとも1つの領域は、フレームワーク要素1(FW1)、フレームワーク要素2(FW2)、フレームワーク要素3(FW3)、またはフレームワーク要素4(FW4)を対象とする。いくつかの例において、変異体配列は、野生型と比較して、少なくともまたは約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、または50を超える変異体ヌクレオチドを含む。いくつかの例において、変異体配列は、野生型と比較して、少なくともまたは約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、または50より少ないヌクレオチドを含む。幾つかの例において、ライブラリーは、少なくともまたは約 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、 10^{14} 、 10^{15} 、 10^{16} 、 10^{17} 、 10^{18} 、 10^{19} 、 10^{20} 、 10^{21} 、 10^{22} 、 10^{23} 、 10^{24} 、 10^{25} 、 10^{26} 、 10^{27} 、 10^{28} 、 10^{29} 、 10^{30} 、 10^{31} 、 10^{32} 、 10^{33} 、 10^{34} 、 10^{35} 、 10^{36} 、 10^{37} 、 10^{38} 、 10^{39} 、 10^{40} 、 10^{41} 、 10^{42} 、 10^{43} 、 10^{44} 、 10^{45} 、 10^{46} 、 10^{47} 、 10^{48} 、 10^{49} 、 10^{50} 、 10^{51} 、 10^{52} 、 10^{53} 、 10^{54} 、 10^{55} 、 10^{56} 、 10^{57} 、 10^{58} 、 10^{59} 、 10^{60} 、 10^{61} 、 10^{62} 、 10^{63} 、 10^{64} 、 10^{65} 、 10^{66} 、 10^{67} 、 10^{68} 、 10^{69} 、 10^{70} 、 10^{71} 、 10^{72} 、 10^{73} 、 10^{74} 、 10^{75} 、 10^{76} 、 10^{77} 、 10^{78} 、 10^{79} 、 10^{80} 、 10^{81} 、 10^{82} 、 10^{83} 、 10^{84} 、 10^{85} 、 10^{86} 、 10^{87} 、 10^{88} 、 10^{89} 、 10^{90} 、 10^{91} 、 10^{92} 、 10^{93} 、 10^{94} 、 10^{95} 、 10^{96} 、 10^{97} 、 10^{98} 、 10^{99} 、 10^{100} 、 10^{101} 、 10^{102} 、 10^{103} 、 10^{104} 、 10^{105} 、 10^{106} 、 10^{107} 、 10^{108} 、 10^{109} 、 10^{110} 、 10^{111} 、 10^{112} 、 10^{113} 、 10^{114} 、 10^{115} 、 10^{116} 、 10^{117} 、 10^{118} 、 10^{119} 、 10^{120} 、 10^{121} 、 10^{122} 、 10^{123} 、 10^{124} 、 10^{125} 、 10^{126} 、 10^{127} 、 10^{128} 、 10^{129} 、 10^{130} 、 10^{131} 、 10^{132} 、 10^{133} 、 10^{134} 、 10^{135} 、 10^{136} 、 10^{137} 、 10^{138} 、 10^{139} 、 10^{140} 、 10^{141} 、 10^{142} 、 10^{143} 、 10^{144} 、 10^{145} 、 10^{146} 、 10^{147} 、 10^{148} 、 10^{149} 、 10^{150} 、 10^{151} 、 10^{152} 、 10^{153} 、 10^{154} 、 10^{155} 、 10^{156} 、 10^{157} 、 10^{158} 、 10^{159} 、 10^{160} 、 10^{161} 、 10^{162} 、 10^{163} 、 10^{164} 、 10^{165} 、 10^{166} 、 10^{167} 、 10^{168} 、 10^{169} 、 10^{170} 、 10^{171} 、 10^{172} 、 10^{173} 、 10^{174} 、 10^{175} 、 10^{176} 、 10^{177} 、 10^{178} 、 10^{179} 、 10^{180} 、 10^{181} 、 10^{182} 、 10^{183} 、 10^{184} 、 10^{185} 、 10^{186} 、 10^{187} 、 10^{188} 、 10^{189} 、 10^{190} 、 10^{191} 、 10^{192} 、 10^{193} 、 10^{194} 、 10^{195} 、 10^{196} 、 10^{197} 、 10^{198} 、 10^{199} 、 10^{200} 、 10^{201} 、 10^{202} 、 10^{203} 、 10^{204} 、 10^{205} 、 10^{206} 、 10^{207} 、 10^{208} 、 10^{209} 、 10^{210} 、 10^{211} 、 10^{212} 、 10^{213} 、 10^{214} 、 10^{215} 、 10^{216} 、 10^{217} 、 10^{218} 、 10^{219} 、 10^{220} 、 10^{221} 、 10^{222} 、 10^{223} 、 10^{224} 、 10^{225} 、 10^{226} 、 10^{227} 、 10^{228} 、 10^{229} 、 10^{230} 、 10^{231} 、 10^{232} 、 10^{233} 、 10^{234} 、 10^{235} 、 10^{236} 、 10^{237} 、 10^{238} 、 10^{239} 、 10^{240} 、 10^{241} 、 10^{242} 、 10^{243} 、 10^{244} 、 10^{245} 、 10^{246} 、 10^{247} 、 10^{248} 、 10^{249} 、 10^{250} 、 10^{251} 、 10^{252} 、 10^{253} 、 10^{254} 、 10^{255} 、 10^{256} 、 10^{257} 、 10^{258} 、 10^{259} 、 10^{260} 、 10^{261} 、 10^{262} 、 10^{263} 、 10^{264} 、 10^{265} 、 10^{266} 、 10^{267} 、 10^{268} 、 10^{269} 、 10^{270} 、 10^{271} 、 10^{272} 、 10^{273} 、 10^{274} 、 10^{275} 、 10^{276} 、 10^{277} 、 10^{278} 、 10^{279} 、 10^{280} 、 10^{281} 、 10^{282} 、 10^{283} 、 10^{284} 、 10^{285} 、 10^{286} 、 10^{287} 、 10^{288} 、 10^{289} 、 10^{290} 、 10^{291} 、 10^{292} 、 10^{293} 、 10^{294} 、 10^{295} 、 10^{296} 、 10^{297} 、 10^{298} 、 10^{299} 、 10^{300} 、 10^{301} 、 10^{302} 、 10^{303} 、 10^{304} 、 10^{305} 、 10^{306} 、 10^{307} 、 10^{308} 、 10^{309} 、 10^{310} 、 10^{311} 、 10^{312} 、 10^{313} 、 10^{314} 、 10^{315} 、 10^{316} 、 10^{317} 、 10^{318} 、 10^{319} 、 10^{320} 、 10^{321} 、 10^{322} 、 10^{323} 、 10^{324} 、 10^{325} 、 10^{326} 、 10^{327} 、 10^{328} 、 10^{329} 、 10^{330} 、 10^{331} 、 10^{332} 、 10^{333} 、 10^{334} 、 10^{335} 、 10^{336} 、 10^{337} 、 10^{338} 、 10^{339} 、 10^{340} 、 10^{341} 、 10^{342} 、 10^{343} 、 10^{344} 、 10^{345} 、 10^{346} 、 10^{347} 、 10^{348} 、 10^{349} 、 10^{350} 、 10^{351} 、 10^{352} 、 10^{353} 、 10^{354} 、 10^{355} 、 10^{356} 、 10^{357} 、 10^{358} 、 10^{359} 、 10^{360} 、 10^{361} 、 10^{362} 、 10^{363} 、 10^{364} 、 10^{365} 、 10^{366} 、 10^{367} 、 10^{368} 、 10^{369} 、 10^{370} 、 10^{371} 、 10^{372} 、 10^{373} 、 10^{374} 、 10^{375} 、 10^{376} 、 10^{377} 、 10^{378} 、 10^{379} 、 10^{380} 、 10^{381} 、 10^{382} 、 10^{383} 、 10^{384} 、 10^{385} 、 10^{386} 、 10^{387} 、 10^{388} 、 10^{389} 、 10^{390} 、 10^{391} 、 10^{392} 、 10^{393} 、 10^{394} 、 10^{395} 、 10^{396} 、 10^{397} 、 10^{398} 、 10^{399} 、 10^{400} 、 10^{401} 、 10^{402} 、 10^{403} 、 10^{404} 、 10^{405} 、 10^{406} 、 10^{407} 、 10^{408} 、 10^{409} 、 10^{410} 、 10^{411} 、 10^{412} 、 10^{413} 、 10^{414} 、 10^{415} 、 10^{416} 、 10^{417} 、 10^{418} 、 10^{419} 、 10^{420} 、 10^{421} 、 10^{422} 、 10^{423} 、 10^{424} 、 10^{425} 、 10^{426} 、 10^{427} 、 10^{428} 、 10^{429} 、 10^{430} 、 10^{431} 、 10^{432} 、 10^{433} 、 10^{434} 、 10^{435} 、 10^{436} 、 10^{437} 、 10^{438} 、 10^{439} 、 10^{440} 、 10^{441} 、 10^{442} 、 10^{443} 、 10^{444} 、 10^{445} 、 10^{446} 、 10^{447} 、 10^{448} 、 10^{449} 、 10^{450} 、 10^{451} 、 10^{452} 、 10^{453} 、 10^{454} 、 10^{455} 、 10^{456} 、 10^{457} 、 10^{458} 、 10^{459} 、 10^{460} 、 10^{461} 、 10^{462} 、 10^{463} 、 10^{464} 、 10^{465} 、 10^{466} 、 10^{467} 、 10^{468} 、 10^{469} 、 10^{470} 、 10^{471} 、 10^{472} 、 10^{473} 、 10^{474} 、 10^{475} 、 10^{476} 、 10^{477} 、 10^{478} 、 10^{479} 、 10^{480} 、 10^{481} 、 10^{482} 、 10^{483} 、 10^{484} 、 10^{485} 、 10^{486} 、 10^{487} 、 10^{488} 、 10^{489} 、 10^{490} 、 10^{491} 、 10^{492} 、 10^{493} 、 10^{494} 、 10^{495} 、 10^{496} 、 10^{497} 、 10^{498} 、 10^{499} 、 10^{500} 、 10^{501} 、 10^{502} 、 10^{503} 、 10^{504} 、 10^{505} 、 10^{506} 、 10^{507} 、 10^{508} 、 10^{509} 、 10^{510} 、 10^{511} 、 10^{512} 、 10^{513} 、 10^{514} 、 10^{515} 、 10^{516} 、 10^{517} 、 10^{518} 、 10^{519} 、 10^{520} 、 10^{521} 、 10^{522} 、 10^{523} 、 10^{524} 、 10^{525} 、 10^{526} 、 10^{527} 、 10^{528} 、 10^{529} 、 10^{530} 、 10^{531} 、 10^{532} 、 10^{533} 、 10^{534} 、 10^{535} 、 10^{536} 、 10^{537} 、 10^{538} 、 10^{539} 、 10^{540} 、 10^{541} 、 10^{542} 、 10^{543} 、 10^{544} 、 10^{545} 、 10^{546} 、 10^{547} 、 10^{548} 、 10^{549} 、 10^{550} 、 10^{551} 、 10^{552} 、 10^{553} 、 10^{554} 、 10^{555} 、 10^{556} 、 10^{557} 、 10^{558} 、 10^{559} 、 10^{560} 、 10^{561} 、 10^{562} 、 10^{563} 、 10^{564} 、 10^{565} 、 10^{566} 、 10^{567} 、 10^{568} 、 10^{569} 、 10^{570} 、 10^{571} 、 10^{572} 、 10^{573} 、 10^{574} 、 10^{575} 、 10^{576} 、 10^{577} 、 10^{578} 、 10^{579} 、 10^{580} 、 10^{581} 、 10^{582} 、 10^{583} 、 10^{584} 、 10^{585} 、 10^{586} 、 10^{587} 、 10^{588} 、 10^{589} 、 10^{590} 、 10^{591} 、 10^{592} 、 10^{593} 、 10^{594} 、 10^{595} 、 10^{596} 、 10^{597} 、 10^{598} 、 10^{599} 、 10^{600} 、 10^{601} 、 10^{602} 、 10^{603} 、 10^{604} 、 10^{605} 、 10^{606} 、 10^{607} 、 10^{608} 、 10^{609} 、 10^{610} 、 10^{611} 、 10^{612} 、 10^{613} 、 10^{614} 、 10^{615} 、 10^{616} 、 10^{617} 、 10^{618} 、 10^{619} 、 10^{620} 、 10^{621} 、 10^{622} 、 10^{623} 、 10^{624} 、 10^{625} 、 10^{626} 、 10^{627} 、 10^{628} 、 10^{629} 、 10^{630} 、 10^{631} 、 10^{632} 、 10^{633} 、 10^{634} 、 10^{635} 、 10^{636} 、 10^{637} 、 10^{638} 、 10^{639} 、 10^{640} 、 10^{641} 、 10^{642} 、 10^{643} 、 10^{644} 、 10^{645} 、 10^{646} 、 10^{647} 、 10^{648} 、 10^{649} 、 10^{650} 、 10^{651} 、 10^{652} 、 10^{653} 、 10^{654} 、 10^{655} 、 10^{656} 、 10^{657} 、 10^{658} 、 10^{659} 、 10^{660} 、 10^{661} 、 10^{662} 、 10^{663} 、 10^{664} 、 10^{665} 、 10^{666} 、 10^{667} 、 10^{668} 、 10^{669} 、 10^{670} 、 10^{671} 、 10^{672} 、 10^{673} 、 10^{674} 、 10^{675} 、 10^{676} 、 10^{677} 、 10^{678} 、 10^{679} 、 10^{680} 、 10^{681} 、 10^{682} 、 10^{683} 、 10^{684} 、 10^{685} 、 10^{686} 、 10^{687} 、 10^{688} 、 10^{689} 、 10^{690} 、 10^{691} 、 10^{692} 、 10^{693} 、 10^{694} 、 10^{695} 、 10^{696} 、 10^{697} 、 10^{698} 、 10^{699} 、 10^{700} 、 10^{701} 、 10^{702} 、 10^{703} 、 10^{704} 、 10^{705} 、 10^{706} 、 10^{707} 、 10^{708} 、 10^{709} 、 10^{710} 、 10^{711} 、 10^{712} 、 10^{713} 、 10^{714} 、 10^{715} 、 10^{716} 、 10^{717} 、 10^{718} 、 10^{719} 、 10^{720} 、 10^{721} 、 10^{722} 、 10^{723} 、 10^{724} 、 10^{725} 、 10^{726} 、 10^{727} 、 10^{728} 、 10^{729} 、 10^{730} 、 10^{731} 、 10^{732} 、 10^{733} 、 10^{734} 、 10^{735} 、 10^{736} 、 10^{737} 、 10^{738} 、 10^{739} 、 10^{740} 、 10^{741} 、 10^{742} 、 10^{743} 、 10^{744} 、 10^{745} 、 10^{746} 、 10^{747} 、 10^{748} 、 10^{749} 、 10^{750} 、 10^{751} 、 10^{752} 、 10^{753} 、 10^{754} 、 10^{755} 、 10^{756} 、 10^{757} 、 10^{758} 、 10^{759} 、 10^{760} 、 10^{761} 、 10^{762} 、 10^{763} 、 10^{764} 、 10^{765} 、 10^{766} 、 10^{767} 、 10^{768} 、 10^{769} 、 10^{770} 、 10^{771} 、 10^{772} 、 10^{773} 、 10^{774} 、 10^{775} 、 10^{776} 、 10^{777} 、 10^{778} 、 10^{779} 、 10^{780} 、 10^{781} 、 10^{782} 、 10^{783} 、 10^{784} 、 10^{785} 、 10^{786} 、 10^{787} 、 10^{788} 、 10^{789} 、 10^{790} 、 10^{791} 、 10^{792} 、 10^{793} 、 10^{794} 、 10^{795} 、 10^{796} 、 10^{797} 、 10^{798} 、 10^{799} 、 10^{800} 、 10^{801} 、 10^{802} 、 10^{803} 、 10^{804} 、 10^{805} 、 10^{806} 、 10^{807} 、 10^{808} 、 10^{809} 、 10^{810} 、 10^{811} 、 10^{812} 、 10^{813} 、 10^{814} 、 10^{815} 、 10^{816} 、 10^{817} 、 10^{818} 、 10^{819} 、 10^{820} 、 10^{821} 、 10^{822} 、 10^{823} 、 10^{824} 、 10^{825} 、 10^{826} 、 10^{827} 、 10^{828} 、 10^{829} 、 10^{830} 、 10^{831} 、 10^{832} 、 10^{833} 、 $10^{834}</$

⁵、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、または 10^{10} を超える変異体を含む。

【0029】

スキャホールドライブラリーの合成後、スキャホールドライブラリーはスクリーニングおよび解析のために使用され得る。例えば、スキャホールドライブラリーは、ライブラリーの表示能力 (displayability) およびパニングのために解析される。いくつかの例において、表示能力は選択可能なタグを使用して解析される。典型的なタグは、限定されないが、放射性ラベル、蛍光標識、酵素、化学発光タグ、比色定量タグ、アフィニティタグ、または、その他当技術分野で既知のラベルまたはタグを含む。いくつかの例では、タグはヒスチジン、ポリヒスチジン、myc、赤血球凝集素 (HA)、または FLA G である。いくつかの例において、スキャホールドライブラリーは、単一分子リアルタイム (SMRT) シーケンシング、ポロニーシーケンシング、ライゲーションシーケンシング、可逆的ターミネーターシーケンシング、プロトン検出シーケンシング、イオン半導体シーケンシング、ナノポアシーケンシング、電子シーケンシング、パイロシーケンシング、マクサム - ギルバートシーケンシング、連鎖停止 (例えばサンガー) シーケンシング、+S シーケンシング、または合成によるシーケンシングを含むがこれらに限定されない、様々な方法を使用した配列決定により解析される。

10

【0030】

いくつかの例において、スキャホールドライブラリーは、機能的活性、構造安定性 (例えば熱安定性または pH 安定性)、発現、特異性、またはそれらの組み合わせのために解析される。いくつかの例において、スキャホールドライブラリーは、フォールディング可能なスキャホールドのために解析される。いくつかの例において、抗体の領域は、機能的活性、構造安定性、発現、特異性、フォールディング、またはそれらの組み合わせのために解析される。例えば、VH 領域または VL 領域は、機能的活性、構造安定性、発現、特異性、フォールディング、またはそれらの組み合わせのために解析される。

20

【0031】

GPCR ライブラリー

【0032】

本明細書には、GPCR 結合ドメインのための配列を含むスキャホールドをコードする核酸を含む、Gタンパク質結合受容体 (GPCR) 結合ライブラリーが提供される。いくつかの例において、スキャホールドは免疫グロブリンである。いくつかの例において、GPCR 結合ドメインのための配列を含むスキャホールドは、GPCR 結合ドメインと GPCR との相互作用により判定される。

30

【0033】

本明細書には、GPCR 結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、GPCR 結合ドメインは GPCR 上での表面相互作用に基づいて設計される。典型的な GPCR が表 1 にて確認される。いくつかの例において、GPCR 結合ドメインは、GPCR のアミノ末端またはカルボキシ末端と相互に作用する。いくつかの例において、GPCR 結合ドメインは、膜貫通ドメイン 1 (TM1)、膜貫通ドメイン 2 (TM2)、膜貫通ドメイン 3 (TM3)、膜貫通ドメイン 4 (TM4)、膜貫通ドメイン 5 (TM5)、膜貫通ドメイン 6 (TM6)、および膜貫通ドメイン 7 (TM7) を含むがこれらに限定されない、少なくとも 1 つの膜貫通ドメインと相互に作用する。いくつかの例において、GPCR 結合ドメインは、GPCR の細胞内表面と相互に作用する。例えば、GPCR 結合ドメインは、細胞内ループ 1 (ICL1)、細胞内ループ 2 (ICL2)、および細胞内ループ 3 (ICL3) を含むがこれらに限定されない、少なくとも 1 つの細胞内ループと相互に作用する。いくつかの例において、GPCR 結合ドメインは、GPCR の細胞外表面と相互に作用する。図 1 を参照する。例えば、GPCR 結合ドメインは、GPCR の少なくとも 1 つの細胞外ドメイン (ECD) または細胞外ループ (ECL) と相互に作用する。細胞外ループには、限定されないが、細胞外ループ 1 (ECL1)、細胞外ループ 2 (ECL2)、および細胞外ループ 3 (ECL3) が挙げられる

40

50

°
【 0 0 3 4 】

【表 1 - 1】

表 1. GPCR のリスト

GPCR	遺伝子名	割り当て番号
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 1A	HTR1A	P08908
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 1B	HTR1B	P28222
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 1D	HTR1D	P28221
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 1E	HTR1E	P28566
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 1F	HTR1F	P30939
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 2A	HTR2A	P28223
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 2B	HTR2B	P41595
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 2C	HTR2C	P28335
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 4	HTR4	Q13639
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 5A	HTR5A	P47898
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体 6	HTR6	P50406
5-ヒドロキシトリプトアミン受容体	HTR7	P34969
アデノシン受容体 A1	ADORA1	P30542
アデノシン受容体 A2a	ADORA2A	P29274
アデノシン受容体 A2b	ADORA2B	P29275
アデノシン A3 受容体	ADORA3	P33765
ムスカリン性アセチルコリン 受容体 M1	CHRM1	P11229
ムスカリン性アセチルコリン 受容体 M2	CHRM2	P08172
ムスカリン性アセチルコリン 受容体 M3	CHRM3	P20309
ムスカリン性アセチルコリン 受容体 M4	CHRM4	P08173
ムスカリン性アセチルコリン 受容体 M5	CHRM5	P08912
副腎皮質刺激ホルモン 受容体	MC2R	Q01718
α -1A アドレナリン 受容体	ADRA1A	P35348
α -1B アドレナリン 受容体	ADRA1B	P35368
α -1D アドレナリン 受容体	ADRA1D	P25100
α -2A アドレナリン 受容体	ADRA2A	P08913
α -2B アドレナリン 受容体	ADRA2B	P18089
α -2C アドレナリン 受容体	ADRA2C	P18825
β -1 アドレナリン 受容体	ADRB1	P08588
β -2 アドレナリン 受容体	ADRB2	P07550
β -3 アドレナリン 受容体	ADRB3	P13945
1 型アデノシン II 受容体	AGTR1	P30556
ダッフィー抗原/ケモカイン 受容体	DARC	Q16570
エンドセリン-1 受容体	EDNRA	P25101
エンドセリン B 受容体	EDNRB	P24530
N-ホルミルペプチド 受容体 2	FPR2	P25090
濾胞刺激ホルモン受容体	FSHR	P23945
ガラニン 受容体 1 型	GALR1	P47211
ガラニン 受容体 2 型	GALR2	O43603
ガラニン 受容体 3 型	GALR3	O60755

10

20

30

40

【表 1 - 2】

ガストリン/コレシストキニン B 型受容体	CCKBR	P32239
性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体	GNRHR	P30968
推定の性腺刺激ホルモン放出ホルモン II 受容体	GNRHR2	Q96P88
G-タンパク質結合エストロゲン受容体 1	GPER	Q99527
ウラシルヌクレオチド/システイニルロイコトリエン受容体	GPR17	Q13304
推定の G-タンパク質結合受容体 44	GPR44	Q9Y5Y4
G-タンパク質結合受容体 55	GPR55	Q9Y2T6
ガストリン放出ペプチド受容体	GRPR	P30550
ヒスタミン H1 受容体	HRH1	P35367
ヒスタミン H2 受容体	HRH2	P25021
ヒスタミン H3 受容体	HRH3	Q9Y5N1
ヒスタミン H4 受容体	HRH4	Q9H3N8
KISS-1 受容体	KISS1R	Q969F8
リゾホスファチジン酸受容体 1	LPAR1	Q92633
リゾホスファチジン酸受容体 2	LPAR2	Q9HBW0
リゾホスファチジン酸受容体 3	LPAR3	Q9UBY5
リゾホスファチジン酸受容体 4	LPAR4	Q99677
リゾホスファチジン酸受容体 6	LPAR6	P43657
ルトロピン・コリオゴナドトロピンホルモン受容体	LHCGR	P22888
ロイコトリエン B4 受容体 1	LTB4R	Q15722
ロイコトリエン B4 受容体 2	LTB4R2	Q9NPC1
メラノコルチン 受容体 3	MC3R	P41968
メラノコルチン 受容体 4	MC4R	P32245
メラノコルチン 受容体 5	MC5R	P33032
嗅覚受容体 10G9	OR10G9	Q8NGN4
嗅覚受容体 10H1	OR10H1	Q9Y4A9
嗅覚受容体 10H2	OR10H2	O60403
嗅覚受容体 10H3	OR10H3	O60404
嗅覚受容体 10H4	OR10H4	Q8NGA5
嗅覚受容体 10H5	OR10H5	Q8NGA6
嗅覚受容体 10J1	OR10J1	P30954
嗅覚受容体 10J3	OR10J3	Q5JRS4
嗅覚受容体 10J5	OR10J5	Q8NHC4
嗅覚受容体 10K1	OR10K1	Q8NGX5
嗅覚受容体 10K2	OR10K2	Q6IF99
嗅覚受容体 10P1	OR10P1	Q8NGE3
嗅覚受容体 10Q1	OR10Q1	Q8NGQ4
嗅覚受容体 10R2	OR10R2	Q8NGX6
嗅覚受容体 10S1	OR10S1	Q8NGN2
嗅覚受容体 10T2	OR10T2	Q8NGX3

【表 1 - 3】

嗅覚受容体 10V1	OR10V1	Q8NGI7
嗅覚受容体 10W1	OR10W1	Q8NGF6
嗅覚受容体 14A2	OR14A2	Q96R54
嗅覚受容体 14C36	OR14C36	Q8NHC7
嗅覚受容体 14I1	OR14I1	A6ND48
嗅覚受容体 14J1	OR14J1	Q9UGF5
嗅覚受容体 14K1	OR14K1	Q8NGZ2
嗅覚受容体 2A12	OR2A12	Q8NGT7
嗅覚受容体 2A14	OR2A14	Q96R47
嗅覚受容体 2A25	OR2A25	A4D2G3
嗅覚受容体 2AG1	OR2AG1	Q9H205
嗅覚受容体 2AG2	OR2AG2	A6NM03
嗅覚受容体 2AJ1	OR2AJ1	Q8NGZ0
嗅覚受容体 2AK2	OR2AK2	Q8NG84
嗅覚受容体 2AP1	OR2AP1	Q8NGE2
嗅覚受容体 2AT4	OR2AT4	A6NND4
嗅覚受容体 51I2	OR51I2	Q9H344
嗅覚受容体 51J1	OR51J1	Q9H342
嗅覚受容体 51L1	OR51L1	Q8NGJ5
嗅覚受容体 51M1	OR51M1	Q9H341
嗅覚受容体 51Q1	OR51Q1	Q8NH59
嗅覚受容体 51S1	OR51S1	Q8NGJ8
嗅覚受容体 51T1	OR51T1	Q8NGJ9
嗅覚受容体 51V1	OR51V1	Q9H2C8
嗅覚受容体 52A1	OR52A1	Q9UKL2
嗅覚受容体 52A5	OR52A5	Q9H2C5
嗅覚受容体 52B2	OR52B2	Q96RD2
嗅覚受容体 52B4	OR52B4	Q8NGK2
嗅覚受容体 52B6	OR52B6	Q8NGF0
嗅覚受容体 52D1	OR52D1	Q9H346
嗅覚受容体 52E2	OR52E2	Q8NGJ4
嗅覚受容体 52E4	OR52E4	Q8NGH9
嗅覚受容体 52E5	OR52E5	Q8NH55
嗅覚受容体 52E6	OR52E6	Q96RD3
嗅覚受容体 52E8	OR52E8	Q6IFG1
嗅覚受容体 52H1	OR52H1	Q8NGJ2
嗅覚受容体 52I1	OR52I1	Q8NGK6
嗅覚受容体 52I2	OR52I2	Q8NH67
嗅覚受容体 52K1	OR52K1	Q8NGK4
嗅覚受容体 52K2	OR52K2	Q8NGK3
嗅覚受容体 52L1	OR52L1	Q8NGH7
嗅覚受容体 52M1	OR52M1	Q8NGK5

【表 1 - 4】

嗅覚受容体 52N1	OR52N1	Q8NH53
嗅覚受容体 52N2	OR52N2	Q8NGI0
嗅覚受容体 52N4	OR52N4	Q8NGI2
嗅覚受容体 52N5	OR52N5	Q8NH56
嗅覚受容体 52R1	OR52R1	Q8NGF1
嗅覚受容体 52W1	OR52W1	Q6IF63
赤型オプシン	OPN1LW	P04000
視覚ピグメント様受容体ペロプシン	RRH	O14718
嗅覚受容体 1A1	OR1A1	Q9P1Q5
嗅覚受容体 1A2	OR1A2	Q9Y585
嗅覚受容体 1B1	OR1B1	Q8NGR6
嗅覚受容体 1C1	OR1C1	Q15619
嗅覚受容体 1D2	OR1D2	P34982
嗅覚受容体 1F1	OR1F1	O43749
嗅覚受容体 1F12	OR1F12	Q8NHA8
嗅覚受容体 1G1	OR1G1	P47890
嗅覚受容体 1I1	OR1I1	O60431
嗅覚受容体 1J1	OR1J1	Q8NGS3
嗅覚受容体 1J2	OR1J2	Q8NGS2
嗅覚受容体 1J4	OR1J4	Q8NGS1
嗅覚受容体 1K1	OR1K1	Q8NGR3
嗅覚受容体 1L1	OR1L1	Q8NH94
嗅覚受容体 1L3	OR1L3	Q8NH93
嗅覚受容体 1L4	OR1L4	Q8NGR5
嗅覚受容体 1L6	OR1L6	Q8NGR2
嗅覚受容体 1L8	OR1L8	Q8NGR8
嗅覚受容体 1M1	OR1M1	Q8NGA1
嗅覚受容体 1N1	OR1N1	Q8NGS0
嗅覚受容体 1N2	OR1N2	Q8NGR9
嗅覚受容体 1Q1	OR1Q1	Q15612
嗅覚受容体 1S1	OR1S1	Q8NH92
嗅覚受容体 1S2	OR1S2	Q8NGQ3
嗅覚受容体 2A2	OR2A2	Q6IF42
嗅覚受容体 2A4	OR2A4	O95047
嗅覚受容体 2B2	OR2B2	Q9GZK3
推定の嗅覚受容体 2B3	OR2B3	O76000
嗅覚受容体 2B6	OR2B6	P58173
推定の嗅覚受容体 2B8	OR2B8P	P59922
嗅覚受容体 2T5	OR2T5	Q6IEZ7
嗅覚受容体 2T6	OR2T6	Q8NHC8
嗅覚受容体 2T8	OR2T8	A6NH00
嗅覚受容体 2V1	OR2V1	Q8NHB1

【表 1 - 5】

嗅覚受容体 2V2	OR2V2	Q96R30
嗅覚受容体 2W1	OR2W1	Q9Y3N9
嗅覚受容体 2W3	OR2W3	Q7Z3T1
嗅覚受容体 2Y1	OR2Y1	Q8NGV0
嗅覚受容体 2Z1	OR2Z1	Q8NG97
嗅覚受容体 3A1	OR3A1	P47881
嗅覚受容体 3A2	OR3A2	P47893
嗅覚受容体 3A3	OR3A3	P47888
嗅覚受容体 3A4	OR3A4	P47883
推定の嗅覚受容体 4A4	OR4A4P	Q8NGN8
嗅覚受容体 4A5	OR4A5	Q8NH83
嗅覚受容体 4A8	OR4A8P	P0C604
嗅覚受容体 4B1	OR4B1	Q8NGF8
嗅覚受容体 4C3	OR4C3	Q8NH37
嗅覚受容体 4C5	OR4C5	Q8NGB2
嗅覚受容体 4C6	OR4C6	Q8NH72
嗅覚受容体 4C11	OR4C11	Q6IEV9
嗅覚受容体 4C12	OR4C12	Q96R67
嗅覚受容体 4C13	OR4C13	Q8NGP0
嗅覚受容体 4C15	OR4C15	Q8NGM1
嗅覚受容体 4C16	OR4C16	Q8NGL9
嗅覚受容体 4D1	OR4D1	Q15615
嗅覚受容体 4D2	OR4D2	P58180
嗅覚受容体 4D5	OR4D5	Q8NGN0
嗅覚受容体 4D6	OR4D6	Q8NGJ1
嗅覚受容体 4D9	OR4D9	Q8NGE8
嗅覚受容体 4D10	OR4D10	Q8NGI6
嗅覚受容体 4D11	OR4D11	Q8NGI4
嗅覚受容体 5B17	OR5B17	Q8NGF7
嗅覚受容体 5B21	OR5B21	A6NL26
嗅覚受容体 5C1	OR5C1	Q8NGR4
嗅覚受容体 5D13	OR5D13	Q8NGL4
嗅覚受容体 5D14	OR5D14	Q8NGL3
嗅覚受容体 5D16	OR5D16	Q8NGK9
嗅覚受容体 5D18	OR5D18	Q8NGL1
嗅覚受容体 5F1	OR5F1	O95221
嗅覚受容体 5H1	OR5H1	A6NKK0
嗅覚受容体 5H2	OR5H2	Q8NGV7
嗅覚受容体 5H6	OR5H6	Q8NGV6
嗅覚受容体 5I1	OR5I1	Q13606
嗅覚受容体 5J2	OR5J2	Q8NH18
嗅覚受容体 5K1	OR5K1	Q8NHB7

10

20

30

40

【表 1 - 6】

嗅覚受容体 5K2	OR5K2	Q8NHB8
嗅覚受容体 5K3	OR5K3	A6NET4
嗅覚受容体 5K4	OR5K4	A6NMS3
嗅覚受容体 5L1	OR5L1	Q8NGL2
嗅覚受容体 5L2	OR5L2	Q8NGL0
嗅覚受容体 5M1	OR5M1	Q8NGP8
嗅覚受容体 5M3	OR5M3	Q8NGP4
嗅覚受容体 5M8	OR5M8	Q8NGP6
嗅覚受容体 5M9	OR5M9	Q8NGP3
嗅覚受容体 5M10	OR5M10	Q6IEU7
嗅覚受容体 5M11	OR5M11	Q96RB7
嗅覚受容体 5P2	OR5P2	Q8WZ92
嗅覚受容体 5P3	OR5P3	Q8WZ94
嗅覚受容体 5R1	OR5R1	Q8NH85
嗅覚受容体 5T1	OR5T1	Q8NG75
嗅覚受容体 5T2	OR5T2	Q8NGG2
嗅覚受容体 5T3	OR5T3	Q8NGG3
嗅覚受容体 5W2	OR5W2	Q8NH69
嗅覚受容体 7G3	OR7G3	Q8NG95
嗅覚受容体 8A1	OR8A1	Q8NGG7
嗅覚受容体 8B3	OR8B3	Q8NGG8
嗅覚受容体 8B4	OR8B4	Q96RC9
嗅覚受容体 8B8	OR8B8	Q15620
嗅覚受容体 8B12	OR8B12	Q8NGG6
嗅覚受容体 8D1	OR8D1	Q8WZ84
嗅覚受容体 8D2	OR8D2	Q9GZM6
嗅覚受容体 8D4	OR8D4	Q8NGM9
オレキシン 受容体 1 型	HCRTR1	O43613
オレキシン 受容体 2 型	HCRTR2	O43614
オキソエイコサノイド受容体 1	OXER1	Q8TDS5
オキシトシン受容体	OXTR	P30559
P2Y プリン受容体 1	P2RY1	P47900
P2Y プリン受容体 2	P2RY2	P41231
P2Y プリン受容体 4	P2RY4	P51582
P2Y プリン受容体 6	P2RY6	Q15077
P2Y プリン受容体 8	P2RY8	Q86VZ1
推定の P2Y プリン受容体 10	P2RY10	O00398
P2Y プリン受容体 11	P2RY11	Q96G91
P2Y プリン受容体 12	P2RY12	Q9H244
P2Y プリン受容体 13	P2RY13	Q9BPV8
P2Y プリン受容体 14	P2RY14	Q15391
プロテインナーゼ活性化受容体 1	F2R	P25116

【表 1 - 7】

プロテイナーゼ活性化 受容体 2	F2RL1	P55085
プロテイナーゼ活性化 受容体 3	F2RL2	O00254
プロテイナーゼ活性化 受容体 4	F2RL3	Q96RI0
プロスタグランジン D2 受容体	PTGDR	Q13258
プロスタグランジン E2 受容体 EP1 サブタイプ	PTGER1	P34995
プロスタグランジン E2 受容体 EP2 サブタイプ	PTGER2	P43116
プロスタグランジン E2 受容体 EP3 サブタイプ	PTGER3	P43115
プロスタグランジン E2 受容体 EP4 サブタイプ	PTGER4	P35408
2 型アンジオテンシン II 受容体 (AT2)	AGTR2	P50052
アペリン受容体	APLNR	P35414
B1 ブラジキニン受容体	BDKRB1	P46663
B2 ブラジキニン受容体	BDKRB2	P30411
C5a アナフィラトキシン走化性受容体	C5AR1	P21730
コレシストキニン受容体 A 型	CCKAR	P32238
C-C ケモカイン 受容体 10 型	CCR10	P46092
C-C ケモカイン 受容体 1 型	CCR1	P32246
C-C ケモカイン 受容体 2 型	CCR2	P41597
C-C ケモカイン 受容体 3 型	CCR3	P51677
C-C ケモカイン 受容体 4 型	CCR4	P51679
C-C ケモカイン 受容体 5 型	CCR5	P51681
C-C ケモカイン 受容体 6 型	CCR6	P51684
C-C ケモカイン 受容体 7 型	CCR7	P32248
C-C ケモカイン 受容体 8 型	CCR8	P51685
C-C ケモカイン 受容体 9 型	CCR9	P51686
システニルロイコトリエン 受容体 1	CYSLTR1	Q9Y271
システニルロイコトリエン 受容体 2	CYSLTR2	Q9NS75
カンナビノイド 受容体 1	CNR1	P21554
カンナビノイド 受容体 2	CNR2	P34972
CX3C ケモカイン 受容体 1	CX3CR1	P49238
高親和性インターロイキン-8 受容体 A	IL8RA	P25024
高親和性インターロイキン-8 受容体 B	IL8RB	P25025
C-X-C ケモカイン 受容体 3 型	CXCR3	P49682
C-X-C ケモカイン 受容体 4 型	CXCR4	P61073
C-X-C ケモカイン 受容体 6 型	CXCR6	O00574
C-X-C ケモカイン 受容体 7 型	CXCR7	P25106
D(1A) ドーパミン 受容体	DRD1	P21728
D(2) ドーパミン 受容体	DRD2	P14416
D(3) ドーパミン 受容体	DRD3	P35462
D(4) ドーパミン 受容体	DRD4	P21917

【表 1 - 8】

D(1B) ドーパミン受容体	DRD5	P21918
メラノサイト刺激ホルモン受容体	MC1R	Q01726
メラトニン受容体 1A 型	MTNR1A	P48039
メラトニン受容体 1B 型	MTNR1B	P49286
サブスタンス-P 受容体	TACR1	P25103
サブスタンス-K 受容体	TACR2	P21452
ニューロメジン-K 受容体	TACR3	P29371
ニューロメジン-B 受容体	NMBR	P28336
ニューロペプチド B/W 受容体 1 型	NPBWR1	P48145
ニューロペプチド B/W 受容体 2 型	NPBWR2	P48146
ニューロペプチド FF 受容体 1	NPFFR1	Q9GZQ6
ニューロペプチド FF 受容体 2	NPFFR2	Q9Y5X5
ニューロペプチド Y 受容体 1 型	NPY1R	P25929
ニューロペプチド Y 受容体 2 型	NPY2R	P49146
ニューロペプチド Y 受容体 4 型	PPYR1	P50391
ニューロペプチド Y 受容体 5 型	NPY5R	Q15761
ニューロテンシン受容体 1 型	NTSR1	P30989
ニューロテンシン受容体 2 型	NTSR2	O95665
嗅覚受容体 10A2	OR10A2	Q9H208
嗅覚受容体 10A3	OR10A3	P58181
嗅覚受容体 10A4	OR10A4	Q9H209
嗅覚受容体 10A5	OR10A5	Q9H207
嗅覚受容体 10A6	OR10A6	Q8NH74
嗅覚受容体 10A7	OR10A7	Q8NGE5
嗅覚受容体 10AD1	OR10AD1	Q8NGE0
嗅覚受容体 10AG1	OR10AG1	Q8NH19
嗅覚受容体 10C1	OR10C1	Q96KK4
嗅覚受容体 10G2	OR10G2	Q8NGC3
嗅覚受容体 10G3	OR10G3	Q8NGC4
嗅覚受容体 10G4	OR10G4	Q8NGN3
嗅覚受容体 10G6	OR10G6	Q8NH81
嗅覚受容体 10G7	OR10G7	Q8NGN6
嗅覚受容体 10G8	OR10G8	Q8NGN5
嗅覚受容体 2T10	OR2T10	Q8NGZ9
嗅覚受容体 2T11	OR2T11	Q8NH01
嗅覚受容体 2T12	OR2T12	Q8NG77
嗅覚受容体 2T27	OR2T27	Q8NH04
嗅覚受容体 2T29	OR2T29	Q8NH02
嗅覚受容体 2T33	OR2T33	Q8NG76
嗅覚受容体 2T34	OR2T34	Q8NGX1
嗅覚受容体 2T35	OR2T35	Q8NGX2
嗅覚受容体 4A15	OR4A15	Q8NGL6

【表 1 - 9】

嗅覚受容体 4A16	OR4A16	Q8NH70
嗅覚受容体 4A47	OR4A47	Q6IF82
嗅覚受容体 4C45	OR4C45	A6NMZ5
嗅覚受容体 4C46	OR4C46	A6NHA9
嗅覚受容体 4F15	OR4F15	Q8NGB8
嗅覚受容体 4F17	OR4F17	Q8NGA8
嗅覚受容体 4F21	OR4F21	O95013
嗅覚受容体 51A2	OR51A2	Q8NGJ7
嗅覚受容体 51A4	OR51A4	Q8NGJ6
嗅覚受容体 51A7	OR51A7	Q8NH64
嗅覚受容体 51B2	OR51B2	Q9Y5P1
嗅覚受容体 51B4	OR51B4	Q9Y5P0
嗅覚受容体 51B5	OR51B5	Q9H339
嗅覚受容体 51B5	OR51B6	Q9H340
嗅覚受容体 51D1	OR51D1	Q8NGF3
嗅覚受容体 51E1	OR51E1	Q8TCB6
嗅覚受容体 51E2	OR51E2	Q9H255
嗅覚受容体 51F1	OR51F1	A6NGY5
嗅覚受容体 51F2	OR51F2	Q8NH61
嗅覚受容体 51G1	OR51G1	Q8NGK1
嗅覚受容体 51G2	OR51G2	Q8NGK0
推定の嗅覚受容体 51H1	OR51H1P	Q8NH63
嗅覚受容体 51I1	OR51I1	Q9H343
嗅覚受容体 56A1	OR56A1	Q8NGH5
嗅覚受容体 56A3	OR56A3	Q8NH54
嗅覚受容体 56A4	OR56A4	Q8NGH8
嗅覚受容体 56A5	OR56A5	P0C7T3
嗅覚受容体 56B1	OR56B1	Q8NGI3
嗅覚受容体 56B4	OR56B4	Q8NH76
嗅覚受容体 5AC2	OR5AC2	Q9NZP5
嗅覚受容体 5AK2	OR5AK2	Q8NH90
嗅覚受容体 5AN1	OR5AN1	Q8NGI8
嗅覚受容体 5AP2	OR5AP2	Q8NGF4
嗅覚受容体 5AR1	OR5AR1	Q8NGP9
嗅覚受容体 5AS1	OR5AS1	Q8N127
嗅覚受容体 5AU1	OR5AU1	Q8NGC0
嗅覚受容体 5H14	OR5H14	A6NHG9
嗅覚受容体 5H15	OR5H15	A6NDH6
嗅覚受容体 6C65	OR6C65	A6NJZ3
嗅覚受容体 6C68	OR6C68	A6NDL8
嗅覚受容体 6C70	OR6C70	A6NIJ9
嗅覚受容体 6C74	OR6C74	A6NCV1

10

20

30

40

【表 1 - 10】

嗅覚受容体 6C75	OR6C75	A6NL08
嗅覚受容体 6C76	OR6C76	A6NM76
嗅覚受容体 7E24	OR7E24	Q6IFN5
オプシン-3	OPN3	Q9H1Y3
メラノプシン	OPN4	Q9UHM6
オプシン-5	OPN5	Q6U736
δ-型オピオイド受容体	OPRD1	P41143
κ-型オピオイド受容体	OPRK1	P41145
μ-型オピオイド受容体	OPRM1	P35372
ノシセプチン受容体	OPRL1	P41146
青型オプシン	OPN1SW	P03999
ロドプシン	RHO	P08100
緑型オプシン	OPN1MW	P04001
嗅覚受容体 2B11	OR2B11	Q5JQS5
嗅覚受容体 2C1	OR2C1	O95371
嗅覚受容体 2C3	OR2C3	Q8N628
嗅覚受容体 2D2	OR2D2	Q9H210
嗅覚受容体 2D3	OR2D3	Q8NGH3
嗅覚受容体 2F1	OR2F1	Q13607
嗅覚受容体 2F2	OR2F2	O95006
嗅覚受容体 2G2	OR2G2	Q8NGZ5
嗅覚受容体 2G3	OR2G3	Q8NGZ4
嗅覚受容体 2G6	OR2G6	Q5TZ20
嗅覚受容体 2H1	OR2H1	Q9GZK4
嗅覚受容体 2H2	OR2H2	O95918
推定の嗅覚受容体 2I1	OR2I1P	Q8NGU4
嗅覚受容体 2J1	OR2J1	Q9GZK6
嗅覚受容体 2J2	OR2J2	O76002
嗅覚受容体 2J3	OR2J3	O76001
嗅覚受容体 2K2	OR2K2	Q8NGT1
嗅覚受容体 2L2	OR2L2	Q8NH16
嗅覚受容体 2L3	OR2L3	Q8NG85
嗅覚受容体 2L5	OR2L5	Q8NG80
嗅覚受容体 2L8	OR2L8	Q8NGY9
嗅覚受容体 2L13	OR2L13	Q8N349
嗅覚受容体 2M2	OR2M2	Q96R28
嗅覚受容体 2M3	OR2M3	Q8NG83
嗅覚受容体 2M4	OR2M4	Q96R27
嗅覚受容体 2M5	OR2M5	A3KFT3
嗅覚受容体 2M7	OR2M7	Q8NG81
嗅覚受容体 2S2	OR2S2	Q9NQN1
嗅覚受容体 2T1	OR2T1	O43869

【表 1 - 1 1】

嗅覚受容体 2T2	OR2T2	Q6IF00
嗅覚受容体 2T3	OR2T3	Q8NH03
嗅覚受容体 2T4	OR2T4	Q8NH00
嗅覚受容体 4E1	OR4E1	P0C645
嗅覚受容体 4E2	OR4E2	Q8NGC2
嗅覚受容体 4F3/4F16/4F29	OR4F3	Q6IEY1
嗅覚受容体 4F4	OR4F4	Q96R69
嗅覚受容体 4F5	OR4F5	Q8NH21
嗅覚受容体 4F6	OR4F6	Q8NGB9
嗅覚受容体 4K1	OR4K1	Q8NGD4
嗅覚受容体 4K2	OR4K2	Q8NGD2
嗅覚受容体 4K3	OR4K3	Q96R72
嗅覚受容体 4K5	OR4K5	Q8NGD3
嗅覚受容体 4K13	OR4K13	Q8NH42
嗅覚受容体 4K14	OR4K14	Q8NGD5
嗅覚受容体 4K15	OR4K15	Q8NH41
嗅覚受容体 4K17	OR4K17	Q8NGC6
嗅覚受容体 4L1	OR4L1	Q8NH43
嗅覚受容体 4M1	OR4M1	Q8NGD0
嗅覚受容体 4M2	OR4M2	Q8NGB6
嗅覚受容体 4N2	OR4N2	Q8NGD1
嗅覚受容体 4N4	OR4N4	Q8N0Y3
嗅覚受容体 4N5	OR4N5	Q8IXE1
嗅覚受容体 4P4	OR4P4	Q8NGL7
嗅覚受容体 4Q2	OR4Q2	P0C623
嗅覚受容体 4Q3	OR4Q3	Q8NH05
嗅覚受容体 4S1	OR4S1	Q8NGB4
嗅覚受容体 4S2	OR4S2	Q8NH73
嗅覚受容体 4X1	OR4X1	Q8NH49
嗅覚受容体 4X2	OR4X2	Q8NGF9
嗅覚受容体 5A1	OR5A1	Q8NGJ0
嗅覚受容体 5A2	OR5A2	Q8NGI9
嗅覚受容体 5B2	OR5B2	Q96R09
嗅覚受容体 5B3	OR5B3	Q8NH48
嗅覚受容体 5B12	OR5B12	Q96R08
嗅覚受容体 6A2	OR6A2	O95222
嗅覚受容体 6B1	OR6B1	O95007
嗅覚受容体 6B2	OR6B2	Q6IFH4
嗅覚受容体 6B3	OR6B3	Q8NGW1
嗅覚受容体 6C1	OR6C1	Q96RD1
嗅覚受容体 6C2	OR6C2	Q9NZP2
嗅覚受容体 6C3	OR6C3	Q9NZP0

【表 1 - 1 2】

嗅覚受容体 6C4	OR6C4	Q8NGE1
嗅覚受容体 6C6	OR6C6	A6NF89
嗅覚受容体 6F1	OR6F1	Q8NGZ6
嗅覚受容体 6J1	OR6J1	Q8NGC5
嗅覚受容体 6K2	OR6K2	Q8NGY2
嗅覚受容体 6K3	OR6K3	Q8NGY3
嗅覚受容体 6K6	OR6K6	Q8NGW6
嗅覚受容体 6M1	OR6M1	Q8NGM8
嗅覚受容体 6N1	OR6N1	Q8NGY5
嗅覚受容体 6N2	OR6N2	Q8NGY6
嗅覚受容体 6P1	OR6P1	Q8NGX9
嗅覚受容体 6Q1	OR6Q1	Q8NGQ2
嗅覚受容体 6S1	OR6S1	Q8NH40
嗅覚受容体 6T1	OR6T1	Q8NGN1
嗅覚受容体 6V1	OR6V1	Q8N148
嗅覚受容体 6X1	OR6X1	Q8NH79
嗅覚受容体 6Y1	OR6Y1	Q8NGX8
嗅覚受容体 7A5	OR7A5	Q15622
嗅覚受容体 7A10	OR7A10	O76100
嗅覚受容体 7A17	OR7A17	O14581
嗅覚受容体 7C1	OR7C1	O76099
嗅覚受容体 7C2	OR7C2	O60412
嗅覚受容体 7D4	OR7D4	Q8NG98
嗅覚受容体 7G1	OR7G1	Q8NGA0
嗅覚受容体 7G2	OR7G2	Q8NG99
プロスタグランジン F2- α 受容体	PTGFR	P43088
プロスタサイクリン受容体	PTGIR	P43119
プロラクチン分泌促進ペプチド受容体	PRLHR	P49683
血小板活性化因子受容体	PTAFR	P25105
ピログルタミン化 RF アミドペプチド受容体	QRFPR	Q96P65
RPE-網膜 G タンパク質結合受容体	RGR	P47804
スフィンゴシン-1-リン酸 受容体 1	S1PR1	P21453
スフィンゴシン-1-リン酸 受容体 2	S1PR2	O95136
スフィンゴシン-1-リン酸 受容体 3	S1PR3	Q99500
スフィンゴシン-1-リン酸 受容体 4	S1PR4	O95977
スフィンゴシン-1-リン酸 受容体 5	S1PR5	Q9H228
ソマトスタチン 受容体 1 型	SSTR1	P30872
ソマトスタチン 受容体 2 型	SSTR2	P30874
ソマトスタチン 受容体 3 型	SSTR3	P32745
ソマトスタチン 受容体 4 型	SSTR4	P31391
ソマトスタチン 受容体 5 型	SSTR5	P35346
トロンボキサン A2 受容体	TBXA2R	P21731

【表 1 - 13】

微量アミン関連 受容体 1	TAAR1	Q96RJ0
微量アミン関連 受容体 2	TAAR2	Q9P1P5
推定の微量アミン関連 受容体 3	TAAR3	Q9P1P4
微量アミン関連 受容体 5	TAAR5	O14804
微量アミン関連 受容体 6	TAAR6	Q96RI8
微量アミン関連 受容体 8	TAAR8	Q969N4
微量アミン関連 受容体 9	TAAR9	Q96RI9
甲状腺刺激ホルモン受容体	TSHR	P16473
バソプレシン V1a 受容体	AVPR1A	P37288
バソプレシン V1b 受容体	AVPR1B	P47901
バソプレシン V2 受容体	AVPR2	P30518
ケモカイン XC 受容体 1	XCR1	P46094
脳特異的血管新生阻害剤 1	BAI1	O14514
脳特異的血管新生阻害剤 2	BAI2	O60241
脳特異的血管新生阻害剤 3	BAI3	O60242
カルシトニン受容体	CALCR	P30988
カルシトニン遺伝子関連ペプチド 1 型 受容体	CALCRL	Q16602
副腎皮質刺激ホルモン放出因子受容体 1	CRHR1	P34998
副腎皮質刺激ホルモン放出因子受容体 2	CRHR2	Q13324
成長ホルモン放出ホルモン受容体	GHRHR	Q02643
消化管抑制ポリペプチド受容体	GIPR	P48546
グルカゴン様ペプチド 1 受容体	GLP1R	P43220
グルカゴン様ペプチド 2 受容体	GLP2R	O95838
グルカゴン受容体	GCCR	P47871
下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド I 型 受容体	ADCYAP1R1	P41586
味覚受容体 1 メンバー2	TAS1R2	Q8TE23
副甲状腺ホルモン受容体 1	PTH1R	Q03431
副甲状腺ホルモン 2 受容体	PTH2R	P49190
セクレチン受容体	SCTR	P47872
血管作動性腸管ペプチド受容体 1	VIPR1	P32241
血管作動性腸管ペプチド受容体 2	VIPR2	P41587
フリズルド-10	FZD10	Q9ULW2
フリズルド-1	FZD1	Q9UP38
フリズルド-2	FZD2	Q14332
フリズルド-3	FZD3	Q9NPG1
フリズルド-4	FZD4	Q9ULV1
フリズルド-5	FZD5	Q13467
フリズルド-6	FZD6	O60353
フリズルド-7	FZD7	O75084
フリズルド-8	FZD8	Q9H461
フリズルド-9	FZD9 (FZD3)	O00144

【表 1 - 1 4】

平滑化ホモログ	SMO (SMOH)	Q99835
細胞外カルシウム感知受容体	CASR	P41180
GABA B 型受容体 1 サブユニット 1	GABBR1	Q9UBS5
GABA B 型受容体 サブユニット 2	GABBR2	O75899
GPCR ファミリー C 群 6 メンバー A	GPRC6A	Q5T6X5
代謝型グルタミン酸 受容体 1	GRM1	Q13255
代謝型グルタミン酸 受容体 2	GRM2	Q14416
代謝型グルタミン酸 受容体 3	GRM3	Q14832
代謝型グルタミン酸 受容体 4	GRM4	Q14833
代謝型グルタミン酸 受容体 5	GRM5	P41594
代謝型グルタミン酸 受容体 6	GRM6	O15303
代謝型グルタミン酸 受容体 7	GRM7	Q14831
代謝型グルタミン酸 受容体 8	GRM8	O00222
味覚受容体 1 メンバー 1	TAS1R1	Q7RTX1
味覚受容体 1 メンバー 2	TAS1R2	Q8TE23
味覚受容体 1 メンバー 3	TAS1R3	Q7RTX0

10

20

【 0 0 4 8】

本明細書には G P C R 結合ドメインが記載され、G P C R 結合ドメインは、G P C R リガンドと G P C R との表面相互作用に基づいて設計されている。いくつかの例において、リガンドは、亜原子粒子（例えば光子）、イオン、有機分子、ペプチド、およびタンパク質である。G P C R により結合可能なリガンドの非限定的な例には、次のものが挙げられる：（ - ） - アドレナリン、（ - ） - ノルアドレナリン、（リゾ）リン脂質メディエーター、[d e s - A r g 1 0] カリジン、[d e s - A r g 9] ブラジキニン、[d e s - G l n 1 4] グレリン、[H y p 3] ブラジキニン、[L e u] エンケファリン、[M e t] エンケファリン、1 2 - ヒドロキシヘプタデカトリエン酸、1 2 R - H E T E、1 2 S - H E T E、1 2 S - H P E T E、1 5 S - H E T E、1 7 - エストラジオール、2 0 - ヒドロキシ - L T B 4、2 - アラキドノイルグリセロール、2 - オレオイル - L P A、3 - ヒドロキシオクタン酸、5 - ヒドロキシトリプタミン、5 - オキソ - 1 5 - H E T E、5 - オキソ - E T E、5 - オキソ - E T r E、5 - オキソ - O D E、5 S - H E T E、5 S - H P E T E、7 , 2 5 - ジヒドロキシコレステロール、アセチルコリン、A C T H、アデノシンニリン酸、アデノシン、アドレノメデュリン 2 / インテルメジン、アドレノメデュリン、アミリン、アナンダミド、アンジオテンシン I I、アンジオテンシン I I I、アネキシン I、アペリン受容体早期内在性リガンド（a p e l i n r e c e p t o r e a r l y e n d o g e n o u s l i g a n d）、アペリン - 1 3、アペリン - 1 7、アペリン - 3 6、アスピリン誘導性リポキシン A 4、アスピリン誘導性レゾルビン D 1、A T P、デフェンシン 4 A、大型ダイノルフィン、ウシ副腎髄質ペプチド 8 - 2 2、ブラジキニン、C 3 a、C 5 a、C a 2 +、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、カルシトニン、カテプシン G、C C K - 3 3、C C K - 4、C C K - 8、C C L 1、C C L 1 1、C C L 1 3、C C L 1 4、C C L 1 5、C C L 1 6、C C L 1 7、C C L 1 9、C C L 2、C C L 2 0、C C L 2 1、C C L 2 2、C C L 2 3、C C L 2 4、C C L 2 5、C C L 2 6、C C L 2 7、C C L 2 8、C C L 3、C C L 4、C C L 5、C C L 7、C C L 8、ケメリン、ケノデオキシコール酸、コール酸、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン、C S T - 1 7、C X 3 C L 1、C X C L 1、C X C L 1 0、C X C L 1 1、C X C L 1 2、C X C L 1 2、C X C L 1 3、C X C L 1 6、C X C L 2、C X C L 3、C X C L 5、C X C L 6、C X C L 7、C X C L 8、C X C L 9、システイニル - ロイコトリエ

30

40

50

ン (C y s L T s)、ウラシル - ヌクレオチド、デオキシコール酸、ジヒドロスフィンゴシン - 1 - ホスフェート、ジオレオイルホスファチジン酸、ドーバミン、ダイノルフィン A、ダイノルフィン A - (1 - 13)、ダイノルフィン A - (1 - 8)、ダイノルフィン B、エンドモルフィン - 1、エンドセリン - 1、エンドセリン - 2、エンドセリン - 3、F 2 L、遊離脂肪酸、F S H、G A B A、ガラニン、ガラニン様ペプチド、胃抑制ポリペプチド、ガストリン - 17、ガストリン放出ペプチド、グレリン、G H R H、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド 1 - (7 - 36) アミド、グルカゴン様ペプチド 1 - (7 - 37)、グルカゴン様ペプチド 2、グルカゴン様ペプチド 2 - (3 - 33)、G n R H I、G n R H I I、G R P - (18 - 27)、h C G、ヒスタミン、ヒューマニン、I N S L 3、I N S L 5、カリジン、キスペプチン - 10、キスペプチン - 13、キスペプチン - 14、キスペプチン - 54、キヌレン酸、大型ニューロメジン N、大型ニューロテンシン、L - グルタミン酸、L H、リトコール酸、L - 乳酸、長鎖カルボン酸、L P A、L T B 4、L T C 4、L T D 4、L T E 4、L X A 4、L y s - [H y p 3] - ブラジキニン、リゾホスファチジルイノシトール、リゾホスファチジルセリン、中鎖脂肪酸、メラニン凝集ホルモン、メラトニン、メチルカルバミル P A F、M g 2 +、モチリン、N - アラキドニルグリシン、ニューロキニン A、ニューロキニン B、ニューロメジン B、ニューロメジン N、ニューロメジン S - 33、ニューロメジン U - 25、ニューロノスタチン、ニューロペプチド A F、ニューロペプチド B - 23、ニューロペプチド B - 29、ニューロペプチド F F、ニューロペプチド S、ニューロペプチド S F、ニューロペプチド W - 23、ニューロペプチド W - 30、ニューロペプチド Y、ニューロペプチド Y - (3 - 36)、ニューロテンシン、ノシセプチン / オルファニン F Q、N - オレオイルメタノールアミド、オベスタチン、オクトパミン、オレキシン - A、オレキシン - B、オキシステロール、オキシトシン、P A C A P - 27、P A C A P - 38、P A F、膵臓ポリペプチド、ペプチド Y Y、P G D 2、P G E 2、P G F 2、P G I 2、P G J 2、P H M、ホスファチジルセリン、P H V、プロキネティシン - 1、プロキネティシン - 2、プロキネティシン - 2、プロサボシン、P r R P - 20、P r R P - 31、P T H、P T H r P、P T H r P - (1 - 36)、Q R F P 43、リラキシン、リラキシン - 1、リラキシン - 3、レゾルビン D 1、レゾルビン E 1、R F R P - 1、R F R P - 3、R - スポンジン、セクレチン、セリンプロテアーゼ、スフィンゴシン 1 - ホスフェート、スフィンゴシルホスフォリルコリン、S R I F - 14、S R I F - 28、サブスタンス P、コハク酸、トロンビン、トロンボキサン A 2、T I P 39、T - キニン、T R H、T S H、チラミン、U D P - グルコース、ウリジンニリン酸、ウロコルチン 1、ウロコルチン 2、ウロコルチン 3、ウロテンシン I I 関連ペプチド、ウロテンシン I I、バソプレシン、V I P、W n t、W n t - 1、W n t - 10 a、W n t - 10 b、W n t - 11、W n t - 16、W n t - 2、W n t - 2 b、W n t - 3、W n t - 3 a、W n t - 4、W n t - 5 a、W n t - 5 b、W n t - 6、W n t - 7 a、W n t - 7 b、W n t - 8 a、W n t - 8 b、W n t - 9 a、W n t - 9 b、X C L 1、X C L 2、Z n 2 +、 - C G R P、 - ケトグルタル酸、 - M S H、 - ネオエンドルフィン、 - アラニン、 - C G R P、 - D - ヒドロキシ酪酸、 - エンドルフィン、 - M S H、 - ネオエンドルフィン、 - フェニールエチルアミン、および - M S H。

【 0 0 4 9 】

G P C R リガンドと G P C R との表面相互作用に基づく G P C R 結合ドメインの配列は、様々な方法を使用して解析される。例えば、複数種の生物の計算解析が実行される。いくつかの例において、構造解析が実行される。いくつかの例において、配列解析が実行される。配列解析は、当技術分野で既知のデータベースを使用して実行可能である。データベースの非限定的な例は、限定されないが、N C B I B L A S T (b l a s t . n c b i . n l m . n i h . g o v / B l a s t . c g i)、U C S C ゲノムブラウザ (g e n o m e . u c s c . e d u /)、U n i P r o t (w w w . u n i p r o t . o r g /)、および I U P H A R / B P S G u i d e t o P H A R M A C O L O G Y (g u i d e t o p h a r m a c o l o g y . o r g /) が挙げられる。

【0050】

本明細書には、様々な生物体中の配列解析に基づいて設計されたGPCR結合ドメインが記載される。例えば、配列解析は異なる生物体における相同配列を同定するために実行される。典型的な生物体には、限定されないが、マウス、ラット、ウマ、ヒツジ、ウシ、霊長類（例えばチンパンジー、ヒヒ、ゴリラ、オランウータン、サル）、イヌ、ネコ、ブタ、ロバ、ウサギ、魚類、鳥類、およびヒトが挙げられる。

【0051】

GPCR結合ドメインの同定後、GPCR結合ドメインをコードする核酸を含むライブラリーが生成され得る。いくつかの例において、GPCR結合ドメインのライブラリーは、立体構造リガンド相互作用、ペプチド-リガンド相互作用、小分子リガンド相互作用、GPCRの細胞外ドメイン、またはGPCRを標的とする抗体に基づいて設計されたGPCR結合ドメインの配列を含む。GPCR結合ドメインのライブラリーはタンパク質ライブラリーを生成するように翻訳され得る。いくつかの例において、GPCR結合ドメインのライブラリーは、ペプチドライブラリー、免疫グロブリンライブラリー、それらの誘導体、またはそれらの組み合わせを生成するように翻訳される。いくつかの例において、GPCR結合ドメインのライブラリーは、タンパク質ライブラリーを生成するように翻訳され、これを更に修飾することでペプチド模倣ライブラリーが生成される。いくつかの例において、GPCR結合ドメインのライブラリーはタンパク質ライブラリーを生成するように翻訳され、これを用いて少分子が生成される。

【0052】

本明細書に記載される方法は、少なくとも1つの予め決められた基準核酸配列の予め決められた変異体を各々がコードする核酸を含む、GPCR結合ドメインのライブラリーの合成をもたらす。場合によっては、予め決められた基準配列はタンパク質をコードする核酸配列であり、変異体ライブラリーは、合成された核酸によってコードされた後続するタンパク質中の単一の残基の複数の様々な変異体が標準的な翻訳プロセスによって生成されるように、少なくとも1つのコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、GPCR結合タンパク質のライブラリーは、複数の位置にて変異を総体的にコードする変異核酸を含む。いくつかの例において、異なるライブラリーは、GPCR結合ドメインにおける少なくとも単一のコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、異なるライブラリーは、GPCR結合ドメインにおける複数のコドンの変異をコードする配列を含む。変異に対するコドンの典型的な数は、限定されないが、少なくともまたは約1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、225、250、275、300、または300を超えるコドンを含む。

【0053】

本明細書に記載される方法は、GPCR結合ドメインをコードする核酸を含むライブラリーの合成をもたらす、ライブラリーは、GPCR結合ドメインの長さの変異をコードする含む配列を含む。いくつかの例において、ライブラリーは、予め決められた基準配列と比較して少ない、少なくともまたは約1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、225、250、275、300、または300を超えるコドンの長さの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、ライブラリーは、予め決められた基準配列と比較して多い、少なくともまたは約1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、または300を超えるコドンの長さの変異をコードする配列を含む。

【0054】

GPCR結合ドメインの同定後、GPCR結合ドメインは、本明細書に記載されるようなスキャホールドに配置されてもよい。いくつかの例において、スキャホールドは免疫グロブリンである。いくつかの例において、GPCR結合ドメインはCDR-H3領域に配

置される。スキャホールドに配置され得る G P C R 結合ドメインは、モチーフと呼ばれる場合もある。G P C R 結合ドメインを含むスキャホールドは、結合、特異性、安定性、発現、フォールディング、または下流の活性に基づいて設計され得る。いくつかの例において、G P C R 結合ドメインを含むスキャホールドは、G P C R との接触を可能とする。いくつかの例において、G P C R 結合ドメインを含むスキャホールドは、G P C R との高親和性結合を可能とする。G P C R 結合ドメインの典型的なアミノ酸配列を表 2 に記載する。

【 0 0 5 5 】

【表 2 - 1】

表 2. GPCR アミノ酸配列

SEQ ID NO	GPCR	アミノ酸配列
1	CXCR4	MEGISIYTS DNYTEEMGSGDYDSMKEPCFREENANFNKIFLP TIYSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKLRSMTDKYRLHLSVADLL FVITLPFWAVDAVANWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAF ISLDRYLAIVHATNSQRPRKLLAEKVYVGVWIPALLLTIPDFI FANVSEADDRYICDRFYPNDLWVVVFQFQHIMVGLILPGIVIL SCYCHISKLSHSHKGHQKRKALKTTVILILAFFACWLPYYIGISI DSFILLEIHKQGCEFENTVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFL GAKFKTSAQHALTSVSRGSSLKILSKGKRGHSSVSTESESSS FHSS
2	CCR4	MNPTDIADTTLDESIYSNYYLYESIPKPCTKEGIKAFGELFLPP LYSLVFVFGLLGNSVVVLVLFKYKRLRSMTDVYLLNLAISDLL FVFSLPFWGYAAADQWVFGGLGCKMISWMYLVGFYSGIFFV MLMSIDRYLAIVHAVFSLRARTLTYGVITSLATWSVAVFASLP GFLFSTCYTERNHTYCKTKYSLNSTTWKVLSSLEINILGLVIPL GIMLFCYSMIIRTLQHCKNEKKNAVKMIFAVVVLFLGFWTP YNIVLFLETLEVLQDCTFERYLDAIQATETLAFVHCCLN PIIYFFLGEEKFRKYILQLFKTCRGLFVLCQYCGLLQIYSADTPS SSYTQSTMDHDLHDAL
3	GCGR	MPPCQPQRPLLLLLLLLLLACQPQVPSAQVMDFLFEKWKLYGD QCHHNLSLLPPPTTELVCNRTFDKYSCWPDPANTTANISCPW YLPWHHKVQHRFVFKRCGPDGQWVRGPRGQPWRDASQCQM DGEEIEVQKEVAKMYSSFQVMTVGYSLSLGALLLALAILGGL SKLHCTRNAIHANLFASFVLKASSVLVIDGLLRTRYSQKIGDD LSVSTWLS DGAVAGCRVA AVFMQYGIVANYCWLLVEGLYLH NLLGLATLPERSFFSLYLGIGWGAPMLFVVPWAVVKCLFENV QCWTSNDNMGFWWILRFPVFLAILNFFIFVRIVQLLVAKLRA RQMHTDYKFRLAKSTLTLLIPLLGVEVVFVAFVTDEHAQGT LSAKLFFDLFLSSFQGLLVAVLYCFLNKEVQSELRRRWHRWR LGKVLWEERNTSNHRASSSPGHGPPSKELQFGRGGGSQDSSA ETPLAGGLPRLAESPF
4	mGluR5	MVLLLILSVLLLKEDVRGSAQSSERRVVAHMPGDIIGALFSV HHQPTVDKVHERKCGAVREQYGIQRVEAMLHTLERINS DPTL LPNITLGCEIRDSCWHS AVALEQSIEFIRDSLISSEEEGLVRC VDGSSSSFRSKKPIVG VIGPGSSSV AIQVQNLLQLFNIPQIAYSA TSMDLSDKTLFKYFMRVVP SDAQQARAMVDIVKRYNWTYVS AVHTEGNYGESGMEAFKDMSAKEGICIAHSYKIYSNAGEQSF DKLLKKLTSHLPKARVVACFCEGMTVRGLLMAMRRLGLAGE FLLGSDGWADRYDVT DGYQREAVGGITIKLQSPDVKWFDDY YLKLRPETNHRNPWFQEFWQHRFQCRLEGFPQENSKYNKTC NSSLTLKTHHVQDSKMGFVINAIYS MAYGLHNMQMSLCPGY AGLCDAMKPIDGRKLL ESLMKTNFTGVSGDTILFDENG DSPG RYEIMNFKEMGKDYFDYINVG SWDNGELKMDDDEVWSKKS NIIRSVCEPCEKGQIKVIRKGEVSCCWTC TPCKEN EYVFDEY TCKACQLGSWPTDDL TGCDLIPVQYLRWGDPEPIAAVVFACL

10

20

30

40

【表 2 - 2】

		GLLATLFVTVVFHYYRDTVPVKSSSRELCYIILAGICLGYLCTFC LIAKPKQIYCYLQRIGIGLSPAMSYSALVTKTNRIARILAGSKK KICTKKPRFMSACAQLVIAFILICIQLGIIVALFIMEPPDIMHDY PSIREVYLICNTTNLGVVTPLGYNGLLILSCTFYAFKTRNVPAN FNEAKYIAFTMYTTCHWLAFVPIYFGSNYKIITMCFVSLSATV ALGCMFVPKVYIILAKPERNVRSFTTSTVVRMHVGDGKSSSA ASRSSSLVNLWKRRGSSGETLRYKDRRLAQHKSEIECFTPKGS MGNNGGRATMSSSNGKSVTWAQNEKSSRGQHLWQRLSIHINK KENPNQTAVIKPFPKSTESRGLGAGAGAGGSAGGVGATGGAG CAGAGPGGPESPDAGPKALYDVAEAEHFPAPARPRSPSPIST LSHRAGSASRTDDDVP SLHSEPVARSSSSSQGSLMEQISSVTR FTANISELNSMMLSTAAPSPGVGAPLCSSYLIPKEIQLPTTMTT FAEIQLPLPAIEVTGGAQPAAGAQAAGDAARESPAAGPEAAAK PDLEELVALTPPSPFRDSVDSGSTTPNSPVSEALCIPSSPKYD TLIIRDYTQSSSSL	10
5	GLP-1R	RPQGATVSLWETVQKWREYRRQCQRSLTEDPPPATDLFCNRT FDEYACWPDGEPGSFVNVSCPWYLPWASSVPQGHVYRFCTA EGLWLQKDNSSLPWRDLSECEESKRGERSSPEEQLLFLYIYT VGYALSFSALVIASAILLGFRLHCTRNYIHLNLFASFILRALS VFIKDAALKWMYSTAAQQHQWDGLLSYQDSLSCRLVFLLMQ YCVAANYYWLLVEGVYLYTLLAFSVLSEQWIFRLYVSIGWGV PLLFVVPWGIVKYLYEDEGCWTRNSNMNYWLIIRLPILFAIGV NFLIFVRVICIVVSKLKANLMCKTDIKCRLAKSTLTLIPLLGTH EVIFAFVMDEHARGTLRFIKLFTLSFTSFQGLMVAILYCFVN NEVQLEFRKSWERWRLEHLHIQRDSSMKPLKCPTSSLSSGAT AGSSMYTATCQASCS	20
6	GABAB	MLLLLLLAPLFLRPPGAGGAQTPNATSEGCQIIHPPWEGGIRY RGLTRDQVKAINFLPVDYEIEYVCRGEREVVGPKVRKCLANG SWTDMDTPSRCVRICSKSYLTLENGKVFLTGGDLPALDGARV DFRCDPDFHLVGSSRSICSQQGWSTPKPHCQVNRTPHSERRA VYIGALFPMSSGGWPGGQACQPAVEMALEDVNSRRDILPDYEL KLIHHD SKCDPGQATKYLYELLYNDPIKIILMPGCSSVSTLVA EAARMWNLIVLSYGSSSPALSNRQRFPFTFRTHPSATLHNPTR VKLFEKWGWKKIATIQQTTTEVFTSTLDDLEERVKEAGIEITFR QSFFSDPAVPVKNLKRQDARIIVGLFYETEARKEVFCEVYKERL FGKKYVWFLIGWYADNWFKIYDPSINCTVDEMTEAVEGHITT EIVMLNPANTRISISNMTS QEFVEKLT KRLKRHPEETGGFQEA PLAYDAIWALALALNKTSGGGGRSGVRLEDFNYNNQTITDQI YRAMNSSSFEGVSGHVVF DASGSRMAWTLIEQLQGGSYKKIG YYDSTKDDL SWSKTDK WIGGSPPADQTLVIKTRFLS QKLFIS VSVLSSLGIVLAVVCLSFNIYN SHVRYIQNSQPNLNNLTAVGC SLALAAVFPLGLDGYHIGRNQFPFVCQARLWLLGLGFS LGYG SMFTKIWWVHTVFTKKEEKKKEWRKTLEPWKLYATVGLLVG MDVLT LAIWQIVDPLHRTIETFAKEPKEDIDVSILPQLEHCSS RKMNTWLGIFYGYKGLLLLLGIFLAYETKSVSTEKINDHRAV GMAIYNVAVLCLITAPVTMILSSQQDAAFASFASLAIVFSSYITL VVLFVPMRRLITRGEWQSEAQDTMKTGSSTNNNEEEKSRL LEKENRELEKIIAEKEERVSELRHQLQSRQQLRSRRHPPTPPE PSGGLPRGPPEPPDRLSCDGSRVHLLYK	30 40

【表 2 - 3】

7	OPRM1	MDSSAAPTNASNCTDALAYSSCSPAPSPGSWVNLSHLDGNLS DPCGPNRTDLGGRDSLCPPTGSPSMITAITIMALYSISVCVVGLF GNFLVMYVIVRYTKMKTATNIYIFNLALADALATSTLPFQSVN YLMGTWPFGTILCKIVISIDYYNMFTSIFTLCTMSVDRYIAVCH PVKALDFRTPRNAKIINVNCNWILSSAIGLPVMFMATTKYRQGS IDCTLTFSHPTWYWENLLKICVFIFAFIMPVLIITVCYGLMILR LKSVRMLSGSKEKDRNLRRITRMVLVVAVFIVCWTPIHIVII KALVTIPETTFQTVSWHFCIALGYTNSCLNPVLYAFLDENFKR CFREFCIPTSSNIEQQNSTIRIQNTRDHPSTANTVDRTNHQLE NLEAETAPLP	10
8	OPRK1	MDSPIQIFRGEPEGPTCAPSACLPPNSSAWFPGWAEPDSNGSA GSEDAQLEPAHISPAIPVIITAVYSVVFVGLVGNLSVMFVIIRY TKMKTATNIYIFNLALADALVTTTTPPFQSTVYLMNSWPFGDV LCKIVISIDYYNMFTSIFTLTMMSVDRYIAVCHPVKALDFRTPL KAKIINICIWLLSSSVGISAIVLGGTKVREDVDVIECSLQFPDDD YSWWDLFMKICVFIFAFVIPVLIIVCYTLMILRLKSVRLLSGSR EKDRNLRRITRLVLVVAVFVVCWTPIHIFILVEALGSTSHSTA ALSSYYFCIALGYTNSSLNPILYAFLDENFKRCFRDFCFPLKM RMERQSTSRVRNTVQDPAYLRDIDGMNKPV	20
9	C5aR	MDSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTVPDKTSNTLRVPDILALV IFAVVFLVGVGLGNALVVWVTAFAEKRTINAIWFLNLAVADFLS CLALPILFTSIVQHHHWPFGGAAACSILPSLILLNMYASILLATI SADRFLLVFKPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLALLLTIPSFL YRVVREEYFPPKVLGVDYSHDKRRERAVAIVRLVLGFLWPL LTLTICYTFILLRTWSRRATRSTKTLKVVAVVASFFIFWLPYQ VTGIMMSFLEPSSPTFLLLKKLDSLCSFAYINCCINPIIYVVA GQGFQGRRLRKSLLRNVLTEESVVRESKSFTTRSTVDTMAQ KTQAV	30
10	CGRP	ELEESPEDSIQLGVTRNKIMTAQYECYQKIMQDPIQQAEGVYC NRTWDGWLCWNDVAAGTESMQLCPDYFQDFDPSEKVTKICD QDGNWFRHPASNRTWTNYTQCNVNTHEKVKTALNLFYLTII GHGLSIASLLISLGIFFYFKSLSCQRITLHKNLFFSFVCNSVVTI IHLTAVANNQALVATNPVSKVSQFIHLYLMGCNYFWMLCEG IYLHTLIVVAVFAEKQHLMWYYFLGWGFPLIPACIHAIARSLY YNDNCWISSDTHLLYIIHGPICAALLVNLFLLNIVRVLITKLK VTHQAESNLYMKAVRATLILVPLLGIEFVLIPWRPEGKIAEEV YDYIMHILMHFQGLLVSTIFCFFNGEVQAILRRNWNQYKIQFG NSFSNSEALRSASYTVSTISDGPYSHDCPSEHLNGKSIHDIE NVLLKPENLYN	40
11	M1 ムス カリン性	MNTSAPPAVSPNITVLAPGKGPWQVAFIGITTGLLSLATVTGN LLVLISFKVNTELKTVNNYFLLSLACADLIIGTFSMNLYTTYLL MGHWALGTLACDLWLALDYVASNASVMNLLISFDRYFSVTR PLSYRAKRTPRRAALMIGLAWLVSFVLWAPAILFWQYLVGER TVLAGQCYIQFLSQPIITFGTAMAAFYLPVTVMCTLYWRIYRET ENRARELAALQGSETPGKGGGSSSSSERSQPGAEGSPETPPG RCCRCCRAPRLQAYSWKEEEEEDEGSMESESLTSSEGEPEGSE VVIKMPMVDPEAQAPTKQPPRSSPNTVKRPTKKGRDRAGKG QKPRGKEQLAKRKTFSLVKEKKAARTLSAILLAFILTWTYPYNI MVLVSTFCKDCVPETLWELGYWLCYVNSTINPMCYALCNKA	

【表 2 - 4】

		FRDTFRLLLLCRWDKRRWRKIPKRPGSVHRTPSRQC	
12	M4 ムスカリン性	MANFTPVNGSSGNQSVRLVTSSSHNRYETVEMVFIATVTGSL SLVTVVGNILVMLSIKVNRLQTVNNYFLFSLACADLIIGAFS MNLYTVYIIKGYWPLGAVVCDLWLALDYVVSNASVMNLLIISF DRYFCVTKPLTYPARRTTKMAGLMIAAAWVLSFVLWAPAILF WQFVVGKRTVPDNQCFIQFLSNPAVTFGTAAAFYLPVVIMTV LYIHISLASRSRVHKKRPEGPKEKKAKTLAFLKSPLMKQSVK KPPPGEAAREELRNGKLEEAPPPALPPPRPVADKDTSNESSES GSATQNTKERPA TELSTTEATTPAMPAPPLQPRALNPASRWS KIQIVTKQTGNECVTAIEIVPATPAGMRPAANVARKFASIARN QVRKKRQMAARERKVTRTIFAILLAFILTWTPYNVMVLVNTF CQSCIPDTVWSIGYWLCYVNSTINPACYALCNATFKKTRHLL LCQYRNIGTAR	10
13	CCR2	MLSTSRSRFIRNTNESGEEVTTFFDYDYGAPCHKFDVKQIGA QLLPPLYSLVFIFGFVGNMLVVLILINCKKLKCLTDIYLLNLAI SDLLFLITLPLWAHSAANEVWFGNAMCKLFTGLYHIGYFGGI FFIILLTIDRYLAIVHAVFALKARTVTFGVVTSVITWLVAVFASV PGIIFTKCQKEDSVYVCGPYFPRGWNNFHTIMRNILGLVPLL IMVICYSGILKTLLRCRNEKKRHRAVRVIFTIMIVYFLFWTPYN IVILLNTFQEFFGLSNCESTS QLDQATQVTETLGMTHCCINPII YAFVGEKFRSLFHIALGCRIAPLQKPVC GPGVRPGKNVKVTT QGLLDGRGKGKSGISGRAPEASLQDKEGA	20
14	CCR9	MTPTDFTSPIPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFYCEKNN VRQFASHFLPPLYWLVFIVGALGNSLVILVYWYCTRVKTMTD MFLNLAIADLLFLVTLFWAIAAADQWKFTFMCKVVNSMY KMFYSCVLLIMCISVDYIAIAQAMRAHTWREKRLLYSKMV CFTIWVLAALCIPEILYSQIKEESGIAICTMVYPSDESTKLKSA VLT LKVLGFFLPFVVMACCYTHIHTLIQAKKSSKHKALKVTIT VLT VFLS QFPYNCILLVQTIDAYAMFISNCAVSTNIDICFQVT QTIAFFHSCLN PVLYVFVGERFRRLVKT LKNLGCISQAQWVS FTRREGSLKLSSMLLETTSGALS	30
15	GPR174	MPANYTCTRPDGDNTDFRYFIYAVTYTVILVPGLIGNILALWV FYGYMKETKRAVIFMINLAIADLLQVLSLPLRIFYL NHDWPF GPGLCMFCFYLKYVNMYASIFYLVCISVRRFWFLMYPFRFHD CKQKYDLYISIAGWLIICLACVLFPLLRTSDDTSGNRTKCFVDL PTRNVNLAQSVMMTIGELIGFVTPLLIVLYCTWKT VLSLQDK YPMAQDLGEKQKALKMILTCAGVFLICFAPYHFSFPLDFLVKS NEIKSCLARRVILIFHSVALCLASLNSCLDPVIYYFSTNEFRRL LSRQDLHDSIQLHAKSFVSNHTASTMTPELC	
16	MASP-2	TPLGPKWPEPVFGRLASPGFPGEYANDQERRWTLTAPPGYRL RLYFTHFDLELSHLCEYDFVKLSSGAKVLATLCGQESTDTER APGKDTFYSLGSSLDITFRSDYSNEKPFTGF EAFYAAEDIDEC QVAPGEAPTCDHHCHNHLGGFYCSCRAGYVLHRNKRTCSAL CSGQVFTQRSGELSSPEYPRYPKLSSCTYSISLEEGFSVILDF VESFDVETHPETLCPYDFLKIQTDREEHGPF CGKTLPHRIETK SNTVTITFVTDES GDHTGWKIHYTSTAQPCPYPMAPPNGHVS PVQAKYILKDSFSIFCETGYELLQGHLPLKSFTAVCQKDGSDW RPM PACSIVDCGPPDDLPSGRVEYITGPGVTTYKAVIQYSCEE TFYTMKVNDGKYVCEADGFWTSSKGEKSLPVCEPVCGLSART	40

【表 2 - 5】

		TGGRIYGGQKAKPGDFPWQVLILGGTTAAGALLYDNWVLTA HAYVEQKHDASALDIRMGTCLKRLSPHYTQAWSEAVFIHEGYT HDAGFDNDIALIKLNNKVINSNITPICLPRKEAESFMRTDDI GTASGWGLTQRGFLARNLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKPYPYPR GSVTANMLCAGLESGGKDSCRGDSSGALVFLDSETERWVFG GIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINIYIPWIENIISDF	
17	CCR5	MDYQVSSPIYDINYYTSEPCQKINVKQIAARLLPPLYSLVFIFG FVGNMLVILILINCKRLKSMTDIYLLNLAISDLFFLLTVPFWAH YAAAQWDFGNTMCQLLTGLYFIGFFSGIFFIILLTIDRYLAVVH AVFALKARTVTFGVVTSVITWVVAVFASLPGIIFTRSQKEGLH YTCSSHFPYSQYQFWKNFQTLKIVILGLVLPLLVMVICYSGILK TLLRCRNEKKRHRAVRLIFTIMIVYFLFWAPYNIVLLLNTFQE FFGLNNCSSSNRLDQAMQVTETLGMTHCCINPIIYAFVGEKF RNYLLVFFQKHIAKRFCKCCSIFQQEAPERASSVYTRSTGEQE ISVGL	10
18	FSHR	CHHRICHCSNRVFLCQESKVTEIPSDLPRNAIELRFVLTKLRVI QKGAFGSGFGDLEKIEISQNDVLEVIEADVFSNLPKLHEIRIEKA NNLLYINPEAFQNLPLNLQYLLISNTGIKHLDPVHKIHSLSQKVL LDIQDNINIHTIERNSTFVGLSFESVILWLNKNGIQEIHNCAFNG TQLDELNLSDNNNLEELPNDVFH GASGPVILDISRTRIHSLS YGLENLKKLRARSTYNLKKLPtleKLVALMEASLTYPshCCA FANWRRQISELHPICNKSILRQEVDYMTQARGQRSSLAEDNE SSYSRGFDMTYTEFDYDLCNEVDVTCSPKPDafNPcedimg YNILRVLIWFISILAITGNIIVLVILTTSQYKLTVPFRFLMCNLAF ADLCIGIYLLLIASVDIHTKSQYHNYAIDWQTGAGCDAAGFFT VFASELSVYTLTAITLERWHTITHAMQLDCKVQLRHAASVMV MGWIFAFAAALFPIFGISSYMKVSICLPMdidSPLSGLYVMSLL VLNVLAFVVICGCIHIYLTVRNPNIIVSSSDTRIakRMamlif TDFLCMAPISFFAISASLKVPLITVSKAKILLVLFHPINSCANPF LYAIFTKNFRDRDFILLSKCGCYEMQAQIYRTETSSTVHNTHP RNGHCSSAPRVTNGSTYILVPLSHLAQN	20 30
19	mGluR2 PAM	EGPAKKVLTLEGDLVLGGLFPVHQKGGPAEDCGPVNEHRGI QRLEAMLfALDRINRDPhLLPGVRLGAHILDSCSKDTHALEQ ALDFVRASLSRGADGSRHICPDGSYATHGDAPTAITGVIGGSY SDVSIQVANLLRLRFQIPQISYASTSAKLSDKSRYDYFARTVPPD FFQAKAMAEILRFFNWTVYSTVASEGDYGETGIEAFELEARA RNICVATSEKVGRAMSRAAFEGVVRALLQKPSARVAVLFTRS EDARELLAASQRLNASFTWVASDGWGALESVVAGSEGAAEG AITIELASYPISDFASYFQSLDPWNNsrNPWFREFWEQRFRCS FRQRDCAAHSLRAVPFEQESKIMFVNNAVYAMAHALHNmHR ALCPNTTRLCDAMRPVNGRRLYKDFVLNVKFDAPFRPADTH NEVRFDRFgdGIGRYNIFTYLRAGSGRYRYQKVGYWAEGLTL DTSLIPWASPSAGPLPASRCSEPCLQNEVKSVQPGEVCCWLCI PCQPYEYRLDEFTCADCGLGYWPNASLTGCFELPQEYIRWGD AWAVGPVTIACLGALATLFLVGVFVRHNATPVVKASGRELCYI LLGGVFLCYCMTFIFIakPSTAVCTLRRRLGLGTAFSVCYSALLT KTNRIARIFGGAREGAQRPRFISPASQVAICLALISGQLLIVVA WLVVEAPGTGKETAPERREVVTLCNHRDASMLGSLAYNVL LIALCTLYAFKTRKCPENFNEAKFIGFTMYTTCIIWLAFLPIFY	40

0

20

【表 2 - 7】

		AQSVRIPQERKDRITIDFDRIIKQLLDTTPNSRAVVIFANDEDIKQ ILAAAKRADQVGHFLWVGSDSWGSKINPLHQHEDIAEGAITIQ PKRATVEGFDAYFTSRTLENNRRNVWFAEYWEENFNCKLTIS GSKKEDTDRKCTGQERIGKDSNYEQEGKVQFVIDAVYAMAH ALHHMNKDLCADYRGVCPHEMEQAGGKKLLKYIRNVNFNGSA GTPVMFNKNGDAPGRYDIFQYQTTNTSNPGYRLIGQWTDDELQ LNIEDMQWGKGVREIPASVCTLPCKPGQRKKTQKGTTPCCWT CEPCDGYQYQFDEMTCQHCPYDQRPENENRTGCQDIPIKLEW HSPWAVIPVFLAMLGIIATIFVMATFIRYNDTPIVRASGRELSY VLLTGIFLCYIITFLMIAKPDVAVCSFRRVFLGLGMCISYAALL TKTNRIYRIFEQGGKSVTAPRLISPTSQLAITSSLISVQLLGVI WFGVDPNIIIDYDEHKTMNPEQARGVLKCDITDLQIICSLGY SILLMVTCTVYAIKTRGVPENFNEAKPIGFTMYTTCIVWLAFIP IFFGTAQSAEKLYIQTTTLTISMNLSASVALGMLYMPKVYIIF HPELVNQKRKRSFKAVVTAATMSSRLSHKPSDRPNGEAKTEL CENVDPNSPAAKKKYVSNNLVI	10
23	CXCR3	MVLEVSDHQVLNDAEVAALLENFSSSYDYGENESDSCCTSP CPQDFSLNFDRAFLPALYSLLFLLGLLGNGAVAAVLLSRRTAL SSTDFTLLHLAVADTLVLTLPLWAVDAAVQWVFGSGLCKVA GALFNINFYAGALLACISFDRYLNIVHATQLYRRGPPARVTL TCLAVWGLCLLFALPDFIFLSAHHDERLNATHCQYNFPQVGR TALRVLQLVAGFLLPLLVMAYCYAHILAVLLVSRGQRRRLAM RLVVVVVAFALCWTPYHLVVLVDILMDLGALARNCGRESRV DVAKSVTSGLYMHCCLNPLLYAFVGVKFRERMWMLLLRLG CPNQRGLQRQPSSSRDSSWSETSEASYSGL	20
24	CCR8	MDYTLDSLVTTVTDYYPDIFSSPCDAELIQTNGKLLAVFYC LLFVFSLLGNLVLVLCCKLRISITDVYLLNLALSDLLFVFS FPFQTYLLDQWVFGTVMCKVVSGFYYIGFYSSMFFITLMSV DRYLAVVHAVYALKVVRTIRMGTTLCLAVWLTAIMATIPLLIFY QVASEDGVLCYSFYNNQQLKWKIFTNFKMNILGLLIPFTIFM FCYIKILHQLKRCQNHNTKAIKRLVLIVVIASLLFWVPFNVVLF LTSLSMHILDGCSISQQLTYATHVTEIISFTHCCVNPVIYAFV GEKFKKHLSEIFQKSCSQIFNYLGRQMPRESCEKSSSCQQHSS RSSVDYIL	30
25	アデノシ ン A2a	MPIMGSSVYITVELAIAVLAILGNVLCWAVWLNSNLQNVTN YFVVSLLAAADIAVGVLAIIPFAITISTGFCAACHGCLFIACFVLV TQSSIFSLAIAIDRYIAIRIPLRYNGLVTGTAKGIIACWVLSF AIGLTPMLGWNNCGQPKEGKNHSQCGEGQVACLFEDVVP MNYMVYFNFFACVLVPLLLMLGVYLRIFLAARRQLKQMESQP LPGERARSTLQKEVHAAKSLAIIVGLFALCWLPPLHIINCFTFFC PDCSHAPLWLMYLAIVLSHTNSVVPFIYAYRIREFRQTFRKII RSHVLRQQEPFKAAGTSARVLAHGSDEQVSLRLNGHPPGV WANGSAPHPERRPNGYALGLVSGGSAQESQGNTGLPDVELLS HEKGVCPPEPGLDDPLAQDGAGVS	40
26	オレキシ ン OX1	MEPSATPGAQMGVPPGSREPSVPPDYEDFLRYLWRDYLYP KQYEWVLIAAYVAVFVVALVGNTLVCLAVWRNHMRTVTNY FIVNLSLADVLVTAICLPASLLVDITESWLFHALCKVIPYLQA VSVSAVLTLSFIALDRWYAICHPLLFKSTARRARGSILGIWAV SLAIMVPQAAMVMECSSVLPELANRTRLFSVCDERWADDLYPK	

【表 2 - 8】

		IYHSCFFIVTYLAPLGLMAMAYFQIFRKLWGRQIPGTTSALVR NWKRPDQLGDLEQGLSGEPQPRARAFLAEVKQMRARRKTA KMLMVLLVLFALCYLPISVLNVLKRVFQGMFRQASDREAVYAC FTFSHWLVYANSAANPIIYNFLSGKFREQFKAAFSCCLPGLGP CGSLKAPSPRSSASHKSLSLQSRCSISKISEHVVLTSVTTVLP	
27	オレキシ ン OX2	MSGTKLEDSPPCRNWSSASELNETQEPFLNPTDYDDEEFLRY LWREYLHPKEYEWVLIAGYIIVFVVALIGNVLVCVAVWKNHH MRTVTNYFIVNLSLADVLVTITCLPATLVVDITETWFFGQSLC KVIPYLQTVSVSVSVLTLSCIALDRWYAICHPLMFKSTAKRAR NSIVIIWIVSCIIMIPQAIVMECSTVFPGLANKTTLFTVCDERW GGEIYPKMYHICFFLVTYMAPLCLMVLAYLQIFRKLWCRQIPG TSSVVQRKWKPLQPVSPQPRGPGQPTKSRMSAVAAEIKQIRAR RKTARMLMIVLLVFAICYLPISILNVLKRVFQGMFAHTEDRETV YAWFTFSHWLVYANSAANPIIYNFLSGKFREEFKAAFSCCCL GVHHRQEDRLTRGRTSTESRKSLLTQISNFDNISKLSEQVVL SISTLPAANGAGPLQNW	10
28	PAR-2	IQGTNRSSKGRSLIGKVDGTSHTVTGKGVTVETVFSVDEFSASV LTGKLTTVFLPIVYTIVFVGLPSNGMALWVFLFRTKKKHPAV IYMANLALADLLSVIWFPLKIAYHIHGNNWIYGEALCNVLIGF FYGNMYCSILFMTCLSVQRYWVIVNPMGHSRKKANIAIGISLA IWLILLVTIPLYVVKQTIFIPALNITTCHDVLPEQLLVGDMFN YFLSLAIGVFLFPAFLTASAYVLMIRMLRSSAMDENSEKKRKR AIKLIVTVLAMYLICFTPSNLLVHVHYFLIKSQGQSHVYALYIV ALCLSTLNSCIDPFVYFVSHDFRDHAKNALLCRSVRTVKQM QVSLTSKKHSRKSSSYSSSSTTVKTSY	20
29	C3aR	MASFSAETNSTDLSQPWNEPPVILSMVILSLTFLGLPGNGL VLWVAGLKMQRVTNTIWFHLTLADLLCCLSLPFSLAHLALQ GQWPYGRFLCKLIPSIIVLNMFASVFLTAISLDRCLVVFVKPIW CQNHRNVGMACSICGCIWVVAFVMCIPVFVYREIFTTDNHNH CGYKFGLSSSLDYPDFYGDPLENRSLENIVQPPGEMNDRDLP SSFQTNHDPWTVPTVFQPTFQRPADSLSLPRGSARLTSQNLYS NVFKPADVVSPKIPSGFPIEDHETSPLDNSDAFLSTHLKLFPS ASSNSFYESELPQGFQDYNNLGQFTDDDQVPTPLVAITITRLV VGFLPSVIMIACYSFIVFRMQRGRFAKSQSKTFRVAVVVAV FLVCWTPYHIFGVLSLLTDPETPLGKTLMSWDHVCIALASANS CFNPFLYALLGKDFRKKARQSIQGILEAAFSEELTRSTHCPSN NVISERNSTTV	30
30	LGR5	GSSPRSGVLLRGCPHCHCEPDGRMLLRVDCSDLGLSELPSN LSVFTSYLDLSMNNISQLLPNPLPSLRFLEELRLAGNALTYIPK GAFTGLYSLKVLMLQNNQLRHVPTEALQNLRLSLRLDAN HISYVPPSCFSGHLHLRLWLDDNALTEIPVQAFRSLALQAM TLALNKIHHIPDYAFGNLSSLVVLHLHNNRIHSLGKKCFDGL HSLETLDLNNNLDEFPTAIRTLNLKELGFHSNNIRSIPKA FVGNPSTLTIHFYDNPIQFVGRSAFQHLPELRTLTNGASQITE FPDLTGATANLESLTLTGAQISSLPQTVCNQLPNLQVLDLSYNL LEDLPSFSVCQKLQKIDLRHNEIYEIKVDTFQQLSLRSLNLA WNKIAIHPNAFSTLPSLIKLDLSSNLLSSFPITGLHGLTHLKL TGNHALQSLISSENFPELKVIEMPYAYQCCAFGVCENAYKISN QWNKGDNSSMDDLHKKDAGMFQAQDERDLEDFLDFFEDL	40

【表 2 - 9】

		KALHSVQCSPSPGPFKPCHELLDGWLIRIGVWTIAVLALTCNA LVTSTVFRSPLYISPIKLLIGVIAAVNMLTGVSSAVLAGVDAFT FGSFARHGAWWENGVGCHVIGFLSIFASESSVFLTLAALER GFSVKYSAKFETKAPFSSLKVIILLCALLALTMAAVPLLGGSKY GASPLCLPLPFGEPTMGYMAVALILLNSLCFLMMTIAATKLYC NLDKGDLENIWDCSMVKHIALLLFTNCILNCPVAFLSFSSLIN LTFISPEVIKFILLVVVPLPACLNPLLYILFNPHFKEDLVSLRKQ TYVWTRSKHPSLMSINSDDVEKQSCDSTQALVTFTSSSITYDL PPSSVPSPAYPVTESCHLSSVAFVPCL	10
31	GPR101	MTSTCTNSTRESNSSHTCMPLSKMPISLAHGIIRSTVLVIFLAA SFVGNIVLALVLQRKPQLLQVTNRFIFNLLVTDLLQISLVAPW VVATSVPLFWPLNSHFCTALVSLTHLFAFASVNTIVVSVDRY LSIIHPLSYPSKMTQRRGYLLLYGTWIVAILQSTPPLYGWGQA AFDERNALCSMIWGASPSYTILSVVSFIVIPLIVMIACYSVVFCA ARRQHALLYNVKRHSLEVRVKDCVENEDEEGAEEKKEEFQDE SEFRRQHEGEVKAKEGRMEAKDGSLKAKEGSTGTSESSVEA RGSEEVRESSTVASDGSMEGKEGSTKVEENSMKADKGRTEV NQCSIDLGEDDMEFGEDDINFSEDDVEAVNIPESLPPSRNSN SNPPLPRCYQCKAAKVIFIIIFSIVLSLGPYCFLAVLAVWVDVE TQVPQWVITIIWLFFLQCCIHPIVYGYMHKTIKKEIQDMLKK FFCKEKPPKEDSHPDLPGTEGGTEGKIVPSYDSATFP	20
32	GPR151	MLAAAFADSNSSSMNVSF AHLHFAGGYLP SDSQDWRTIIPAL LVAVCLVG FVG NLCVIGILLHNAWK G KPSMIHSLILNLSLADL SLLLFSAPIRATAYSKSVWDLGW FVCKSSDWFIHTCMAAKSL TIVVVAKVCFMYASDPAKQVSIHNYTIWSVLVAIWTVASLLPL PEWFFSTIRHHEGVEMCLVDVPAVAEEFMSMFGLYPLLA GLPLFFASFYFWRAYDQCKKRGTKTQNLNRNQIRSKQVTVMML SIAIISALLWLPEWVAWLWVWHLKAAGPAPPQGFIALSQVLM FSISSANPLIFLVMSEEFREGLKG VWKWMITKKPPTVSESQET PAGNSEGLPDKVPSPESPASIPEKEKPSSPSSGKGKTEKAEIPI LPDVEQFWHERDTVPSVQDNDPIPWEHEDQETGEGVK	30
33	GPR161	MSLNSSLSCRKELSNLTEEEGGEGGVIITQFIAIIVITIFVCLGN LVIVVTLYKKS YLLT LSNKFVFSLTLSNFLLSVLVLPFVVTSSIR REWIFGVVWCNFSALLYLLISSASMLTLGVIAIDRYAVLYPM VYPMKITGNRAVMALVYIWLHSLIGCLPPLFGWSSVEFDEFK WMCVAAWHREPGYTAFWQIWCALFPFLVMLVCYGFIFRVAR VKARKVHCGTVVIVEEDAQRTGRKNSSTSTSSSGSRRNAFQG VVYSANQCKALITILVVLGAFMVTWGPYMVVIASEALWGKSS VSPSLETWATWLSFASAVCHPLIYGLWNKTVRKELLGMCFGD RYYREPFVQRQRTSRLFSISNRITDLGLSPHLTALMAGGQPLG HSSSTGDTGFSCSQDSGTDMMLEDYTSDDNPPSHCTCPPKR RSSVTFEDEV E Q I K E A A K N S I L H V K A E V H K S L D S Y A A S L A K A I E A E A K I N L F G E E A L P G V L V T A R T V P G G G F G G R R G S R T L V S Q R L Q L Q S I E E G D V L A A E Q R	40
34	GPR17	MSKRWWAGSRKPPREMLKLSGSDSSQSMNGLEVAPPGLIT NFSLATAEQCGQETPLENMLFASFYLLDFILALVGNLTLALWL FIRDHKSGTPANVFLMHLAVADLSCVLVLPTRLVYHFSGNHW PFGEIACRLTGFLFYLNMYASIYFLTCISADRFLAIVHPVKSLK LRRPLYAHLACAFLWVVVAVAMAPLLVSPQTVQTNHTVVCLQ	

【表 2 - 1 0】

		LYREKASHHALVSLAVAFTFPFITTVTCYLLIIRSLRQGLRVEK RLKTKAVRMIAIVLAIFLVCFVPYHVNRSVYVLHYRSHGASCA TQRILALANRITSCLTSLNGALDPIMYFFVAEKFRHALCNLLC GKRLKGPPPSFEGKTNESSLSAKSEL	
35	GPR183	MDIQMANNFTPPSATPQGNDCLYAAHHSTARIVMPLHYSLVF IIGLVGNLLALVVIVQNRKKINSTTLYSTNLVISDILFTTALPTR IAYYAMGFDWRIGDALCRITALVFYINTYAGVNFMTCLSIDRFI AVVHPLRYNKKIKRIEHAKGVCIFVWILVFAQTLPLLINPMSKQ EAERITCMEYPNFEETKSLPWILLGACFIGYVPLIILICYSQI CCKLFRITAKQNPLTEKSGVNKKALNTIILIVFVLCFTPYHVA IIQHMIKKLRFSNFLECSQRHSFQISLHFTVCLMNFNCCMDPF IYFFACKGYKRKVMRMLKRQVSVSISSAVKSAPEENSREMTE TQMMIHSKSSNGK	10
36	CRTH2	MSANATLKPLCPILEQMSRLQSHSNTSIRYIDHAAVLLHGLAS LLGLVENGVILFVVGCRMRQTVVTTWVLHLALSDDLASASLP FFTYFLAVGHSWELGTTFCCLHSSIFFLNMFASGFLLSAISLD RCLQVVRPVWAQNHRTVAAAHKVCLVLWALAVLNTVPYFVF RDTISRLDGRIMCYYNVLLNPGPDRDATCNSRQVALAVSKFL LAFLVPLAIASSHAAVSLRLQHRGRRRPGRFVRLVAADVAAF ALCWGPYHVFSLLLEARAHANPGLRPLVWRGLPFVTSLAFFNS VANPVLYVLTCPDMLRKLRRSLRTVLESVLVDDSELGGAGSS RRRRTSSTARSASPLALCSRPEEPRGPARLLGWLLGSCAASPQ TGPLNRALSSTSS	20
37	5-HT4	MDKLDANVSSEEGFGSVEKVLLTFLSTVILMAILGNLLVMV AVCWDQRQLRKIKTNYFIVSLAFADLLVSVLVMPPFGAIELVQDI WIYGEVFCVLRVTSLDVLLTTASIFHLCCISLDRYAICCQPLVY RNKMTPLRIALMLGGCWVIPTFISFLPIMQGWNNIGIIDLIEKR KFNQNSNSTYCVFMVNKPYAITCSVVAFYIPFLLMVLAYYRIY VTAKEHAHQIQMLQRAGASSESRPQSADQHSTHRMRTETKA AKTLCIIMGCFCLCWAPFFVTNIVDPFIDYTVPGQVWTAFLWL GYINSGLNPFLYAFLNKSFRRAFLIILCCDDERYRRPSILGQTV PCSTTTINGSTHVLRDAVECGGQWESQCHPPATSPLVAAQPS DT	30
38	5-HT6	MVPEPGPTANSTPAWGAGPPSAPGGSGWVAAALCVVIALTAA ANSLIALICTQPALRNTSNFFLVSLFTSDLMVGLVVMPPAML NALYGRWVLARGLCLLWTAFDVMCCSASILNLCLISLDRYLLI LSPLRYKLRTPLRALALVLGAWSLAALASFLPLLLGWHEL HARPPVPGQCRLLASLPFVLVASGLTFFLPSGAICFTYCRILLA ARKQAVQVASLTTGMASQASETLQVPRTPRPGVESADSRRLA TKHSRKALKASLTGLGILLGMFFVTWLPFFVANIVQAVCDCISP GLFDVLTWLGYCNSTMNPIIYPLFMRDFKRALGRFLPCPRCP RERQASLASPSLRTSHSGPRPGLSLQQLPLPLPPDSDSDDA GSGGSSGLRLTAQQLLPGEATQDPPLPTRAAAANFFNIDPAE PELRPHPLGIPTN	40
39	CB2	MEECWVTEIANGSKDGLDSNPMKDYMILSGPQKTAVAVLCT LLGLLSALENVAVLYLILSSHQLRRKPSYLFISLAGADFLASV VFACSFVNHFVHFGVDSKAVFLLKIGSVTMTFTASVGSLLTA IDRYLCLRYPPSYKALLTRGRALVTLGIMWVLSALVSYLPLMG WTCCPRPCSELFPLIPNDYLLSWLLFIAFLFSGIITYGHVLWK	

【表 2 - 1 1】

		AHQHVASLSGHQDRQVPGMARMRLDVRLAKTLGLVLAVLLI CWFPVLALMAHSLATTLSDQVKKAFACSMCLINSMVNPVI YALRSGEIRSSAHHC LAHWKKCVRGLGSEAKEEAPRSSVTET EADGKITPWPDSDRLDLSDC	
40	ヒスタミ ン-3	MERAPPDGPLNASGALAGEAAAAGGARGFSAAWTAVLAALM ALLIVATVLGNALVMLAFVADSSLRTQNNFFLLNLAISDFLVG AFCIPLYVPYVLTGRWTFGRGLCKLWLVDYLLCTSSAFNIVL ISYDRFLSVTRAVSYRAQQGDTRRAVRKMMLLVWVLAFLLYGP AILSWEYLSSGGSSIPEGHCYAEFFYNWYFLITASTLEFFTPFLS VTFFNLSIYLNIIQRRTRLRLDGAREAAAGPEPPPEAQSPPPPPG CWGCWQKGHGGEAMPLHRYGVGEAAVGAEAGEATLGGGGGG GSVASPTSSSGSSSRGTERPRSLKRGSKPSASSASLEKRMKMV SQSFTQRFRLSRDRKVAKSLAVIVSIFGLCWAPYTLLMIIRAAC HGHCVPDYWYETSFWLLWANSVNPVLYPLCHHSFRRAFTK LLCPQKLKIQPHSSLEHCWK	10
41	VPAC-1 または VIPR1	ARLQEECDYVQMIEVQHKQCLEEAQLENETIGCSKMWDNLT CWPATPRGQVVVLACPLIFKLFSSIQGRNVSRSCDEGWTHLE PGPYPIACGLDDKAASLDEQQTMFYGSVKTGYTIGYGLSLATL LVATAILSLFRKLHCTRNYIHMHLFISFILRAAAVFIKDLALFD SGESDQCSEGSVGCKAAMVFFQYCVMANFFWLLVEGLYLYT LLAVSFFSERKYFWGYILIGWGVPTFTMVWTIARIHFEDYGC WDTINSSLWWIIKGPILTSILVNFILFICIIRILLQKLRPDIRKS DSSPYSLARSTLLLIPLFGVHYIMFAFFPDNFKPEVKMVFEL VVGFSFQGFVVAILYCFLNGEVQAE LRKWRRLQGVLGWN PKYRHPSGGSGNGATCSTQVSMLTRVSPGARRSSSFQAEVSLV	20
42	GIPR	RAETGSKGQTAGELYQRWERYRRECQETLAAAEPPSGLACN GSFDMYVCWDYAAPNATARASCPWYLPWHHHVAAGFVLRQ CGSDGQWGLWRDHTQCENPEKNEAFLDQRLILERLQVMYTV GYSLSLATLLALLILSLFRRLHCTRNYIHINLFTSFMLRAAAIL SRDRLLPRPGPYLGDQALALWNQALAACRTAQIVTQYCVGAN YTWLLVEGVYLHSLVLVGGSEEGHFRYLLLGWGAPALFVI PWVIVRYLYENTQCWERNEVKAIWWIIRTPILMTILINFLIFIRI LGILLSKLRTRQMRCRDYRLRLARSTLTLPVLLGVHEVVFAPV TEEQARGALRFAKLGF EIFLSSFGFLVSVLYCFINKEVQSEIR RGWHHCRLRRSLGEEQRQLPERAFRALPSGSGPGEVPTSRGL SSGTLPGPGNEASRELESYC	30
43	5-HT1B GPCR	MEEPGAQCAPPPPAGSETWVPQANLSSAPSQNCSAKDYIYQD SISLPWKVLLVMLLALITLATTLSNAFVIATVYRTRKLHTPANY LIASLAVTDLLVSILVMPISTMYTVTGRWTLGQVVCDFWLSSD ITCCTASILHLCVIALDRYWAITDAVEYSKRTPKRAAVMIALV WVFSISISLPPFFWRQAKAE EEVSECVVNTDHILYTVYSTVGA FYFPTLLLIALLYGRIYVEARSRLKQTPNRTGKRLTRAQLITDS PGSTSSVTSINSRVPDVPSESGSPVYNQVKVRVSDALLEKKK LMAARERKATKTLGILGAFIVCWLPFFIISLVMPICKDACWFH LAIFDFFTWLGYLNSLINPIIYTMSNEDFKQAFHKLIRFKCTS	40
44	CCR7	QDEVTDYIGDNTTVDYTLFESLCSKKDVRNFKAWFLPIMYSI ICFVGLLGNGLVVLTYYIFKRLKTM TDYLLNLAVADILFLLTL PFWAYSAAKSWVFGVHFCKLIFAIYKMSFFSGMLLLLCISIDR YVAIVQAVSAHRHRARVLLISKLS CVGIWILATVLSIPELLYSD	

【表 2 - 1 2】

		LQRSSEQAMRCSLITEHVEAFITIQVAQMVIGFLVPLLAMSFC YLVIRTLQARNFERNKAIKVIIAVVVVFIVFQLPYNGVVLAQ TVANFNITSSTCELSKQLNIAYDVTYSLACVRCCVNPFLYAFIG VKFRNDLFLKFLKDLGCLSQEQLRQWSSCRHIRRSSMSVEAET TTTFSP	
45	CXCR5	MNYPLTLEMDLENLEDLFWELDRLDNYNDTSLVENHLCPAT EGPLMASFKAVFVPVAYSLLIFLLGVIGNVLVLVILERHRQTRSS TETFLFHLAVADLLL VFILPFAVAEGSVGWVLGTFLCKTVIAL HKVNFYCSSLLLACIAVDRYLAIVHAVHAYRHRRLLSIHITCGT IWLVGFLALPEILFAKVSQGHNNSLPRCTFSQENQAETHA WFTSRFLYHVAGFLLPMLVMGWCYVGVVHRLRQAQRRPQRQ KAVRVAILVTSIFFLCWSPYHIVIFLDTLARLKAVDNTCKLNGS LPVAITMCEFLGLAHCCLNPMPLYTFAGVKFRSDLSRLLTKLG CTGPASLCQLFPSWRRSSLSESENATSLTTF	10
46	GPR119	MESSFSFGVILAVLASLIATNTLVAVAVLLLIHKNDGVSLCFT LNLAVADTLIGVAISGLLTDQLSSPSRPTQKTLCSLRMAFVTSS AAASVLTVMMLITFDRYLAIKQPFYRLKIMSGFVAGACIAGLWL VSYLIGFLPLGIPMFQQTAYKGQCSFFAVFHPHFVLTLSVGF FPAMLLFVFFYCDMLKIASMHSQQIRKMEHAGAMAGGYRSP RTPSDFKALRTVSVLIGSFALSWTPFLITGIVQVACQECHLYLV LERYLWLLGVGNSSLNPLIYAYWQKEVRLQLYHMALGVKKV LTSFLLFLSARNCGPERPRESSCHIVTISSEFDG	20
47	GPR55	MSQQNTSGDCLFDGVNELMKTQLQFAVHIPTFVLGLLLNLAI HGFSTFLKNRWPDYAATSIYMINLAVFDLLLVLSPFKMVLSQ VQSPFPSLCTLVECLYFVSMYGSVFTICFISMDRFLAIRYPLL SHLRSPRKIFGICCTIWVLVWTGSIPIYSFHGKVEKYMCFHNM SDDTWSAKVFFPLEVFGFLLPMGIMGFCCSRSIHILLGRDHT QDWVQQKACIYSIAASLAVFVVSFLPVHLGFFLQFLVRNSFIV ECRAKQSSISFFLQLSMCFSNVNCCLDVFCYYFVIKEFRMNIRA HRPSRVQLVLQD TTISRG	30

【 0 0 6 7 】

本明細書には G P C R 結合ドメインを含むスキャホールドが提供され、G P C R 結合ドメインの配列は少なくとも1つの G P C R との相互作用を支持する。配列は G P C R リガンドの配列に相同する、またはそれと同一であり得る。いくつかの例において、G P C R 結合ドメイン配列は、SEQ ID NO: 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、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、または47に対して、少なくともまたは約70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を含む。いくつかの例において、G P C R 結合ドメイン配列は、SEQ ID NO: 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、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、または47に対して、少なくともまたは約95%の同一性を含む。いくつかの例において、G P C R 結合ドメイン配列は、SEQ ID NO: 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、26、27、28、29、30、31、32、33、34、3

10

20

30

40

50

5、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、または47
に対して、少なくともまたは約97%の同一性を含む。いくつかの例において、GPCR
結合ドメイン配列は、SEQ ID NO: 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、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、3
7、38、39、40、41、42、43、44、45、46、または47に対して、少
なくともまたは約99%の同一性を含む。いくつかの例において、GPCR結合ドメイン
配列は、SEQ ID NO: 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、
26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、3
9、40、41、42、43、44、45、46、または47に対して、少なくともまた
は約100%の同一性を含む。いくつかの例において、GPCR結合ドメイン配列は、S
EQ ID NO: 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、1
4、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27
、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、
41、42、43、44、45、46、または47の、少なくともまたは約10、20、
30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140
、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240
、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340
、350、360、370、380、390、400、または400を超えるアミノ酸を
有する、少なくとも一部を含む。

10

20

【0068】

GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーは、
1つ以上のGPCRに結合し得る。いくつかの例において、GPCR結合ドメインを含む
スキャホールドは、単一のGPCRに結合する。いくつかの例において、GPCR結合ド
メインを含むスキャホールドは、同じファミリーまたはクラスのGPCRに結合する。い
くつかの例において、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドは、複数のGPCRに
結合する。例えば、スキャホールドは多量体であり、少なくとも2つのスキャホールドを
含む。いくつかの例において、多量体スキャホールドは、少なくともまたは約3、4、5
、6、7、8、または8を超えるスキャホールドを含む。いくつかの例において、多量体
スキャホールドは、例えば二量体ドメイン、アミノ酸リンカー、ジスルフィド結合、化学
的架橋、または当該技術分野で既知の他のあらゆるリンカーにより結合される、少なくと
も2つのスキャホールドを含む。いくつかの例において、多量体スキャホールドは同じG
PCRまたは異なるGPCRに結合する。

30

【0069】

本明細書には、ドメイン型、ドメイン長さ、または残基の変異における変異を含む、G
PCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むGPCR結合ライブラ
リーが提供される。いくつかの例において、ドメインは、GPCR結合ドメインを含むス
キャホールドにおける領域である。例えば、領域はVH、CDR-H3、またはVLドメ
インである。いくつかの例において、ドメインはGPCR結合ドメインである。

40

【0070】

本明細書に記載される方法は、少なくとも1つの予め決められた基準核酸配列の予め決
められた変異体を各々がコードする、オリゴ核酸のライブラリーの合成をもたらす。場合
によっては、予め決められた基準配列はタンパク質をコードする核酸配列であり、変異体
ライブラリーは、合成された核酸によってコードされた後続するタンパク質中の単一の残
基の複数の様々な変異体が標準的な翻訳プロセスによって生成されるように、少なくとも
1つのコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、GPCR結合ライ
ブラリーは、複数の位置にて変異を総体的にコードする変異核酸を含む。いくつかの例に
おいて、変異体ライブラリーは、VH、CDR-H3、またはVLドメインの少なくとも
単一のコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、異なるライブラリ

50

ーは、G P C R 結合ドメインにおける少なくとも単一のコドンの変異をコードする配列を含む。例えば、表 2 に列挙されるような G P C R 結合ドメインの少なくとも 1 つの単一コドンが変動される。いくつかの例において、変異体ライブラリーは、V H、C D R - H 3、または V L ドメインの複数のコドンの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、異なるライブラリーは、G P C R 結合ドメインにおける複数のコドンの変異をコードする配列を含む。変異に対するコドンの典型的な数は、限定されないが、少なくともまたは約 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、225、250、275、300、または 300 を超えるコドンを含む。

【0071】

本明細書に記載される方法は、少なくとも 1 つの予め決められた基準核酸配列の予め決められた変異体を各々がコードする核酸の G P C R 結合ライブラリーの合成をもたらし、G P C R 結合ライブラリーは、ドメインの長さの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、ドメインは V H、C D R - H 3、または V L ドメインである。いくつかの例において、ドメインは G P C R 結合ドメインである。いくつかの例において、ライブラリーは、予め決められた基準配列と比較して少ない、少なくともまたは約 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、225、250、275、300、または 300 を超えるコドンの長さの変異をコードする配列を含む。いくつかの例において、ライブラリーは、予め決められた基準配列と比較して多い、少なくともまたは約 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、または 300 を超えるコドンの長さの変異をコードする配列を含む。

【0072】

本明細書には、G P C R 結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、G P C R 結合ライブラリーは、様々な数のフラグメントにより合成される。いくつかの例において、フラグメントは V H、C D R - H 3、または V L ドメインを含む。いくつかの例において、G P C R 結合ライブラリーは、少なくともまたは約 2 つのフラグメント、3 つのフラグメント、4 つのフラグメント、5 つのフラグメント、または 5 つを超えるフラグメントにより合成される。合成された核酸の核酸フラグメントの各々の長さ、または核酸の平均長さは、少なくともまたは約 50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、または 600 を超える塩基対でもよい。いくつかの例において、長さは、約 50 ~ 600、75 ~ 575、100 ~ 550、125 ~ 525、150 ~ 500、175 ~ 475、200 ~ 450、225 ~ 425、250 ~ 400、275 ~ 375、または 300 ~ 350 の塩基対である。

【0073】

本明細書に記載されるような G P C R 結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含む G P C R 結合ライブラリーは、翻訳時に様々な長さのアミノ酸を含む。いくつかの例において、合成されたアミノ酸のアミノ酸フラグメントの各々の長さ、またはアミノ酸の平均長さは、少なくともまたは約 15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、または 150 を超えるアミノ酸でもよい。いくつかの例において、アミノ酸の長さは、約 15 ~ 150、20 ~ 145、25 ~ 140、30 ~ 135、35 ~ 130、40 ~ 125、45 ~ 120、50 ~ 115、55 ~ 110、60 ~ 110、65 ~ 105、70 ~ 100、または 75 ~ 95 のアミノ酸である。いくつかの例において、アミノ酸の長さは約 22 ~ 約 75 のアミノ酸である。

【0074】

GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードするデノボ合成された変異体配列を含む、GPCR結合ライブラリーは、多数の変異体配列を含む。いくつかの例において、多数の変異体配列は、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、VL、VH、またはそれらの組み合わせに対してデノボ合成される。いくつかの例において、多数の変異体配列は、フレームワーク要素1(FW1)、フレームワーク要素2(FW2)、フレームワーク要素3(FW3)、またはフレームワーク要素4(FW4)に対してデノボ合成される。いくつかの例において、多数の変異体配列は、GPCR結合ドメインのためにデノボ合成される。例えば、変異体配列の数は、VHドメインでは約1~約10の配列、GPCR結合ドメインでは約108の配列、およびVKドメインでは約1~約44の配列である。図2を参照する。変異体配列の数は、少なくともまたは約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、または500を超える配列でもよい。いくつかの例において、変異体配列の数は、約10~300、25~275、50~250、75~225、100~200、または125~150の配列である。

10

【0075】

GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードするデノボ合成された変異体配列を含む、GPCR結合ライブラリーの多様性は改善されている。例えば、変異体は、N末端CDR-H3変異およびC末端CDR-H3変異を含む免疫グロブリンスキャホールド変異体にGPCR結合ドメイン変異体を配置することにより生成される。いくつかの例において、変異体は親和性成熟変異体を含む。代替的に、または組み合わせにおいて、変異体は、CDR-H1、CDR-H2、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むがこれらに限定されない免疫グロブリンの他の領域中の変異体を含む。いくつかの例において、GPCR結合ライブラリーの変異体の数は、少なくともまたは約 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、または 10^{10} を超える非同一致配列である。例えば、VH領域では約10の変異体配列、CDR-H3領域では約237の変異体配列、およびVL・CDR-L3領域では約43の変異体配列を含むライブラリーは、 10^5 の非同一致配列($10 \times 237 \times 43$)を含む。図4A-4Bを参照する。

20

30

【0076】

GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むGPCR結合ライブラリーの合成後、ライブラリーはスクリーニングおよび解析のために使用されてもよい。例えば、ライブラリーは、ライブラリーの表示能力およびパニングのために解析される。いくつかの例において、表示能力は選択可能なタグを使用して解析される。典型的なタグは、限定されないが、放射性ラベル、蛍光標識、酵素、化学発光タグ、比色定量タグ、アフィニティタグ、または、その他当該技術分野で既知のラベルまたはタグを含む。いくつかの例では、タグはヒスチジン、ポリヒスチジン、myc、赤血球凝集素(HA)、またはFLAGである。例えば、図3に見られるように、GPCR結合ライブラリーは、GFP、FLAG、およびLucyなどの複数のタグの他、DNAバーコードを伴うGPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含む。いくつかの例において、ライブラリーは、単一分子リアルタイム(SMRT)シーケンシング、ポロニーシーケンシング、ライゲーションシーケンシング、可逆的ターミネーターシーケンシング、プロトン検出シーケンシング、イオン半導体シーケンシング、ナノポアシーケンシング、電子シーケンシング、パイロシーケンシング、マクサム-ギルバートシーケンシング、連鎖停止(例えばサンガー)シーケンシング、+Sシーケンシング、または合成によるシーケンシングを含むがこれらに限定されない、様々な方法を使用した配列決定により解析される。

40

【0077】

発現系

【0078】

50

本明細書には、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、ライブラリーは、特異性、安定性、発現、フォールディング、または下流の活性が改善されている。いくつかの例において、本明細書に記載されるライブラリーは、スクリーニングおよび解析のために使用される。

【0079】

本明細書には、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、核酸ライブラリーは、スクリーニングおよび解析のために使用される。いくつかの例において、スクリーニングおよび解析はインビボ、インビトロ、またはエクスピボのアッセイを含む。スクリーニングのための細胞は、生きている被験体または細胞株から得られた初代細胞を含む。細胞は、原核細胞（例えば、細菌細胞および真菌細胞）または真核細胞（例えば、植物細胞および動物細胞）に由来し得る。典型的な動物細胞は、限定されないが、マウス、ウサギ、霊長類、および昆虫由来のものを含む。いくつかの例において、スクリーニングのための細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株、ヒト胚腎臓（HEK）細胞株、またはベビーハムスター腎臓（BHK）細胞株を含むがこれらに限定されない細胞株を含む。いくつかの例において、本明細書に記載される核酸ライブラリーは、多細胞生物にも送達され得る。典型的な多細胞生物には、限定されないが、植物、マウス、ウサギ、霊長類、および昆虫が挙げられる。

10

【0080】

本明細書に記載される核酸ライブラリーは、様々な薬学特性または薬物動態特性のためにスクリーニングされ得る。いくつかの例において、ライブラリーは、インビトロアッセイ、インビボアッセイ、またはエクスピボアッセイを使用してスクリーニングされる。例えば、スクリーニングされるインビトロの薬学特性または薬物動態特性には、限定されないが、結合親和性、結合特異性、および結合活性が挙げられる。スクリーニングされる本明細書に記載のライブラリーの、典型的なインビボの薬学特性または薬物動態特性には、限定されないが、治療効果、活性、前臨床毒性特性、臨床的有効度特性、臨床的毒性特性、免疫原性、効力、および臨床的安全性特性が挙げられる。

20

【0081】

本明細書には核酸ライブラリーが提供され、核酸ライブラリーはベクターに発現され得る。本明細書に開示される核酸ライブラリーを挿入するための発現ベクターは、真核生物または原核生物の発現ベクターを含み得る。典型的な発現ベクターには、限定されないが、哺乳動物の発現ベクター：pSF-CMV-NEO-NH₂-PPT-3XFLAG、pSF-CMV-NEO-COOH-3XFLAG、pSF-CMV-PURO-NH₂-GST-TEV、pSF-OB20-COOH-TEV-FLAG(R)-6His、pCEP4、pDEST27、pSF-CMV-Ub-KrYFP、pSF-CMV-FMDV-daGFP、pEF1a-mCherry-N1 Vector、pEF1a-tdTomato Vector、pSF-CMV-FMDV-Hygro、pSF-CMV-PGK-Puro、pMCP-tag(m)、およびpSF-CMV-PURO-NH₂-CMYC；細菌の発現ベクター：pSF-OB20-BetaGal、pSF-OB20-Fluc、pSF-OB20、およびpSF-Tac；植物の発現ベクター：pRI101-AN DNAおよびpCambia2301；および酵母発現ベクター：pTYB21およびpKLAC2、および昆虫のベクター：pAc5.1/V5-His AおよびpDEST8が挙げられる。いくつかの例において、ベクターはpcDNA3またはpcDNA3.1である。

30

40

【0082】

本明細書には、GPCR結合ドメインの配列を含むスキャホールドを含む構築物を生成するためにベクターに発現される核酸ライブラリーが記載される。いくつかの例において、構築物のサイズは変動する。いくつかの例において、構築物は、少なくともまたは約500、600、700、800、900、1000、1100、1300、1400、1500、1600、1700、1800、2000、2400、2600、2800、3000、3200、3400、3600、3800、4000、4200、4400、4

50

600、4800、5000、6000、7000、8000、9000、10000、
または10000を超える塩基を含む。いくつかの例において、構築物は、約300~1
、000、300~2、000、300~3、000、300~4、000、300~5
、000、300~6、000、300~7、000、300~8、000、300~9
、000、300~10、000、1、000~2、000、1、000~3、000、
1、000~4、000、1、000~5、000、1、000~6、000、1、00
0~7、000、1、000~8、000、1、000~9、000、1、000~10
、000、2、000~3、000、2、000~4、000、2、000~5、000
、2、000~6、000、2、000~7、000、2、000~8、000、2、0
00~9、000、2、000~10、000、3、000~4、000、3、000~
5、000、3、000~6、000、3、000~7、000、3、000~8、00
0、3、000~9、000、3、000~10、000、4、000~5、000、4
、000~6、000、4、000~7、000、4、000~8、000、4、000
~9、000、4、000~10、000、5、000~6、000、5、000~7、
000、5、000~8、000、5、000~9、000、5、000~10、000
、6、000~7、000、6、000~8、000、6、000~9、000、6、0
00~10、000、7、000~8、000、7、000~9、000、7、000~
10、000、8、000~9、000、8、000~10、000、または9、000
~10、000の塩基の範囲を含む。

10

20

【0083】

本明細書には、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むライブラリーが提供され、核酸ライブラリーは、細胞に発現される。いくつかの例において、ライブラリーはレポーター遺伝子を発現するように合成される。典型的なレポーター遺伝子には、限定されないが、アセトヒドロキシ酸シンターゼ(AHAS)、アルカリホスファターゼ(AP)、ガラクトシダーゼ(LacZ)、グルコロニダーゼ(GUS)、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(CAT)、緑色蛍光タンパク質(GFP)、赤色蛍光タンパク質(RFP)、黄色蛍光タンパク質(YFP)、シアン蛍光タンパク質(CFP)、濃青色蛍光タンパク質、淡黄色蛍光タンパク質、オレンジ色蛍光タンパク質、サクランボ色蛍光タンパク質、緑青色蛍光タンパク質、青色蛍光タンパク質、ホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ(HRP)、ルシフェラーゼ(Luc)、ノパリンシンターゼ(NOS)、オクトピンシンターゼ(OCs)、ルシフェラーゼ、およびそれらの誘導体が挙げられる。レポーター遺伝子の調節を判定するための方法は当技術分野において周知であり、限定されないが、蛍光測定器方法(例えば蛍光分光法、蛍光活性化細胞分類(FACS)、蛍光顕微鏡検査法)および抗生物質耐性判定が挙げられる。

30

【0084】

疾患および障害

【0085】

本明細書には、治療効果を有し得る、GPCR結合ドメインを含むスキャホールドをコードする核酸を含むGPCR結合ライブラリーが提供される。いくつかの例において、GPCR結合ライブラリーは、疾患または障害を処置するために使用されるタンパク質を翻訳時にもたらす。いくつかの例において、タンパク質は免疫グロブリンである。いくつかの例において、タンパク質はペプチド模倣体である。典型的な疾患には、限定されないが、癌、炎症性疾患または障害、代謝疾患または障害、循環器疾患または障害、呼吸器疾患または障害、疼痛、消化器疾患または障害、生殖器疾患または障害、内分泌疾患または障害、または神経系疾患または障害を含む。いくつかの例において、癌は固形癌または血液癌である。いくつかの例において、本明細書に記載されるようなGPCRグルカゴン様ペプチド1受容体(GLP1R)などの阻害剤は、代謝異常の処置のために使用される。いくつかの例において、本明細書に記載されるようなGPCR GLP1Rの阻害剤は、体重増加の処置(または体重減少の誘導)、肥満症の処置、またはII型糖尿病の処置のために使用される。いくつかの例において、被験体は哺乳動物である。いくつかの例におい

40

50

て、被験体は、マウス、ウサギ、イヌ、またはヒトである。本明細書に記載される方法により処置される被験体は、幼児、成人、または小児であり得る。本明細書に記載されるような抗体または抗体フラグメントを含む医薬組成物は、静脈内または皮下に投与され得る。いくつかの例において、医薬組成物は、SEQ ID NO: 2420 ~ 2436のいずれか1つの配列を含むCDR - H3を含む、本明細書に記載される抗体または抗体フラグメントを含む。さらなる例において、医薬組成物は代謝異常の処置のために使用される。

【0086】

変異体ライブラリー

【0087】

コドン変異

【0088】

本明細書に記載される変異体核酸ライブラリーは複数の核酸を含み、それぞれの核酸は、基準核酸配列と比較して、変異体コドン配列をコードする。いくつかの例において、第1の核酸母集団のそれぞれの核酸は単一の変異体部位に変異体を含む。いくつかの例において、第1の核酸母集団は、同じ変異体部位に1つを超える変異体を含むように、単一の変異体部位に複数の変異体を含む。第1の核酸母集団は、同じ変異体部位に複数のコドン変異体を総体的にコードする核酸を含み得る。第1の核酸母集団は、同じ位置に最大19以上のコドンを総体的にコードする核酸を含み得る。第1の核酸母集団は、同じ位置に最大60の変異体トリプレットを総体的にコードする核酸を含み、または、第1の核酸母集団は、同じ位置にコドンの最大61の異なるトリプレットを総体的にコードする核酸を含み得る。それぞれの変異体は、翻訳中に異なるアミノ酸をもたらすコドンをコードし得る。表3は、異なる部位に対して起こり得る各コドン（および代表的なアミノ酸）のリストを提供する。

【0089】

10

20

【表 3 - 1】

表 3. コドンおよびアミノ酸のリスト

アミノ酸	1 文 字コ ード	3 文 字コ ード	コドン					
アラニン	A	Ala	GCA	GCC	GCG	GCT		
システイン	C	Cys	TGC	TGT				
アスパラギン酸	D	Asp	GAC	GAT				
グルタミン酸	E	Glu	GAA	GAG				
フェニルアラニン	F	Phe	TTC	TTT				
グリシン	G	Gly	GGA	GGC	GGG	GGT		
ヒスチジン	H	His	CAC	CAT				
イソロイシン	I	Iso	ATA	ATC	ATT			
リジン	K	Lys	AAA	AAG				
ロイシン	L	Leu	TTA	TTG	CTA	CTC	CTG	CTT
メチオニン	M	Met	ATG					
アスパラギン	N	Asn	AAC	AAT				
プロリン	P	Pro	CCA	CCC	CCG	CCT		
グルタミン	Q	Gln	CAA	CAG				

10

20

30

40

【表 3 - 2】

アルギニン	R	Arg	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGT
セリン	S	Ser	AGC	AGT	TCA	TCC	TCG	TCT
トレオニン	T	Thr	ACA	ACC	ACG	ACT		
バリン	V	Val	GTA	GTC	GTG	GTT		
トリプトファン	W	Trp	TGG					
チロシン	Y	Tyr	TAC	TAT				

10

【 0 0 9 1 】

核酸母集団は、複数の位置にて最大 20 のコドン変異を総体的にコードする様々な核酸を含むことがある。このような場合、母集団中の各核酸は、同じ核酸中の 1 つを超える位置でのコドンの変異を含む。いくつかの例において、母集団中の各核酸は、単一の核酸中の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、またはそれ以上のコドンでのコドンの変異を含む。いくつかの例において、それぞれの変異体の長い核酸は、単一の長い核酸中の 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、26、27、28、29、30、またはそれ以上のコドンでのコドンの変異を含む。いくつかの例において、変異体の核酸母集団は、単一の核酸中の 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、26、27、28、29、30、またはそれ以上のコドンでのコドンの変異を含む。いくつかの例において、変異体の核酸母集団は、単一の核酸中の少なくとも約 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、またはそれ以上のコドンでのコドンの変異を含む。

20

30

【 0 0 9 2 】

高度に並列な核酸合成

【 0 0 9 3 】

本明細書には、革新的な合成プラットフォームを作るために、シリコン上のナノウェル内でのオリゴ核酸から遺伝子アセンブリへの末端間プロセスの小型化、並列化、および垂直的統合を利用する、プラットフォームアプローチが提供される。本明細書に記載される装置は、96 ウェルのプレートと同じフットプリントを提供し、シリコン合成プラットフォームは、従来の合成方法と比較して、最大 1,000 倍以上のスループットを増加させることができ、単一の高度に並列されたラン (run) において最大約 1,000,000 以上のポリヌクレオチド、または 10,000 以上の遺伝子を産生することができる。

40

【 0 0 9 4 】

次世代配列決定の出現により、高解像度のゲノムデータは、正常な生態および病因の両方において様々な遺伝子の生物学的役割を深く探究する研究に対する重要な因子となった。この研究の中心となるのは、分子生物学のセントラルドグマおよび「配列情報の残基ごとの移動」の概念である。DNA にコードされたゲノム情報は、メッセージへと転写され、これはその後、与えられた生物学的経路内の活性産物であるタンパク質へと翻訳される。

【 0 0 9 5 】

50

研究の別の刺激的な領域は、高特異的な細胞標的に焦点を置いた治療用分子の発見、開発、および製造に関するものである。高い多様性のDNA配列ライブラリーは、標的とされた治療薬のための開発パイプラインの中心にある。治療標的に対して高い親和性を有するタンパク質の高度な発現のために理想的には遺伝子の最適化に達する、設計、構造、および試験のタンパク質工学サイクルにおいてタンパク質を発現するために、遺伝子突然変異体を使用される。一例として、受容体の結合ポケットを考察されたい。結合ポケット内ですべての残基のすべての配列の順列を同時に試験する能力によって、徹底的な診査が可能になり、成功の可能性が増大する。研究者が受容体内の特定部位にてすべての起こり得る突然変異を発生させる試みを行う、飽和突然変異誘発は、この開発課題に対する1つの手法を表わす。費用がかかる上に、時間および労働に集約的ではあるが、この手法により、各変異体を各位置へと導入することができる。対照的に、少数の選択位置または短い一続きのDNAが広範囲に修飾され得る、組み合わせの突然変異誘発は、偏った提示 (biased representation) を持つ変異体の不完全なレパートリーを発生させる。

10

20

30

40

50

【0096】

薬物開発のパイプラインを促進するために、試験に利用可能な正しい位置において意図した頻度で利用可能な望ましい変異体を有するライブラリー、言い換えれば、高精度ライブラリー (precision library) は、コストの削減に加えて、スクリーニングの所要時間の短縮も可能にする。本明細書には、望ましい頻度で各々の意図した変異体の正確な導入をもたらす核酸合成変異体ライブラリーを合成する方法が提供される。エンドユーザーにとって、これは、配列空間を徹底的にサンプリングするだけでなく、効率的な方法でこれらの仮説を問うことができる能力へと翻訳され、コストおよびスクリーニング時間を削減する。ゲノム全体の編集は、重要な経路、各変異体および配列の順列が最適な機能性に関して試験され得るライブラリーを解明することができ、全経路を再構築するために何千もの遺伝子を使用することができ、創薬のために生物系を再設計するべくゲノムを使用できる。

【0097】

第1の実施例において、薬物自体は、本明細書に記載される方法を使用して最適化され得る。例えば、抗体の指定された機能を改善するために、抗体の一部をコードする変異体核酸ライブラリーが設計され、合成される。その後、抗体に対する変異体核酸ライブラリーが、本明細書に記載されるプロセス (例えば、PCR突然変異誘発、その後のベクターへの挿入) によって生成され得る。その後、抗体は、生産細胞株 (production cell line) において発現され、活性の増強のためにスクリーニングされる。スクリーニングの例は、抗原に対する結合親和性、安定性、またはエフェクター機能 (例えば、ADCC、補体、またはアポトーシス) の調節を検査することを含む。抗体を最適化する典型的な領域は、限定されないが、Fc領域、Fab領域、Fab領域の可変領域、Fab領域の定常領域、重鎖または軽鎖の可変ドメイン (V_H または V_L)、および V_H または V_L の特異的な相補性決定領域 (CDR) を含む。

【0098】

本明細書に記載される方法によって合成された核酸ライブラリーは、疾患状態に関連付けられた様々な細胞において発現され得る。疾患状態に関連付けられた細胞は、被験体からの細胞株、組織サンプル、初代細胞、被験体から拡大された培養細胞、またはモデル系における細胞を含む。典型的なモデル系は、限定されないが、疾患状態の植物および動物のモデルを含む。

【0099】

疾患状態の予防、低減、または処置に関連付けられた変異体分子を特定するために、本明細書に記載される変異体核酸ライブラリーが、疾患状態に関連付けられた細胞、または疾患状態が誘発され得る細胞において発現される。いくつかの例において、細胞において疾患状態を誘発するための薬剤が使用される。疾患状態の誘発のための典型的なツールは、限定されないが、Cre/Lox組換え系、LPS炎症誘発、および低血糖症を誘発す

るストレプトゾトシンを含む。疾患状態に関連付けられた細胞は、モデル系からの細胞または培養細胞の他に、特定の病状を有する被験体由来の細胞であり得る。典型的な病状は、細菌性、真菌性、ウイルス性、自己免疫性、増殖性の障害（例えば癌）を含む。いくつかの例において、変異体核酸ライブラリーは、被験体由来のモデル系、細胞株、または初代細胞に発現され、少なくとも1つの細胞活性の変化に対してスクリーニングされる。典型的な細胞活性は、限定されないが、増殖、周期進行、細胞死、付着、遊走、繁殖、細胞シグナル伝達、エネルギー産生、酸素利用、代謝活性、および老化、遊離基損傷に対する反応、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【0100】

基質

10

【0101】

ポリヌクレオチド合成のための表面として使用されるデバイスは、均質アレイ表面、パターン化されたアレイ表面、チャンネル、ビーズ、ゲルなどを含むがこれらに限定されない、基質の形態でもよい。本明細書には、複数のクラスターを含む基質が提供され、ここで各クラスターは、ポリヌクレオチドの付着および合成を支持する複数の遺伝子座を含む。いくつかの例において、基質は均質アレイ表面を含む。例えば、均質アレイ表面は均質プレートである。本明細書で使用されるような用語「遺伝子座」は、表面から伸長する単一の予め決められた配列をコードするポリヌクレオチドへの支持を提供する構造上の離散的領域を指す。いくつかの例において、遺伝子座は、二次元表面、例えば、実質的に平らな表面上にある。いくつかの例において、遺伝子座は、三次元表面、例えば、ウェル、微小ウェル、チャンネル、またはポスト上にある。いくつかの例において、遺伝子座の表面は、ポリヌクレオチド合成のための少なくとも1つのヌクレオチド、または好ましくは、ポリヌクレオチドの集団の合成のための同一のヌクレオチドの集団に付着するために、活発に官能基化される物質を含む。いくつかの例において、ポリヌクレオチドは、同じ核酸配列をコードするポリヌクレオチドの集団を指す。場合により、基質の表面は、基質の1つ以上の表面を包含する。提供されるシステムおよび方法を用いて本明細書に記載のライブラリー内で合成されるポリヌクレオチドに関する平均エラー率は多くの場合、エラー補正を伴うことなく、1000分の1未満、2000分の1未満、3000分の1未満、またはそれよりも遥かに少ない。

20

【0102】

本明細書には、共通の支持体上のアドレス可能位置にて異なる予め決められた配列を有している、複数のポリヌクレオチドのパラレル合成を支持する表面が提供される。いくつかの例において、基質は、50、100、200、400、600、800、1000、1200、1400、1600、1800、2,000; 5,000; 10,000; 20,000; 50,000; 100,000; 200,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 1,200,000; 1,400,000; 1,600,000; 1,800,000; 2,000,000; 2,500,000; 3,000,000; 3,500,000; 4,000,000; 4,500,000; 5,000,000; 10,000,000、またはそれ以上の非同一ポリヌクレオチドの合成への支持を提供する。場合により、表面は、50、100、200、400、600、800、1000、1200、1400、1600、1800、2,000; 5,000; 10,000; 20,000; 50,000; 100,000; 200,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 1,200,000; 1,400,000; 1,600,000; 1,800,000; 2,000,000; 2,500,000; 3,000,000; 3,500,000; 4,000,000; 4,500,000; 5,000,000; 10,000,000、またはそれ以上のポリヌクレオチドの合成への支持を提供する。いくつかの例において、ポリヌクレオチドの少なくとも一部は、同一の配列を有している、または同一の配列により合成されるように構成されている。い

30

40

50

【 0 1 0 3 】

【 0 1 0 4 】

幾つかの実施形態において、基質上で合成された別々のオリゴ核酸の数は、基質における利用可能な別々の遺伝子座の数に左右され得る。いくつかの例において、基質のクラスターまたは表面内の遺伝子座の密度は、 1 mm^2 当たり少なくともまたは約 1、10、25、50、65、75、100、130、150、175、200、300、400、500、1,000、またはそれ以上の遺伝子座である。場合によっては、基質は 10 - 500、25 - 400、50 - 500、100 - 500、150 - 500、10 - 250、50 - 250、10 - 200、または 50 - 200 mm^2 を含む。いくつかの例において、クラスターまたは表面内の 2 つの隣接する遺伝子座の中心間の距離は、約 10 - 500、約 10 - 200、または約 10 - 100 μm である。いくつかの例において、隣接した遺伝子座の 2 つの中心間の距離は、約 10 μm 、20 μm 、30 μm 、40 μm 、50 μm 、60 μm 、70 μm 、80 μm 、90 μm 、または 100 μm より長い。いくつかの例において、2 つの隣接した遺伝子座の中心間の距離は、約 200 μm 、150 μm 、1

00 μm 、80 μm 、70 μm 、60 μm 、50 μm 、40 μm 、30 μm 、20 μm 、または10 μm 未満である。いくつかの例において、各遺伝子座は、約0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または100 μm の幅を持つ。場合によっては、各遺伝子座は、約0.5 - 100、0.5 - 50、10 - 75、または0.5 - 50 μm の幅を持つ。

【0105】

いくつかの例において、基質内のクラスターの密度は、100 mm^2 当たり少なくともまたは約1のクラスター、10 mm^2 当たり1のクラスター、5 mm^2 当たり1のクラスター、4 mm^2 当たり1のクラスター、3 mm^2 当たり1のクラスター、2 mm^2 当たり1のクラスター、1 mm^2 当たり1のクラスター、1 mm^2 当たり2のクラスター、1 mm^2 当たり3のクラスター、1 mm^2 当たり4のクラスター、1 mm^2 当たり5のクラスター、1 mm^2 当たり10のクラスター、1 mm^2 当たり50のクラスター、またはそれ以上である。いくつかの例において、基質は、10 mm^2 当たり約1のクラスターから1 mm^2 当たり約10のクラスターを含む。いくつかの例において、2つの隣接したクラスターの中心間の距離は、少なくともまたは約50 μm 、100 μm 、200 μm 、500 μm 、1000 μm 、2000 μm 、または5000 μm である。場合によっては、2つの隣接したクラスターの中心間の距離は、約50 - 100、50 - 200、50 - 300、50 - 500、および100 - 2000 μm である。場合によっては、2つの隣接したクラスターの中心間の距離は、約0.05 - 50、0.05 - 10、0.05 - 5、0.05 - 4、0.05 - 3、0.05 - 2、0.1 - 10、0.2 - 10、0.3 - 10、0.4 - 10、0.5 - 10、0.5 - 5、または0.5 - 2 mm である。場合により、各クラスターは、約0.5 ~ 約2、約0.5 ~ 約1、または約1 ~ 約2 mm の断面を有している。場合により、各クラスターは、約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または2 mm の断面を有している。場合により、各クラスターは、約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.15、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または2 mm の内部断面を有している。

【0106】

いくつかの例において、基質は、例えば、約100 ~ 約200 $\text{mm} \times$ 約50 ~ 約150 mm の、およその標準の96ウェルプレートのサイズである。いくつかの例において、基質は、約1000、500、450、400、300、250、200、150、100、または50 mm 以下の直径を有している。いくつかの例において、基質の直径は、約25 - 1000、25 - 800、25 - 600、25 - 500、25 - 400、25 - 300、または25 - 200 mm である。いくつかの例において、基質は、少なくとも約100；200；500；1,000；2,000；5,000；10,000；12,000；15,000；20,000；30,000；40,000；50,000 mm^2 、またはそれ以上の平面の表面積を有している。いくつかの例において、基質の厚みは、約50 - 2000、50 - 1000、100 - 1000、200 - 1000、または250 - 1000 mm である。

【0107】

表面物質

【0108】

本明細書に提供される基質、デバイス、およびリアクターは、本明細書に記載される方法、組成物、およびシステムに適したあらゆる様々な物質から作り上げられる。ある例において、低レベルのヌクレオチド結合を示すために、基質物質が作り上げられる。いくつかの例において、基質物質は、高レベルのヌクレオチド結合を示す別個の表面を生成するために修飾される。いくつかの例において、基質物質は、可視光および/またはUV光に対して透過性である。いくつかの例において、基質物質は十分に導電性であり、例えば、基質の全てまたは一部にわたって均一な電場を形成できる。いくつかの例において、導電性材料は電気接地 (electric ground) に接続される。いくつかの例にお

いて、基質は、熱伝導性であるか、または断熱される。いくつかの例において、物質は、化学的または生化学的な反応、例えばポリヌクレオチド合成反応プロセスを支持するべく耐薬品性および耐熱性である。いくつかの例において、基質は可撓性材料を含む。可撓性材料に関して、物質は、限定されないが以下を含み得る：修飾および非修飾のナイロン、ニトロセルロース、ポリプロピレンなど。いくつかの例において、基質は剛性物質を含む。剛性物質に関して、物質は、限定されないが以下を含み得る：ガラス；石英ガラス；シリコン、プラスチック（例えばポリテトラフルオロエチレン）、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、およびその混合など）；金属（例えば金、白金など）。基質、固形担体、またはリアクターは、シリコン、ポリスチレン、アガロース、デキストラン、セルロース酸ポリマー、ポリアクリルアミド、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、およびガラスから成る群から選択される物質から製造され得る。本明細書中の基質／固形担体またはミクロ構造、リアクターは、本明細書中に列挙される物質の組み合わせ、または当該技術分野で既知の他の適切な物質により製造され得る。

【0109】

表面構造

【0110】

本明細書には、本明細書に記載の方法、組成物、およびシステムのための基質が提供され、基質は、本明細書に記載の方法、組成物、およびシステムに適した表面構造を有している。いくつかの例において、基質は、隆起した特徴および／または沈降した特徴を含む。そのような特徴を有する1つの利点は、ポリヌクレオチド合成を支持する表面積の増大である。いくつかの例において、隆起した特徴および／または沈降した特徴を有する基質は、三次元基質と呼ばれる。場合により、三次元基質は1つ以上のチャネルを含む。場合により、1つ以上の遺伝子座はチャネルを含む。場合により、チャネルは、物質堆積デバイスなどの堆積デバイスを介した試薬の堆積に利用可能である。場合により、試薬および／または流体は、1つ以上のチャネルと流体連通して、より大きなウェルに集まる。例えば基質は、クラスターを有する複数の遺伝子座に対応する複数のチャネルを含み、複数のチャネルは、クラスターの1つのウェルと流体連通している。幾つかの方法において、ポリヌクレオチドのライブラリーは、クラスターの複数の遺伝子座において合成される。

【0111】

本明細書には、本明細書に記載の方法、組成物、およびシステムのための基質が提供され、基質はポリヌクレオチド合成のために構成される。いくつかの例において、構造は、表面上のポリヌクレオチド合成のための流れの制御および物質移動経路を可能にするように構成されている。いくつかの例において、基質の構成は、ポリヌクレオチド合成中の物質移動経路、化学暴露時間、および／または洗浄効果の制御と均一な分布を可能にする。いくつかの例において、基質の構成は、例えば、成長しているポリヌクレオチドによる排除体積が、ポリヌクレオチドの成長に利用可能または適切である、最初に利用可能な体積の50、45、40、35、30、25、20、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1%を超えて、またはそれ以下を占めないように、成長するポリヌクレオチドに対して十分な体積を提供することによって、奏効率の増大を可能にする。いくつかの例において、三次元構造は、化学暴露の急速な交換を可能にするために流体の流れの管理を可能にする。

【0112】

本明細書には、本明細書に記載の方法、組成物、およびシステムのための基質が提供され、基質は、本明細書に記載の方法、組成物、およびシステムに適した構造を含む。いくつかの例において、物理構造によって隔離が達成される。いくつかの例において、ポリヌクレオチド合成のために能動領域および受動領域を生成する表面の差次的な官能基化によって、隔離が達成される。いくつかの例において、差次的な官能基化は、基質表面にわたる疎水性を変え、それにより、堆積した試薬の水滴（beading）または湿りを引き起こす水接触角の効果を作り出すことによって達成される。より大きな構造を利用することで、飛び散り（splashing）、および隣接するスポットの試薬による別個のポ

10

20

30

40

50

リヌクレオチド合成位置の相互汚染を減らすことができる。場合により、物質堆積デバイスなどのデバイスが、別個のオリゴ核酸位置に試薬を堆積させるために使用される。三次元特徴を有する基質は、低いエラー率（例えば、約 1 : 500、1 : 1000、1 : 1500、1 : 2,000、1 : 3,000、1 : 5,000、または 1 : 10,000 未満）を伴う多数のポリヌクレオチド（例えば約 10,000 を超える）の合成を可能にする方法において構成される。いくつかの例において、基質は、 1 mm^2 当たり約 1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、300、400、または 500 以上の特徴の密度を備えた特徴を含む。

【0113】

基質のウェルは、基質の別のウェルと同じまたは異なる幅、高さ、および/または体積を有し得る。基質のチャネルは、基質の別のチャネルと同じまたは異なる幅、高さ、および/または体積を有し得る。いくつかの例において、クラスターの直径、またはクラスターを含むウェルの直径、またはその両方は、約 0.05 - 50、0.05 - 10、0.05 - 5、0.05 - 4、0.05 - 3、0.05 - 2、0.05 - 1、0.05 - 0.5、0.05 - 0.1、0.1 - 10、0.2 - 10、0.3 - 10、0.4 - 10、0.5 - 10、0.5 - 5、または 0.5 - 2 mm である。いくつかの例において、クラスター、ウェル、またはその両方の直径は、約 5、4、3、2、1、0.5、0.1、0.09、0.08、0.07、0.06、または 0.05 mm 以下である。いくつかの例において、クラスター、ウェル、またはその両方の直径は約 1.0 ~ 1.3 mm である。いくつかの例において、クラスター、ウェル、またはその両方の直径は約 0.08 mm である。クラスターの直径は、二次元または三次元の基質内のクラスターを指す。

【0114】

いくつかの例において、ウェルの高さは、約 20 - 1000、50 - 1000、100 - 1000、200 - 1000、300 - 1000、400 - 1000、または 500 - 1000 μm である。場合によっては、ウェルの高さは、約 1000、900、800、700、または 600 μm 未満である。

【0115】

いくつかの例において、基質はクラスター内の複数の遺伝子座に相当する複数のチャネルを含み、チャネルの高さまたは深さは、5 - 500、5 - 400、5 - 300、5 - 200、5 - 100、5 - 50、または 10 - 50 μm である。場合によっては、チャネルの高さは、100、80、60、40、または 20 μm 未満である。

【0116】

いくつかの例において、チャネル、遺伝子座（例えば、ほぼ平面の基質における）、またはチャネルと遺伝子座の両方（例えば、遺伝子座がチャネルに相当する三次元基質における）の直径は、約 1 - 1000、1 - 500、1 - 200、1 - 100、5 - 100、または 10 - 100 μm 、例えば約 90、80、70、60、50、40、30、20、または 10 μm である。いくつかの例において、チャネル、遺伝子座、またはチャネルと遺伝子座の両方の直径は、約 100、90、80、70、60、50、40、30、20、または 10 μm 未満である。いくつかの例において、2つの隣接するチャネル、遺伝子座、またはチャネルと遺伝子座の中心間の距離は、約 1 - 500、1 - 200、1 - 100、5 - 200、5 - 100、5 - 50、または 5 - 30 μm 、例えば約 20 μm である。

【0117】

表面修飾

【0118】

本明細書には、表面上のポリヌクレオチド合成のための方法が提供され、表面は様々な表面修飾を含む。いくつかの例において、基質表面、または基質表面の選択部位または領域の1つ以上の化学的および/または物理的な特性を変更する加算または減算のプロセス

10

20

30

40

50

による、化学的および/または物理的な変更のために、表面修飾が利用される。例えば、表面修飾は、限定されないが、(1)表面の湿潤性を変更すること、(2)表面を官能化すること、つまり、表面官能基を提供する、修飾する、または置換すること、(3)表面を脱官能基化すること、つまり、表面官能基を除去すること、(4)そうでなければ、例えばエッチングによって、表面の化学組成を変更すること、(5)表面粗さを増大または低減すること、(6)表面上にコーティング、例えば、表面の湿潤性とは異なる湿潤性を示すコーティングを提供すること、および/または(7)表面上に粒子を堆積させることを含む。

【0119】

場合により、(付着プロモーターと呼ばれる)表面の上部の化学層の追加は、基質の表面上の遺伝子座の構造化されたパターン化を促進する。付着促進の適用のための典型的な表面は、限定されないが、ガラス、シリコン、二酸化ケイ素、および窒化ケイ素を含む。場合により、付着プロモーターは、高い表面エネルギーを有する化学物質である。いくつかの例において、基質の表面上に第2の化学層が堆積される。場合により、第2の化学層は、低い表面エネルギーを有している。場合により、表面上にコーティングされた化学層の表面エネルギーは、表面上での液滴の局在化を支持する。選択されるパターン化の配置に応じて、遺伝子座の近接および/または遺伝子座での流体接触の面積は変更可能である。

10

【0120】

いくつかの例において、例えばポリヌクレオチド合成のために、核酸または他の部分が堆積される、基質表面、または分解された遺伝子座は、滑らかであり、実質的に平面であり(例えば、二次元)、または隆起した特徴または沈降した特徴などの不規則性(例えば三次元特徴)を有している。いくつかの例において、基質表面は、化合物の1つ以上の異なる層により修飾される。対象となるそのような修飾層は、限定されないが、金属、金属酸化物、ポリマー、小さな有機分子などの無機層および有機層を含む。

20

【0121】

いくつかの例において、基質の分解された遺伝子座は、表面エネルギーを増大させるおよび/または低減させる、1つ以上の部分により官能化される。場合により、部分は化学的に不活性である。場合により、部分は、望ましい化学反応、例えば、ポリヌクレオチド合成反応における1つ以上のプロセスを支持するように構成されている。表面の表面エネルギー、すなわち疎水性は、表面上に付着するヌクレオチドの親和性を判定するための因子である。いくつかの例において、基質の官能化のための方法は、(a)二酸化ケイ素を含む表面を有する基質を提供する工程;および(b)本明細書に記載される、またはそうでなければ当該技術分野で既知の、適切なシラン化剤、例えば、有機官能性アルコキシシラン分子を使用して、表面をシラン処理する工程を含む。方法および官能化剤は米国特許第5,474,796号に記載され、これは参照により全体が本明細書に組み込まれる。

30

【0122】

いくつかの例において、基質表面は、典型的に基質表面上に存在する反応性の親水性部分を介して、基質表面にシランを結合させるのに有効な反応条件下で、シランの混合物を含有する誘導体化組成物との接触によって官能基化される。シラン処理は通常、自己組織化を介して有機官能性アルコキシシラン分子で表面を覆う。当該技術分野において現在知られているように、例えば、表面エネルギーを低下または増大させるのための様々なシロキサン官能基化試薬が、さらに使用され得る。有機官能性アルコキシシランは、その有機官能基に応じて分類される。

40

【0123】

ポリヌクレオチド合成

【0124】

ポリヌクレオチド合成のための本開示の方法は、ホスホラミダイトの化学作用を含むプロセスを含み得る。幾つかの例において、ポリヌクレオチド合成は、塩基をホスホラミダイトと結合させる工程を含む。ポリヌクレオチド合成は、結合条件下でホスホラミダイト

50

の堆積により塩基を結合することを含んでもよく、ここで、同じ塩基は随意に、1回より多く、すなわち二重の結合でホスホラミダイトとともに堆積される。ポリヌクレオチド合成は、未反応の部位のキャッピングを含んでもよい。いくつかの例において、キャッピングは随意である。ポリヌクレオチド合成はまた、酸化、または酸化工程を含んでもよい。ポリヌクレオチド合成は、脱ブロック化、脱トリチル化、および硫化を含んでもよい。いくつかの例において、ポリヌクレオチド合成は、酸化または硫化のいずれかを含む。いくつかの例において、ポリヌクレオチド合成反応中の1つまたは各工程の間に、デバイスは、例えばテトラゾールまたはアセトニトリルを使用して洗浄される。ホスホラミダイト合成方法における任意の1工程に対する時間枠は、約2分、1分、50秒、40秒、30秒、20秒、および10秒未満であり得る。

10

【0125】

ホスホラミダイト方法を使用するポリヌクレオチド合成は、亜リン酸塩トリエステル結合の形成のために成長しているポリヌクレオチド鎖へのホスホラミダイト構築ブロック（例えば、ヌクレオシドホスホラミダイト）の付加を続けることを含み得る。ホスホラミダイトポリヌクレオチド合成は、3'方向から5'方向に進む。ホスホラミダイトポリヌクレオチド合成は、1つの合成サイクル当たり1つの成長している核酸鎖への1つのヌクレオチドの付加の制御を可能にする。いくつかの例において、各合成サイクルは結合工程を含む。ホスホラミダイト結合は、活性化されたヌクレオシドホスホラミダイトと、例えばリンカーを介して基質に結合されたヌクレオシドとの間の亜リン酸塩トリエステル結合の形成を含む。いくつかの例において、ヌクレオシドホスホラミダイトは、起動されたデバイスに提供される。いくつかの例において、ヌクレオシドホスホラミダイトは、アクチベーター（*activator*）によりデバイスに提供される。いくつかの例において、ヌクレオシドホスホラミダイトは、基質に結合されたヌクレオシドよりも1、5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100倍、またはそれ以上の過剰量で、デバイスに提供される。いくつかの例において、ヌクレオシドホスホラミダイトの追加は、無水環境において、例えば無水アセトニトリルにおいて実行される。ヌクレオシドホスホラミダイトの追加の後、デバイスは随意に洗浄される。いくつかの例において、結合工程は、随意に基質へのヌクレオシドホスホラミダイトの追加の間の洗浄工程と共に、更に1回以上繰り返される。いくつかの例において、本明細書に使用されるポリヌクレオチド合成方法は、1、2、3、またはそれ以上の連続する結合工程を含む。結合前に、多くの場合において、デバイスに結合されたヌクレオシドは、保護基の除去によって脱保護され、ここで、保護基は重合を防ぐように機能する。一般的な保護基は、4,4'-ジメトキシトリチル（DMT）である。

20

30

【0126】

結合に続いて、ホスホラミダイトポリヌクレオチド合成方法は、随意にキャッピング工程を含む。キャッピング工程において、成長しているポリヌクレオチドは、キャッピング剤で処置される。キャッピング工程は、更なる鎖伸長から、結合後の未反応の基質結合5'-OH基を遮断するのに有用であり、これにより、内部塩基欠失（*internal base deletions*）を伴うポリヌクレオチドの形成を防ぐ。更に、1H-テトラゾールで活性化されたホスホラミダイトは、小さな程度にまで、グアノシンのO6位置と反応し得る。理論に縛られることなく、I2/水での酸化後、この副産物は、恐らくO6-N7遊走を介して、脱プリン化を受けることもある。脱プリン部位は、最終的にポリヌクレオチドの最後の脱保護の間に切断され、故に完全長産物の収率が低下する。O6修飾は、I2/水での酸化前にキャッピング試薬による処置によって除去され得る。幾つかの例において、ポリヌクレオチド合成の間にキャッピング工程を含めることで、キャッピングなしでの合成と比較してエラー率が低下する。一例として、キャッピング工程は、無水酢酸と1-メチルイミダゾールとの混合物により基質結合オリゴ核酸を処置することを含む。キャッピング工程に続いて、装置は随意に洗浄される。

40

【0127】

50

いくつかの例において、ヌクレオシドホスホラミダイトの追加後、および随意にキャッピングと1回以上の洗浄工程の後に、デバイスに結合された成長している核酸は酸化される。酸化工程において、亜リン酸塩トリエステルが、自然発生のリン酸ジエステルのヌクレオシド間の結合の保護された前駆体である、四配位リン酸塩トリエステルへと酸化される。いくつかの例において、成長しているポリヌクレオチドの酸化は、随意に弱塩基（例えば、ピリジン、ルチジン、コリジン）の存在下で、ヨウ素および水による処置によって達成される。酸化は、例えばtert-ブチルヒドロペルオキシドまたは(1S)-(+)-(10-カンファースルホニル)-オキサジリジン(CSO)を使用して、無水条件下で実行され得る。いくつかの方法において、キャッピング工程は、酸化後に実行される。持続し得る酸化からの残留水が後の結合を阻害できるため、第2のキャッピング工程はデバイスの乾燥を可能にする。酸化の後、デバイスおよび成長しているポリヌクレオチドは随意に洗浄される。いくつかの例において、酸化の工程は、ポリヌクレオチドホスホロチオエートを得るための硫化工程と置き換えられ、ここで、キャッピング工程は硫化後に実行され得る。3-(ジメチルアミノメチリデン)アミノ-3H-1,2,4-ジチアゾール-3-チオン、DDTT、Beaucage試薬としても知られている3H-1,2-ベンゾジチオール-3-オン1,1-ジオキシド、およびN,N,N'-N'-テトラエチルチウラムジスルフィド(TETD)を含むがこれらに限定されない多くの試薬が、効率的な硫黄移動を可能にする。

10

20

30

40

50

【0128】

その後のヌクレオシド取り込みのサイクルを、結合を介して生じさせるために、デバイスに結合された成長しているポリヌクレオチドの保護された5'末端は除去され、その結果、一次ヒドロキシル基が次のヌクレオシドホスホラミダイトと反応する。いくつかの例において、保護基はDMTであり、デブロッキングがジクロロメタン中でトリクロロ酢酸により生じる。長時間にわたり、または推奨された酸の溶液よりも強力なもので脱トリチル化を行うことで、固形支持体に結合したポリヌクレオチドの脱プリン化の増大が引き起こされ、故に望ましい完全長産物の収率が低下され得る。本明細書に記載される本開示の方法および組成物は、望ましくない脱プリン化反応を制限するデブロッキング条件の制御を提供する。いくつかの例において、デバイスに結合されたオリゴ核酸は、デブロッキング後に洗浄される。いくつかの例において、デブロッキング後の効率的な洗浄は、エラー率が低い合成ポリヌクレオチドに寄与する。

【0129】

ポリヌクレオチドの合成のための方法には典型的に、下記工程の一連の繰り返し(iterating sequence)が伴う：活性化された表面、リンカー、または以前に脱保護された単量体と結合するための、保護された単量体の動的に官能基化された表面（例えば遺伝子座）への適用；後に適用される保護された単量体と反応するように適用された単量体の脱保護；および結合のための別の保護された単量体の適用。1つ以上の中間工程は、酸化または硫化を含む。いくつかの例において、1以上の洗浄工程は、工程の1つまたはすべてに先行するか、またはそれらに続く。

【0130】

ホスホラミダイトベースのポリヌクレオチド合成のための方法は、一連の化学工程を含む。いくつかの例において、合成方法の1以上の工程は、試薬のサイクリングを伴い、ここで、方法の1以上の工程は、工程に有用な試薬の装置への適用を含む。例えば、試薬は、一連の液体堆積および真空乾燥の工程によって循環させられる。ウェル、マイクロウェル、チャンネルなどの三次元特徴を含む基質のために、試薬は、随意にウェルおよび/またはチャンネルを介して装置の1つ以上の領域に通される。

【0131】

本明細書に記載される方法およびシステムは、ポリヌクレオチドの合成のためのポリヌクレオチド合成デバイスに関する。合成は並行して実行され得る。例えば、少なくともまたは約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、5

0、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、1000、10000、50000、75000、100000、またはそれ以上のポリヌクレオチドが、並行して合成され得る。並行して合成され得るポリヌクレオチドの総数は、2 - 100000、3 - 50000、4 - 10000、5 - 1000、6 - 900、7 - 850、8 - 800、9 - 750、10 - 700、11 - 650、12 - 600、13 - 550、14 - 500、15 - 450、16 - 400、17 - 350、18 - 300、19 - 250、20 - 200、21 - 150、22 - 100、23 - 50、24 - 45、25 - 40、30 - 35であり得る。当業者は、並行して合成されたポリヌクレオチドの総数が、これらの値のいずれかに制約される任意の範囲内、例えば25 - 100にあり得ることを認識する。並行して合成されたポリヌクレオチドの総数は、範囲のエンドポイントとして機能する値のいずれかによって定義された任意の範囲内にあり得る。デバイス内で合成されたポリヌクレオチドの総モル質量、またはポリヌクレオチドの各々のモル質量は、少なくともまたは約10、20、30、40、50、100、250、500、750、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000、25000、50000、75000、100000ピコモル、またはそれ以上であり得る。デバイス内のポリヌクレオチドの各々の長さ、またはその平均長さは、少なくともまたは約10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、300、400、500のヌクレオチド、またはそれ以上であり得る。デバイス内のポリヌクレオチドの各々の長さ、またはその平均長さは、多くともまたは約50、400、300、200、150、100、50、45、35、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10のヌクレオチド、またはそれ以下であり得る。デバイス内のポリヌクレオチドの各々の長さ、またはその平均長さは、10 - 500、9 - 400、11 - 300、12 - 200、13 - 150、14 - 100、15 - 50、16 - 45、17 - 40、18 - 35、19 - 25であり得る。当業者は、デバイス内のポリヌクレオチドの各々の長さ、またはその平均長さが、これらの値のいずれかに制約される任意の範囲内、例えば100 - 300にあり得ることを認識する。デバイス内のポリヌクレオチドの各々の長さ、またはその平均長さは、範囲のエンドポイントとして機能する値のいずれかによって定義された任意の範囲内にあり得る。

10

20

30

40

50

【0132】

本明細書で提供される、表面上でのポリヌクレオチド合成の方法は、高速での合成を可能にする。一例として、1時間につき少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、125、150、175、200、またはそれ以上のヌクレオチドが合成される。ヌクレオチドは、アデニン、グアニン、チミン、シトシン、ウリジン構築ブロック、またはそれらのアナログ/修飾されたバージョンを含む。いくつかの例において、ポリヌクレオチドのライブラリーは基質上で並行して合成される。例えば、約または少なくとも100；1，000；10，000；30，000；75，000；100，000；1，000，000；2，000，000；3，000，000；4，000，000；または5，000，000の分解された遺伝子座を含むデバイスは、少なくとも同じ数の別個のポリヌクレオチドの合成を支持することができ、ここで、別個の配列をコードするポリヌクレオチドが、分解された遺伝子座の上で合成される。いくつかの例において、ポリヌクレオチドのライブラリーは、約3か月、2か月、1か月、3週、15日、14日、13日、12日、11日、10日、9日、8日、7日、6日、5日、4日、3日、2日、24時間未満で、本明細書に記載される低いエラー率を伴う装置上に合成される。いくつかの例において、本明細書に記載される基質および方法を用いて低いエラー率により合成されるオリゴ核酸ライブラリーからアセンブルされる、より大きな核酸は、約3か月、2か月、1か月、3週、15日、14日、13日、12日、11日、10日、9日、8日、7日、6日、5日、4日、3日、2日、24時間未満で調製される。

【0133】

いくつかの例において、本明細書に記載される方法は、複数のコドン部位にて異なる変異体核酸を含む、核酸のライブラリーの生成を提供する。いくつかの例において、核酸は、1つの部位、2つの部位、3つの部位、4つの部位、5つの部位、6つの部位、7つの部位、8つの部位、9つの部位、10の部位、11の部位、12の部位、13の部位、14の部位、15の部位、16の部位、17の部位、18の部位、19の部位、20の部位、30の部位、40の部位、50の部位、またはそれ以上の変異体コドン部位を有し得る。

【0134】

いくつかの例において、変異体コドン部位の1以上の部位が隣接し得る。いくつかの例において、変異体コドン部位の1以上の部位は隣接せず、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のコドンにより分離され得る。

10

【0135】

いくつかの例において、核酸は変異体コドン部位の複数の部位を含み得、ここで、変異体コドン部位は互いに隣接しており、一続きのコドン部位を形成する。いくつかの例において、核酸は変異体コドン部位の複数の部位を含み得、ここで、変異体コドン部位は互いに隣接していない。いくつかの例において、オリゴ核酸は変異体コドン部位の複数の部位を含み得、ここで、一部の変異体コドン部位は互いに隣接しており、一続きの変異体コドン部位を形成し、かつ、変異体コドン部位の一部は互いに隣接していない。

【0136】

20

図面を参照すると、図7は、より短いオリゴ核酸からの核酸（例えば遺伝子）の合成のための例示的なプロセスのワークフローを示す。ワークフローは、通常は以下の段階に分けられる：（1）一本鎖核酸ライブラリーのデノボ合成、（2）より大きなフラグメントを形成するための核酸の結合、（3）エラー補正、（4）品質管理、および（5）輸送。デノボ合成の前に、意図した核酸配列、または核酸配列の群が、予め選択される。例えば、遺伝子の群が生成のために予め選択される。

【0137】

一旦、生成のためにより大きな核酸が選択されると、核酸の予め定められたライブラリーは、デノボ合成のために設計される。高密度のポリヌクレオチドアレイを生成するための様々な適切な方法が知られている。ワークフローの例において、デバイスの表層が提供される。この例において、表面の化学的性質（chemistry）は、ポリヌクレオチド合成プロセスを改善するために変更される。表面エネルギーが低い領域は液体を弾くように生成され、一方で表面エネルギーが高い領域は液体を引き付けるように生成される。表面自体は、平坦な表面の形であり、または、表面積を増大させる突起またはマイクロウェルなどの様々な形状を含み得る。ワークフローの例において、全体において参照により本明細書に組み込まれる国際特許出願公開WO/2015/021080に開示されるように、選択された高い表面エネルギー分子は、DNAの化学的性質を支持する二重機能を果たす。

30

【0138】

ポリヌクレオチドアレイのインサイツの調製は、固形支持体上に生成され、かつ、並行して複数のオリゴマーを伸長させるために単一のヌクレオチド伸長プロセスを利用する。物質堆積デバイスなどの堆積デバイスは、段階的な様式で試薬を放出するように設計され、その結果、複数のポリヌクレオチドが並行して、一度に1つの残基を伸長させることで、予め定められた核酸配列（702）を持つオリゴマーを生成する。いくつかの例において、ポリヌクレオチドはこの段階で表面から切断される。切断は、例えばアンモニアまたはメチルアミンによる気相切断（gas cleavage）を含む。

40

【0139】

生成されたポリヌクレオチドライブラリーは、反応チャンバに配置される。この例示的なワークフローにおいて、反応チャンバ（「ナノリアクター」とも称される）は、シリコンで覆われたウェルであり、PCR試薬を含み、ポリヌクレオチドライブラリー（703

50

）へと低下される。ポリヌクレオチドの密閉（704）の前または後に、試薬を加えることで基質からポリヌクレオチドを放出させる。例示的なワークフローにおいて、ポリヌクレオチドは、ナノリアクター（705）の密閉後に放出される。いったん放出されると、一本鎖ポリヌクレオチドのフラグメントは、DNAの全体的に長い範囲の配列におよぶようにハイブリダイズされる。合成されたポリヌクレオチドが各々、少なくとも1つの他のポリヌクレオチドがプールにある小さな部分の重なりを持つように設計されるので、部分的なハイブリダイゼーション（705）が可能となる。

【0140】

ハイブリダイゼーション後、PCA反応が始まる。ポリメラーゼサイクル中、ポリヌクレオチドは相補的フラグメントにアニールされ、隙間はポリメラーゼにより満たされる。各サイクルは、どのポリヌクレオチドが互いに見出されるかに無作為に依存して、様々なフラグメントの長さを増大させる。フラグメントの中の相補性は、二本鎖DNA（706）の完全で大きな全長の形成を可能にする。

【0141】

PCAの完了後、ナノリアクターはデバイス（707）から分離され、PCR（708）のためのプライマーを持つデバイスとの相互作用のために位置付けられる。密閉後、ナノリアクターはPCR（709）にさらされ、より大きな核酸が増幅される。PCR（710）の後、ナノチャンバが開放され（711）、エラー補正試薬が加えられ（712）、チャンバは密封され（713）、エラー補正反応が生じることで二本鎖PCR増幅生成物からの相補性が乏しいミスマッチ塩基対および/または鎖を取り除く（714）。ナノリアクターは開放されかつ分離される（715）。エラーを補正した生成物は次に、PCRおよび分子バーコーディングなどの付加的な処理工程にさらされ、その後輸送（723）のために包装される（722）。

【0142】

いくつかの例において、品質管理手段が取られる。エラー補正の後、品質管理工程は、例えば、エラーを補正した生成物の増幅のための配列決定プライマーを持つウェーハとの相互作用（716）、エラーを補正した増幅生成物を含むチャンバにウェーハを密封すること（717）、および更なる回数の増幅の実行（718）を含む。ナノリアクターは開放され（719）、生成物はプールされ（720）、配列決定される（721）。許容可能な品質管理の決定が行われた後、包装された生成物（722）は輸送（723）を承認される。

【0143】

いくつかの例において、図7のものなどのワークフローにより生成される核酸は、本明細書に開示される重複プライマーを使用した突然変異誘発にさらされる。いくつかの例において、プライマーのライブラリーは、固形支持体上でインサイツの調製により生成され、並行して複数のオリゴマーを伸長させるための単一のヌクレオチド伸長プロセスを利用する。物質堆積デバイスなどの堆積デバイスは、段階的な様式で試薬を放出するように設計され、その結果、複数のポリヌクレオチドが並行して、一度に1つの残基を伸長させることで、予め定められた核酸配列（702）を持つオリゴマーを生成する。

【0144】

コンピューターシステム

【0145】

本明細書に記載されるシステムの何れかは、コンピューターに動作可能に連結され、かつコンピューターを介して局所的にまたは遠隔で自動操作され得る。様々な例において、本開示の方法およびシステムは更に、コンピューターシステム上にソフトウェアプログラム、およびその使用を含み得る。従って、物質堆積デバイスの動作、分配行為、および減圧の作動を編成および同期するなど、機能の分配/減圧/再充填の同期のためのコンピューター制御は、本開示の範囲内にある。コンピューターシステムは、ユーザーに指定された塩基配列と物質堆積デバイスの位置との間に干渉するようにプログラムされ、基質の指定された領域に正確な試薬を送達する。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 6 】

図 8 に例示されるコンピューターシステム (8 0 0) は、媒体 (8 1 1) および / またはネットワークポート (8 0 5) から命令を読み取ることが可能な、論理的な装置として理解され、固定された媒体 (8 1 2) を持つサーバー (8 0 9) に随意に接続され得る。図 8 に示されるものなどのシステムは、CPU (8 0 1)、ディスクドライブ (8 0 3)、キーボード (8 1 5)、および / またはマウス (8 1 6) などの随意の入力装置、および随意のモニター (8 0 7) を含み得る。データ通信は、局所または遠隔の位置にてサーバーへと、示された通信媒体を通じて達成され得る。通信媒体は、データを送信および / または受信する任意の手段を含み得る。例えば、通信媒体は、ネットワーク接続、無線接続、またはインターネット接続であり得る。そのような接続は、ワールド・ワイド・ウェブ上での通信を提供することができる。本開示に関するデータは、図 8 に例示されるように当事者 (8 2 2) による受理および / または検討のために、そのようなネットワークまたは接続上で伝達され得ることが想定される。

10

【 0 1 4 7 】

図 1 4 は、本開示の例と関連して使用され得るコンピューターシステム (1 4 0 0) の第 1 の構成の例を示すブロック図である。図 1 4 に表されるように、コンピューターシステムの例は、命令を処理するためのプロセッサ (1 4 0 2) を含み得る。プロセッサの非限定的な例には、以下が挙げられる：Intel Xeon (商標) プロセッサ、AMD Opteron (商標) プロセッサ、Samsung 32-bit RISC ARM 1176JZ (F) - S v 1 . 0 (商標) プロセッサ、ARM Cortex - A 8 Samsung S5PC100 (商標) プロセッサ、ARM Cortex - A 8 Apple A 4 (商標) プロセッサ、Marvell PXA 930 (商標) プロセッサ、または機能的に同等なプロセッサ。複数のスレッドの実行が並列処理のために使用され得る。いくつかの例において、複数のプロセッサ、または複数のコアを持つプロセッサはまた、単一のコンピューターシステム中でも、クラスターの中でも、または複数のコンピューター、携帯電話、および / または個人用携帯情報端末装置を含むネットワーク上のシステムにわたって分布されても、使用され得る。

20

【 0 1 4 8 】

図 9 に例示されるように、高速キャッシュ (9 0 4) は、プロセッサ (9 0 2) に接続されるか、またはその中に組み込まれることで、プロセッサ (9 0 2) により近年使用されてきた、または頻繁に使用されている命令またはデータのための高速メモリーを提供することができる。プロセッサ (9 0 2) は、プロセッサバス (9 0 8) によりノースブリッジ (9 0 6) に接続される。ノースブリッジ (9 0 6) は、メモリーバス (9 1 2) によりランダムアクセスメモリー (RAM) (9 1 0) に接続され、プロセッサ (9 0 2) により RAM (9 1 0) へのアクセスを管理する。ノースブリッジ (9 0 6) はまた、チップセットバス (9 1 6) によりサウスブリッジ (9 1 4) に接続される。サウスブリッジ (9 1 4) は次に、周辺バス (9 1 8) に接続される。周辺バスは、例えば PCI、PCI - X、PCI Express、または他の周辺バスであり得る。ノースブリッジおよびサウスブリッジは頻繁に、プロセッサチップセットと称され、周辺バス (9 1 8) 上でプロセッサと、RAM と、周辺コンポーネントとの間のデータ転送を管理する。いくつかの代替的な構成において、ノースブリッジの機能性は、別個のノースブリッジチップを使用する代わりにプロセッサに組み込まれ得る。幾つかの例において、システム (9 0 0) は、周辺バス (9 1 8) に付けられるアクセラレーターカード (9 2 2) を含み得る。アクセラレーターは、特定の処理を速めるためのフィールドプログラマブルゲートアレイ (FPGA) または他のハードウェアを含み得る。例えば、アクセラレーターは、適応データの再構築のために、または、拡張設定処理に使用される代数式を評価するために使用され得る。

30

40

【 0 1 4 9 】

ソフトウェアとデータは、外部記憶装置 (9 2 4) に記憶され、プロセッサによる使用のために RAM (9 1 0) および / またはキャッシュ (9 0 4) へとロードされ得る。

50

システム(900)は、システムリソースの管理のためのオペレーティングシステムを含み；オペレーティングシステムの非限定的な例には、以下が挙げられる：Linux（登録商標）、Windows（商標）、MACOS（商標）、BlackBerry OS（商標）、iOS（商標）、および他の機能的に同等なOSのほか、本開示の例に従ってデータの記憶と最適化を管理するためのオペレーティングシステム上で実行されるアプリケーションソフトウェア。この例において、システム(900)はまた、ネットワーク接続ストレージ(NAS)などの外部記憶装置、および分散並列処理に使用され得る他のコンピューターシステムにネットワークインターフェースを提供するために、周辺バスに接続されるネットワークインターフェースカード(NIC)(920)および(921)を含む。

10

【0150】

図10は、複数のコンピューターシステム(1002a)および(1002b)、複数の携帯電話および個人用携帯情報端末(1002c)、およびネットワーク接続ストレージ(NAS)(1004a)および(1004b)を含む、ネットワーク(1000)を示す略図である。例において、システム(1002a)、(1002b)、および(1002c)は、データ記憶を管理し、ネットワーク接続ストレージ(NAS)(1004a)および(1004b)に記憶されたデータに対するデータアクセスを最適化することができる。数学モデルはこのデータに対して使用され、コンピューターシステム(1002a)および(1002b)、および携帯電話および個人用携帯情報端末システム(1002c)にわたって分散並列処理を使用して評価され得る。コンピューターシステム(1002a)および(1002b)、および携帯電話および個人用携帯情報端末システム(1002c)はまた、ネットワーク接続ストレージ(NAS)(1004a)および(1004b)に記憶されたデータの適応データ再構築に対して並列処理を提供することができる。図10は一例のみを示しており、様々な他のコンピューターの構成およびシステムは、本開示の様々な例と共に使用され得る。例えば、ブレードサーバーは、並列処理を提供するために使用され得る。プロセッサブレードは、並列処理を提供するためにバックプレーンを通じて接続され得る。ストレージはまた、別個のネットワークインターフェースを通してバックプレーンに、またはネットワーク接続ストレージ(NAS)として接続され得る。幾つかの例において、プロセッサは、別個のメモリー空間を維持し、ネットワークインターフェース、バックプレーン、または他のプロセッサによる並列処理のための他のコネクタを通じてデータを伝達できる。他の例において、プロセッサの幾つかまたは全てが、共有仮想アドレスメモリー空間を使用できる。

20

30

【0151】

図11は、例に従って共有仮想アドレスメモリー空間を使用するマルチプロセッサコンピューターシステム(1100)のブロック図である。システムは、共有メモリーサブシステム(1104)にアクセス可能な複数のプロセッサ(1102a-f)を含む。システムは、メモリーサブシステム(1104)に複数のプログラマブルハードウェアのメモリアルゴリズムプロセッサ(MAP)(1106a-f)を組み込む。MAP(1106a-f)は各々、メモリー(1108a-f)および1以上のフィールドプログラマブルゲートアレイ(FPGA)(1110a-f)を含み得る。MAPは設定可能な機能ユニットを提供し、特定のアルゴリズムまたはその一部は、各プロセッサと密接に協働して処理を行うためにFPGA(1110a-f)に設けられ得る。例えば、MAPは、データモデルに関する代数式を評価し、かつ例における適応データの再構築を行なうために使用され得る。この例において、各MAPは、このような目的のためにプロセッサ全てによって世界的にアクセス可能である。1つの構成において、MAPは各々、関連するメモリー(1108a-f)にアクセスするためにダイレクトメモリアクセス(DMA)を使用することができ、それにより、各マイクロプロセッサ(1102a-f)とは別個に、かつこれらから非同期的にタスクを実行することが可能となる。この構成において、MAPは、パイプライン処理(pipe lining)およびアルゴリズムの並列の実行のために別のMAPに結果を直接供給することができる。

40

50

【 0 1 5 2 】

上述のコンピューターの構成およびシステムは単なる例であり、様々な他のコンピューター、携帯電話、個人用携帯情報端末の構成およびシステムが、一般的なプロセッサ、コプロセッサ、FPGA、および他のプログラム可能論理回路の任意の組み合わせを使用するシステム、システムオンチップ(SOC)、特定用途向け集積回路(ASIC)、および他の処理要素と論理素子を含む、実施形態の例と共に使用され得る。いくつかの例において、コンピューターシステムの全てまたは一部は、ソフトウェアまたはハードウェアに実装され得る。様々なデータ記憶媒体が、例えばランダムアクセスメモリー、ハードドライブ、フラッシュメモリ、テープドライブ、ディスクアレイ、ネットワーク接続ストレージ(NAS)、および他のローカルまたは分散のデータ記憶装置およびシステムを含む例と共に、使用され得る。

10

【 0 1 5 3 】

例において、コンピューターシステムは、上述または他のコンピューターの構成およびシステムの何れかにて実行されるソフトウェアモジュールを使用して、実施され得る。他の例において、システムの機能は、ファームウェア、図9で言及されるようなフィールドプログラマブルゲートアレイ(FPGA)などのプログラム可能論理回路、システムオンチップ(SOC)、特定用途向け集積回路(ASIC)、または他の処理要素および論理素子において部分的または完全に実装され得る。例えば、セットプロセッサおよびオプティマイザーは、図9に示されるアクセラレーターカード(922)などのハードウェアアクセラレーターカードの使用によるハードウェアアクセラレーションにより実施され得る。

20

【 0 1 5 4 】

以下の実施例は、当業者に対し本明細書に開示される実施形態の原理および実践をより明白に示すために説明されるものであり、任意の請求された実施形態の範囲を制限するものとして解釈されるものではない。他に明示されない限り、全ての部分およびパーセンテージは重量基準である。

【実施例】

【 0 1 5 5 】

以下の実施例は、本開示の様々な実施形態を例証する目的で与えられ、いかなる様式においても本開示を制限することを意図していない。本実施例は、本明細書に記載される方法と共に、現在好ましい実施形態を表わすものであり、例示的なものであり、および本開示の範囲に対する限定として意図されていない。その中での変更、および、請求項の範囲により定義されるような本開示の趣旨内に包含される他の用途は、当業者に想到される。

30

【 0 1 5 6 】

実施例1：デバイス表面の機能化

【 0 1 5 7 】

デバイスを機能化し、ポリヌクレオチドのライブラリーの付着および合成を支持した。デバイス表面をまず20分間、90%の H_2SO_4 および10%の H_2O_2 を含むピラニア溶液を使用して、湿式洗浄した。デバイスを、DI水を含む様々なピーカーの中ですすぎ、5分間DI水のグーズネック形状の蛇口の下で保持して、 N_2 で乾燥させた。デバイスを5分間、 NH_4OH (1:100; 3mL:300mL)に浸し、ハンドガン(handgun)を使用してDI水ですすぎ、DI水を含む3つの連続するピーカーの中に各々1分間浸し、その後ハンドガンを使用してDI水により再びすすいだ。その後、デバイス表面を O_2 にさらすことにより装置をプラズマ洗浄した。SAMCO PC-300機器を使用して、下流モードで1分間、250ワットで O_2 をプラズマエッチングした。

40

【 0 1 5 8 】

以下のパラメーターを有するYES-1224P気相蒸着オープンシステムを使用して、洗浄されたデバイス表面をN-(3-トリエトキシシリルプロピル)-4-ヒドロキシブチルアミドを含む溶液により動的に官能基化した：0.5~1トル、60分、70、135の気化器。Brewer Science 200Xスピンコーターを使用して

50

、デバイス表面をレジストコートした (resist coated)。SPR (商標) 3612 フォトレジストを、2500 rpm で40秒間、デバイス上でスピコートした。デバイスをBrewer ホットプレート上で、90 °で30分間予め焼いた。Karl Suss MA6 マスクアライナー機器を使用して、デバイスをフォトリソグラフィーにさらした。デバイスを2.2秒間さらし、MSF 26Aの中で1分間展開させた (developed)。残りの展開剤 (developer) をハンドガンですすぎ、デバイスを5分間水に浸した。デバイスを100 °で30分間焼き、その後、Nikon L200を使用してリソグラフィーの欠損に対する目視検査を行った。デスカム処理を使用し、SAMCO PC-300 機器を用いて残りのレジストを取り除き、250ワットで1分間O₂ プラズマエッチングした。

10

【0159】

デバイス表面を、10 µL の軽油と混合したパーフルオロオクチルトリクロロシランの100 µL 溶液により動的に官能基化した。デバイスをチャンバに配し、10分間ポンプでくみ出し、その後、バルブを閉じてポンプを止め、10分間放置した。チャンバを通気した。最大出力 (Crest システム上で9) での超音波処理による70 °で500 mL のNMPにおける5分間の浸漬を2回行なうことにより、デバイスをレジスト剥離した。その後、最大出力での超音波処理により室温で500 mL のイソプロパノールに5分間、デバイスを浸した。デバイスを、300 mL の200 プルーフエタノール (200 proof ethanol) に浸し、N₂ により送風乾燥した。官能基化した表面を活性化することで、ポリヌクレオチド合成のための支持体として機能した。

20

【0160】

実施例2：オリゴヌクレオチド合成デバイス上での50merの配列の合成

【0161】

二次元オリゴヌクレオチド合成デバイスをフローセルに組み入れ、フローセルに接続させた (Applied Biosystems (ABI394 DNA Synthesizer))。N-(3-トリエトキシシリルプロピル)-4-ヒドロキシブチルアミド (Gel-est) により二次元オリゴヌクレオチド合成デバイスを均一に機能化し、これを使用することで、本明細書に記載されるポリヌクレオチド合成方法を用いて50bpの例示的なポリヌクレオチド (「50merのポリヌクレオチド」) を合成した。

30

【0162】

50merの配列は、SEQ ID NO: 48に記載される通りであった。
5' AGACAATCAACCAATTTGGGGTGGACAGCCCTTGACCTCTAGACTTTCGGCAT##TTTTTTTTTTT3' (SEQ ID NO: 48)
、ここで、#は、チミジン-スクシニルヘキサミドCEDホスホラミダイト (ChemGenesのCLP-2244) を表わし、これは、脱保護中に表面からのオリゴの放出を可能にする切断可能なリンカーである。

【0163】

表4のプロトコルおよびABIシンセサイザーに従い標準DNA合成化学 (結合、カップリング、酸化、およびデブロッキング) を使用して、合成を行った。

40

【0164】

【表 4 - 1】

表 4: 合成プロトコル

表 4		
一般的な DNA 合成 プロセスの名称	プロセスの工程	時間 (sec)
洗浄 (アセトニトリル洗 浄フロー)	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	23
	N2 システムフラッシュ	4
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
DNA 塩基付加ホスホラ ミダイト + 活性化因子フ ロー)	活性化因子 マニホルドフ ラッシュ	2
	活性化因子～フローセル	6
	活性化因子 + ホスホラミ ダイト～フローセル	6
	活性化因子～フローセル	0.5
	活性化因子 + ホスホラミ ダイト～フローセル	5
	活性化因子～フローセル	0.5
	活性化因子 + ホスホラミ ダイト～フローセル	5
	活性化因子～フローセル	0.5
	活性化因子 + ホスホラミ ダイト～フローセル	5
	25 秒間インキュベート	25
洗浄 (アセトニトリル洗 浄フロー)	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	15
	N2 システムフラッシュ	4
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
DNA 塩基付加 (ホスホラ ミダイト + 活性化因子 フロー)	活性化因子 マニホルドフ ラッシュ	2
	活性化因子～フローセル	5
	活性化因子 + ホスホラミ ダイト～フローセル	18
	25 秒間インキュベート	25
洗浄 (アセトニトリル洗 浄フロー)	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	15
	N2 システムフラッシュ	4

【表 4 - 2】

表 4		
一般的な DNA 合成 プロセスの名称	プロセスの工程	時間 (sec)
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
キャッピング (CapA+B, 1:1, フロー)	CapA+B～フローセル	15
洗浄 (アセトニトリル洗 浄フロー)	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル ～フロ ーセル	15
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
酸化 (酸化剤フロー)	酸化剤～フローセル	18
洗浄 (アセトニトリル洗 浄フロー)	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	N2 システムフラッシュ	4
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	15
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	15
	N2 システムフラッシュ	4
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	23
	N2 システムフラッシュ	4
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
デブロッキング (デブロ ックフロー)	フローセルへとデブロ ック	36
洗浄 (アセトニトリル洗 浄フロー)	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	N2 システムフラッシュ	4
	アセトニトリル システム フラッシュ	4
	アセトニトリル～フロー セル	18
	N2 システムフラッシュ	4.13
	アセトニトリル システム	4.13

【表 4 - 3】

表 4		
一般的な DNA 合成 プロセスの名称	プロセスの工程	時間 (sec)
	フラッシュ	
	アセトニトリル～フローセル	15

【 0 1 6 7 】

10

ホスホラミダイト / 活性化因子の組み合わせを、フローセルを通じたバルク試薬の送達と同様に送達した。環境が時間全体にわたり試薬により「湿った」ままであると、乾燥工程を行わなかった。

【 0 1 6 8 】

フローリストリクターを A B I 3 9 4 シンセサイザーから取り除き、より速い流れを可能にした。フローリストリクターを使用しない場合、アミダイト (A C N 中で 0 . 1 M)、活性化因子 (A C N 中で 0 . 2 5 M のベンゾイルチオテトラゾール (「 B T T 」 ; G l e n R e s e a r c h の 3 0 - 3 0 7 0 - x x))、および O x (2 0 % のピリジン、10 % の水、および 7 0 % の T H F 中の 0 . 0 2 M の I 2) の流量は、アセトニトリル (「 A C N 」) およびキャッピング試薬 (C a p A と C a p B の 1 : 1 の混合物ではおよそ ~ 1 0 0 u L / s e c であり、ここで、C a p A は T H F / ピリジン中の無水酢酸であり、C a p B は、T H F 中の 1 6 % の 1 - メチルイミダゾール (m e t h y l i m i d i z o l e) ではおよそ ~ 2 0 0 u L / s e c、および、D e b l o c k (トルエン中の 3 % のジクロロ酢酸) ではおよそ ~ 3 0 0 u L / s e c (フローリストリクターを用いる全ての試薬に対し ~ 5 0 u L / s e c と比較して) であった。O x i d i z e r を完全に押し出す時間を観察し、化学フロー時間のタイミングを適宜調整し、余分な A C N 洗浄を異なる化学物質間に導入した。ポリヌクレオチド合成の後、7 5 p s i で一晩、ガス状のアンモニア中でチップを脱保護した。表面に水を 5 滴加えて、ポリヌクレオチドを再生した。その後、回復されたポリヌクレオチドを、B i o A n a l y z e r 小型 R N A チップ上で解析した。

20

30

【 0 1 6 9 】

実施例 3 : オリゴヌクレオチド合成デバイス上での 1 0 0 m e r の配列の合成

【 0 1 7 0 】

5 0 m e r の配列の合成について実施例 2 に記載されるのと同じプロセスを、2 つの異なるシリコンチップ上で 1 0 0 m e r のポリヌクレオチド (「 1 0 0 m e r のポリヌクレオチド」 ; 5 ' C G G G A T C C T T A T C G T C A T C G T C G T A C A G A T C C C G A C C C A T T T G C T G T C C A C C A G T C A T G C T A G C C A T A C C A T G A T G A T G A T G A T G A T G A G A A C C C C G C A T # # T T T T T T T T T T T 3 '、ここで、# はチミジン - スクシニルヘキサミド C E D ホスホラミダイト (C h e m G e n e s の C L P - 2 2 4 4) を表わす ; S E Q I D N O : 4 9) の合成に使用し、一方のシリコンチップは N - (3 - トリエトキシシリルプロピル) - 4 - ヒドロキシブチルアミドで均一に官能化され、他方のシリコンチップは 1 1 - アセトキシウンデシルトリエトキシシランと n - デシルトリエトキシシランの 5 / 9 5 の混合物により官能基化されており、表面から抽出されたポリヌクレオチドを B i o A n a l y z e r 機器の上で解析した。

40

【 0 1 7 1 】

以下の熱サイクルプログラムを使用して、5 0 u L の P C R 混合物 (2 5 u L の N E B Q 5 m a s t e r m i x、2 . 5 u L の 1 0 u M フォワードプライマー、2 . 5 u L の 1 0 u M リバースプライマー、表面から抽出した 1 u L のポリヌクレオチド、および最大 5 0 u L の水) の中で、フォワードプライマー (5 ' A T G C G G G G T T C T C A T

50

CATC3' ; SEQ ID NO : 50) およびリバースプライマー (5' CGGGA
TCCTTATCGTCATCG3' ; SEQ ID NO : 51) を使用して、2つの
チップからの10個のサンプル全てを更に増幅させた：

98 、 30 秒；

98 、 10 秒； 63 、 10 秒； 72 、 10 秒； 12 サイクルを繰り返す

72 、 2 分

【 0 1 7 2 】

PCR産物をBioAnalyzer上でも実行し、100merの位置にて急激なピークを実証した。次に、PCR増幅サンプルをクローン化し、Sanger配列決定を行った (Sanger sequence)。表5は、チップ1のスポット1 - 5から得たサンプル、およびチップ2のスポット6 - 10から得たサンプルに対する、Sanger配列決定による結果を要約する。

10

【 0 1 7 3 】

【 表 5 】

表 5: 配列決定の結果

スポット	エラー率	サイクルの効率
1	1/763 bp	99.87%
2	1/824 bp	99.88%
3	1/780 bp	99.87%
4	1/429 bp	99.77%
5	1/1525 bp	99.93%
6	1/1615 bp	99.94%
7	1/531 bp	99.81%
8	1/1769 bp	99.94%
9	1/854 bp	99.88%
10	1/1451 bp	99.93%

20

30

【 0 1 7 4 】

故に、高品質および高均一性の合成ポリヌクレオチドを、異なる界面化学的性質を持つ2つのチップ上で繰り返した。全体的に、配列決定された100 - merの89%は、エラーのない完全な配列であり、262のうち233に相当する。

【 0 1 7 5 】

表6は、スポット1 - 10のポリヌクレオチドサンプルから得た配列に対するエラー特徴を要約する。

40

【 0 1 7 6 】

【表 6】

表 6: エラーの特性

サンプル ID/スポ ット no.	OSA_0 046/1	OSA_0 047/2	OSA_0 048/3	OSA_0 049/4	OSA_0 050/5	OSA_0 051/6	OSA_0 052/7	OSA_0 053/8	OSA_0 054/9	OSA_0 055/10
合計の配 列	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
配列決定 の質	25 of 28	27 of 27	26 of 30	21 of 23	25 of 26	29 of 30	27 of 31	29 of 31	28 of 29	25 of 28
オリゴの 質	23 of 25	25 of 27	22 of 26	18 of 21	24 of 25	25 of 29	22 of 27	28 of 29	26 of 28	20 of 25
ROI 一致 数	2500	2698	2561	2122	2499	2666	2625	2899	2798	2348
ROI 突然 変異	2	2	1	3	1	0	2	1	2	1
ROI 多塩 基検出	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ROI 小挿 入	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ROI 単塩 基検出	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
大検出数	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
突然変異: G>A	2	2	1	2	1	0	2	1	2	1
突然変異: T>C	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
ROI エラ ー数	3	2	2	3	1	1	3	1	2	1
ROI エラ ー率	Err: ~1 in 834	Err: ~1 in 1350	Err: ~1 in 1282	Err: ~1 in 708	Err: ~1 in 2500	Err: ~1 in 2667	Err: ~1 in 876	Err: ~1 in 2900	Err: ~1 in 1400	Err: ~1 in 2349
ROI マイナス プライマ ーエラー 率	MP Err: ~1 in 763	MP Err: ~1 in 824	MP Err: ~1 in 780	MP Err: ~1 in 429	MP Err: ~1 in 1525	MP Err: ~1 in 1615	MP Err: ~1 in 531	MP Err: ~1 in 1769	MP Err: ~1 in 854	MP Err: ~1 in 1451

10

20

30

40

【 0 1 7 7 】

実施例 4 : 立体構造リガンド相互作用に基づく G タンパク質結合受容体結合ドメインの設計

【 0 1 7 8 】

G タンパク質共役受容体 (GPCR) 結合ドメインを、GPCR と相互に作用する立体構造リガンド間の相互作用表面を使用して設計した。ケモカインとサイトカインと GPCR との相互作用表面の解析は、第 1 の立体構造システムに先行する N 末端ペプチドが活性化ペプチドを表わし、中心の螺旋状であり ・ターン・ (beta-turn-beta) であるトポロジーが GPCR の細胞外ドメイン (ECD) との相互作用を媒介することを示した。

50

【0179】

さらに254のGPCRリガンドを、UniProtとIUPHARのデータベースの横断検索に基づいて設計した。リガンドは、112のヒト、71のラット、4のブタ、1のヒツジ、および1のウシに由来する相互作用クラスを表わした。その後、リガンドを以下の101の異種間リガンド配列アノテーションに分けた(collapsed): ADM、ADM2、アグーチ関連タンパク質、アンジオテンシノゲン、アネキシンA1、アペリン、初期アペリン受容体(Apelin receptor early)、食欲調節ホルモン、
 - デフェンシン4A、C-Cモチーフケモカイン、C-X-Cモチーフケモカイン、カルシトニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、カテプシンG、カテプシンG (フラグメント)、コレシストキニン、補体C3、補体C5、補体C5 (フラグメント)、
 コルチコリベリン、コルチスタチン、サイトカインSCM-1、エンドセリン-2、
 エンドセリン-3、イオタキシン、フラクタルカイン、ガラニンペプチド、ガラニン様ペプチド、胃抑制ポリペプチド、ガストリン、ガストリン放出ペプチド、グルカゴン、成長調節
 タンパク質、ヘム結合タンパク質1、ヒューマニン、インスリン様3、インスリン様ペプチドINSL5、
 インターロイキン8、膵島アミロイドポリペプチド、キニノーゲン-1、リンホタクチン、転移抑制因子KISS-1、ニューロキニン-B、ニューロメジン-B、
 ニューロメジン-S、ニューロメジン-U、ニューロペプチドB、ニューロペプチドS、ニューロペプチドW、
 ニューロテンシン/ニューロメジンN、食欲促進ニューロペプチドQRFp、オレキシン、オキシトシン-ニューロフィジン1、膵臓プロホルモン、
 副甲状腺ホルモン、副甲状腺ホルモン関連タンパク質、ペプチドYY、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド、
 血小板塩基性タンパク質、血小板因子4、プレプロノシセプチン(Prepronociceptin)、Pro-FMRFAミド関連ニューロペプチドFF、
 Pro-FMRFAミド関連ニューロペプチドVF、Pro-MCH、Pro-ニューロペプチドY、
 Pro-オピオメラノコルチン、Pro-甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン、プロエンケファリン-A、
 プロエンケファリン-B、プロゴナドリベリン-1、プロゴナドリベリン-2、プロキネクチン-1、
 プロキネクチン-2、プロラクチン放出ペプチド、プロモチリン(Promotilin)、プロタキキニン-1、
 タンパク質Wnt-2、タンパク質Wnt-3a、タンパク質Wnt-4、タンパク質Wnt-5a、
 タンパク質Wnt-7b、プロトロンビン、プロトオンコジーンWnt-1、プロトオンコジーンWnt-3、
 推定の未特徴化タンパク質、RCG55748、レチノイン酸受容体、セクレチン、ソマトリベリン、
 ソマトスタチン、間質細胞誘導因子、T-キニノーゲン2、隆起漏斗状ペプチド、
 ウロコルチン、ウロコルチン-2、ウロコルチン-3、ウロテンシン-2、ウロテンシン-2B、
 VEGF同時制御ケモカイン、VIPペプチド、およびバソプレシン-ニューロフィジン2-コペプチン。

10

20

30

【0180】

リガンドの構造解析を行い、その大部分が約11のアミノ酸のN末端活性化ペプチドを含むことが示された。その後、N末端活性化ペプチドを減らすことによりモチーフ変異体を作成した。表7に見られるように、変異体の典型的なセットを、間質性の誘導因子-1に対するN末端活性化ペプチドに基づいて作成した。モチーフ変異体も、CDR-H3の複数の位置にて組み合わせて配置した。合計1016のモチーフをCDR-H3の配置のために抽出した。加えて、モチーフ変異体を、可変的に境界をつけた配置、およびCDR-H3にも配置された5-20のサブストリング変異体と共に設けた。

40

【0181】

【表 7】

表 7. 間質由来因子-1 の変異体アミノ酸配列

SEQ ID NO.	変異体	アミノ酸配列
53	1	ggggSDYKPVSLSYR
54	2	ggggDYKPVSLSYR
55	3	ggggYKPVSLSYR
56	4	ggggKPVSLSYR
57	5	ggggPVSLSYR

10

【0182】

表 8 に見られるように、変異体の典型的なセットを、以下の配列に基づいてインターロイキン - 8 に対して作成した：

MTSKLAVALLAAFLISAALCEGAVLPRSAKELRCQCIKTY
SKPFHPKFIFKELRVIESGPH CANTEIIVKLSDBGRELCLD
PKENWVQRVVEKFLKRAENS (SEQ ID NO: 52)。

【0183】

【表 8】

表 8. インターロイキン-8 の変異体アミノ酸配列

20

SEQ ID NO.	変異体	アミノ酸配列
58	1	ggggSAALCEGAVLPRSA
59	2	ggggAALCEGAVLPRSA
60	3	ggggALCEGAVLPRSA
61	4	ggggLCEGAVLPRSA
62	5	ggggCEGAVLPRSA
63	6	ggggSAALCEGAVLPRSAKE
64	7	ggggAALCEGAVLPRSAKE
65	8	ggggALCEGAVLPRSAKE
66	9	ggggLCEGAVLPRSAKE
67	10	ggggCEGAVLPRSAKE
68	11	ggggSAALCEGAVLPRSAKELR
69	12	ggggAALCEGAVLPRSAKELR
70	13	ggggALCEGAVLPRSAKELR
71	14	ggggLCEGAVLPRSAKELR
72	15	ggggCEGAVLPRSAKELR

30

【0184】

実施例 5：ペプチド - リガンド相互作用に基づく G タンパク質結合受容体結合ドメインの設計

40

【0185】

GPCR 結合ドメインを、クラス B の GPCR と相互に作用するペプチド - リガンド間の相互作用表面に基づいて設計した。約 66 の異なるリガンドを使用し、以下のリガンド配列アノテーションが含まれる：アドレノメデュリン、アミリン、アンジオテンシン、アンジオテンシン I、アンジオテンシン II、アンジオテンシン III、アペリン、アブスタチン、ビッグエンドセリン、ビッグガストリン、ブラジキニン、セルレイン、カルシトニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、CGRP、コレシストキニン、エンドセリン、エンドセリン 1、エンドセリン 2、エンドセリン 3、GIP、GIP、GLP、ガラニン、ガストリン、グレリン、グルカゴン、IAPP、キスペプチン、Mc a、メタスチン (

50

Metastin)、ニューロメジン、ニューロメジンN、ニューロペプチド、ニューロペプチドF、ニューロペプチドY、ニューロテンシン、ノシセプチン、オレキシン、オレキシンA、オルファニン、オキシトシン、オキシトシンガラニン、PACAP、PACAP、PAR(プロテアーゼ活性化受容体)ペプチド、PAR-1アゴニスト、プラムリントイド、シリオリニンI、セクレチン、センクチド、ソマトスタチン、ソマトスタチン14、ソマトスタチン28、サブスタンスP、ウロテンシンII、VIP、VIPs、バソプレシン、キセニン、シンナモイル、フロイル、ガストリン、コレシストキニン(holecystokinin)、-メイティング因子。ペプチドがGPCR細胞外ドメイン(ECD)との安定した相互作用を形成したことを観察した。

【0186】

10

モチーフ変異体を、ECDのほか、N末端GPCRリガンド相互作用表面とのペプチドの相互作用表面に基づいて生成した。これを、構造的モデリングを使用して行った。典型的なモチーフ変異体を、表9に見られるようなグルカゴン様ペプチドとそのGPCRとの相互作用に基づいて作成した。モチーフ変異体配列を、グルカゴン様ペプチドの以下の配列を使用して生成した：

HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG(SEQ ID NO: 73)。

【0187】

【表9】

表9. グルカゴン様ペプチドの変異体アミノ酸配列

20

SEQ ID NO.	変異体	アミノ酸配列
74	1	sgggsgsgggsggggHAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
75	2	sgggsgsgggsggggAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
76	3	sgggsgsgggsggggEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
77	4	sgggsgsgggsggggGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
78	5	sgggsgsgggsggggTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
79	6	sgggsgsgggsggggFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
80	7	sgggsgsgggsggggTSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
81	8	sgggsgsgggsggggSDVSSYLEGQAAKEFIAWL
82	9	sgggsgsgggsggggDVSSYLEGQAAKEFIAWL

30

【0188】

実施例6：小分子相互作用に基づくGタンパク質結合受容体結合ドメインの設計

【0189】

GPCR結合ドメインを、GPCRと相互に作用する小分子リガンド間の相互作用表面に基づいて設計した。複数のGPCRリガンドの解析により、Tyr、Pro、Phe、His、およびGlyのアミノ酸ライブラリーを、これらリガンドの構造的接触の多くを反復可能なものとして設計した。これらの観察に基づいて生成した典型的なモチーフ変異体は以下の配列を含む：

40

sgggsg(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(F, G, H, P, Y)(SEQ ID NO: 83)。

【0190】

実施例7：細胞外ドメイン相互作用に基づくGタンパク質結合の結合ドメインの設計

【0191】

GPCR結合ドメインを、GPCRの細胞外ドメイン(ECD)および細胞外ループ(ECL)上での相互作用表面に基づいて設計した。ヒト(356)、マウス(369)、ラット(259)、ウシ(102)、ブタ(60)、霊長類、魚類、ハエに由来する約2

50

、257のGPCR、および200を超える他の生物体を解析し、ECDが15アミノ酸の長さにてGPCRの他のループおよびヘリックスへの複数の相補的な接触をもたらすことが観察された。約2、257のGPCRからのECL、およびGPCRの全ての解かれた構造のさらなる解析は、N末端ECD1およびECL2がより長い細胞外配列を含み、GPCR細胞外接触をもたらすことを実証した。

【0192】

その後、モチーフ変異体をこれらの配列に基づいて生成した。レチン酸誘導タンパク質3 (GPRC5A) からの以下の配列に基づき、典型的な変異体を生成した：

EYIVLTMNRTNVNVFSELSAPRRNED (SEQ ID NO: 84)

。

【0193】

【表10】

表10. アミノ酸配列

SEQ ID NO.	変異体	アミノ酸配列
85	1	YIVLTMNRTNVNVFSELSAPRRNE
86	2	IVLTMNRTNVNVFSELSAPRRN
87	3	VLTMNRTNVNVFSELSAPRR

【0194】

実施例8：抗体スキャホールドの設計

【0195】

スキャホールドを生成するために、構造解析、重鎖のレパートリー配列解析、およびヘテロダイマー高スループット配列解読装置のデータセットの特異的な解析を実行した。各重鎖を各軽鎖スキャホールドに関連付けた。各重鎖スキャホールドに、5つの異なる長いCDR-H3ループのオプションを割り当てた。各軽鎖スキャホールドに、5つの異なるL3スキャホールドを割り当てた。重鎖CDR-H3ステムを、個体とV遺伝子セグメントの両方を介して発見される、頻繁に観察された長いH3ループステム (N末端およびC末端上の10のアミノ酸) から選択した。軽鎖スキャホールドL3を、長いH3を含むヘテロダイマーから選択した。プロテインデータバンク (PDB) およびディーブシーケンシングのデータセットの情報に基づくヘテロダイマーの方向付けを使用し、そこではCDR-H1、H2、L1、L2、L3、およびCDR-H3のステムが固定された。その後、様々なスキャホールドをファージ上での表示のためにフォーマット化し、発現を評価した。

【0196】

構造解析

【0197】

約2、017の抗体構造を解析し、そこから、長さが少なくとも25のアミノ酸である長いCDR-H3を伴う22の構造を観察した。重鎖は以下を含んでいた：IGHV1-69、IGHV3-30、IGHV4-49、およびIGHV3-21。同定された軽鎖は以下を含んでいた：IGLV3-21、IGKV3-11、IGKV2-28、IGKV1-5、IGLV1-51、IGLV1-44、およびIGKV1-13。解析において、4つのヘテロダイマーの組み合わせを複数回観察し、これには以下が含まれる：IGHV4-59/61-IGLV3-21、IGHV3-21-IGKV2-28、IGHV1-69-IGKV3-11、およびIGHV1-69-IGKV1-5。配列および構造の解析は、長いH3安定性を支持するステムにおけるチロシンなどの巨大な側鎖のパッキングにより、少数の構造における内部CDR-H3ジスルフィド結合を同定した。・ターン・シートおよび「ハンマーヘッド」サブドメインを含む二次構造も観察した。

【0198】

レパートリー解析

【0199】

レパートリー解析を、12の健康な対照からの偏りのない5' RACEにより得られる、1,083,875のIgM+/CD27ナীবB細胞受容体(BCR)配列および1,433,011のCD27+配列上で実行した。12の健康な対照は等しい数の男性と女性で構成され、4人の白人、4人のアジア人、および4人のヒスパニック人から構成された。レパートリー解析は、ヒトレパートリーの1%未満が21のアミノ酸よりも長いCDR-H3を伴うBCRを含むことを実証した。V遺伝子バイアスを長いCDR3サブレパートリーに観察し、IGHV1-69、IGHV4-34、IGHV1-18、およびIGHV1-8は長いH3ループを伴うBCR中に選択的な富化を示した。長いループに対するバイアスを、IGHV3-23、IGHV4-59/61、IGHV5-51、IGHV3-48、IGHV3-53/66、IGHV3-15、IGHV3-74、IGHV3-73、IGHV3-72、およびIGHV2-70に対して観察した。IGHV4-34スキヤホールドは、自己反応性であり、半減期が短いと実証された。

10

【0200】

長いループに対する生存可能なN末端およびC末端のCDR-H3スキヤホールド変異も、5' RACE基準レパートリーに基づいて設計された。アミノ酸長さ22以上のアミノ酸の約81,065のCDR-H3を観察した。V遺伝子スキヤホールドごとに比較することにより、スキヤホールドに特異的なH3ステム変異を回避し、それによりスキヤホールドの多様性を複数のスキヤホールド基準へとクロン化するのを可能にする。

20

【0201】

ヘテロダイマー解析

【0202】

ヘテロダイマー解析を、図12A-12Cに見られるような配列を持つスキヤホールド上で実行した。スキヤホールドの変異体配列および長さを解析した。

【0203】

構造解析

【0204】

変異体配列のGPCRスキヤホールドを使用して構造解析を実行し、長さを分析した。図13を参照する。

【0205】

実施例9：GPCR抗体ライブラリーの生成

【0206】

GPCRリガンド相互作用表面およびスキヤホールド配置に基づいて、ライブラリーを設計し、デノボ合成した。実施例4-8を参照。図5を参照して、10の変異体配列を重鎖可変ドメイン(503)に対して設計し、237の変異体配列を、重鎖相補性決定領域3(507)に対して設計し、44の変異体配列を軽鎖可変ドメイン(513)に対して設計した。フラグメントを、実施例1-3に記載されるのと同様の方法に従い、図6に見られるような3つのフラグメントとして合成した。

【0207】

デノボ合成の後、10の変異体配列を重鎖可変ドメイン(602)に対して生成し、236の変異体配列を重鎖相補性決定領域3(604)に対して生成し、43の変異体配列を、軽鎖可変ドメイン(606)を含む領域に対して設計し、CDR-L3、および軽鎖可変ドメインに対する9の変異体を設計した。この結果、約 10^5 の多様性($10 \times 236 \times 43$)を有するライブラリーがもたらされた。これは、1600万の読み取りによる次世代シーケンシング(NGS)を使用して確認された。図14に見られるように、重鎖可変ドメインの10の変異体各々に対する標準化された配列決定の読み取りは、約1であった。図15に見られるように、軽鎖可変ドメインの43の変異体各々に対する標準化された配列決定の読み取りは、約1であった。図16に見られるように、重鎖相補性決定領域3の236の変異体配列に対する標準化された配列決定の読み取りは、約1であった。

40

【0208】

50

その後、様々な軽鎖および重鎖を、発現およびタンパク質フォールディングに対して試験した。図17A - 17Dを参照すると、重鎖可変ドメインの10の変異体配列は以下を含んでいた：IGHV1 - 18、IGHV1 - 69、IGHV1 - 8、IGHV3 - 21、IGHV3 - 23、IGHV3 - 30 / 33 rn、IGHV3 - 28、IGHV3 - 74、IGHV4 - 39、およびIGHV4 - 59 / 61。10の変異体配列のうち、IGHV1 - 18、IGHV1 - 69、およびIGHV3 - 30 / 33 rnは、耐熱性の改善などの特徴の改善を示した。図18A - 18Fを参照すると、軽鎖可変ドメインの9の変異体配列は以下を含んでいた：IGKV1 - 39、IGKV1 - 9、IGKV2 - 28、IGKV3 - 11、IGKV3 - 15、IGKV3 - 20、IGKV4 - 1、IGLV1 - 51、およびIGLV2 - 14。9の変異体配列のうち、IGKV1 - 39、IGKV3 - 15、IGLV1 - 51、およびIGLV2 - 14は、耐熱性の改善などの特徴の改善を示した。

10

【0209】

実施例10：HEK293細胞におけるGPCR抗体ライブラリーの発現

【0210】

実施例13におけるようなGPCR抗体ライブラリーの生成後、約47のGPCRがスクリーニングのために選択された。約1.8 kb ~ 約4.5 kbのサイズのGPCR構築物を、pCDNA3.1ベクターに設計した。その後、GPCR構築物を、階層的アセンブリを含む実施例2 - 4に記載されるのと同様の方法に従い合成した。47のGPCR構築物のうち、46のGPCR構築物を合成した。

20

【0211】

合成されたGPCR構築物を、HEK293にトランスフェクトし、免疫蛍光検査法を使用して発現に対して解析した。図19A - 19Cを参照すると、HEK293細胞を、N - 末端赤血球凝集素(HA)でタグを付けたヒトY1受容体を含むGPCR構築物によりトランスフェクトした。24 - 48時間のトランスフェクション後、細胞をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)により洗浄し、4%のパラホルムアルデヒドにより固定した。細胞を、HAタグに関連付けられる蛍光一次抗体、またはフルオロフォアを含む二次抗体を使用して染色することで、母核を青色として視覚化した。図19A - 19Cを参照すると、ヒトY1受容体を、非透過性細胞中の細胞表面上に、および細胞内の透過性細胞中の細胞表面上に視覚化した。

30

【0212】

GPCR構築物はまた、自家蛍光タンパク質を含むGPCR構築物を設計することにより視覚化された。図20A - 20Cを参照すると、ヒトY₁受容体はそのC末端に縮合されたEYFPで構成され、ヒトY₅受容体はそのC末端に縮合されたECFPで構成された。HEK293細胞はヒトY₁受容体によりトランスフェクトされ、または、ヒトY₁受容体とヒトY₅受容体により同時にトランスフェクトされた。トランスフェクション後、細胞を洗浄し、4%のパラホルムアルデヒドで固定した。細胞をDAPIで染色した。ヒトY₁受容体とヒトY₅受容体の局在化を、蛍光顕微鏡検査法により視覚化した。

【0213】

実施例11：免疫グロブリンライブラリーの設計

40

【0214】

免疫グロブリンスキャホールドライブラリーを、GPCR結合ドメインの配置のため、およびGPCR結合ドメインコード配列の範囲の安定性の改善のために設計した。免疫グロブリンスキャホールドは、リンカーによりVLドメインに付着されたVHドメインを含んでいた。変異体核酸配列を、VHドメインとVLドメインのフレームワーク要素およびCDR要素に対して生成した。設計の構造を図21Aに示す。完全なドメイン構造を図21Bに示す。リーダー、リンカー、およびpIIIの配列を表11に表記する。

【0215】

【表 1 1】

表 11. ヌクレオチド配列

SEQ ID NO	ドメイン	配列
88	リーダー	GCAGCCGCTGGCTTGCTGCTGCTGGCAGCTCAGCCGGCCATGGCC
89	リンカー	GCTAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGC GGATCGCATGCATCC
90	pIII	CGCGCGGCCGCTGGAAGCGGCTCCCACCATCACCATCACCAT

10

【0 2 1 6】

設計された V L ドメインは、I G K V 1 - 3 9、I G K V 3 - 1 5、I G L V 1 - 5 1、および I G L V 2 - 1 4 を含む。4 つの V L ドメインの各々は、それぞれの 4 つの不変式フレームワーク要素 (F W 1、F W 2、F W 3、F W 4) および 3 つの変異 C D R (L 1、L 2、L 3) 要素によりアセンブルされた。I G K V 1 - 3 9 では、L 1 に対して 4 9 0 の変異体が設計され、L 2 に対して 4 2 0 の変異体が設計され、および L 3 に対して 8 2 4 の変異体が設計され、その結果、 $1.7 \times 10^8 (490 * 420 * 824)$ の多様性がもたらされた。I G K V 3 - 1 5 では、L 1 に対して 4 9 0 の変異体が設計され、L 2 に対して 2 6 5 の変異体が設計され、および L 3 に対して 9 0 7 の変異体が設計され、その結果、 $1.2 \times 10^8 (490 * 265 * 907)$ の多様性がもたらされた。I G K V 1 - 5 1 では、L 1 に対して 1 8 4 の変異体が設計され、L 2 に対して 1 5 1 の変異体が設計され、および L 3 に対して 8 2 4 の変異体が設計され、その結果、 $2.3 \times 10^7 (184 * 151 * 824)$ の多様性がもたらされた。I G K V 2 - 1 4 では、L 1 に対して 9 6 7 の変異体が設計され、L 2 に対して 5 3 5 の変異体が設計され、および L 3 に対して 9 2 2 の変異体が設計され、その結果、 $4.8 \times 10^8 (967 * 535 * 922)$ の多様性がもたらされた。表 1 2 は、I G L V 1 - 5 1 に対する 4 つのフレームワーク要素 (F W 1、F W 2、F W 3、F W 4) のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列を表記する。表 1 3 は、I G L V 1 - 5 1 の 3 つの変異 C D R (L 1、L 2、L 3) 要素を表記する。4 つのフレームワーク要素 (F W 1、F W 2、F W 3、F W 4) および 3 つの変異 C D R (L 1、L 2、L 3) 要素のための変異体アミノ酸配列およびヌクレオチド配列も、I G K V 1 - 3 9、I G K V 3 - 1 5、および I G L V 2 - 1 4 のために設計した。

20

30

【0 2 1 7】

40

【表 1 2】

表 12. IGLV1-51 フレームワーク要素の配列

要素	SEQ ID NO	アミノ酸配列	SEQ ID NO	ヌクレオチド配列
IGLV1-51				
FW1	91	QSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISC	92	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCC CTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGA CAGAAGGTCACCATCTCCTGC
FW2	93	WYQQLPGTAPKLLIY	94	TGGTATCAGCAGCTCCCAGGAAC AGCCCCCAAACCTCCTCATTTAT
FW3	95	GIPDRFSGSKSGTSATL GITGLQTGDEADYY	96	GGGATTCCTGACCGATTCTCTGG CTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCA CCCTGGGCATCACCGGACTCCA GACTGGGGACGAGGCCGATTAT TAC
FW4	97	GGGTKLTVL	98	GGCGGAGGGACCAAGCTGACCG TCCTA

10

20

【 0 2 1 8 】

【表 13 - 1】

表 13. IGLV1-51 CDR 要素の配列

SEQ ID NO	アミノ酸配列	SEQ ID NO	ヌクレオチド配列
IGLV1-51-L1			
99	SGSSSNIG SNHVS	282	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGTAATCAT GTATCC
100	SGSSSNIG NNYLS	283	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT CTATCC
101	SGSSSNIA NNYVS	284	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGCGAATAATTAT GTATCC
102	SGSSPNIG NNYVS	285	TCTGGAAGCAGCCCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCG
103	SGSRSNIG SNYVS	286	TCTGGAAGCAGATCCAATATTGGGAGTAATTAT GTTTCG
104	SGSSSNVG DNYVS	287	TCTGGAAGCAGCTCCAACGTTGGCGATAATTAT GTTTCG
105	SGSSSNIG IQYVS	288	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGATTCAATAT GTATCC
106	SGSSSNVG NNFVS	289	TCTGGAAGCAGCTCCAATGTTGGTAACAATTTT GTCTCC
107	SGSASNIG NNYVS	290	TCTGGAAGCGCCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
108	SGSGSNIG NNDVS	291	TCTGGAAGCGGCTCCAATATTGGGAATAATGAT GTGTCC
109	SGSISNIG NNYVS	292	TCTGGAAGCATCTCCAACATTGGTAATAATTATG TATCC
110	SGSISNIG KNYVS	293	TCTGGAAGCATCTCCAACATTGGGAAAAATTAT GTGTCC
111	SGSSSNIG HNYVS	294	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGCATAATTAT GTATCG
112	PGSSSNIG NNYVS	295	CCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
113	SGSTSNIG IHYVS	296	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGAATTCATTAT GTATCC
114	SGSSSNIG SHYVS	297	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGCAGTCATTAT GTTTCG
115	SGSSSNIG NEYVS	298	TCCGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAATGAATAT GTATCC
116	SGSTSNIG NNYIS	299	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGAAATAATTAT ATATCG
117	SGSSSNIG NHFVS	300	TCTGGAAGCAGCTCCAATATTGGGAATCATTTT GTATCG
118	SGSSSNIG NNYVA	301	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTGGCC
119	SGSSSNIG SYYVS	302	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAGTTATTAT GTATCC

【表 1 3 - 2】

120	SGSGFNIG NNYVS	303	TCTGGAAGTGGTTTCAACATTGGGAATAATTAT GTCTCT
121	SGSTSNIG NNYVS	304	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTGTCC
122	SGSSSDIG NNYVS	305	TCTGGAAGCAGCTCCGACATTGGCAATAATTAT GTATCC
123	SGSSSNIG NNVVS	306	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATGTT GTATCC
124	SGSKSNIG KNYVS	307	TCTGGAAGCAAGTCTAACATTGGGAAAAATTAT GTATCC
125	SGSSTNIG NNYVS	308	TCTGGAAGCAGCACCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
126	SGSISNIG DNYVS	309	TCTGGAAGCATCTCCAACATTGGGGATAATTAT GTATCC
127	SGSSSNIG SKDVS	310	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGTAAGGAT GTATCA
128	SGSSSNIE NNDVS	311	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGAGAATAATGAT GTATCG
129	SGSSSNIG NHYVS	312	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATCATTAT GTATCC
130	SGSSSNIG KDFVS	313	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAGGATTTT GTCTCC
131	SGSTSNIG SNFVS	314	TCTGGCAGTACTTCCAACATCGGAAGTAATTTT GTTTCC
132	SGSTSNIG HNYVS	315	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGCATAATTAT GTATCC
133	SASSSNIG NNYVS	316	TCTGCAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
134	SGSSSIG NNYVS	317	TCTGGAAGCAGCTCCAGCATTGGCAATAATTAT GTATCC
135	SGSSSTIG NNYVS	318	TCTGGAAGCAGCTCCACCATTGGGAATAATTAT GTATCC
136	SGSSSNIE NNYVS	319	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGAAAATAATTAT GTATCC
137	SGSSSNIG NQYVS	320	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATCAGTAT GTATCC
138	SGSSSNIG NNYVF	321	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATTC
139	SGSSSNIG RNYVS	322	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGGAATTAT GTCTCC
140	SGGSSNIG NYYVS	323	TCTGGAGGCAGCTCCAACATTGGAAATTATTAT GTATCG
141	SGSSSNIG DNYVS	324	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAGATAATTAT GTCTCC
142	SGGSSNIG INYVS	325	TCTGGAGGCAGCTCCAACATTGGAATTAATTAT GTATCC
143	SGGSSNIG KNYVS	326	TCTGGAGGCAGCTCCAACATTGGGAAGAATTAT GTATCC

10

20

30

40

【表 1 3 - 3】

144	SGSSSNIG KRSVS	327	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAGAGATCT GTATCG
145	SGSRSNIG NNYVS	328	TCTGGAAGCAGATCCAACATTGGGAATAACTAT GTATCC
146	SGSSSNIG NNLVS	329	TCGGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATCTT GTTTCC
147	SGSSSNIG INYVS	330	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGATCAATTAT GTATCC
148	SGSSSNIG NNFVS	331	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGGAATAATTTT GTATCC
149	SGTSSNIG RNFVS	332	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGCAGAAATTTT GTATCC
150	SGRRSNIG NNYVS	333	TCTGGAAGGAGGTCCAACATTGGAAATAATTAT GTGTCC
151	SGGSFNIG NNYVS	334	TCTGGAGGCAGCTTCAATATTGGGAATAATTAT GTATCC
152	SGSTSNIG ENYVS	335	TCTGGAAGCACTTCCAACATTGGGGAGAATTAT GTGTCC
153	SGSSSNIG SDYVS	336	TCTGGAAGCAGCTCCAATATTGGGAGTGATTAT GTATCC
154	SGTSSNIG SNYVS	337	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAGTAATTAT GTATCC
155	SGSSSNIG TNFVS	338	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGACTAATTTT GTATCC
156	SGSSSNIG NNYVS	339	TCTGGAAGCAGCTCCAACCTTTGGGAATAATTAT GTATCC
157	SGSTSNIG NNHVS	340	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAATAATCAT GTATCC
158	SGSSSNIG NDFVS	341	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATGATTTT GTATCC
159	SGSSSDIG DNYVS	342	TCTGGAAGCAGCTCCGACATTGGCGATAATTAT GTGTCC
160	SGSSSNIG KYYVS	343	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAATATTAT GTATCC
161	SGSSSNIG GNYVS	344	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGCGGTAATTAT GTATCC
162	SGSSSNTG NNYVS	345	TCTGGAAGCAGCTCCAACACTGGGAATAATTAT GTATCC
163	SGSSSNIG NNYVS	346	TCTGGAAGCAGCTCCAACGTTGGGAATAATTAT GTGTCT
164	SGSSSNIA NNFVS	347	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGCGAATAATTTT GTATCC
165	SGSSSNIG NDYVS	348	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATGATTAT GTATCC
166	SGSTSNIE NNYVS	349	TCTGGAAGCACCTCCAATATTGAGAATAATTAT GTTTCC
167	SGGSSNIG NNDVS	350	TCTGGAGGCAGCTCCAATATTGGCAATAATGAT GTGTCC

10

20

30

40

【表 1 3 - 4】

168	SGSTSNIG NHYVS	351	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAATCATTAT GTATCC
169	SGSSSNIG DNDVS	352	TCAGGAAGCAGCTCCAATATTGGGGATAATGAT GTATCC
170	SGYSSNIG NNYVS	353	TCTGGATACAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
171	SGSGSNIG NNFVS	354	TCTGGAAGCGGCTCCAACATTGGAAATAATTTT GTATCC
172	SGSSSNIG NNYVS	355	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTTGGAATAATTAT GTATCC
173	FGSSSNIG NNYVS	356	TTTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
174	SGSSSNIG KNYVS	357	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGAGAAGAATTAT GTATCC
175	SGSRSNIG NYYVS	358	TCTGGAAGTAGATCCAATATTGGAAATTATTAT GTATCC
176	SGTKSNIG NNYVS	359	TCTGGAACCAAGTCAAACATTGGGAATAATTAT GTATCT
177	SGSTSNIG NYYVS	360	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAATTATTAT GTATCC
178	SGTSSNIG NNYVA	361	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTGGCC
179	PGTSSNIG NNYVS	362	CCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
180	SGSTSNIG INYVS	363	TCCGGAAGCACCTCCAACATTGGGATTAATTAT GTATCC
181	SGSSSNIG SNLVS	364	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGTAATCTG GTATCC
182	SGSSSNIG NNHVS	365	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGAGAATAATCAT GTATCC
183	SGTRSNIG NNYVS	366	TCTGGAACCAGGTCCAACATCGGCAATAATTAT GTTTCG
184	SGSTSNIG DNYVS	367	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGGACAATTAT GTTTCC
185	SGGSSNIG KNFVS	368	TCTGGAGGCAGTTCCAACATTGGGAAGAATTTT GTATCC
186	SGSRSDIG NNYVS	369	TCTGGAAGCAGGTCCGACATTGGGAATAATTAT GTATCC
187	SGTSSNIG NNDVS	370	TCTGGAAGTAGCTCCAACATTGGGAATAATGAT GTATCC
188	SGSSSNIG SKYVS	371	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGTAAATAT GTATCA
189	SGSSFNIG NNYVS	372	TCTGGAAGCAGCTTCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
190	SGSSSNIG NTYVS	373	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATACTTAT GTATCC
191	SGSSSNIG DNHVS	374	TCTGGAAGCAGCTCCAATATTGGGGATAATCAT GTATCC

【表 1 3 - 5】

192	SGSSSNIG NNHVS	375	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGCAATAATCAT GTTTCC
193	SGSTSNIG NNDVS	376	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAATAATGAT GTATCC
194	SGRSNV GNNYVS	377	TCTGGAAGCAGATCCAACGTTGGCAATAATTAT GTTTCA
195	SGGTSNIG KNYVS	378	TCCGGAGGCACCTCCAACATTGGGAAGAATTAT GTGTCT
196	SGSSSNIA DNYVS	379	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGCCGATAATTAT GTTTCC
197	SGSSSNIG ANYVS	380	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGCGCCAATTAT GTATCC
198	SGSSSNIG SNYVA	381	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGTAATTAT GTGGCC
199	SGSSSNIG NNFLS	382	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAACAATTTT CTCTCC
200	SGRSSNIG KNYVS	383	TCTGGAAGAAGCTCCAACATTGGGAAGAATTAT GTATCC
201	SGSSPNIG ANYVS	384	TCTGGAAGCAGCCCCAACATTGGGGCTAATTAT GTATCC
202	SGSSSNIG PNYVS	385	TCCGGAAGCAGCTCCAACATTGGGCCTAATTAT GTGTCC
203	SGSSSTIG NNYIS	386	TCTGGAAGCAGCTCCACCATTGGGAATAATTAT ATATCC
204	SGSSSNIG NYFVS	387	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATTATTTT GTATCC
205	SGRSNIG NNFVS	388	TCTGGAAGCCGCTCCAACATTGGTAATAATTTT GTATCC
206	SGGSSNIG SNFVS	389	TCTGGAGGCAGCTCCAACATTGGGAGTAATTTT GTATCC
207	SGSSSNIG YNYVS	390	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGTATAATTAT GTATCC
208	SGTSSNIE NNYVS	391	TCTGGAACCAGCTCGAACATTGAGAACAATTAT GTATCC
209	SGSSSNIG NYYVS	392	TCTGGAAGTAGCTCCAACATTGGGAATTATTAT GTATCC
210	SGSTSNIG KNYVS	393	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAAGAATTAT GTATCC
211	SGSSSNIG TTYVS	394	TCTGGAAGCAGTTCCAACATTGGGACTTATTAT GTCTCT
212	SGSSSNVG KNYVS	395	TCTGGAAGCAGCTCCAACGTTGGGAAAAATTAT GTATCT
213	SGSTSNIG DNFVS	396	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGGATAATTTT GTATCC
214	SGSTSNIG TNYVS	397	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGAATAATTAT GTTTCC
215	SGGTSNIG NNYVS	398	TCTGGAGGTACTTCCAACATTGGGAATAATTAT GTCTCC

10

20

30

40

【表 1 3 - 6】

216	SGSYSNIG NNYVS	399	TCTGGAAGCTACTCCAATATTGGGAATAATTAT GTATCC
217	SGSSSNIE DNYVS	400	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGAAGATAATTAT GTATCC
218	SGSSSNIG KHYVS	401	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAACATTAT GTATCC
219	SGSGSNIG SNYVS	402	TCCGGTTCCGGCTCAAACATTGGAAGTAATTAT GTCTCC
220	SGSSSNIG NNYIS	403	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAATAATTAT ATATCA
221	SGASSNIG NNYVS	404	TCTGGAGCCAGTTCCAACATTGGGAATAATTAT GTTTCC
222	SGRTSNIG NNYVS	405	TCTGGACGCACCTCCAACATCGGGAACAATTAT GTATCC
223	SGGSSNIG SNYVS	406	TCTGGAGGCAGCTCCAATATTGGGAGTAATTAC GTATCC
224	SGSGSNIG NNYVS	407	TCTGGAAGCGGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
225	SGSTSNIG SNYVS	408	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGAGTAATTAT GTATCC
226	SGSSSSIG NNYVA	409	TCTGGAAGCAGCTCCAGCATTGGGAATAATTAT GTGGCG
227	SGSSSNLG NNYVS	410	TCTGGAAGCAGTTCCAACCTTGGAAATAATTAT GTATCC
228	SGTSSNIG KNYVS	411	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAAAAATTAT GTATCC
229	SGSSSDIG NKYIS	412	TCTGGAAGCAGCTCCGATATTGGGAACAAGTAT ATATCC
230	SGSSSNIG SNYIS	413	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAGTAATTAC ATATCC
231	SGSTSNIG ANYVS	414	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGGGGCTAACTAT GTGTCC
232	SGSSSNIG NKYVS	415	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAAGTAT GTATCC
233	SGSSSNIG NNYGS	416	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GGATCC
234	SGSTSNIA NNYVS	417	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGCGAATAATTAT GTATCC
235	SGSYSNIG SNYVS	418	TCTGGAAGCTACTCCAATATTGGGAGTAATTAT GTATCC
236	SGSSSNIG SNFVS	419	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGTAATTTT GTATCC
237	SGSSSNLE NNYVS	420	TCTGGAAGCAGCTCCAATCTTGAGAATAATTAT GTATCC
238	SGSISNIG SNYVS	421	TCTGGAAGCATCTCCAATATTGGCAGTAATTAT GTATCC
239	SGSSSDIG SNYVS	422	TCTGGAAGCAGCTCCGACATTGGGAGTAATTAT GTATCC

10

20

30

40

【表 1 3 - 7】

240	SGSSSNIG TNYVS	423	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGACTAATTAT GTATCC
241	SGSSSNIG KNFVS	424	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAGAATTTT GTATCC
242	SGSSSNIG NNFIS	425	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTTT ATATCC
243	SGSSSNIG NNYVS	426	TCTGGAGGCAGCTCCAACATTGGCAATAATTAT GTTTCC
244	SGSSSNIG ENYVS	427	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGGAGAATTAT GTATCC
245	SGSSSNIG NNFVA	428	TCTGGAAGCAGCTCCAATATTGGGAATAATTTT GTGGCC
246	SGSSSNIG NNYVA	429	TCTGGAGGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTAGCC
247	SGSSSHIG NNYVS	430	TCTGGAAGCAGCTCCCACATTGGAAATAATTAT GTATCC
248	SGSSSNIG SNDVS	431	TCTGGAAGCAGCTCCAATATTGGAAGTAATGAT GTATCG
249	SGSSSNIG NNYVT	432	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTAACC
250	SGSSSNIG NNPVS	433	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATCCT GTATCC
251	SGSSSNIG NHYVS	434	TCTGGAGGCAGCTCCAATATTGGGAATCATTAT GTATCC
252	SGTSSNIG NNYVS	435	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
253	SGSSSNIG SNYVS	436	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAGTAATTAT GTCTCG
254	SGGTSNIG SNYVS	437	TCTGGAGGCACCTCCAACATTGGAAGTAATTAT GTATCC
255	SGSKSNIG NNYVS	438	TCTGGAAGCAAGTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
256	SGRSSNIG NNYVS	439	TCTGGAAGAAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCG
257	SGSSSNVG SNYVS	440	TCTGGAAGCAGCTCCAACGTTGGGAGTAATTAT GTTTCC
258	SGSTSNIG NNFVS	441	TCTGGAAGCACCTCCAATATTGGGAATAATTTT GTATCC
259	SGSNFNIG NNYVS	442	TCTGGAAGCAACTTCAACATTGGGAATAATTAT GTCTCC
260	SGSTSNIG YNYVS	443	TCTGGAAGCACCTCCAATATTGGATATAATTATG TATCC
261	SGSSSNIV SNYVS	444	TCTGGAAGCAGCTCCAATATTGTAAGTAATTAT GTATCC
262	SGTSSNIG NNFVS	445	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAATAATTTT GTATCC
263	SGSSSNIG RNFVS	446	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAGGAATTTT GTGTCC

10

20

30

40

【表 1 3 - 8】

264	SGTTSNIG NNYVS	447	TCTGGAACGACCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTCTCC
265	SGSSSNIG NNDVS	448	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATGAT GTATCC
266	SGSSSNIG NHDVS	449	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATCATGAT GTATCC
267	SGSSSNIG SSHVS	450	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAGTAGTCAT GTATCC
268	SGSSSNIG IHYVS	451	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGATTCATTAT GTATCC
269	SGGGSNIG YNYVS	452	TCTGGAGGCGGCTCCAACATTGGCTATAATTAT GTCTCC
270	SGSSSNIG DHYVS	453	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGGATCATTAT GTGTCG
271	SGSSSNIG KNYVS	454	TCTGGAAGCAGCTCCAACCTTGGGAAGAATTAT GTATCT
272	SGSSSNIG DNFVS	455	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGCGATAATTTT GTATCC
273	SGSTSNIE KNYVS	456	TCTGGAAGCACCTCCAACATTGAGAAAACTAT GTATCG
274	SGSSSNIG KDYVS	457	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAGGATTAT GTATCC
275	SGSSSNIG KNYVS	458	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAAGAATTAT GTATCC
276	SGSSSNIG NNYVS	459	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
277	SGSSSNIG NNYAS	460	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GCCTCC
278	SGISSNIG NNYVS	461	TCTGGAATCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
279	TGSSSNIG NNYVS	462	ACTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTAT GTATCC
280	SGTSSNIG NNHVS	463	TCTGGAACCAGCTCCAACATTGGGAATAATCAT GTTTCC
281	SGSRSNIG KNYVS	464	TCTGGAAGTCGTTCCAACATTGGGAAAAATTAT GTATCC
IGLV1-51-L2			
465	DNNKRPP	616	GACAATAATAAGCGACCCCA
466	ENNRKPS	617	GAGAATAATAGCGACCCTCA
467	DNNKQPS	618	GACAATAATAAGCAACCCTCA
468	DNNKRPL	619	GACAATAACAAGCGACCCTTG
469	DNDKRPA	620	GACAATGATAAGCGACCCGCA
470	DNHERPS	621	GACAATCATGAGCGACCCTCA
471	ENRKRPS	622	GAAAACCGTAAGCGACCCTCA
472	DNDQRPS	623	GACAATGATCAGCGACCCTCA
473	ENYKRPS	624	GAGAATTATAAGCGACCCTCA
474	ENTKRPS	625	GAAAATACTAAGCGACCCTCA

【表 1 3 - 9】

475	DTEKRPS	626	GACACTGAGAAGAGGCCCTCA
476	DNDKRPP	627	GACAATGATAAGCGACCCCCA
477	DHNRPS	628	GACCATAATAAGCGACCCTCA
478	GNNRPS	629	GGCAATAATGAGCGACCCTCA
479	DTSKRPS	630	GACACTAGTAAGCGACCCTCA
480	EYNKRPS	631	GAATATAATAAGCGCCCCTCA
481	ENIKRPS	632	GAAAATATTAAGCGACCCTCA
482	DNVSRPS	633	GACAATGTTAAGCGACCCTCA
483	ENDKRSS	634	GAAAACGATAAACGATCCTCA
484	ENNRHS	635	GAAAATAATAAGCGACACTCA
485	GNDQRPS	636	GGAAATGATCAGCGACCCTCA
486	DNDRRPS	637	GACAATGATAGGCGACCCTCA
487	DNHKRPS	638	GACAATCATAAGCGGCCCTCA
488	DNNDRPS	639	GACAATAATGACCGACCCTCA
489	ENNQRPS	640	GAGAATAATCAGCGACCCTCA
490	DNNQRPS	641	GACAATAATCAGCGACCCTCA
491	ENVKRPS	642	GAGAATGTTAAGCGACCCTCA
492	DTYKRPS	643	GACACTTATAAGAGACCCTCA
493	NNNNRPS	644	AACAATAATAACCGACCCTCA
494	GNNNRPS	645	GGCAATAATAATCGACCCTCA
495	ENDQRPS	646	GAAAATGATCAGCGACCCTCA
496	DNNKRAS	647	GACAATAATAAGCGAGCCTCA
497	DNDKRPL	648	GACAATGATAAGCGACCCTTA
498	DTDERPS	649	GACACTGATGAGCGACCTTCA
499	DNRKRPS	650	GACAATAGGAAGCGACCCTCA
500	DNDARPS	651	GACAATGATGCTCGACCCTCA
501	DNNKRLS	652	GACAATAATAAGCGACTCTCA
502	DNDKRAS	653	GACAATGATAAGCGAGCCTCA
503	DNTERPS	654	GACAATACTGAGCGACCCTCA
504	DNNIRPS	655	GACAATAATATTCGACCCTCA
505	DNKRRPS	656	GACAATAAGAGGCGACCCTCA
506	DDNNRPS	657	GACGATAATAACCGACCCTCA
507	ANNRRPS	658	GCGAATAATCGACGACCCTCA
508	DNDKRLS	659	GACAATGATAAGCGACTGTCA
509	DNNKRPA	660	GACAATAATAAGCGACCCGCA
510	DNYRRPS	661	GACAATTATAGACGTCCCTCA
511	ANDQRPS	662	GCCAATGATCAGCGACCCTCA
512	DNDKRRS	663	GACAATGATAAGCGACGCTCA
513	DKNERPS	664	GACAAGAATGAGCGACCCTCA
514	DNKERPS	665	GACAATAAGGAGCGACCCTCA
515	DNNKGPS	666	GACAATAATAAGGGACCCTCA
516	ENDRRPS	667	GAAAATGATAGACGACCCTCA
517	ENDERPS	668	GAAAATGATGAGCGACCCTCA
518	QNNKRPS	669	CAAAATAATAAGCGACCCTCA
519	DNRERPS	670	GACAATCGTGAGCGACCCTCA
520	DNNRRPS	671	GACAATAATAGACGACCCTCA

10

20

30

40

【表 1 3 - 1 0】

521	GNNRRPS	672	GGAAATAATAGGCGACCCTCA
522	DNDNRPS	673	GACAATGATAACCGACCCTCA
523	EDNKRPS	674	GAAGATAATAAGCGACCCTCA
524	DDDERPS	675	GACGATGATGAGCGGCCCTCA
525	ASNKRPS	676	GCAAGTAATAAGCGACCCTCA
526	DNNKRSS	677	GACAATAATAAGCGATCCTCA
527	QNNERPS	678	CAAAATAATGAGCGACCCTCA
528	DDDRRPS	679	GACGATGATAGGCGACCCTCA
529	NNDKRPS	680	AACAATGATAAGCGACCCTCA
530	DNNNRPS	681	GACAATAATAACCGACCCTCA
531	DNNVRPS	682	GACAATAATGTGCGACCCTCA
532	ENNERPS	683	GAAAATAATGAGCGACCCTCA
533	DNNHRPS	684	GACAATAATCACCGACCCTCA
534	DNDERPS	685	GACAATGATGAGCGCCCCTCG
535	DNIRRPS	686	GACAATATCCGGCGACCCTCA
536	DFNKRPS	687	GACTTTAATAAGCGACCCTCA
537	ETNKRPS	688	GAAACTAATAAGCGACCCTCA
538	NDNKRPS	689	AACGATAATAAGCGACCCTCA
539	DDNKRPS	690	GACGATAATAAGCGACCCTCA
540	DNYKRPS	691	GACAATTATAAGCGACCCTCA
541	HNNKRPS	692	CACAATAATAAGCGACCCTCA
542	DNHQRPS	693	GACAATCATCAGCGACCCTCA
543	DNYKRAS	694	GACAATTATAAGCGAGCCTCA
544	DNIKRPS	695	GACAATATTAAGCGACCCTCA
545	DTHKRPS	696	GACACTCATAAGCGACCCTCA
546	DTNRRPS	697	GACACTAATAGGCGACCCTCT
547	DTNQRPS	698	GACACTAATCAGCGACCCTCA
548	ESDKRPS	699	GAAAGTGATAAGCGACCCTCA
549	DNDKRSS	700	GACAATGATAAGCGATCTTCG
550	GSNKRPS	701	GGCAGTAATAAGCGACCCTCA
551	DNNKRVS	702	GACAATAACAAGCGAGTTTCA
552	NNNRPS	703	AACAATAATAGGCGACCCTCA
553	DNFKRPS	704	GACAATTTTAAGCGACCCTCA
554	ENDKRPS	705	GAAAATGATAAACGACCCTCA
555	ENNKRLS	706	GAAAATAATAAGCGACTCTCA
556	ADNKRPS	707	GCAGATAATAAGCGACCCTCA
557	EDNERPS	708	GAAGATAATGAGCGCCCCTCA
558	DTDQRPS	709	GACACTGATCAGCGACCCTCA
559	DNYQRPS	710	GACAATTATCAGCGACCCTCA
560	DENKRPS	711	GACGAGAATAAGCGACCCTCA
561	DTNKRPS	712	GACACTAATAAGCGACCCTCA
562	DDYRRPS	713	GACGATTATCGGCGACCCTCA
563	DNDKRHS	714	GACAACGATAAGCGGCACTCA
564	ENDNRPS	715	GAAAATGATAATCGACCCTCA
565	DDNERPS	716	GACGATAATGAGCGCCCCTCA
566	DNKKRPS	717	GACAATAAGAAGCGACCCTCA

10

20

30

40

【表 1 3 - 1 1】

567	DVDKRPS	718	GACGTTGATAAGCGACCCTCA
568	ENKKRPS	719	GAAAATAAAAAACGACCCTCT
569	VNDKRPS	720	GTCAATGATAAGCGACCCTCA
570	DNDHRPS	721	GACAATGATCACCGACCCTCA
571	DINKRPS	722	GACATTAATAAGCGACCCTCA
572	ANNERPS	723	GCCAATAATGAGCGACCCTCA
573	DNENRPS	724	GACAATGAAAACCGACCGTCA
574	GDDKRPS	725	GGCGATGATAAGCGACCCTCA
575	ANNQRPS	726	GCCAATAATCAGCGACCTTCA
576	DDDKRPS	727	GACGATGATAAGCGACCCTCA
577	YNNKRPS	728	TACAATAATAAGCGGCCCTCA
578	EDDKRPS	729	GAAGATGATAAGCGACCCTCA
579	ENNNRPS	730	GAAAACAATAACCGACCCTCG
580	DNNLRPS	731	GACAATAATCTGCGACCCTCA
581	ESNKRPS	732	GAGAGTAACAAGCGACCCTCA
582	DTDKRPS	733	GACACTGATAAGCGGCCCTCA
583	DDDQRPS	734	GACGATGATCAGCGACCCTCA
584	VNNKRPS	735	GTGAATAATAAGAGACCCTCC
585	DDYKRPS	736	GACGATTATAAGCGACCCTCA
586	DNTRPS	737	GACAATACTAAGCGACCCTCA
587	DDTERPS	738	GACGATACTGAGCGACCCTCA
588	GNDKRPS	739	GGCAATGATAAGCGACCCTCA
589	DNEKRPS	740	GACAATGAAAAGCGACCCTCA
590	DNDDRPS	741	GACAATGATGACCGACCCTCA
591	DDNRRPS	742	GACGATAATAGGCGTCCCTCA
592	GNNKRPS	743	GGCAATAATAAGCGACCCTCA
593	ANDKRPS	744	GCCAATGATAAGCGACCCTCA
594	DNNKRHS	745	GACAATAATAAGCGACACTCA
595	DDNQRPS	746	GACGACAATCAGCGACCCTCA
596	GNDRRPS	747	GGCAATGATAGGCGACCCTCA
597	DNHNRPS	748	GACAATCATAACCGACCCTCA
598	DNYERPS	749	GACAATTATGAGCGACCCTCA
599	ENNNRSS	750	GAAAATAATAAGCGATCCTCA
600	DDHKRPS	751	GACGATCATAAGCGGCCCTCA
601	DNNKRPS	752	GACAATAATAAACGACGTTCA
602	DNDKRPS	753	GACAATGATAAGCGACCGTCA
603	DKNKRPS	754	GACAAGAATAAGCGACCCTCA
604	DNNKRPS	755	GACAATAATAAGCGACCCTCA
605	DIDKRPS	756	GACATTGATAAGCGACCCTCA
606	DDKKRPS	757	GACGATAAGAAGCGACCCTCA
607	ANNKRPS	758	GCCAATAATAAGCGACCCTCA
608	DNDKGPS	759	GACAATGATAAGGGACCCTCA
609	EDNRRPS	760	GAAGATAATAGGCGACCCTCA
610	ENNNRPS	761	GAGAATAATAAGCGACCCTCA
611	NNNKRPS	762	AACAATAATAAGCGACCCTCA
612	DNNRPS	763	GACAATAATGAGCGACCCTCA

10

20

30

40

【表 1 3 - 1 2】

613	DNIQRPS	764	GACAATATTCAGCGACCCTCA
614	DNNYRPS	765	GACAATAATTACCGACCCTCA
615	DNYNRPS	766	GACAATTATAACCGACCCTCA
IGLV1-51-L3			
767	CGTWDTSLSAVVF	1591	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGTG GTGTTC
768	CGTWDTSLSAGVF	1592	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
769	CGTWDTSLSAWVF	1593	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
770	CGTWDRSLSAGVF	1594	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGCGGG GGTGTTC
771	CGTWDRSLSAWVF	1595	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGCTTGG GTATTT
772	CGTWDTSLSGGVF	1596	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGGTGG GGTGTTC
773	CGTWDTSLRAGVF	1597	TGCGGAACATGGGATACTAGCCTGCGTGCTGGC GTCTTC
774	CGTWDRSLSVVVF	1598	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC
775	CGTWDTSLSVVVF	1599	TGCGGAACATGGGATACCAGTCTGAGTGTTGTG GTCTTC
776	CGTWDTSLSAAVF	1600	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGCG GTGTTC
777	CGAWDTSLSAGVF	1601	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGGA GTGTTC
778	CATWDTSLSAVVF	1602	TGCGCAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGTG GTATTC
779	CATWDTSLSAGVF	1603	TGCGCAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGGT GTGTTC
780	CGTWESSLSAWVF	1604	TGTGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
781	CGTWDTTSLSAGVF	1605	TGCGGAACATGGGATACCACCCTGAGTGCGGGT GTCTTC
782	CGTWDTSLSVWVF	1606	TGCGGAACATGGGATACTAGCCTGAGTGTTGTGG GTGTTC
783	CGTWDTSLSVG VF	1607	TGCGGAACATGGGATACTAGCCTGAGTGTTGGG GTGTTC
784	CGTWDTSLSTGVF	1608	TGCGGAACATGGGACACCAGTCTGAGCACTGGC GTCTTC
785	CGTWDTSLSGVVF	1609	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGGTGTG GTCTTC
786	CGTWDTSLSAYVF	1610	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTTAT GTCTTC
787	CGTWDTSLSAEVF	1611	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGAG GTGTTC
788	CGTWDTGSLSAGVF	1612	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGAGTGCTGG GGTATTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 1 3】

789	CGTWDRS LSAYVF	1613	TGCGGAACGTGGGATAGGAGCCTGAGTGCTTAT GTCTTC
790	CGTWDRS LSAVVF	1614	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTCAGTGCCGTG GTATTC
791	CGTWDNT LSAWVF	1615	TGCGGAACATGGGATAACACCCTGAGTGCGTGG GTGTTC
792	CGTWDNR LSAGVF	1616	TGCGGAACATGGGATAACAGGCTGAGTGCTGG GGTGTTC
793	CGTWDISL SAWVF	1617	TGCGGAACATGGGACATCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
794	CGTWHSS LSAGVF	1618	TGCGGAACATGGCATAGCAGCCTGAGTGCTGGG GTATTC
795	CGTWGSS LSAWVF	1619	TGCGGAACATGGGGTAGCAGTTTGAGTGCTTGG GTGTTC
796	CGTWESS LSGWVF	1620	TGCGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGGTG GGTGTTC
797	CGTWESS LSAVVF	1621	TGCGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGCTGT GGTTTTTC
798	CGTWDYS LSAVVF	1622	TGCGGAACATGGGATTACAGCCTGAGTGCTGTG GTATTC
799	CGTWDYS LSAGVF	1623	TGCGGAACATGGGATTACAGCCTGAGTGCTGGG GTATTC
800	CGTWDVS LSVGVF	1624	TGCGGAACATGGGATGTCAGCCTGAGTGTTGGA GTGTTC
801	CGTWDTT LSAVVF	1625	TGCGGAACATGGGATAACCACCCTGAGTGCTGTG GTTTTTC
802	CGTWDTT LNIGVF	1626	TGCGGAACATGGGATAACCACTCTGAATATTGGG GTGTTC
803	CGTWDTS LTAVVF	1627	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGACTGCTGTG GTATTC
804	CGTWDTS LTAADF	1628	TGCGGAACCTGGGATAACCAGCCTGACTGCTGCT GTGTTC
805	CGTWDTS LSVGLF	1629	TGCGGCACATGGGATAACCAGCCTGAGTGTTGGG GCTATTC
806	CGTWDTS LSGRVF	1630	TGCGGAACCTGGGATAACCAGCCTGAGTGGTAGG GTGTTC
807	CGTWDTS LSGAVF	1631	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGCA GTGTTC
808	CGTWDTS LSAGLF	1632	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGC CTGTTC
809	CGTWDTS LSAGGVF	1633	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGA GGGGTCTTC
810	CGTWDTS LRAYVF	1634	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGCGTGCTTAT GTCTTC
811	CGTWDTS LRAWVF	1635	TGCGGAACATGGGATACTAGTTTGCGTGCTTGG GTATTC
812	CGTWDTS LNTGVF	1636	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAATACTGGG GTATTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 1 4】

813	CGTWDTS LNIWVF	1637	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAATATTTGG GTGTTC
814	CGTWDTS LNIGVF	1638	TGCGGAACATGGGATACAAGCCTGAATATTGGG GTGTTC
815	CGTWDTS LIAVVF	1639	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGATTGCTGTG GTGTTC
816	CGTWDTS LSGWVF	1640	TGCGGAACGTGGGATAGGAGCCTGAGTGGTTG GGTGTTC
817	CGTWDNR LSGWVF	1641	TGCGGAACATGGGATAACAGGCTGAGTGGTTGG GTGTTC
818	CGTWDKS LSAVVF	1642	TGCGGAACGTGGGATAAGAGCCTGAGTGCTGTG GTCTTC
819	CGTWDKG LSAVVF	1643	TGCGGAACATGGGATAAAGGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
820	CGTWDISL SAGVF	1644	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
821	CGTWDES LSGGEV F	1645	TGCGGAACATGGGATGAGAGCCTGAGTGGTGG CGAGGTGGTCTTC
822	CGTWDAS LSAVVF	1646	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGCCTGG GTGTTC
823	CGTWDAG LSAVVF	1647	TGCGGAACCTGGGATGCCGGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
824	CGAWDTS LSAVVF	1648	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
825	CGAWDTS LSAVVF	1649	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGTG GTGTTC
826	CGAWDTS LRAGVF	1650	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGCGTGCTGG GGTTTTTC
827	CATWDTS VSAVVF	1651	TGCGCAACATGGGATACCAGCGTGAGTGCTTGG GTGTTC
828	CATWDTS LSAVVF	1652	TGCGCAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCGTGG GTGTTC
829	CATWDNT LSAGVF	1653	TGCGCAACATGGGACAACACCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
830	CAAWDRS LSVWVF	1654	TGCGCAGCATGGGATAGGAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC
831	CYTWHS LRGGVF	1655	TGCTACACATGGCATTCCAGTCTGCGTGGTGGG GTGTTC
832	CVTWTSS PSAVVF	1656	TGCGTAACGTGGACTAGTAGCCCGAGTGCTTGG GTGTTC
833	CVTWRGG LVLF	1657	TGCGTGACATGGCGTGGTGGCCTTGTGTTGTTC
834	CVTWDTS LTSVVL	1658	TGCGTAACATGGGATACCAGCCTGACTTCTGTG GTACTC
835	CVTWDTS LSVYWVF	1659	TGCGTAACATGGGATACCAGCCTGAGTGTTTAT TGGGTGTTC
836	CVTWDTS	1660	TGCGTTACATGGGATACCAGCCTGAGTGCCTGG

【表 1 3 - 1 5】

	LSAWVF		GTGTTC	
837	CVTWDTD LSVALF	1661	TGCGTCACATGGGATACCGACCTCAGCGTTGCG CTCTTC	
838	CVTWDRS LSGWVF	1662	TGCGTAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGGTTGG GTGTTC	
839	CVTWDRS LREVLf	1663	TGCGTAACATGGGATCGCAGCCTGAGAGAGGTG TTATTC	
840	CVTWDRS LRAVVF	1664	TGCGTAACATGGGATCGCAGCCTGAGAGCGGTG GTATTC	10
841	CVTWDRS LDAGVF	1665	TGCGTAACATGGGACAGGAGCCTCGATGCTGGG GTTTTTC	
842	CVTWDNT LSAGVF	1666	TGCGTGACATGGGATAACACCCTGAGTGCTGGG GTCTTC	
843	CVTWDNN LFGVVF	1667	TGCGTAACATGGGATAACAACCTGTTTGGTGTG GTCTTC	
844	CVSWDTS LSGAVF	1668	TGCGTATCATGGGATACCGAGCCTGAGTGGTGCG GTATTC	
845	CVSWDTS LSAGVF	1669	TGCGTCTCATGGGATACCGAGCCTGAGTGCTGGG GTATTC	20
846	CTTWFRt PSDVVF	1670	TGCACAACATGGTTTtagGACTCCGAGTGATGTG GTCTTC	
847	CTTWFRt ASDVVF	1671	TGCACAACATGGTTTtagGACTGCGAGTGATGTG GTCTTC	
848	CTTWdYg LSVVF	1672	TGCACAACGTGGGATTACGGTCTGAGTGTCGTC TTC	
849	CTARDTSL SPGGVF	1673	TGCACAGCAAGGGATACCGAGCCTGAGTCCTGGC GGGGTCTTC	
850	CSTWNTR PSDVVF	1674	TGCTCAACATGGAATACGAGGCCGAGTGATGTG GTGTTC	30
851	CSTWESS LTTVVF	1675	TGTTCAACATGGGAGAGCAGTTTGACTACTGTG GTCTTC	
852	CSTWDTS LTNVLF	1676	TGCTCAACATGGGATACCGAGCCTCACTAATGTG CTATTC	
853	CSTWDTS LSGVVF	1677	TGCTCAACATGGGATACCGAGCCTGAGTGGAGTA GTCTTC	
854	CSTWDHS LKAALF	1678	TGCTCAACATGGGATCACAGCCTGAAAGCTGCA CTGTTC	
855	CSTWDAR LSRVVF	1679	TGCTCAACCTGGGATGCGAGGCTGAGTGTCCGG GTGTTC	40
856	CSSYTSSS TWVF	1680	TGCTCCTCATATACAAGCAGCAGCACTTGGGTG TTC	
857	CSSYATRG LRVLF	1681	TGCAGCTCATACGCAACCCGCGGCCTTCGTGTG TTGTTC	
858	CSSWDAT LSVRIF	1682	TGTTTCATCATGGGACGCCACCCTGAGTGTTCGC ATATTC	
859	CQVWEGS SDHWVF	1683	TGTCAGGTGTGGGAGGGTAGTAGTGATCATTTGG GTGTTC	
860	CQTWDNR	1684	TGCCAAACCTGGGATAACAGACTGAGTGCTGTG	

【表 1 3 - 1 6】

	LSAVVF		GTGTTC
861	CQTDWHS LHVGVF	1685	TGTCAAACGTGGGATCACAGCCTGCATGTTGGG GTGTTC
862	CQSYDDIL NVWVL	1686	TGCCAGTCCTATGACGACATCTTGAATGTTTGG GTCCTT
863	CNTWDKS LTSELF	1687	TGCAATACATGGGATAAGAGTTTGACTTCTGAA CTCTTC
864	CLTWDRS LNVRVF	1688	TGCTTAACATGGGATCGCAGCCTGAATGTGAGG GTGTTC
865	CLTWDHS LTAYVF	1689	TGCCTAACATGGGACCACAGCCTGACTGCTTAT GTCTTC
866	CLTRDTS SAPVF	1690	TGCTTAACAAGGGATACCAGTCTGAGTGCCCCT GTGTTC
867	CKTWESG LNFGHVF	1691	TGCAAAACATGGGAAAGTGGCCTTAATTTTGGC CACGTCTTC
868	CKTWDTS LSAVVF	1692	TGCAAAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCTGTG GTCTTC
869	CGVWDVS LGAGVF	1693	TGCGGAGTCTGGGATGTCAGTCTGGGTGCTGGG GTGTTC
870	CGVWDTT PSAVLF	1694	TGCGGAGTCTGGGATACCACCCCGAGTGCCGTT CTTTTC
871	CGVWDTT LSAVLF	1695	TGCGGAGTCTGGGATACCACCCCTGAGTGCCGTT CTTTTC
872	CGVWDTS LGVF	1696	TGCGGAGTATGGGATACCAGCCTGGGGGTCTTC
873	CGVWDTN LGKWVF	1697	TGCGGGGTATGGGATACCAACCTGGGTAAATGG GTTTTTC
874	CGVWDTG LDAGWVF	1698	TGTGGAGTTTGGGATACTGGCCTGGATGCTGGT TGGGTGTTC
875	CGVWDNV LEAYVF	1699	TGCGGAGTGTGGGATAACGTCCTGGAGGCCTAT GTCTTC
876	CGVWDIS LSANWVF	1700	TGCGGAGTCTGGGATATCAGCCTGAGTGCTAAT TGGGTGTTC
877	CGVWDHS LGIWAF	1701	TGCGGAGTATGGGATCACAGCCTGGGGATTTGG GCCTTC
878	CGVWDDI LTAEVF	1702	TGCGGAGTTTGGGATGATATTCTGACTGCTGAA GTGTTC
879	CGVRDTS LGVF	1703	TGCGGAGTTCGGGATACCAGCCTGGGGGTCTTC
880	CGTYDTS PAWVF	1704	TGCGGAACATACGATACGAGCCTGCCTGCTTGG GTGTTT
881	CGTYDNL VFGYVF	1705	TGCGGAACCTACGATAATCTTGTATTTGGTTATG TCTTC
882	CGTYDDR LREVF	1706	TGCGGAACATACGATGATAGACTCAGAGAGGTG TTC
883	CGTWVTS LSAGVF	1707	TGCGGAACGTGGGTACCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
884	CGTWVSS	1708	TGCGGAACATGGGTAGCAGCCTGACTACTGTA

10

20

30

40

【表 1 3 - 1 7】

	LTTVVF		GTATTC	
885	CGTWVSS LNVWVF	1709	TGCGGAACATGGGTTAGCAGCCTGAACGTCTGG GTGTTC	
886	CGTWVGR FWVF	1710	TGCGGAACATGGGTTGGCAGGTTTTGGGTATTC	
887	CGTWSGG PSGHWLF	1711	TGCGGAACATGGTCTGGCGGCCCGAGTGGCCAT TGGTTGTTC	
888	CGTWSGG LSGHWLF	1712	TGCGGAACATGGTCTGGCGGCCTGAGTGGCCAT TGGTTGTTC	10
889	CGTWQTG REAVLF	1713	TGCGGAACGTGGCAGACCGGCCGGGAGGCTGT CCTATTT	
890	CGTWQSR LRWVF	1714	TGCGGAACGTGGCAGAGCAGGCTGAGGTGGGT GTTC	
891	CGTWQSR LGWVF	1715	TGCGGAACGTGGCAGAGCAGGCTGGGGTGGGT GTTC	
892	CGTWPRS LSAVWVF	1716	TGCGGAACATGGCCTAGGAGCCTGAGTGCTGTT TGGGTGTTC	
893	CGTWNNY LSAGDVV F	1717	TGCGGAACATGGAATAACTACCTGAGTGCTGGC GATGTGGTTTTTC	20
894	CGTWLGS QSPYWVF	1718	TGCGGAACATGGCTTGGCAGCCAGAGTCCTTAT TGGGTCTTC	
895	CGTWHTG LSAYVF	1719	TGCGGAACATGGCATAACCGGCCTGAGTGCTTAT GTCTTC	
896	CGTWHST LSAGHWV F	1720	TGCGGAACATGGCATAAGTACCCTGAGTGCTGGC CATTGGGTGTTC	
897	CGTWHSS LSTWVF	1721	TGCGGAACATGGCATAAGTAGCCTGAGTACTTGG GTGTTC	30
898	CGTWHSS LSAYVF	1722	TGCGGAACATGGCATAAGCAGCCTGAGTGCCTAT GTCTTC	
899	CGTWHSS LSAVVF	1723	TGCGGAACATGGCATAAGCAGCCTGAGTGCTGTG GTATTC	
900	CGTWHSG LSGWVF	1724	TGCGGAACGTGGCATTCCGGCCTGAGTGGGTG GGTTTTTC	
901	CGTWHNT LRNVIF	1725	TGCGGAACATGGCATAACACCCTGCGTAATGTG ATATTC	
902	CGTWHAS LTAVF	1726	TGCGGAACATGGCATGCCAGCCTGACTGCTGTG TTC	
903	CGTWGWY GSQRGVV F	1727	TGCGGGACATGGGGATGGTATGGCAGCCAGAG AGGCGTCGTCTTC	40
904	CGTWGWY GGQRGVV F	1728	TGCGGGACATGGGGATGGTATGGCGGCCAGAG AGGCGTCGTCTTC	
905	CGTWGTS LSAWVF	1729	TGCGGAACCTGGGGGAACCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC	
906	CGTWGSS	1730	TGCGGAACCTGGGGTAGCAGCCTGACTACTGGC	

【表 1 3 - 1 8】

	LTTGLF		CTGTTC	
907	CGTWGSS LTAYVF	1731	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGACTGCCTAT GTCTTC	
908	CGTWGSS LSVVF	1732	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGTTGTG TTC	
909	CGTWGSS LSGGVF	1733	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGGTGG GGTGTTC	
910	CGTWGSS LSAYWVF	1734	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTTAT TGGGTGTTC	10
911	CGTWGSS LSAYVVF	1735	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTTAT GTGGTGTTC	
912	CGTWGSS LSAYVF	1736	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTTAT GTCTTC	
913	CGTWGSS LSAVVF	1737	TGCGGAACGTGGGGTAGTAGCCTGAGTGCTGTG GTGTTC	
914	CGTWGSS LSAPYVF	1738	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTCCT TATGTCTTC	
915	CGTWGSS LSAPVF	1739	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCCCCG GTGTTC	20
916	CGTWGSS LSAGVF	1740	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTGG GGTGTTC	
917	CGTWGSS LSAGLF	1741	TGCGGAACCTGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTGGA CTGTTC	
918	CGTWGSS LSAGALF	1742	TGCGGAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTGG GGCACTCTTC	
919	CGTWGSS LRAWVF	1743	TGCGGAACATGGGGCAGTAGCCTGCGTGCTTGG GTGTTC	
920	CGTWFTS LASGVF	1744	TGCGGAACCTGGTTTACTAGTCTGGCTAGTGGG GTTTTTC	30
921	CGTWETS LSVVVI	1745	TGCGGAACCTGGGAGACCAGTCTGAGTGTCGTG GTCATC	
922	CGTWETS LSGVF	1746	TGCGGAACATGGGAGACCAGCCTGAGTGGTGTC TTC	
923	CGTWETS LSDWVF	1747	TGCGGAACATGGGAAACCAGCCTGAGTGATTGG GTATTC	
924	CGTWETS LSAGVF	1748	TGCGGAACATGGGAGACCAGCCTGAGTGCTGG GGTATTC	
925	CGTWETS LNYVAF	1749	TGCGGAACATGGGAAACCAGCCTTAATTATGTG GCCTTC	
926	CGTWETS LNTWLL	1750	TGCGGAACATGGGAGACCAGCCTGAATACTTGG TTGCTC	40
927	CGTWETS ESGNYIF	1751	TGCGGAACATGGGAGACCAGCGAGAGTGGTAAT TACATCTTC	
928	CGTWETR LGTWVI	1752	TGCGGAACATGGGAAACCAGACTGGGTACTTGG GTGATC	
929	CGTWETQ LYWVF	1753	TGCGGAACATGGGAGACCCAGTTATATTGGGTG TTC	
930	CGTWETG	1754	TGCGGAACATGGGAGACTGGCCTAAGTGCTGGA	

【表 1 3 - 1 9】

	LSAGEVF		GAGGTGTTC
931	CGTWEST LSVFLF	1755	TGCGGAACCTTGGGAAAGCACCTGAGTGTTTTTCTATTC
932	CGTWESS LTVVVF	1756	TGCGGGACATGGGAAAGTAGCCTGACTGTTGTGTCTTC
933	CGTWESS LTGVVF	1757	TGCGGAACATGGGAAAGTAGCCTGACTGGAGTGTATTC
934	CGTWESS LTGFVF	1758	TGCGGAACATGGGAAAGCAGCCTGACTGGTTTTGTCTTC
935	CGTWESS LSVGVF	1759	TGTGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGTTGGGGTGTTTC
936	CGTWESS LSEWVF	1760	TGCGGAACCTGGGAAAGTAGCCTCAGTGAATGGGTGTTC
937	CGTWESS LSAVF	1761	TGCGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGCTGTATTC
938	CGTWESS LSAGYIF	1762	TGCGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGCTGGTTATATCTTC
939	CGTWESS LSAGVF	1763	TGCGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGCTGGAGTGTTTC
940	CGTWESS LSAGPVF	1764	TGCGGAACATGGGAAAGCAGCCTGAGCGCTGGCCGGTGTTTC
941	CGTWESS LSAGGQVF	1765	TGCGGAACATGGGAAAGCAGCCTGAGTGCTGGAGGCCAGGTGTTC
942	CGTWESS LSAFGGYVF	1766	TGCGGAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGCCTTCGGCGTTATGTCTTC
943	CGTWESS LRVWVF	1767	TGCGGAACATGGGAAAGCAGCCTGAGGGTTTGGGTGTTC
944	CGTWESS LFTGPWVF	1768	TGCGGAACATGGGAAAGCAGCCTCTTTACTGGGCCTTGGGTGTTC
945	CGTWESL SATYVF	1769	TGCGGAACATGGGAGAGCCTGAGTGCCACCTATGTCTTC
946	CGTWESG LSAGVF	1770	TGCGGAACATGGGAGAGCGGCCTGAGTGCTGGTGTCTTC
947	CGTWESD FWVF	1771	TGCGGAACATGGGAAAGCGACTTTTGGGTGTTT
948	CGTWENR LSAVVF	1772	TGCGGTACATGGGAAAACAGACTGAGTGCTGTGTCTTC
949	CGTWENR LSAGVF	1773	TGCGGAACATGGGAAAACAGACTGAGTGCCGGGGTATTC
950	CGTWEISL TTSVVF	1774	TGCGGAACATGGGAAATCAGCCTGACTACTTCTGTGGTATTC
951	CGTWEISL STSVVF	1775	TGCGGAACATGGGAAATCAGCCTGAGTACTTCTGTGGTATTC
952	CGTWECS LSVVF	1776	TGCGGAACATGGGAAGGCAGCCTCAGTGTTGTTTTC

【表 1 3 - 2 0】

953	CGTWEGS LRVF	1777	TGCGGAACATGGGAAGGCAGCCTGAGGGTGTT C
954	CGTWEGS LRHVF	1778	TGCGGAACATGGGAGGGCAGCCTGAGGCACGT GTTC
955	CGTWDYS PVRAGVF	1779	TGCGGAACATGGGATTACAGCCCTGTACGTGCT GGGGTGTTTC
956	CGTWDYS LSVYLF	1780	TGCGGAACGTGGGATTACAGCCTGAGTGTTTAT CTCTTC
957	CGTWDYS LSSGVVF	1781	TGCGGAACATGGGATTACAGCCTGAGTTCTGGC GTGGTATTC
958	CGTWDYS LSAWVF	1782	TGCGGAACATGGGATTACAGCCTGAGTGCCTGG GTGTTC
959	CGTWDYS LSAEVF	1783	TGCGGAACATGGGATTACAGTCTGAGTGCTGAG GTGTTC
960	CGTWDYS LRRAlF	1784	TGCGGAACATGGGATTACAGCCTGCGTCGTGCG ATATTC
961	CGTWDWS LILQLF	1785	TGCGGAACATGGGATTGGAGCCTCATTCCTCAA TTGTTC
962	CGTWDVT LHTGVF	1786	TGCGGAACATGGGATGTCACCTTGCATACTGGG GTGTTC
963	CGTWDVT LHIGVF	1787	TGCGGAACATGGGATGTCACCTTGCATATTGGG GTGTTC
964	CGTWDVT LHAGVF	1788	TGCGGAACATGGGATGTCACCTTGCATGCTGGG GTGTTC
965	CGTWDVS LYSGGVF	1789	TGCGGAACATGGGATGTCAGTTTGTATAGTGGC GGGGTCTTC
966	CGTWDVS LTSFVF	1790	TGTGGAACATGGGATGTCAGCCTGACTTCTTTC GTCTTC
967	CGTWDVS LSVGVL	1791	TGCGGAACATGGGATGTCAGCCTGAGTGTTGGG GTGCTC
968	CGTWDVS LSAGDVV F	1792	TGCGGAACGTGGGATGTCAGCCTGAGTGCTGGC GATGTAGTTTTC
969	CGTWDVS LNVVVF	1793	TGCGGAACATGGGATGTCAGCCTGAATGTCTGTG GTTTTTC
970	CGTWDVS LNTQVF	1794	TGCGGAACATGGGATGTCAGCCTGAATACTCAG GTGTTC
971	CGTWDVS LGALF	1795	TGCGGCACATGGGATGTGAGCCTGGGTGCGCT GTTC
972	CGTWDVN LKTUVF	1796	TGCGGAACGTGGGACGTTAATCTGAAAACGTGC GTTTTTC
973	CGTWDVI LSAEVF	1797	TGCGGAACATGGGATGTCATCCTGAGTGCTGAG GTATTC
974	CGTWDTT VSAVVF	1798	TGCGGAACATGGGATAACACCGTGAGTGCTGTG GTTTTTC
975	CGTWDTT LTAWVF	1799	TGCGGAACATGGGATAACACCTGACTGCCTGG GTGTTC
976	CGTWDTT	1800	TGCGGAACATGGGACACACCTTGAGTGTTTTTC

【表 1 3 - 2 1】

	LSVFLF		CTATTC	
977	CGTWDTS VSAGVF	1801	TGCGGGACTTGGGATACCAGTGTGAGTGCTGGG GTGTTC	
978	CGTWDTS VISWVF	1802	TGCGGAACATGGGATACCAGTGTGATTTCTTGG GTTTTTC	
979	CGTWDTS RSSLYVVF	1803	TGCGGAACATGGGATACCAGTCGGAGTTCTCTC TATGTGGTCTTC	
980	CGTWDTS RSAWVF	1804	TGCGGAACATGGGATACCAGCCGGAGTGCTTGG GTATTC	10
981	CGTWDTS RNPGGIF	1805	TGCGGAACATGGGATACCAGCCGGAATCCTGGA GGAATTTTC	
982	CGTWDTS RGHVF	1806	TGCGGAACATGGGACACCAGTCGGGGTCATGTT TTC	
983	CGTWDTS PSTGQVLF	1807	TGCGGAACATGGGATACCAGCCCGAGTACTGGC CAGGTGCTTTTC	
984	CGTWDTS PSAWVF	1808	TGCGGAACATGGGATACCAGCCCGAGTGCCCTGG GTGTTC	
985	CGTWDTS LTWVF	1809	TGCGGAACATGGGATACTAGCCTGACCTGGGTG TTC	20
986	CGTWDTS LTWFAVF	1810	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACGTGGTTC GCAGTGTTC	
987	CGTWDTS LTVVVF	1811	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTGTTGTG GTATTC	
988	CGTWDTS LTTSWVF	1812	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTACTTCT TGGGTGTTC	
989	CGTWDTS LTTGPFV VF	1813	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACCACTGGT CCTTTTTGGGTGTTC	
990	CGTWDTS LTPFYVF	1814	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTCCTTTT TATGTCTTC	30
991	CGTWDTS LTAYVF	1815	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTGCTTAT GTCTTC	
992	CGTWDTS LTAWVF	1816	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTGCTTGG GTGTTC	
993	CGTWDTS LTAWGVF	1817	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTGCGTGG GGGGTGTTC	
994	CGTWDTS LTAVVL	1818	TGCGGCACATGGGATACCAGCCTGACTGCGGTG GTTCTC	
995	CGTWDTS LTARVF	1819	TGCGGAACCTGGGATACCAGCCTGACTGCTCGG GTTTTTC	40
996	CGTWDTS LTAIVF	1820	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTGCGATT GTCTTC	
997	CGTWDTS LTAGVF	1821	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGACTGCTGGT GTCTTC	
998	CGTWDTS LSVYVF	1822	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGTTTAT GTCTTC	
999	CGTWDTS LSVVF	1823	TGCGGAACATGGGATACCAGCCTGAGTGTGGTG TTC	

【表 1 3 - 2 2】

1000	CGTWDTS LSVGEF	1824	TGCGGGACATGGGATAACCAGCCTGAGTGTTGGG GAATTC
1001	CGTWDTS LSTWVF	1825	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTACTTGG GTGTTC
1002	CGTWDTS LSTVVF	1826	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTACTGTG GTATTC
1003	CGTWDTS LSTGQVLF	1827	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTACTGGC CAGGTGCTTTTC
1004	CGTWDTS LSTGPLW VF	1828	TGCGGCACATGGGATAACCAGCCTGAGCACTGGT CCTCTTTGGGTGTTC
1005	CGTWDTS LSSVVF	1829	TGCGGAACCTTGGGATAACCAGCCTGAGTTCTTAT GTCTTC
1006	CGTWDTS LSSVVF	1830	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTTCTGTG GTCTTC
1007	CGTWDTS LSSRYIF	1831	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTTCTAGA TACATATTC
1008	CGTWDTS LSSRFIF	1832	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTTCTAGA TTCATATTC
1009	CGTWDTS LSSGWVF	1833	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTTCTGGG TGGGTGTTC
1010	CGTWDTS LSRYVF	1834	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTCGGTAT GTGTTC
1011	CGTWDTS LSQWLF	1835	TGCGGAACCTTGGGATAACCAGTCTGAGTCAATGG CTGTTC
1012	CGTWDTS LSPGLWV F	1836	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTCCTGGC CTTTGGGTGTTC
1013	CGTWDTS LSNYVF	1837	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTAATTAT GTCTTC
1014	CGTWDTS LSIWVF	1838	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTAAGTATTTGG GTGTTC
1015	CGTWDTS LSIGPFWV F	1839	TGCGGCACATGGGATAACCAGCCTGAGCATTGGT CCTTTTTGGGTGTTC
1016	CGTWDTS LSGWVF	1840	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGG GTGTTC
1017	CGTWDTS LSGTVF	1841	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTACA GTGTTC
1018	CGTWDTS LSGGQVF	1842	TGCGGAACATGGGATACTAGTCTGAGTGGTGGC CAGGTGTTC
1019	CGTWDTS LSGGIF	1843	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGG GATATTC
1020	CGTWDTS LSGEDVVI	1844	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGAG GATGTGGTAATC
1021	CGTWDTS LSFLYAF	1845	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTTTCCTT TATGCTTTC
1022	CGTWDTS	1846	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGAGGTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 2 3】

	LSEVVF		GTATTC
1023	CGTWDTS LSEVF	1847	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGAAGTG TTC
1024	CGTWDTS LSENVVF	1848	TGCGGAACATGGGATACTAGCCTGAGTGAAAAT TGGGTGTTC
1025	CGTWDTS LSAYIF	1849	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCTAC ATATTC
1026	CGTWDTS LSAVVL	1850	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGTG GTACTC
1027	CGTWDTS LSAVF	1851	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGTT TTC
1028	CGTWDTS LSARVF	1852	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCCGG GTGTTC
1029	CGTWDTS LSARQVF	1853	TGCGGCACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCCGC CAGGTATTC
1030	CGTWDTS LSALVF	1854	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTTTG GTTTTTC
1031	CGTWDTS LSAKVF	1855	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTAAG GTGTTC
1032	CGTWDTS LSAKIF	1856	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCGAAA ATCTTC
1033	CGTWDTS LSAKAVF	1857	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCAAG GCGGTATTC
1034	CGTWDTS LSAHAVF	1858	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCCAT GCTGTGTTC
1035	CGTWDTS LSAGYVF	1859	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGC TATGTCTTC
1036	CGTWDTS LSAGRWF F	1860	TGCGGAACATGGGACACCAGTCTGAGTGCTGGC CGCTGGGTGTTC
1037	CGTWDTS LSAGIF	1861	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGG ATATTC
1038	CGTWDTS LSAGGFR VF	1862	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGT GGGTTCCGGGTCTTC
1039	CGTWDTS LSAGAF	1863	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGG GCATTC
1040	CGTWDTS LSADWFF	1864	TGCGGAACATGGGATAACCAGTCTGAGTGCTGAT TGGTTTTTC
1041	CGTWDTS LSADEYVF	1865	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGAT GAATATGTCTTC
1042	CGTWDTS LSAAWVF	1866	TGCGGCACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCGGCT TGGGTGTTC
1043	CGTWDTS LSAALF	1867	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGCG CTATTC
1044	CGTWDTS LSAAGVF	1868	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGCG GGGGTTTTTC
1045	CGTWDTS	1869	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGAGTTGTG

10

20

30

40

【表 1 3 - 2 4】

	LRVVVF		GTTTTTC
1046	CGTWDTS LRTWVF	1870	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGAGAACCTGG GTATTC
1047	CGTWDTS LRGAVF	1871	TGCGGAACGTGGGATAACCAGCCTGAGGGGTGC AGTGTTTC
1048	CGTWDTS LRAVVF	1872	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGCGTGCTGTG GTATTC
1049	CGTWDTS LNVVVF	1873	TGCGGAACATGGGATACAAGCCTGAATGTAGTT TATGTCTTC
1050	CGTWDTS LNTYLF	1874	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTCAACACCTAC CTGTTC
1051	CGTWDTS LNFAWLF	1875	TGCGGAACATGGGATACTAGCCTGAACTTCGCT TGGCTGTTC
1052	CGTWDTS LLVWLF	1876	TGCGGCACATGGGATAACCAGCCTTCTTGTGTGG CTTTTC
1053	CGTWDTS LKTWVF	1877	TGCGGAACATGGGATAACCAGTCTGAAGACGTGG GTGTTC
1054	CGTWDTS LIVWVF	1878	TGCGGAACATGGGATAACCAGTCTGATTGTCTGG GTGTTC
1055	CGTWDTS LITGVF	1879	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTAATTACTGGG GTGTTC
1056	CGTWDTS LISVVF	1880	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGATTAGCGTG GTATTC
1057	CGTWDTS LIAYVF	1881	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGATTGCTTAT GTCTTC
1058	CGTWDTS LHTELF	1882	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGCACACTGAG TTGTTC
1059	CGTWDTS LGSYVF	1883	TGCGGAACCTTGGGATAACCAGCCTGGGTTCTTAT GTCTTC
1060	CGTWDTS LGSLWVF	1884	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGGTTCTCTT TGGGTGTTC
1061	CGTWDTS LGSGVF	1885	TGCGGTACATGGGATAACCAGCCTGGGTTCTGGG GTATTC
1062	CGTWDTS LGGRGVF	1886	TGCGGAACCTTGGGATAACCAGTCTGGGTGGTAGA GGGGTCTTC
1063	CGTWDTS LGAWVF	1887	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGGTGCTTGG GTGTTC
1064	CGTWDTS LGAVVF	1888	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGGTGCCGTG GTATTC
1065	CGTWDTS LGAGVF	1889	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGGTGCTGG GGTATTC
1066	CGTWDTS LGAGLF	1890	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGGTGCTGGC CTATTC
1067	CGTWDTS LDAVVF	1891	TGCGGAACATGGGATAACCAGTCTGGATGCTGTG GTTTTTC
1068	CGTWDTS LDAVLF	1892	TGCGGGACTTGGGATAACCAGCCTGGATGCTGTG CTGTTC
1069	CGTWDTS	1893	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGCTTGGGTG

10

20

30

40

【表 1 3 - 2 5】

	LAWVF		TTC
1070	CGTWDTS LATGLF	1894	TGCGGAACATGGGATAACCAGCCTGGCGACTGGA CTGTTC
1071	CGTWDTS LAPVVF	1895	TGCGGGACATGGGATAACCAGCCTGGCCCCTGTA GTCTTC
1072	CGTWDTR LTIVIF	1896	TGCGGAACATGGGACACCCGCCTGACTATTGTG ATCTTC
1073	CGTWDTR LSVWLF	1897	TGTGGAACATGGGACACCAGGCTGAGTGTTTGG CTGTTC
1074	CGTWDTR LSVGVF	1898	TGCGGAACGTGGGACACCAGACTGAGTGTTGG GGTTTTTC
1075	CGTWDTR LSTVIF	1899	TGCGGCACATGGGATAACCAGACTGAGTACTGTA ATTTTC
1076	CGTWDTR LSSVVF	1900	TGCGGAACATGGGATAACCCGCCTGAGTTCTGTG GTCTTC
1077	CGTWDTR LSIVVF	1901	TGCGGAACATGGGATAACCCGCCTGAGTATTGTG GTTTTTC
1078	CGTWDTR LSAYVVF	1902	TGCGGAACATGGGATAACCAGACTGAGTGCCTAT GTGGTATTC
1079	CGTWDTR LSAWVF	1903	TGCGGAACCTGGGACACCCGCCTGAGTGCGTGG GTGTTC
1080	CGTWDTR LSAVVF	1904	TGCGGAACATGGGATAACCAGACTGAGTGCTGTG GTGTTC
1081	CGTWDTR LSAGLF	1905	TGCGGAACATGGGATAACCCGCCTGAGTGCTGGG TTGTTC
1082	CGTWDTR LSAGGVF	1906	TGCGGAACATGGGATAACCAGACTGAGTGCTGGT GGGGTGTTC
1083	CGTWDTR LNVWLF	1907	TGCGGAACATGGGATAACCAGATTGAATGTGTGG CTATTC
1084	CGTWDTN REVVLL	1908	TGCGGAACATGGGATAACCAACCGGGAAGTTGTG CTCCTC
1085	CGTWDTN LRAHVF	1909	TGCGGAACATGGGATAACCAACCTGCGTGCCCAT GTCTTC
1086	CGTWDTN LPAVVF	1910	TGCGGAACATGGGATACTAATCTGCCCCTGTA GTGTTC
1087	CGTWDTN LGGVF	1911	TGCGGAACATGGGACACCAATTTGGGTGGGGTG TTC
1088	CGTWDTI VSIGVF	1912	TGCGGAACATGGGATAACCATCGTGAGTATTGGG GTGTTC
1089	CGTWDTI LSAVVF	1913	TGCGGAACATGGGATAACCATCCTGAGTGCGGTG GTGTTC
1090	CGTWDTI LSAEVF	1914	TGCGGCACATGGGATAACCATCCTGAGTGCTGAG GTGTTC
1091	CGTWDTH LGVVF	1915	TGCGGAACATGGGATAACCCACCTGGGTGTGGTT TTC
1092	CGTWDTG PSPHWLF	1916	TGCGGAACATGGGATAACCGGCCCGAGCCCTCAT TGGCTGTTC
1093	CGTWDTG	1917	TGCGGAACATGGGATAACCGGCCTGACTTTTGGA

10

20

30

40

【表 1 3 - 2 6】

	LTFGGVF		GGCGTGTTC	
1094	CGTWDTG LTAFFV	1918	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGACTGCTTTT GTCTTC	
1095	CGTWDTG LSVWVF	1919	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC	
1096	CGTWDTG LSTGIF	1920	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGAGTACTGGG ATTTTC	
1097	CGTWDTG LSSLLF	1921	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGAGTTCCCTG CTCTTC	10
1098	CGTWDTG LSIVVF	1922	TGCGGAACGTGGGACACCGGCCTGAGTATTGTG GTGTTC	
1099	CGTWDTG LSFVVF	1923	TGCGGAACGTGGGACACCGGCCTGAGTTTTGTG GTGTTC	
1100	CGTWDTG LSAWVF	1924	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC	
1101	CGTWDTG LSAGVVF	1925	TGCGGAACATGGGATACCGGCCTGAGTGCTGGT GTGGTATTC	
1102	CGTWDTG LRGWIF	1926	TGCGGAACATGGGATACCGGTCTGAGGGGTTG GATTTTC	20
1103	CGTWDTE LSAGVF	1927	TGCGGAACATGGGATACCGAGCTAAGTGCGGG GGTCTTC	
1104	CGTWDTA LTAGVF	1928	TGCGGAACGTGGGATACCGCCCTGACTGCTGGG GTGTTC	
1105	CGTWDTA LSLVVF	1929	TGCGGAACATGGGATACTGCCCTGAGTCTTGTG GTCTTC	
1106	CGTWDTA LSAWLF	1930	TGCGGAACATGGGATACCGCCCTGAGTGCCTGG CTGTTC	
1107	CGTWDTA LSAGVF	1931	TGCGGCACATGGGATACCGCCCTGAGTGCTGGG GTGTTC	30
1108	CGTWDTA LRGVLF	1932	TGCGGAACATGGGATACCGCCCTGCGTGGCGTG CTGTTC	
1109	CGTWDTA LKEWLF	1933	TGCGGAACATGGGATACCGCCCTGAAAGAATGG CTGTTC	
1110	CGTWDRT LTAGDVL F	1934	TGCGGAACATGGGATAGGACCCTGACTGCTGGC GATGTGCTCTTC	
1111	CGTWDRS VTYVF	1935	TGCGGAACATGGGATAGAAGCGTGACTTATGTC TTC	
1112	CGTWDRS RNEWVF	1936	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCGAAATGAATGG GTGTTC	40
1113	CGTWDRS LTVWVF	1937	TGCGGAACATGGGATCGCAGTCTGACTGTTTGG GTCTTC	
1114	CGTWDRS LTPGWLF	1938	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGACTCCTGGG TGGTTGTTC	
1115	CGTWDRS LTAWVF	1939	TGCGGAACATGGGATAGAAGCCTGACTGCTTGG GTGTTC	
1116	CGTWDRS LSVVVF	1940	TGCGGAACATGGGACCGCAGCCTGAGTGTTGTG GTATTC	

【表 1 3 - 2 7】

1117	CGTWDRS LSVVF	1941	TGCGGCACATGGGATCGCAGCCTGAGTGTAGTC TTC
1118	CGTWDRS LSVQLF	1942	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGTTCAA TTGTTC
1119	CGTWDRS LSVLWVF	1943	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTCAGTGTTCTT TGGGTGTTC
1120	CGTWDRS LSVGLF	1944	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGAGTGTTGGA TTATTC
1121	CGTWDRS LSTWVF	1945	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGAGTACTTGG GTGTTC
1122	CGTWDRS LSTHWVL	1946	TGCGGAACATGGGATAGAAGCCTGAGTACTCAT TGGGTGCTC
1123	CGTWDRS LSTHWVF	1947	TGCGGAACATGGGATAGAAGCCTGAGTACTCAT TGGGTGTTC
1124	CGTWDRS LSSAVF	1948	TGCGGAACCTGGGATCGAAGCCTGAGTTCTGCG GTGTTC
1125	CGTWDRS LSPSYVF	1949	TGCGGAACATGGGACAGAAGCCTGAGTCCCTCT TATGTCTTC
1126	CGTWDRS LSGEVF	1950	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGGTGA GGTGTTC
1127	CGTWDRS LSGAVF	1951	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGGTGC GGTGTTC
1128	CGTWDRS LSAVAF	1952	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGAGTGCTGTG GCATTC
1129	CGTWDRS LSAGGEF	1953	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGCCGG GGGGGAATTC
1130	CGTWDRS LSAFWVF	1954	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGAGTGCTTTT TGGGTGTTC
1131	CGTWDRS LSAAVF	1955	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGCTGC GGTGTTC
1132	CGTWDRS LSAALF	1956	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGCTGCA CTCTTC
1133	CGTWDRS LRVF	1957	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGAGAGTGTTT
1134	CGTWDRS LNWVF	1958	TGCGGTACATGGGACAGAAGCCTTAATTGGGTG TTC
1135	CGTWDRS LNVYVF	1959	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGAATGTTTAT GTCCTTC
1136	CGTWDRS LNVGVF	1960	TGCGGAACATGGGATAGGAGCCTGAATGTTGGG GTGTTC
1137	CGTWDRS LHVVF	1961	TGCGGAACATGGGATCGGAGCCTGCATGTGGTC TTC
1138	CGTWDRS LGGWVF	1962	TGTGGAACATGGGATCGCAGCCTGGGTGGTTGG GTGTTC
1139	CGTWDRS LGAFWVF	1963	TGCGGAACATGGGATCGCAGCCTGGGTGCTTTT TGGGTGTTC
1140	CGTWDRS LFWVF	1964	TGCGGAACATGGGATAGAAGCCTGTTTTGGGTG TTC

【表 1 3 - 2 8】

1141	CGTWDRS LAAGVF	1965	TGCGGAACGTGGGATCGCAGCCTGGCTGCTGG GGTGTTC
1142	CGTWDRR LSGVVF	1966	TGCGGAACATGGGATAGGAGGTTGAGTGGTGTG GTATTC
1143	CGTWDRR LSDVVF	1967	TGCGGAACGTGGGATCGCCGCCTAAGTGATGTG GTATTC
1144	CGTWDRR LSAVVF	1968	TGCGGAACATGGGATAGGAGGCTGAGTGCTGT GGTATTC
1145	CGTWDRR LNVAFF	1969	TGCGGAACATGGGATAGACGCCTGAATGTTGCG TTCTTC
1146	CGTWDRR LLAVF	1970	TGTGGAACATGGGATAGGAGGCTGCTTGCTGTT TTC
1147	CGTWDRN LRAVVF	1971	TGCGGAACCTTGGGATAGGAACCTGCGCGCCGTG GTCTTC
1148	CGTWDRL SAGVF	1972	TGCGGAACATGGGATAGGCTGAGTGCTGGGGT GTTC
1149	CGTWDRG PNTGVF	1973	TGCGGAACATGGGATAGAGGCCCGAATACTGGG GTATTC
1150	CGTWDRG LNTVYVF	1974	TGCGGAACATGGGATAGAGGCCTGAATACTGTT TACGTCTTC
1151	CGTWDNY VSAPWVF	1975	TGCGGAACATGGGATAACTATGTGAGTGCCCCT TGGGTGTTC
1152	CGTWDNY LSAGDVV F	1976	TGCGGAACATGGGATAACTACCTGAGTGCTGGC GATGTGGTTTTTC
1153	CGTWDNY LRAGVF	1977	TGCGGAACATGGGATAACTACCTGAGAGCTGGG GTCTTC
1154	CGTWDNY LGAVVF	1978	TGCGGAACATGGGACAATTATCTGGGTGCCGTG GTTTTTC
1155	CGTWDNY LGAGVF	1979	TGCGGAACATGGGATAACTACCTGGGTGCGGG GGTGTTC
1156	CGTWDNT VSAPWVF	1980	TGCGGAACATGGGATAACACCGTGAGTGCCCCT TGGGTTTTTTC
1157	CGTWDNT LSLWVF	1981	TGCGGAACATGGGATAACACCCTGAGTCTTTGG GTGTTC
1158	CGTWDNT LSAGVF	1982	TGCGGAACATGGGATAACACCCTGAGTGCTGGG GTCTTC
1159	CGTWDNT LLTVLF	1983	TGCGGAACATGGGACAACACTCTGCTTACTGTG TTATTC
1160	CGTWDNR LSSVIF	1984	TGCGGAACATGGGATAACAGACTGAGTAGTGTG ATTTTTTC
1161	CGTWDNR LSAVVF	1985	TGCGGAACATGGGATAACAGGTTGAGTGCTGTG GTCTTC
1162	CGTWDNR LSAGGIF	1986	TGCGGAACATGGGATAACAGGCTGAGTGCTGGT GGGATATTC
1163	CGTWDNR LSAEVF	1987	TGCGGAACATGGGATAACAGACTGAGTGCTGAG GTGTTC
1164	CGTWDNR	1988	TGTGGAACATGGGATAACAGACTGCGTGTTGGG

10

20

30

40

【表 1 3 - 2 9】

	LRVGV		GTTCTC
1165	CGTWDNR LLENVF	1989	TGCGGAACATGGGATAATCGCCTGCTTGAGAAT GTCTTC
1166	CGTWDNN LRAVF	1990	TGCGGAACATGGGATAACAACCTGCGTGCTGTC TTC
1167	CGTWDNN LRAGVF	1991	TGCGGAACTTGGGATAATAACCTGCGTGCTGGA GTGTTC
1168	CGTWDNN LGGRVF	1992	TGCGGAACATGGGACAACAATTTGGGCGGTGGC CGGGTGTTC
1169	CGTWDNN LGAGVL	1993	TGCGGAACATGGGATAACAACCTGGGTGCTGGC GTCCTC
1170	CGTWDNN LGAGVF	1994	TGCGGAACATGGGATAACAACCTGGGTGCTGGC GTCTTC
1171	CGTWDNI LSAAVF	1995	TGCGGAACTTGGGATAACATCCTGAGCGCTGCG GTGTTC
1172	CGTWDNI LDAGVF	1996	TGCGGAACTTGGGATAACATCTTGATGCAGGG GTTTTTC
1173	CGTWDND LSGWLF	1997	TGCGGAACATGGGATAACGACCTGAGTGGTTGG CTGTTC
1174	CGTWDND LSAVVF	1998	TGCGGAACATGGGATAACGACCTGAGTGCCTGG GTGTTC
1175	CGTWDLT LGGVVF	1999	TGCGGAACATGGGATCTCACCTGGGTGGTGTG GTGTTC
1176	CGTWDLS LSAGVF	2000	TGCGGAACATGGGATCTCAGCCTGAGTGCTGGG GTATTC
1177	CGTWDLS LKEVVF	2001	TGCGGAACATGGGATCTCAGCCTGAAAGAATGG GTGTTC
1178	CGTWDLS LDAVVF	2002	TGCGGAACATGGGATCTCAGCCTGGATGCTGTT GTTTTTC
1179	CGTWDLK VF	2003	TGCGGAACCTGGGACCTGAAGGTTTTTC
1180	CGTWDKT LSVVF	2004	TGCGGAACATGGGATAAGACTCTGAGTGTTTGG GTGTTC
1181	CGTWDKS LSVVF	2005	TGCGGAACATGGGATAAGAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC
1182	CGTWDKS LSGVVF	2006	TGCGGAACATGGGATAAGAGCCTGAGTGGTGTG GTATTT
1183	CGTWDKS LSDVVF	2007	TGCGGAACATGGGATAAGAGCCTGAGTGATTGG GTGTTC
1184	CGTWDKS LSALVF	2008	TGCGGAACATGGGATAAGAGCCTGAGTGCTTTG GTTTTTC
1185	CGTWDKS LSAGVF	2009	TGCGGAACATGGGATAAGAGCCTGAGTGCTGGC GTCTTC
1186	CGTWDKS LSADV	2010	TGCGGAACATGGGATAAGAGCCTGAGTGCCGAC GTCTTC
1187	CGTWDKR LTIVVF	2011	TGCGGAACATGGGATAAACGCCTGACTATTGTG GTCTTC
1188	CGTWDKR	2012	TGCGGAACATGGGATAAACGCCTGAGTGCTGG

【表 1 3 - 3 0】

	LSAWVL		GTGCTC
1189	CGTWDKN LRAVVF	2013	TGCGGAACATGGGATAAGAACCTGCGTGCTGTG GTCTTC
1190	CGTWDIT LSGFVF	2014	TGCGGAACATGGGATATCACCTGAGTGGGTTT GTCTTC
1191	CGTWDIT LHTGVF	2015	TGCGGAACATGGGATATCACCTTGCATACTGGA GTATTC
1192	CGTWDIS VTVVF	2016	TGCGGAACATGGGATATCAGTGTGACTGTGGTG TTC
1193	CGTWDIS VRGYAF	2017	TGCGGAACATGGGATATCAGTGTGAGGGGTTAT GCCTTC
1194	CGTWDIS RWVF	2018	TGCGGAACATGGGATATCAGCCGTTGGGTTTTTC
1195	CGTWDISP SAWVF	2019	TGCGGAACATGGGATATCAGCCCGAGTGCTTGG GTGTTC
1196	CGTWDISL SVWVF	2020	TGCGGAACATGGGATATTAGCCTGAGTGTCTGG GTGTTC
1197	CGTWDISL SVVF	2021	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGTGTA TTC
1198	CGTWDISL SSVVF	2022	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTTCTGTG GTGTTC
1199	CGTWDISL SHWLF	2023	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTCACTGG TTGTTC
1200	CGTWDISL SGWVF	2024	TGCGGAACATGGGATATCAGTCTGAGTGGTTGG GTGTTC
1201	CGTWDISL SGRVF	2025	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGGTCTGA GTGTTC
1202	CGTWDISL SAWAF	2026	TGCGGAACATGGGACATCAGCCTGAGTGCTTGG GCGTTC
1203	CGTWDISL SAVVF	2027	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGTG GTTTTTC
1204	CGTWDISL SAVIF	2028	TGCGGGACATGGGACATCAGCCTGAGTGCTGTG ATATTC
1205	CGTWDISL SAVF	2029	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGTG TTC
1206	CGTWDISL SARVF	2030	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCCCGG GTGTTC
1207	CGTWDISL SALVF	2031	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCCCTG GTGTTC
1208	CGTWDISL SAHVF	2032	TGCGGAACATGGGATATTAGCCTGAGTGCCCAT GTCTTC
1209	CGTWDISL SAGVVF	2033	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGGG GTGGTATTC
1210	CGTWDISL SAGPYVF	2034	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCCGGC CCTTATGTCTTC
1211	CGTWDISL SAGGVF	2035	TGCGGCACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGGA GGGGTGTTC
1212	CGTWDISL	2036	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGAG

【表 1 3 - 3 1】

	SAEVF		GTTTTTC	
1213	CGTWDISL SAAVF	2037	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGCT GTGTTC	
1214	CGTWDISL RAVF	2038	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGCGTGCTGTG TTC	
1215	CGTWDISL NTGVF	2039	TGCGGAACATGGGATATTAGCCTGAATACTGGG GTGTTC	
1216	CGTWDISL NNYVF	2040	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTAAATAATTAT GTCTTC	10
1217	CGTWDISL IAGVF	2041	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTAATTGCTGGG GTATTC	
1218	CGTWDISL HTWLF	2042	TGCGGAACATGGGATATCAGCCTGCATACTTGG CTGTTC	
1219	CGTWDIR LTDELLF	2043	TGCGGAACATGGGATATCCGCCTGACCGATGAG CTGTTATTC	
1220	CGTWDIR LSGFVF	2044	TGCGGAACATGGGATATCAGACTGAGCGGTTTT GTTTTTC	
1221	CGTWDIN LGAGGLY VF	2045	TGCGGAACATGGGATATCAACCTGGGTGCTGGG GGCCTTTATGTCTTC	20
1222	CGTWDIIL SAEVF	2046	TGCGGAACATGGGATATCATCCTGAGTGCTGAG GTATTC	
1223	CGTWDHT LSAVF	2047	TGCGGAACATGGGATCACACCCTGAGTGCTGTC TTC	
1224	CGTWDHT LLTVLF	2048	TGCGGAACATGGGACCACACTCTGCTTACTGTG TTATTC	
1225	CGTWDHS LTAVVF	2049	TGCGGAACATGGGATCACAGCCTGACTGCTGTG GTATTC	
1226	CGTWDHS LTAGIF	2050	TGCGGAACCTGGGATCACAGCCTGACTGCTGGG ATATTC	30
1227	CGTWDHS LSVVLf	2051	TGCGGAACATGGGATCACAGCCTGAGTGTTGTA TTATTC	
1228	CGTWDHS LSLVF	2052	TGCGGAACATGGGATCACAGCCTGAGTTTGGTA TTC	
1229	CGTWDHS LSIGVF	2053	TGCGGAACATGGGATCACAGCCTGTCTATTGGG GTTTTTC	
1230	CGTWDHS LSAGVF	2054	TGCGGAACATGGGATCACAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC	
1231	CGTWDHS LSAFVF	2055	TGTGGAACCTGGGATCACAGCCTGAGTGCTTTC GTGTTC	40
1232	CGTWDHS LSAAVF	2056	TGCGGAACATGGGATCACAGTCTGAGTGCTGCT GTTTTTC	
1233	CGTWDHN LRAVF	2057	TGCGGAACATGGGACCACAATCTGCGTGCTGTC TTC	
1234	CGTWDFT LSVGRF	2058	TGCGGGACATGGGATTTCCACCCTGAGTGTTGGG CGCTTC	
1235	CGTWDFT LSAPVF	2059	TGCGGAACATGGGATTTCCACCCTGAGTGCTCCT GTCTTC	

【表 1 3 - 3 2】

1236	CGTWDFS VSAGWVF	2060	TGCGGAACGTGGGATTTTCAGCGTGAGTGCTGGG TGGGTGTTC
1237	CGTWDFS LTTWLF	2061	TGCGGAACGTGGGATTTTCAGTCTTACTACCTGG TTATTC
1238	CGTWDFS LSVWVF	2062	TGCGGAACATGGGATTTTCAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC
1239	CGTWDFS LSTGVF	2063	TGCGGAACATGGGATTTTCAGCCTGAGTACTGGG GTTTTTC
1240	CGTWDFS LSGVVF	2064	TGCGGCACATGGGATTTTCAGCCTGAGTGGTGTG GTATTC
1241	CGTWDFS LSGFVF	2065	TGCGGAACATGGGATTTTCAGCCTGAGTGGTTTC GTGTTC
1242	CGTWDFS LSAGVF	2066	TGCGGAACATGGGATTTTCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
1243	CGTWDET VRGWVF	2067	TGCGGAACATGGGATGAAACCGTGAGAGGTTG GGTGTTC
1244	CGTWDES LRSWVF	2068	TGCGGAACATGGGATGAAAGTCTGAGAAGCTGG GTGTTC
1245	CGTWDER QTDES YVF	2069	TGCGGAACTTGGGATGAGAGGCAGACTGATGA GTCCTATGTCTTC
1246	CGTWDER LVAGQVF	2070	TGCGGAACATGGGATGAGAGACTCGTTGCTGGC CAGGTCTTC
1247	CGTWDER LSPGAFF	2071	TGCGGAACATGGGATGAGAGACTGAGTCCTGGA GCTTTTTTC
1248	CGTWDEK VF	2072	TGCGGAACATGGGATGAGAAGGTGTTC
1249	CGTWDEG QTTDFVF	2073	TGCGGAACCTGGGATGAAGGCCAGACTACTGAT TTCTTTGTCTTC
1250	CGTWDDT LAGVVF	2074	TGCGGAACATGGGATGACACCCTGGCTGGTGTG GTCTTC
1251	CGTWDDR LTSAVF	2075	TGCGGAACATGGGATGACAGGCTGACTTCTGCG GTCTTC
1252	CGTWDDR LFVVVF	2076	TGCGGAACATGGGATGACAGACTGTTTGTGTG GTATTC
1253	CGTWDDN LRGWVF	2077	TGCGGAACATGGGATGATAACCTGAGAGGTTGG GTGTTC
1254	CGTWDDN LRGVVF	2078	TGCGGAACATGGGATGACAACCTGCGTGGTGTG GTGTTC
1255	CGTWDDN LNIGRVF	2079	TGCGGAACCTGGGATGACAATTTGAATATTGGA AGGGTGTTC
1256	CGTWDDI LSAVIF	2080	TGCGGAACATGGGATGACATCCTGAGTGCTGTG ATATTC
1257	CGTWDDI LRGWVF	2081	TGCGGAACATGGGATGATATCCTGAGAGGTTGG GTGTTC
1258	CGTWDAT LSPGWLF	2082	TGCGGAACATGGGATGCCACCCTGAGTCCTGGG TGGTTATTC
1259	CGTWDAS	2083	TGCGGAACATGGGATGCCAGCGTGACTTCTTGG

【表 1 3 - 3 3】

	VTWVVF		GTGTTC	
1260	CGTWDAS LTSVVF	2084	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGACTTCTGTG GTCTTC	
1261	CGTWDAS LSVWVF	2085	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC	
1262	CGTWDAS LSVPWVF	2086	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGTTCTT TGGGTGTTC	
1263	CGTWDAS LSVAVF	2087	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGTTGGC GGTATTC	10
1264	CGTWDAS LSTWVF	2088	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTACCTGG GTATTC	
1265	CGTWDAS LSGVVF	2089	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGTTGTG GTATTC	
1266	CGTWDAS LSGGGEF	2090	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGTTGG GGGAGAATTC	
1267	CGTWDAS LSAGVF	2091	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGCTGG GGTGTTC	
1268	CGTWDAS LSAGLF	2092	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGCTGG GCTTTTC	20
1269	CGTWDAS LSAEVF	2093	TGTGGCACATGGGATGCCAGCCTGAGTGCTGAA GTCTTC	
1270	CGTWDAS LSADFWV F	2094	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGCTGAC TTTTGGGTGTTC	
1271	CGTWDAS LRVFF	2095	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAGAGTCTTC TTC	
1272	CGTWDAS LRAVVL	2096	TGCGGAACATGGGATGCCAGTCTGAGGGCTGTG GTACTC	
1273	CGTWDAS LNIWVF	2097	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGAATATTTGG GTTTTC	30
1274	CGTWDAS LKNLVF	2098	TGCGGGACATGGGATGCCAGCCTGAAGAATCTG GTCTTC	
1275	CGTWDAS LGAWVF	2099	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGGGTGCCTG GGTATTC	
1276	CGTWDAS LGAVVF	2100	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGGGTGCTGTG GTCTTC	
1277	CGTWDAS LGAGVF	2101	TGCGGAACATGGGATGCCAGCCTGGGTGCGGG GGTCTTC	
1278	CGTWDAR LSGLYVF	2102	TGCGGAACATGGGATGCTAGGCTGAGTGGCCTT TATGTCTTC	40
1279	CGTWDAR LGGAVF	2103	TGTGGAACCTGGGATGCGAGACTGGGTGGTGC AGTCTTC	
1280	CGTWDAN LRAGVF	2104	TGCGGAACATGGGATGCCAATCTGCGTGCTGGG GTCTTC	
1281	CGTWDAR SGWVF	2105	TGCGGAACATGGGATGCTATCATAAGTGGTTGG GTGTTC	
1282	CGTWDAG QSVWVF	2106	TGCGGAACATGGGATGCCGGCCAGAGTGTTTGG GTGTTC	

【表 1 3 - 3 4】

1283	CGTWDAG LTGLYVF	2107	TGCGGCACATGGGATGCCGGGCTGACTGGCCTT TATGTCTTC
1284	CGTWDAG LSVYVF	2108	TGCGGAACCTGGGATGCCGGTCTGAGTGTTTAT GTCTTC
1285	CGTWDAG LSTGVF	2109	TGCGGGACATGGGATGCCGGCCTGAGTACTGG GGTCTTC
1286	CGTWDAG LSGDVF	2110	TGCGGAACATGGGATGCCGGCCTGAGTGGGGA CGTTTTTC
1287	CGTWDAG LSAGYVF	2111	TGCGGAACATGGGATGCCGGCCTGAGTGCTGGT TATGTCTTC
1288	CGTWDAG LRVWVF	2112	TGCGGAACATGGGATGCCGGCCTGCGTGTTTGG GTGTTC
1289	CGTWDAG LREIF	2113	TGCGGAACATGGGATGCCGGCCTGAGGGAAATT TTC
1290	CGTWASS LSSWVF	2114	TGCGGAACATGGGCCAGCAGCCTGAGTTCTTGG GTGTTC
1291	CGTWAGS LSGHVF	2115	TGCGGAACATGGGCTGGCAGCCTGAGTGGTCAT GTCTTC
1292	CGTWAGS LSAAWVF	2116	TGCGGAACATGGGCTGGCAGCCTGAGTGCCGCT TGGGTGTTC
1293	CGTWAGS LNVYWVF	2117	TGCGGAACATGGGCTGGCAGCCTGAATGTTTAT TGGGTGTTC
1294	CGTWAGN LRPNWVF	2118	TGCGGAACATGGGCTGGCAACCTGAGACCTAAT TGGGTGTTC
1295	CGTRGSL GGAVF	2119	TGCGGAACAAGGGGTAGCCTGGGTGGTGCGGT GTTC
1296	CGTRDIT LSVPVF	2120	TGCGGAACAAGGGATACCACCCTGAGTGTCCTG GTGTTC
1297	CGTRDTSL NIEIF	2121	TGCGGAACACGGGATACCAGCCTCAATATTGAA ATCTTC
1298	CGTRDTSL NDVF	2122	TGTGGAACACGGGATACCAGCCTGAATGATGTC TTC
1299	CGTRDTR LSIVVF	2123	TGCGGAACACGGGATACCCGCCTGAGTATTGTG GTTTTTC
1300	CGTRDTIL SAEVF	2124	TGCGGCACACGGGATACCATCCTGAGTGCTGAG GTGTTC
1301	CGTRDRS LSGWVF	2125	TGCGGAACACGGGATAGAAGCCTGAGTGGTTG GGTGTTC
1302	CGSWYYN VFLF	2126	TGCGGATCATGGTATTACAATGTCTTCCTTTTC
1303	CGSWHSS LNLVVF	2127	TGCGGATCTTGGCATAGCAGCCTCAACCTTGTC GTCTTC
1304	CGSWGSG LSAPYVF	2128	TGCGGATCATGGGGTAGTGGCCTGAGTGCCCCT TATGTCTTC
1305	CGSWESG LGAWLF	2129	TGCGGTTCTGTGGGAAAGCGGCCTGGGTGCTTG GCTGTTC
1306	CGSWDYG LLLF	2130	TGCGGATCCTGGGATTACGGCCTCCTACTCTTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 3 5】

1307	CGSWDVS LTAVF	2131	TGCGGTTTCATGGGATGTCAGCCTGACTGCTGTT TTC
1308	CGSWDVS LNVGIF	2132	TGCGGATCCTGGGATGTCAGTCTCAATGTTGGC ATTTTC
1309	CGSWDTT LRAWVF	2133	TGCGGATCATGGGATAACCACCCTGCGTGCTTGG GTGTTC
1310	CGSWDTS PVRWVF	2134	TGCGGCTCGTGGGATAACCAGCCCTGTCCGTGCT TGGGTGTTC
1311	CGSWDTS LSVWVF	2135	TGCGGATCATGGGATAACCAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC
1312	CGSWDTS LSAEVF	2136	TGCGGATCATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGAG GTGTTC
1313	CGSWDTS LRAWVF	2137	TGCGGCTCGTGGGATAACCAGCCTGCGTGCTTGG GTGTTC
1314	CGSWDTS LRAWAF	2138	TGCGGCTCGTGGGATAACCAGCCTGCGTGCTTGG GCGTTC
1315	CGSWDTS LDARLF	2139	TGCGGATCATGGGATAACCAGCCTGGATGCTAGG CTGTTC
1316	CGSWDTIL LVYVF	2140	TGCGGATCATGGGATAACCATCCTGCTTGTCTAT GTCTTC
1317	CGSWDRW QAAVF	2141	TGCGGATCATGGGATCGCTGGCAGGCTGCTGTC TTC
1318	CGSWDRS LSGYVF	2142	TGCGGATCATGGGATAGGAGCCTGAGTGGGTAT GTCTTC
1319	CGSWDRS LSAYVF	2143	TGCGGATCATGGGATAGAAGCCTGAGTGCTTAT GTCTTC
1320	CGSWDRS LSAVVF	2144	TGCGGATCATGGGATAGGAGCCTGAGTGCCGTG GTTTTTC
1321	CGSWDNT LGVVLF	2145	TGCGGATCATGGGATAACACCTTGGGTGTTGTT CTCTTC
1322	CGSWDNR LSTVIF	2146	TGCGGATCGTGGGATAACAGACTAAGTACTGTC ATCTTC
1323	CGSWDNR LNTVIF	2147	TGCGGAAGCTGGGATAATCGATTGAACACTGTG ATTTTC
1324	CGSWDLS PVRVLVF	2148	TGCGGTTTCATGGGATCTCAGCCCTGTACGTGTC CTTGTGTTC
1325	CGSWDLS LSAVVF	2149	TGCGGATCATGGGATCTCAGCCTGAGTGCTGTC GTTTTTC
1326	CGSWDKN LRAVLF	2150	TGCGGATCATGGGATAAAAACCTGCGTGCTGTG CTGTTC
1327	CGSWDISL SAGVF	2151	TGCGGCTCATGGGATATCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
1328	CGSWDIR LSAEVF	2152	TGCGGATCATGGGATATCAGACTGAGTGCAGAG GTCTTC
1329	CGSWDIK LNIGVF	2153	TGCGGATCATGGGACATCAAACCTGAATATTGGG GTATTC
1330	CGSWDFS LNYFVF	2154	TGCGGATCATGGGATTTTCAGTCTCAATTATTTTG TCTTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 3 6】

1331	CGSWDAS LSTEVF	2155	TGCGGATCATGGGATGCCAGCCTGAGTACTGAG GTGTTC
1332	CGSWDAG LRGWVF	2156	TGCGGATCCTGGGATGCCGGCCTGCGTGGCTG GGTTTTTC
1333	CGRWESS LGAVVF	2157	TGCGGAAGATGGGAGAGCAGCCTGGGTGCTGT GGTTTTTC
1334	CGRWDFS LSAYVF	2158	TGCGGAAGATGGGATTTTAGTCTGAGTGCTTAT GTCTTC
1335	CGQWDND LSVWVF	2159	TGCGGACAATGGGATAACGACCTGAGTGTTTGG GTGTTC
1336	CGPWHSS VTSGHVL	2160	TGCGGACCCTGGCATAGCAGCGTGACTAGTGGC CACGTGCTC
1337	CGLWDAS LSAPTWW F	2161	TGCGGATTATGGGATGCCAGCCTGAGTGCTCCT ACTTGGGTGTTC
1338	CGIWHTS LSAWVF	2162	TGTGGAATATGGCACACTAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
1339	CGIWDYS LDTWVF	2163	TGCGGAATATGGGATTACAGCCTGGATACTTGG GTGTTC
1340	CGIWDTS LSAWVF	2164	TGCGGCATATGGGATACCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
1341	CGIWDTR LSVYVF	2165	TGCGGAATTTGGGATACCAGGCTGAGTGTTTAT GTCTTC
1342	CGIWDTR LSVYIF	2166	TGCGGAATTTGGGATACCAGGCTGAGTGTTTAT ATCTTC
1343	CGIWDTN LGYLF	2167	TGTGGAATATGGGATACGAATCTGGGTATCTC TTC
1344	CGIWDTG LSAVVF	2168	TGCGGTATATGGGATACCGGCCTGAGTGCTGTG GTATTC
1345	CGIWDRS LSAWVF	2169	TGCGGAATATGGGATCGCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTT
1346	CGIRDTRL SVYVF	2170	TGCGGAATTCGGGATACCAGGCTGAGTGTTTAT GTCTTC
1347	CGGWSSR LGVGPVF	2171	TGCGGAGGATGGAGTAGCAGACTGGGTGTTGG CCCAGTGTTT
1348	CGGWGSG LSAWVF	2172	TGCGGAGGATGGGGTAGCGGCCTGAGTGCTTG GGTGTTTC
1349	CGGWDT LSAWVF	2173	TGCGGAGGATGGGATACCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC
1350	CGGWDRG LDAWVF	2174	TGCGGAGGATGGGATAGGGGCCTGGATGCTTG GGTTTTTC
1351	CGAWRNN VWVF	2175	TGCGGAGCATGGCGTAATAACGTGTGGGTGTTC
1352	CGAWNRR LNPHSHW VF	2176	TGCGGAGCATGGAACAGGCGCCTGAATCCTCAT TCTCATTGGGTGTTC
1353	CGAWHNK LSAVF	2177	TGCGGAGCCTGGCACAACAACTGAGCGCGGTC TTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 3 7】

1354	CGAWGSS LRASVF	2178	TGCGGAGCATGGGGTAGCAGCCTGAGAGCTAG TGCTCTTC
1355	CGAWGSG LSAWVF	2179	TGCGGAGCATGGGGTAGCGGCCTGAGTGCTTG GGTGTTTC
1356	CGAWESS LSAPYVF	2180	TGCGGAGCATGGGAAAGTAGCCTGAGTGCCCCT TATGTCTTC
1357	CGAWESS LNVGLI	2181	TGCGGAGCATGGGAGAGCAGCCTCAATGTTGGA CTGATC
1358	CGAWESG RSAGVVF	2182	TGCGGAGCATGGGAGAGCGGCCGGAGTGCTGG GGTGGTGTTTC
1359	CGAWDYS VSGWVF	2183	TGCGGAGCCTGGGGATTACAGTGTGAGTGGTTGG GTGTTC
1360	CGAWDYS LTAGVF	2184	TGCGGAGCATGGGATTACAGCCTGACTGCCGGA GTATTC
1361	CGAWDYR LSAVLF	2185	TGCGGAGCCTGGGGATTACAGACTGAGTGCCGTG CTATTC
1362	CGAWDVR LDVGVF	2186	TGCGGAGCGTGGGATGTTCTGTCTGGATGTTGGG GTGTTC
1363	CGAWDTY SYVF	2187	TGCGGAGCATGGGATACCTACAGTTATGTCTTC
1364	CGAWDTT LSGVVF	2188	TGCGGAGCATGGGATACGACCCTGAGTGGTGTG GTATTC
1365	CGAWDTT LSAVIF	2189	TGCGGAGCGTGGGATACTACCCTGAGTGCTGTG ATATTC
1366	CGAWDTS QGASYVF	2190	TGCGGCGCATGGGATACCAGCCAGGGTGCGTCT TATGTCTTT
1367	CGAWDTS PVRAGVF	2191	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCCTGTACGTGCT GGGGTGTTTC
1368	CGAWDTS LWLF	2192	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGTGGCTTTTC
1369	CGAWDTS LTVYVF	2193	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGACTGTTTAT GTCTTC
1370	CGAWDTS LTAGVF	2194	TGCGGAGCATGGGACACCAGTCTGACTGCTGGG GTGTTC
1371	CGAWDTS LSTVVF	2195	TGCGGAGCCTGGGATACCAGCCTGAGTACTGTG GTTTTTC
1372	CGAWDTS LSSRYIF	2196	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAGTTCTAGA TACATATTC
1373	CGAWDTS LSGYVF	2197	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGGTTAT GTCTTC
1374	CGAWDTS LSGWVF	2198	TGCGGAGCCTGGGATACCAGCCTGAGTGGCTG GGTGTTTC
1375	CGAWDTS LSGVLF	2199	TGCGGAGCATGGGATACCAGTCTGAGTGGTGTG CTATTC
1376	CGAWDTS LSGLVF	2200	TGCGGAGCCTGGGATACCAGCTTGAGTGGTCTT GTTTTTC
1377	CGAWDTS LSGFVF	2201	TGCGGAGCCTGGGATACCAGCTTGAGTGGTTTT GTTTTTC

【表 1 3 - 3 8】

1378	CGAWDTS LSGEVF	2202	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGGTGA GGTCTTT
1379	CGAWDTS LSDFVF	2203	TGCGGAGCCTTGGGATACCAGCTTGAGTGATTTT GTTTTTC
1380	CGAWDTS LRTAIF	2204	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGCGAACTGCG ATATTC
1381	CGAWDTS LRLF	2205	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGCGGCTTTTC
1382	CGAWDTS LNVHVF	2206	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTGAATGTTCAT GTCTTC
1383	CGAWDTS LNKWVF	2207	TGCGGAGCATGGGATACCAGCCTCAATAAATGG GTGTTC
1384	CGAWDTR LSARLF	2208	TGCGGAGCATGGGATACCCGCCTCAGTGCGCGG CTGTTC
1385	CGAWDTR LRGFIF	2209	TGCGGAGCATGGGATACCAGACTGAGGGGTTTT ATTTTC
1386	CGAWDTN LGNVLL	2210	TGCGGAGCATGGGATACTAATTTGGGGAATGTT CTCCTC
1387	CGAWDTN LGKWVF	2211	TGCGGGGCATGGGATACCAACCTGGGTAAATGG GTTTTTC
1388	CGAWDTG LEWYVF	2212	TGCGGAGCATGGGATACCGGCCTTGAGTGGTAT GTTTTT
1389	CGAWDRT SGLWLF	2213	TGCGGAGCATGGGATAGGACTTCTGGATTGTGG CTTTTC
1390	CGAWDRS LVAGLF	2214	TGCGGAGCGTGGGATCGTAGCCTGGTTGCTGGA CTCTTC
1391	CGAWDRS LTVYVF	2215	TGCGGAGCGTGGGATAGAAGCCTGACTGTTTAT GTCTTC
1392	CGAWDRS LSGYVF	2216	TGCGGAGCATGGGATAGAAGCCTGAGTGGTTAT GTCTTC
1393	CGAWDRS LSAYVF	2217	TGCGGAGCATGGGATAGAAGCCTGAGTGCTTAT GTCTTC
1394	CGAWDRS LSAVVF	2218	TGCGGAGCATGGGATAGAAGCCTGAGTGCGGT GGTATTC
1395	CGAWDRS LSAGVF	2219	TGCGGAGCATGGGATCGCAGCCTGAGTGCTGG GGTTTTTC
1396	CGAWDRS LRIVVF	2220	TGCGGAGCGTGGGATCGCAGCCTGCGTATTGTG GTATTC
1397	CGAWDRS LRAYVF	2221	TGCGGAGCATGGGATAGAAGTCTGAGGGCTTAC GTCTTC
1398	CGAWDRS LNVWLF	2222	TGCGGAGCATGGGATAGAAGTCTGAATGTTTGG CTGTTC
1399	CGAWDRG LNVGWLF	2223	TGCGGCGCCTGGGATAGGGGCCTGAATGTCCG TTGGCTTTTC
1400	CGAWDNR LSILAF	2224	TGCGGCGCATGGGATAATAGACTGAGTATTTTG GCCTTC
1401	CGAWDND LTAYVF	2225	TGCGGAGCCTTGGGATAATGACCTGACAGCTTAT GTCTTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 3 9】

1402	CGAWDFS LTPLF	2226	TGCGGGGCATGGGATTTTCAGCCTGACTCCTCTC TTC
1403	CGAWDDY RGVSIYVF	2227	TGCGGAGCCTGGGATGACTATCGGGGTGTGAGT ATTTATGTCTTC
1404	CGAWDDR PSSAVVF	2228	TGTGGAGCATGGGATGACCGGCCTTCGAGTGCC GTGGTTTTTC
1405	CGAWDDR LTVVVF	2229	TGCGGAGCATGGGATGACAGACTGACTGTCGTT GTTTTTC
1406	CGAWDDR LGAVF	2230	TGCGGAGCGTGGGATGACAGGCTGGGTGCTGT GTTC
1407	CGAWDAS LNPGRAF	2231	TGCGGAGCGTGGGATGCCAGCCTGAATCCTGGC CGGGCATTC
1408	CGAWDAG LREIF	2232	TGCGGAGCATGGGATGCCGGCCTGAGGGAAAT TTTC
1409	CGAWAGS PSPWVF	2233	TGCGGAGCTTGGGCTGGCAGTCCGAGTCCTTGG GTTTTTC
1410	CGAFDIT LSAGVF	2234	TGCGGAGCATTCGACACCACCCTGAGTGCTGGC GTTTTTC
1411	CETWESS LSVGVF	2235	TGCGAAACATGGGAGAGCAGCCTGAGTGTTGG GGTCTTC
1412	CETWESS LRVWVF	2236	TGCGAAACATGGGAAAGCAGCCTGAGGGTTTGG GTGTTC
1413	CETWDTS LSGGVF	2237	TGCGAAACGTGGGATACCAGCCTGAGTGGTGG GGTGTTC
1414	CETWDTS LSDFYVF	2238	TGCGAAACATGGGATACCAGCCTGAGTGACTTT TATGTCTTC
1415	CETWDTS LSALF	2239	TGCGAAACATGGGATACCAGCCTGAGTGCCCTC TTC
1416	CETWDTS LRAEVF	2240	TGCGAAACATGGGATACCAGCCTGCGTGCTGAA GTCTTC
1417	CETWDTS LNVVVF	2241	TGCGAAACATGGGATACCAGCCTGAATGTTGTG GTATTC
1418	CETWDTS LGAVVF	2242	TGCGAAACATGGGATACCAGCCTGGGTGCCGTG GTGTTC
1419	CETWDRS LSGVVF	2243	TGCGAAACATGGGATAGAAGCCTGAGTGGTGTG GTATTC
1420	CETWDRS LSAWVF	2244	TGCGAAACATGGGATAGGAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTT
1421	CETWDRS LSAVVF	2245	TGCGAAACATGGGATCGCAGCCTGAGTGCTGTG GTCTTC
1422	CETWDRG LSVVVF	2246	TGCGAGACGTGGGATAGAGGCCTGAGTGTTGTG GTTTTTC
1423	CETWDRG LSAVVF	2247	TGCGAAACATGGGATAGGGGCCTGAGTGCAGT GGTATTC
1424	CETWDHT LSVVF	2248	TGCGAAACATGGGATCACACCCTGAGTGTTGTG ATATTC
1425	CETWDAS LTVVLF	2249	TGCGAAACATGGGATGCCAGCCTGACTGTTGTG TTATTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 4 0】

1426	CETWDAS LSAGVF	2250	TGCGAAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
1427	CETWDAG LSEVVF	2251	TGCGAAACGTGGGATGCCGGCCTGAGTGAGGT GGTGTTC
1428	CETFDTS SVVVF	2252	TGCGAAACATTTGATACCAGCCTGAGTGTTGTA GTCTTC
1429	CETFDTS NIVVF	2253	TGCGAAACATTTGATACCAGCCTAAATATTGTA GTCTTT
1430	CESWDRS RIGVVF	2254	TGCGAATCATGGGATAGAAGCCGGATTGGTGTG GTCTTC
1431	CESWDRS LSARVY	2255	TGCGAAAGTTGGGACAGGAGTCTGAGTGCCCG GGTGTAC
1432	CESWDRS LRVVF	2256	TGCGAATCCTGGGATAGGAGCCTGCGTGCCGTG GTCTTC
1433	CESWDRS LIVVF	2257	TGCGAATCTTGGGATCGTAGTTTGATTGTGGTG TTC
1434	CESWDNN LNEVVF	2258	TGCGAAAGTTGGGATAACAATTTAAATGAGGTG GTTTTC
1435	CEIWESSP SADDLVF	2259	TGCGAAATATGGGAGAGCAGCCCGAGTGCTGAC GATTTGGTGTTC
1436	CEAWDTS LSGAVF	2260	TGCGAAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGGTGCG GTGTTC
1437	CEAWDTS LSAGVF	2261	TGCGAAGCATGGGATACCAGCCTGAGTGCCGGG GTGTTC
1438	CEAWDTS LGGGVF	2262	TGCGAAGCATGGGATACCAGCCTGGGTGGTG GGTGTTC
1439	CEAWDRS LTGSLF	2263	TGCGAAGCATGGGATCGCAGCCTGACTGGTAGC CTGTTC
1440	CEAWDRG LSAVVF	2264	TGCGAAGCGTGGGATAGGGGCCTGAGTGCAGT GGTATTC
1441	CEAWDNI LSTVVF	2265	TGCGAAGCCTGGGATAACATCCTGAGTACTGTG GTGTTC
1442	CEAWDISL SAGVF	2266	TGCGAAGCATGGGACATCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
1443	CEAWDAD LSGAVF	2267	TGCGAAGCATGGGATGCCGACCTGAGTGGTGC GGTGTTC
1444	CATWTGS FRTGHYV F	2268	TGCGCAACATGGACTGGTAGTTTCAGAACTGGC CATTATGTCTTC
1445	CATWSSS PRGWVF	2269	TGCGCAACATGGAGTAGCAGTCCCAGGGGGTG GGTGTTC
1446	CATWHYS LSAGRVF	2270	TGCGCAACATGGCATTACAGCCTGAGTGCTGGC CGAGTGTTC
1447	CATWHTS LSIVQF	2271	TGCGCAACATGGCATAACCAGCCTGAGTATTGTG CAGTTC
1448	CATWHST LSADVLF	2272	TGCGCAACATGGCATAGCACCCTGAGTGCTGAT GTGCTTTTC
1449	CATWHSS	2273	TGCGCAACATGGCATAGCAGCCTGAGTGCTGGC

10

20

30

40

【表 1 3 - 4 1】

	LSAGRFLF		CGACTCTTC	
1450	CATWHIA RSAWVF	2274	TGCGCAACATGGCATATCGCTCGGAGTGCCTGG GTGTTC	
1451	CATWGSS QSAVVF	2275	TGCGCAACATGGGGTAGTAGTCAGAGTGCCGTG GTATTC	
1452	CATWGSS LSAGGVF	2276	TGCGCAACATGGGGTAGCAGCCTGAGTGCTGG GGGTGTTTTTC	
1453	CATWEYS LSVVLFF	2277	TGTGCAACATGGGAATACAGCCTGAGTGTTGTG CTGTTC	10
1454	CATWETT RRASFVF	2278	TGCGCAACATGGGAGACCACCCGACGTGCCTCT TTTGTCTTC	
1455	CATWETS LNVYVF	2279	TGCGCAACATGGGAGACCAGCCTGAATGTTTAT GTCTTC	
1456	CATWETS LNVVVF	2280	TGCGCAACATGGGAAACTAGCCTGAATGTTGTG GTCTTC	
1457	CATWETS LNLVVF	2281	TGCGCAACATGGGAGACCAGCCTGAATCTTTAT GTCTTC	
1458	CATWETG LSAGEVF	2282	TGCGCAACATGGGAGACTGGCCTAAGTGCTGGA GAGGTGTTC	20
1459	CATWEST LSVVVF	2283	TGCGCGACGTGGGAGAGTACCCTAAGTGTTGTG GTTTTTC	
1460	CATWESS LSIFVF	2284	TGCGCAACGTGGGAGAGCAGCCTGAGTATTTTT GTCTTC	
1461	CATWESS LNTFYVF	2285	TGCGCAACATGGGAAAGCAGCCTCAACACTTTT TATGTCTTC	
1462	CATWESR VDTRGLL F	2286	TGCGCAACATGGGAGAGTAGGGTGGATACTCGA GGGTTGTTATTC	
1463	CATWESG LSGAGVF	2287	TGCGCAACATGGGAGAGCGGCCTGAGTGGTGC GGGGGTGTTC	30
1464	CATWEGS LNTFYVF	2288	TGCGCAACATGGGAAGGCAGCCTCAACACTTTT TATGTCTTC	
1465	CATWDYS LSAVVF	2289	TGCGCAACTTGGGATTATAGCCTGAGTGCTGTG GTGTTC	
1466	CATWDYR LSIVVF	2290	TGCGCAACATGGGATTACAGACTGAGTATTGTG GTATTC	
1467	CATWDYN LGAADF	2291	TGCGCAACATGGGATTATAACCTGGGAGCTGCG GTGTTC	
1468	CATWDVT LGVLF	2292	TGCGCCACATGGGATGTCACCCTGGGTGTCTTG CATTC	40
1469	CATWDTT LSVWVF	2293	TGCGCAACATGGGATACAACACTGAGTGTCTGG GTCTTC	
1470	CATWDTT LSVVLFF	2294	TGCGCAACATGGGATACCACCCTGAGTGTA CTTTTC	
1471	CATWDTT LSVEVF	2295	TGCGCAACATGGGATACCACCCTGAGTGTTGAG GTCTTC	
1472	CATWDTS PSLSGFW	2296	TGCGCAACATGGGATACCAGCCCCAGCCTGAGT GGTTTTTGGGTGTTC	

【表 1 3 - 4 2】

	VF		
1473	CATWDTS LTGVVF	2297	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGACTGGTGTG GTATTC
1474	CATWDTS LTGAVF	2298	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGACTGGTGCG GTGTTC
1475	CATWDTS LTAWVF	2299	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGACTGCCTGG GTATTC
1476	CATWDTS LTAVVF	2300	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGACTGCTGTG GTTTTTC
1477	CATWDTS LTAKVF	2301	TGCGCAACATGGGATACTAGCCTGACTGCTAAG GTGTTC
1478	CATWDTS LSVVVF	2302	TGCGCAACATGGGACACCAGCCTGAGTGTTGTG GTTTTTC
1479	CATWDTS LSVGVF	2303	TGCGCTACTTGGGATAACCAGCCTGAGTGTTGGG GTATTT
1480	CATWDTS LSSWVF	2304	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTTCTTGG GTGTTC
1481	CATWDTS LSGGVL	2305	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGGG GTACTC
1482	CATWDTS LSGGVF	2306	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGGG GTGTTC
1483	CATWDTS LSGGRVF	2307	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGGC CGAGTGTTTC
1484	CATWDTS LSGDRVF	2308	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGAC CGAGTGTTTC
1485	CATWDTS LSEGVF	2309	TGCGCAACGTGGGATACTAGCCTGAGTGAAGGG GTGTTC
1486	CATWDTS LSAVVL	2310	TGCGCAACCTGGGATAACCAGCCTGAGTGCCGTG GTGCTC
1487	CATWDTS LSAVF	2311	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGTC TTC
1488	CATWDTS LSARVF	2312	TGCGCGACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTCGG GTGTTC
1489	CATWDTS LSALF	2313	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCTTA TTC
1490	CATWDTS LSAHVF	2314	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTCAT GTCTTC
1491	CATWDTS LSAGRVF	2315	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGC CGGGTGTTTC
1492	CATWDTS LSAEVF	2316	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCGGAG GTCTTC
1493	CATWDTS LSADAGG GVF	2317	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGAT GCTGGTGGGGGGGTCTTC
1494	CATWDTS LRVVVF	2318	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGCGTGTCGTG GTATTC
1495	CATWDTS LRGVF	2319	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGAGAGGGGTG TTC

10

20

30

40

【表 1 3 - 4 3】

1496	CATWDTS LPAWVF	2320	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGCCTGCGTGG GTGTTC
1497	CATWDTS LNVGVF	2321	TGTGCAACATGGGATAACCAGCCTGAATGTTGGG GTATTC
1498	CATWDTS LGIVLF	2322	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGGGTATTGTG TTATTT
1499	CATWDTS LGARVVF	2323	TGCGCAACATGGGACACCAGCCTGGGTGCGCGT GTGGTCTTC
1500	CATWDTS LGALF	2324	TGTGCAACGTGGGATAACCAGTCTAGGTGCCTTG TTC
1501	CATWDTS LATGLF	2325	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGGCGACTGGA CTGTTC
1502	CATWDTS LAAWVF	2326	TGCGCAACATGGGATAACCAGCCTGGCTGCCTGG GTATTC
1503	CATWDTR LSAVVF	2327	TGCGCAACCTGGGATAACCAGGCTGAGTGCTGTG GTCTTC
1504	CATWDTR LSAGVF	2328	TGCGCAACATGGGATAACCAGGCTGAGTGCTGGG GTGTTC
1505	CATWDTR LLITVF	2329	TGTGCAACGTGGGACACACGTCTACTTATTACG GTTTTTC
1506	CATWDTL LSVELF	2330	TGCGCAACATGGGACACCCTCCTGAGTGTTGAA CTCTTC
1507	CATWDTG RNPHVVF	2331	TGCGCAACATGGGATACTGGCCGCAATCCTCAT GTGGTCTTC
1508	CATWDTG LSSVLF	2332	TGCGCAACATGGGATAACCGCCTGTCTTCGGTG TTGTTC
1509	CATWDTG LSAVF	2333	TGCGCAACGTGGGATAACCGCCTGAGTGCGGTT TTC
1510	CATWDRT LSIGVF	2334	TGCGCTACGTGGGATAGGACCCTGAGTATTGGA GTCTTC
1511	CATWDRS VTAVLF	2335	TGCGCAACGTGGGATCGCAGTGTGACTGCTGTG CTCTTC
1512	CATWDRS LSGVVF	2336	TGCGCAACCTGGGATAGGAGCCTGAGTGGTGTG GTGTTC
1513	CATWDRS LSAVVF	2337	TGCGCAACATGGGATAGAAGCCTGAGTGCTGTG GTCTTC
1514	CATWDRS LSAVPWV F	2338	TGCGCAACATGGGATAGAAGCCTGAGTGCTGTT CCTTGGGTGTTC
1515	CATWDRS LSAGVF	2339	TGCGCAACATGGGATCGCAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC
1516	CATWDRS LRAGVF	2340	TGCGCAACGTGGGATAGGAGCCTGCGTGCTGG GGTGTTC
1517	CATWDRS LNVYVL	2341	TGCGCAACATGGGATCGCAGTCTGAATGTTTAT GTCCTC
1518	CATWDRI LSAEVF	2342	TGCGCAACGTGGGATCGCATCCTGAGCGCTGAG GTGTTC
1519	CATWDRG	2343	TGCGCAACGTGGGATAGAGGCCTGAGTACTGG

10

20

30

40

【表 1 3 - 4 4】

	LSTGVF		GGTGTTC	
1520	CATWDNY LGA AVF	2344	TGCGCAACATGGGATAACTACCTGGGTGCTGCC GTGTTC	
1521	CATWDNT PSNIVVF	2345	TGCGCAACATGGGATAACACGCCTTCGAATATT GTGGTATTC	
1522	CATWDNT LSVWVF	2346	TGCGCAACATGGGATAATACACTGAGTGTGTGG GTCTTC	
1523	CATWDNT LSVNWVF	2347	TGCGCAACATGGGATAACACCCTGAGTGTCAAT TGGGTGTTC	10
1524	CATWDNT LNVFYVF	2348	TGCGCAACCTGGGATAACACACTGAATGTCTTT TATGTTTTTC	
1525	CATWDNR LSSVVF	2349	TGTGCGACATGGGATAATCGGCTCAGTTCTGTG GTCTTC	
1526	CATWDNR LSAGVL	2350	TGCGCAACATGGGATAACCGCCTGAGTGCTGGG GTGCTC	
1527	CATWDNR LSAGVF	2351	TGCGCAACGTGGGATAACAGGCTGAGTGCTGG GGTGTTC	
1528	CATWDNR DWVF	2352	TGCGCAACATGGGATAACAGGGATTGGGTCTTC	20
1529	CATWDNN LGAGVF	2353	TGCGCAACATGGGATAACAACCTGGGTGCTGGG GTGTTC	
1530	CATWDNK LTSGVF	2354	TGCGCAACATGGGATAACAAGCTGACTTCTGGG GTCTTC	
1531	CATWDNI LSA WVF	2355	TGCGCAACATGGGATAACATCCTGAGTGCCTGG GTGTTT	
1532	CATWDND IHSGLF	2356	TGCGCAACCTGGGACAACGATATACATTCTGGG CTGTTC	
1533	CATWDLS LSALF	2357	TGCGCAACTTGGGATCTCAGCCTGAGTGCCCTG TTC	30
1534	CATWDITL SAEVF	2358	TGCGCAACATGGGATATCACCTGAGTGCTGAG GTGTTC	
1535	CATWDISP SAGGVF	2359	TGCGCAACGTGGGATATCAGCCCGAGTGCTGGC GGGGTGTTC	
1536	CATWDISL STGRAVF	2360	TGCGCAACATGGGATATCAGTCTAAGTACTGGC CGGGCTGTGTTC	
1537	CATWDISL SQVF	2361	TGCGCAACATGGGATATCAGTCTGAGTCAGGTA TTC	
1538	CATWDIR LSSGVF	2362	TGCGCAACATGGGATATCAGGCTGAGTAGTGGA GTGTTC	40
1539	CATWDIG PSAGGVF	2363	TGCGCAACGTGGGATATCGGCCCGAGTGCTGGC GGGGTGTTC	
1540	CATWDHS RAGVLF	2364	TGCGCAACATGGGATCACAGCCGGGCTGGTGTG CTATTC	
1541	CATWDHS PSVGEVF	2365	TGCGCAACATGGGATCACAGTCCGAGTGTTGGA GAAGTCTTC	
1542	CATWDHS LRVGVF	2366	TGCGCAACATGGGATCACAGCCTGCGTGTTGGG GTGTTC	
1543	CATWDHS	2367	TGCGCAACATGGGATCACAGCCTGAACATTGGG	

【表 1 3 - 4 5】

	LNIGVF		GTGTTC	
1544	CATWDHS LGLWAF	2368	TGCGCAACATGGGATCACAGCCTGGGTCTTTGG GCATTC	
1545	CATWDHN LRLVF	2369	TGCGCCACATGGGATCACAATCTGCGTCTTGTT TTC	
1546	CATWDHI LASGVF	2370	TGCGCGACTTGGGATCACATCCTGGCTTCTGGG GTGTTC	
1547	CATWDFS LSVWVF	2371	TGCGCAACATGGGATTTTCAGCCTGAGTGTTTGG GTGTTC	10
1548	CATWDFS LSAWVF	2372	TGCGCAACATGGGATTTTCAGCCTGAGTGCTTGG GTGTTC	
1549	CATWDDT LTAGVF	2373	TGCGCAACATGGGATGACACCCTCACTGCTGGT GTGTTC	
1550	CATWDDR LSAVLF	2374	TGCGCAACATGGGACGACAGGCTGAGTGCTGTG CTTTTC	
1551	CATWDDR LDAAVF	2375	TGCGCAACATGGGATGACAGGCTGGATGCTGCG GTGTTC	
1552	CATWDAT LNTGVF	2376	TGCGCAACATGGGATGCGACCCTGAATACTGGG GTGTTC	20
1553	CATWDAS LSVWLL	2377	TGCGCAACATGGGATGCCAGCCTGAGTGTTTGG CTGCTC	
1554	CATWDAS LSGGVF	2378	TGCGCGACATGGGATGCCAGCCTGAGTGGTGG GGTGTTC	
1555	CATRD TTL SAVLF	2379	TGCGCAACACGGGATACCACCCTCAGCGCCGTT CTGTTC	
1556	CATLGSSL SLWVF	2380	TGCGCTACATTGGGTAGTAGCCTGAGTCTCTGG GTGTTC	
1557	CATIETSL PAWVF	2381	TGCGCAACAATCGAACTAGCCTGCCTGCCTGG GTATTC	30
1558	CATGDRS LTVEVF	2382	TGCGCAACAGGGGACAGAAGCCTGACTGTTGAG GTATTC	
1559	CATGDLG LTIVF	2383	TGCGCTACAGGGGATCTCGGCCTGACCATAGTC TTC	
1560	CASWDYR GRSGWVF	2384	TGCGCATCATGGGATTACAGGGGGAGATCTGGT TGGGTGTTC	
1561	CASWDTT LNVGVF	2385	TGCGCATCATGGGATAACCACCCTGAATGTTGGG GTGTTC	
1562	CASWDTT LGFVLF	2386	TGCGCTTCATGGGATAACCACCCTGGGTTTTGTG TTATTC	
1563	CASWDTS LSGGYVF	2387	TGCGCATCATGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGGT TATGTCTTC	40
1564	CASWDTS LRAGVF	2388	TGCGCATCATGGGATAACCAGCCTCCGTGCTGGG GTGTTC	
1565	CASWDTS LGAGVF	2389	TGCGCATCATGGGATAACCAGCCTGGGTGCTGGG GTGTTC	
1566	CASWDRG LSAVVF	2390	TGCGCATCATGGGACAGAGGCCTGAGTGCAGTG GTGTTC	
1567	CASWDNV	2391	TGTGCTAGTTGGGATAACGTCCTGCGTGGTGTG	

【表 1 3 - 4 6】

	LRGVVF		GTATTC	
1568	CASWDNR LTAVVF	2392	TGCGCGTCATGGGATAACAGGCTGACTGCCGTG GTTTTTC	
1569	CASWDAS LSVAF	2393	TGCGCATCATGGGATGCAAGCCTGTCCGTCGCT TTC	
1570	CASWDAG LSSVVF	2394	TGCGCTTCGTGGGATGCCGGCCTGAGTTCTTAT GTCTTC	
1571	CASGDTSL SGVIF	2395	TGCGCATCCGGGGATAACCAGCCTGAGTGGTGTG ATATTC	10
1572	CARWHTS LSIWVF	2396	TGCGCAAGATGGCATAACGAGCCTAAGTATTTGG GTCTTC	
1573	CAIWDTG LSPGQVAF	2397	TGCGCAATATGGGATAACCGGCCTGAGTCCTGGC CAAGTTGCCTTC	
1574	CAAWHSG LGLPVF	2398	TGCGCAGCATGGCATAACCGGCCTGGGTCTCCCG GTCTTC	
1575	CAAWDYS LSAGVF	2399	TGCGCAGCATGGGATTACAGCCTGAGTGCTGGG GTGTTC	
1576	CAAWDTT LRVRLF	2400	TGCGCAGCCTGGGATACTACCCTGCGTGTTAGG CTGTTC	20
1577	CAAWDTS LTAWVF	2401	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCCTGACTGCCTGG GTTTTTC	
1578	CAAWDTS LSGGVF	2402	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCTTGAGTGGTGGG GTGTTC	
1579	CAAWDTS LSGEAVF	2403	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCCTGAGTGGCGAG GCTGTGTTC	
1580	CAAWDTS LSGAVF	2404	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCTTGAGTGGTGCG GTGTTC	
1581	CAAWDTS LSAWVF	2405	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCCTGAGTGCCTGG GTGTTC	30
1582	CAAWDTS LSAGVF	2406	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCCTGAGTGCTGGG GTATTC	
1583	CAAWDTS LDTYVF	2407	TGCGCAGCATGGGATAACCAGCCTGGATACTTAT GTCTTC	
1584	CAAWDTR LSGVLF	2408	TGCGCTGCATGGGATAACCGTCTGAGTGGTGTG TTATTC	
1585	CAAWDTR LSAGVF	2409	TGCGCAGCATGGGATAACCAGGCTGAGTGCTGG GGTGTTC	
1586	CAAWDRS LSTGVF	2410	TGCGCAGCATGGGATCGCAGTCTGAGTACTGGA GTTTTTC	
1587	CAAWDIR RSVLF	2411	TGCGCAGCGTGGGATATCCGCCGGTCTGTCCTT TTC	40
1588	CAAWDHT QRLSF	2412	TGCGCTGCGTGGGATCACACTCAGCGTCTTTCC TTC	
1589	CAAWDHS LSAGQVF	2413	TGCGCAGCATGGGATCACAGCCTGAGTGCTGGC CAGGTGTTC	
1590	CAAVDTG LKEWVF	2414	TGCGCAGCAGTCGATACTGGTCTGAAAGAATGG GTGTTC	

【 0 2 6 4】

C D Rを事前にスクリーニングすることで、アミノ酸傾向 (a m i n o a c i d l 50

i a b i l i t i e s)、隠蔽スプライス部位またはヌクレオチド制限部位は含まれなかった。CDR変異は少なくとも2つの個体に観察され、単一、二重、および三重の突然変異の生殖細胞系列に近い空間が含まれていた。アセンブリの順序は図21Cに見られる。

【0265】

設計されたVHドメインはIGHV1-69とIGHV3-30を含む。2つの重鎖VHドメインの各々は、それぞれの4つの不変式フレームワーク要素(FW1、FW2、FW3、FW2)および3つの可変CDR(H1、H2、H3)要素によりアセンブルされる。IGHV1-69では、417の変異体がH1に設計され、258の変異体がH2に設計された。IGHV3-30では、535の変異体がH1に設計され、165の変異体がH2に設計された。CDRH3では、同じカセットが、IGHV1-69とIGHV3-30の両方に使用された、共に同一のFW4を使用し、FW3の縁がIGHV1-69およびIGHV3-30の両方に対し同一であるためである。CDRH3は、 1×10^{10} の多様性を生成するために中心の中央要素に組み合わせて結合されるN末端要素とC末端要素を含む。N末端要素と中央要素は「GGG」グリシンコドンに重なる。中央要素とC末端要素は「GGT」グリシンコドンに重なる。CDRH3は、個別にアセンブルされた5つのサブプールを含む。様々なN末端要素とC末端要素は、表14に見られるような配列を含む。

【0266】

【表14】

表 14. N-末端要素および C-末端要素の配列

要素	SEQ ID NO	配列
Stem A	2415	CARDLRELECEEWTTXXXSRGPCVDPRGVAGSFDVW
Stem B	2416	CARDMYYDFXXXEVVPADDAFDIW
Stem C	2417	CARDGRGSLPRPKGGPXXXYDSSSEDSGGAFDIW
Stem D	2418	CARANQHFXXXGYHYYGMDVW
Stem E	2419	CAKHMSMQXXXRADLVGDADFVW

【0267】

実施例12. GPCR GLP1R結合タンパク質に対する富化

【0268】

GPCR結合タンパク質の変異体フラグメントを伴うCDR-H3領域を有する抗体を本明細書に記載される方法により生成し、実施例10に記載されるように、特定のGPCRに結合するように富化される、同定された変異体の細胞ベースの方法を使用してパン撮りした(panned)。

【0269】

GLP C末端ペプチドの変異体を同定し(表15に表記)、これを抗体のCDR-H3領域に埋め込むと、GPCR GLP1Rへの結合のための繰り返しかつ選択的に富化した。

【0270】

10

20

30

40

【表 15】

表 15. CDR-H3 に包埋された GLP1 の配列

SEQ ID NO	配列
2420	CAKHMSMQEGAVTGEGQAAKEFIAWLVKGRVRADLVGDAFDVW
2421	CARDGRGSLPRPKGGPQTVGEGQAAKEFIAWLVKGGGLTYDSSEDSGGAFDIW
2422	CAKHMSMQDYLVIGEGQAAKEFIAWLVKGGPARADLVGDAFDVW
2423	CAKHMSMQEGAVTGEGQDAKEFIAWLVKGRVRADLVGDAFDVW
2424	WAKHMSMQEGAVTGEGQAAKEFIAWLVKGRVRADLVGDAFDVW
2425	CARDGRGSLPRPKGGPQTVGEGQAAKEFIAWLVKGRVRADLVGDAFDVW
2426	CARANQHFYEQEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGGIRGYHYYGMDVW
2427	CARANQHFTLHGEGQAAKEFIAWLVKGRGQIDIGYHYYGMDVW
2428	CARANQHFLGAGVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGDTTGYHYYGMDVW
2429	CARANQHFLDKGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGIYPGYHYYGMDVW
2430	CARANQHFGTSLSAGEGQAAKEFIAWLVKGGSQYDSSEDSGGAFDIW
2431	CARANQHFLHAQGEGQAAKEFIAWLVKGSGTYGYHYYGMDVW
2432	CARANQHFGGKGEGQAAKEFIAWLVKGGSGAGYHYYGMDVW
2433	CAKQMSMQEGAVTGEGQAAKEFIAWLVKGRVRADLVGDAFDVW
2434	CAKHMSMQEGAVTGEGQAAKEFIAWLVKGGPARADLVGDAFDVW
2435	CAKHMSMQEGAVTGEGQAAKEFIAWLVKGGGLTYDSSEDSGGAFDIW
2436	CAKHMSMQDYLVIGEGQAAKEFIAWLVKGRVRADLVGDAFDVW

10

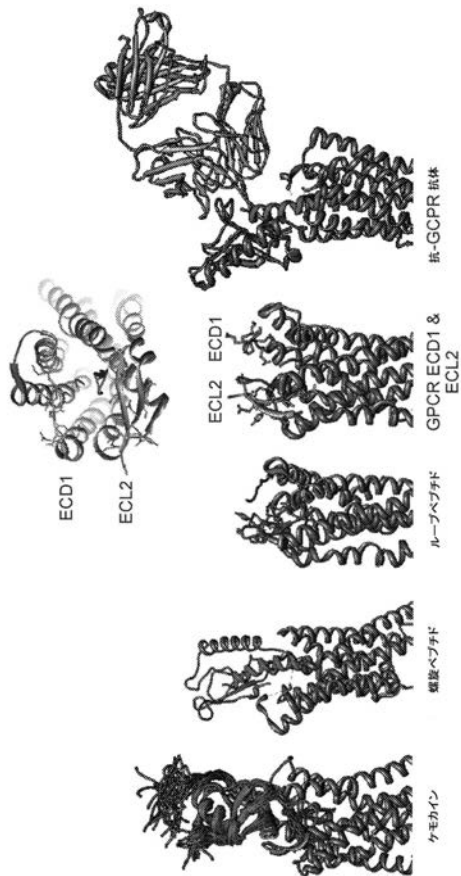
20

30

【0271】

本開示の好ましい実施形態が本明細書で示され記載されてきたが、こうした実施形態はほんの一例として提供されているに過ぎないということは当業者にとって明白である。多数の変形、変更、および置き換えは、本開示から逸脱することなく、当業者によって現在想到されるものである。本明細書に記載される開示の実施形態の様々な代案が、本開示の実施において利用されるかもしれないことを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定義するものであり、これら特許請求の範囲およびその同等物の範囲内の方法と構造は、それにより包含されることが、意図されている。

【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 A 】

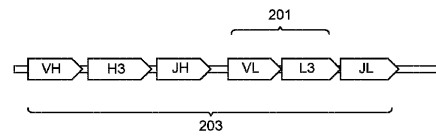


FIG. 2A

【 図 2 B 】

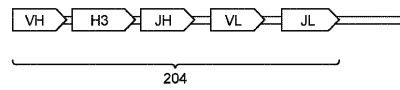
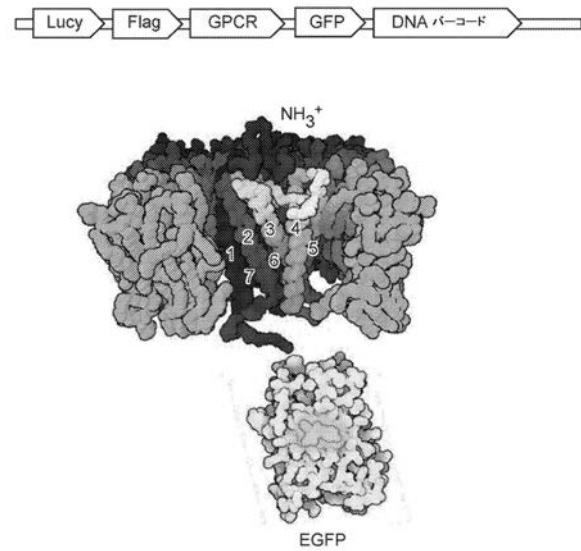


FIG. 2B

【 図 4 】



【 図 5 】

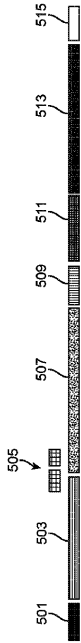


FIG. 5

【 図 6 】

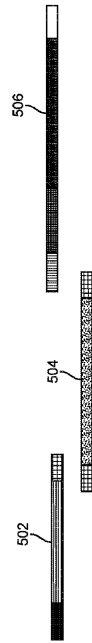
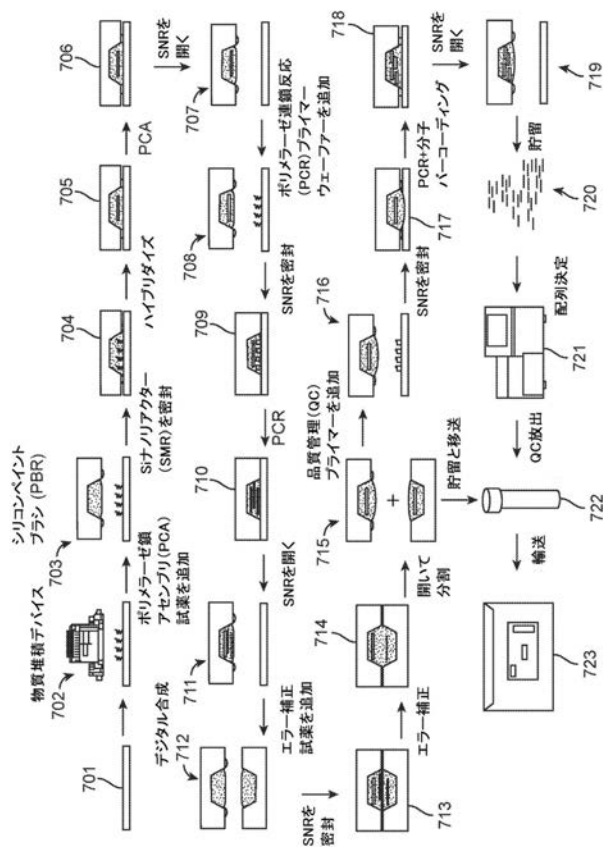
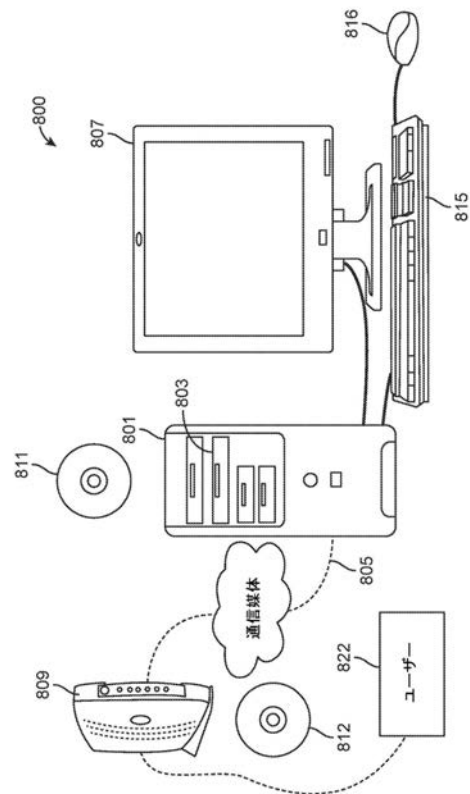


FIG. 6

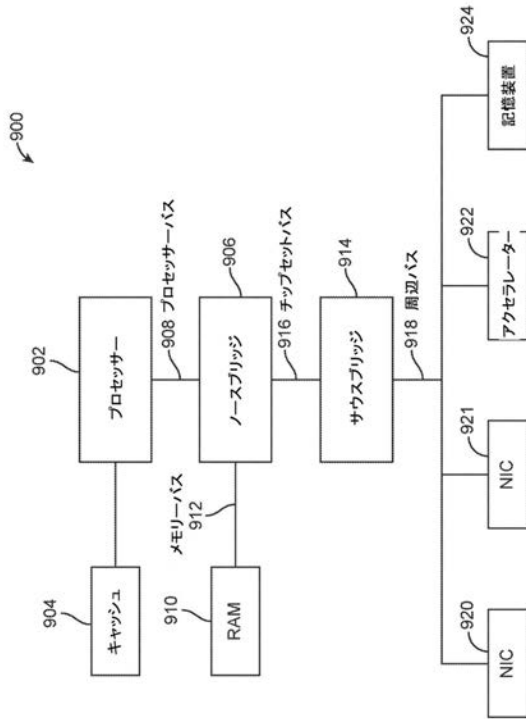
【 図 7 】



【 図 8 】



【図 9】



【図 10】

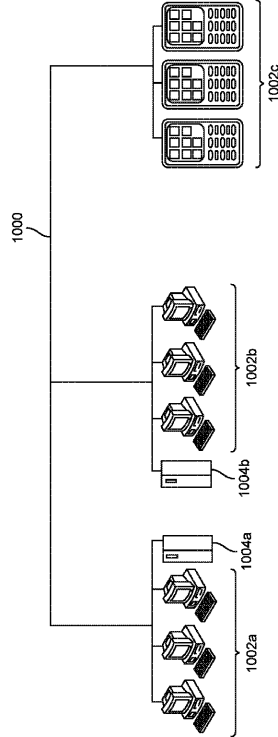
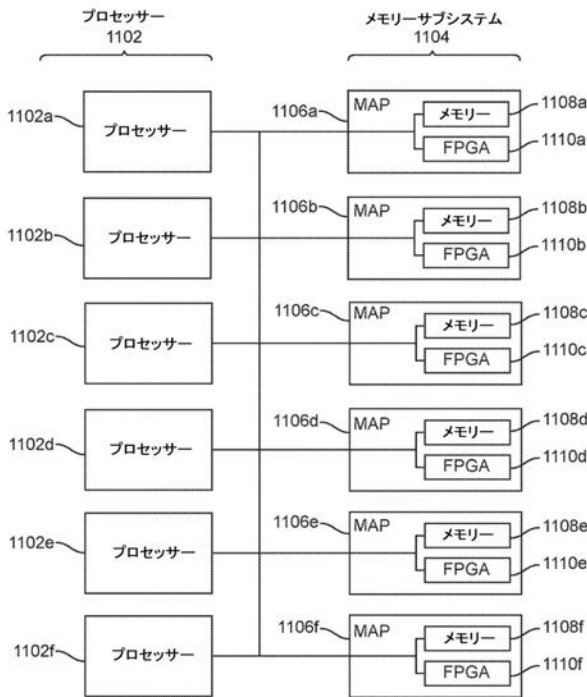


FIG. 10

【図 11】



【図 12 A】

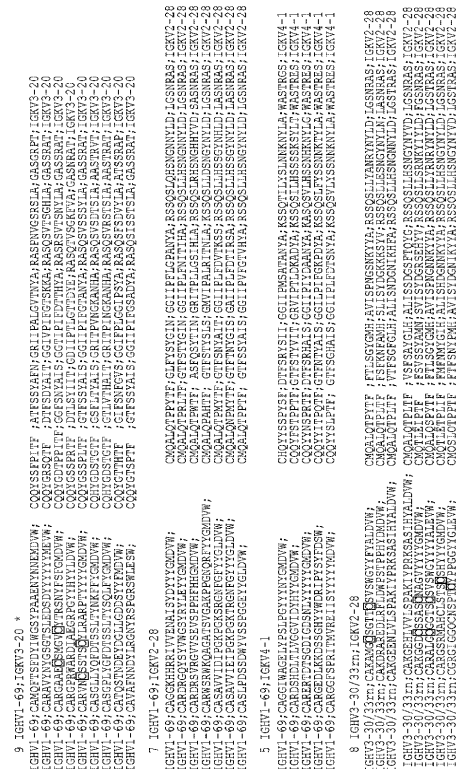
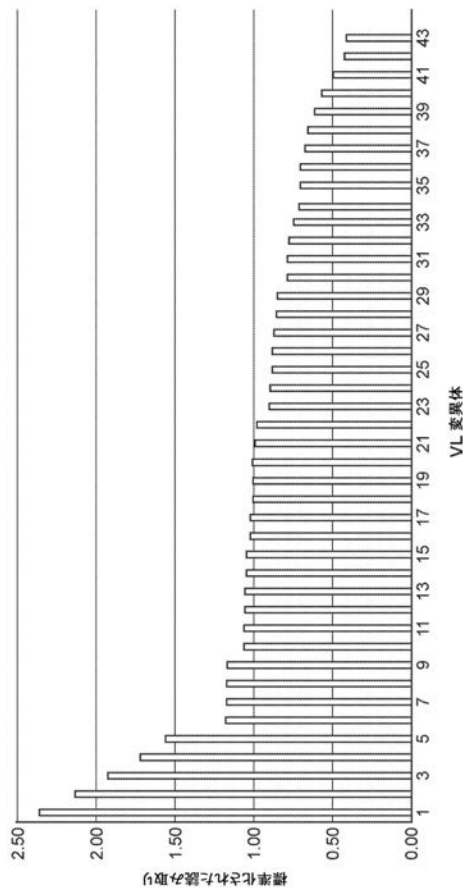
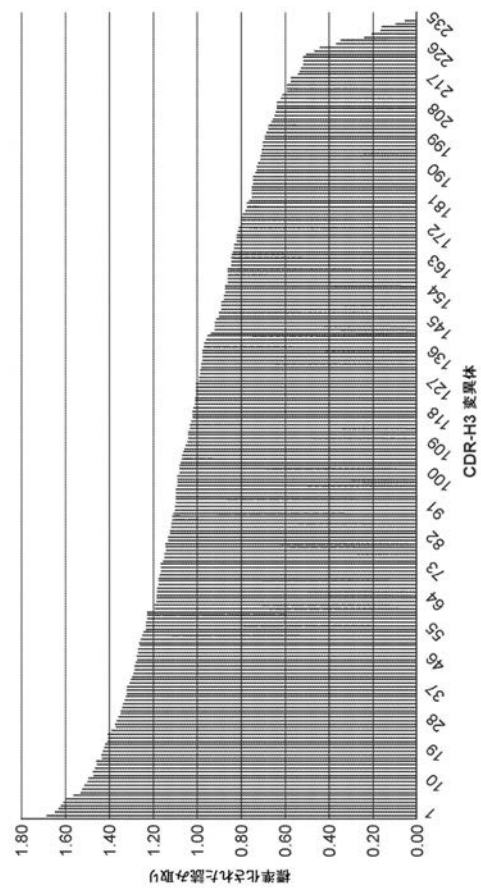


FIG. 12A

【図 15】



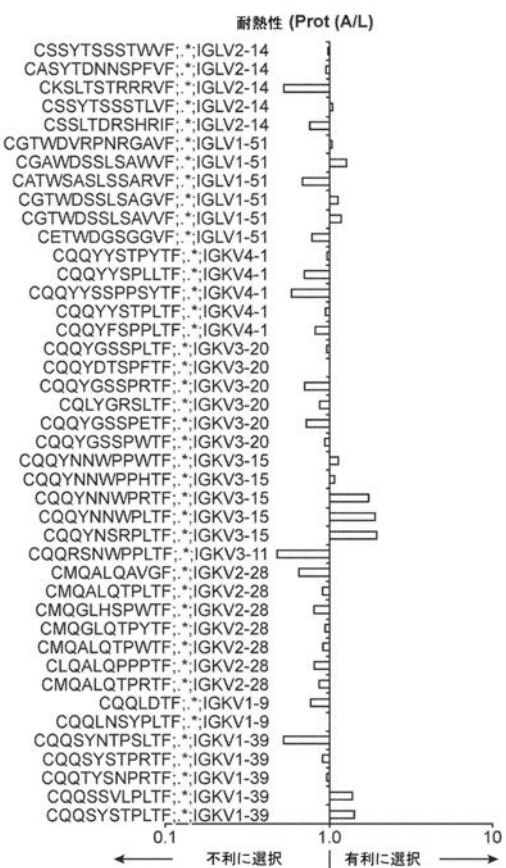
【図 16】



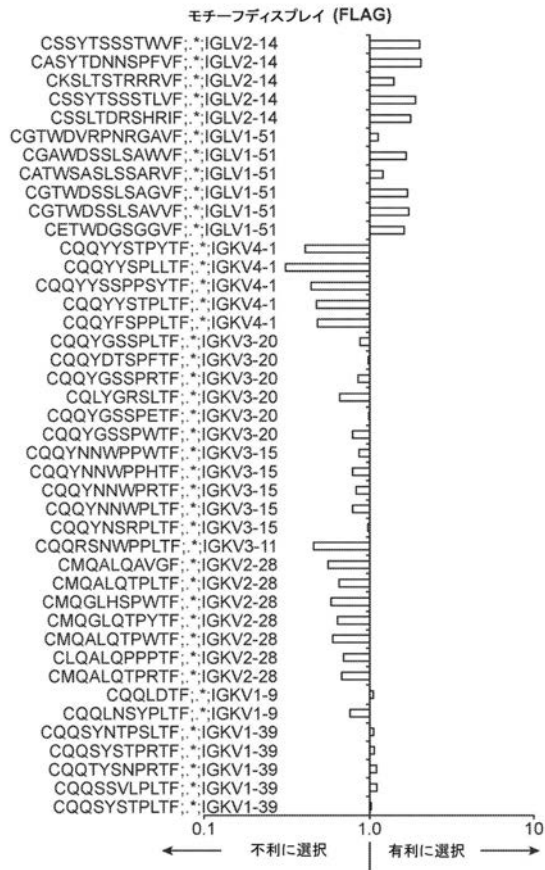
【図 17 A】



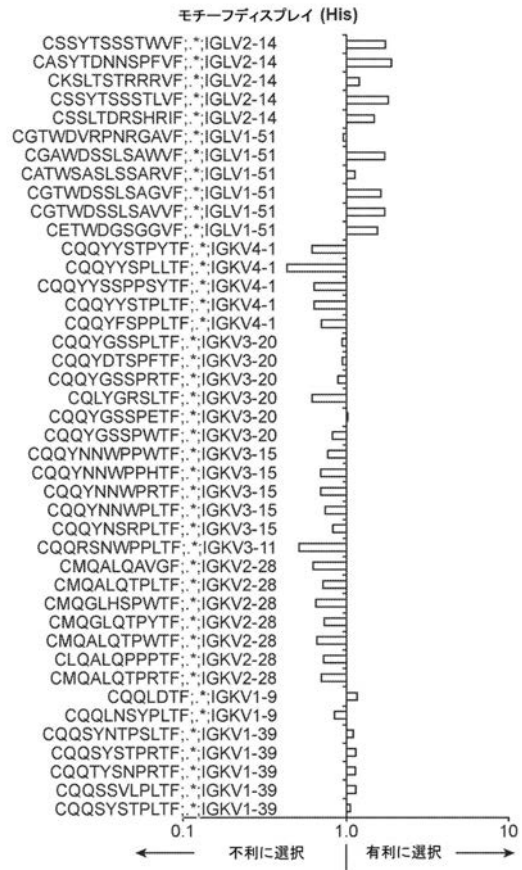
【図 17 B】



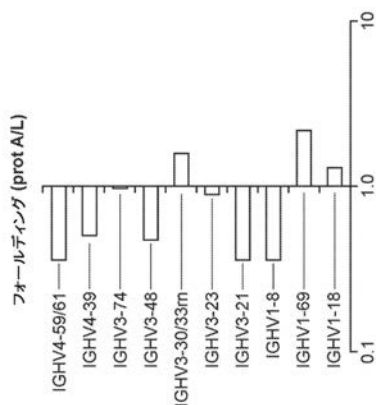
【図 17 C】



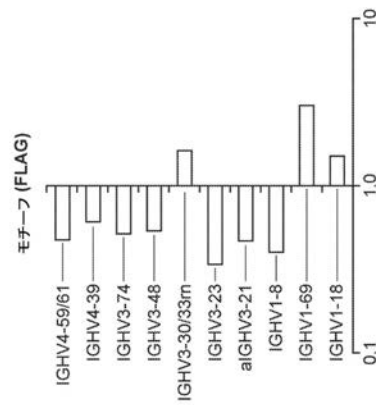
【図 17 D】



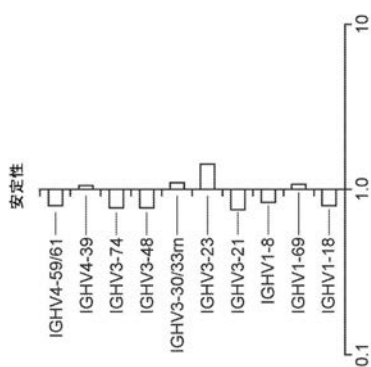
【図 18 A】



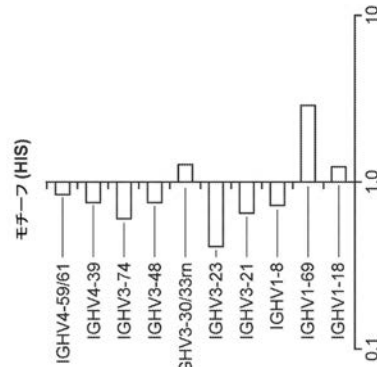
【図 18 C】



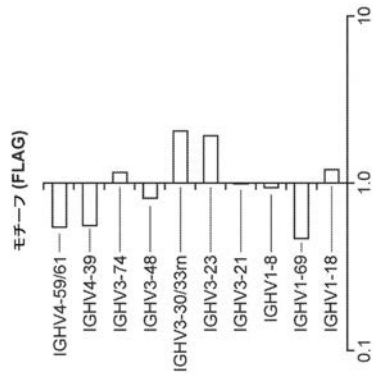
【図 18 B】



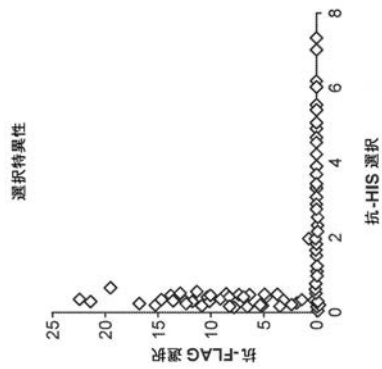
【図 18 D】



【図 18 E】



【図 18 F】



【図 19 B】

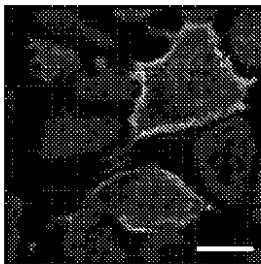


FIG. 19B

【図 19 C】

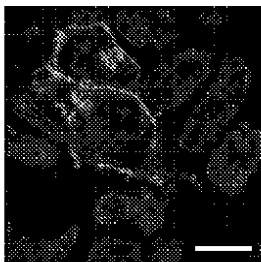


FIG. 19C

【図 19 A】

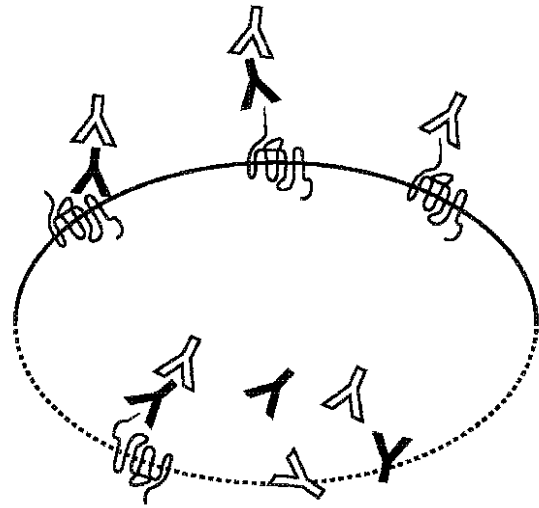


FIG. 19A

【図 20 A】

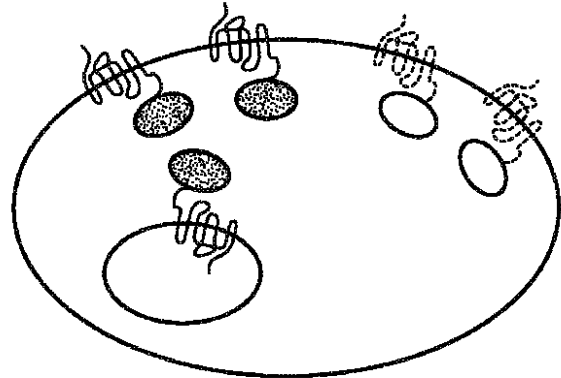


FIG. 20A

【図 2 0 B】

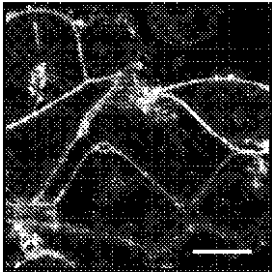


FIG. 20B

【図 2 0 C】

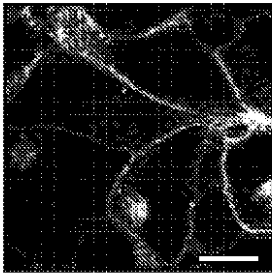
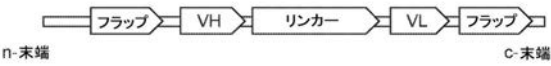
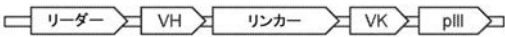


FIG. 20C

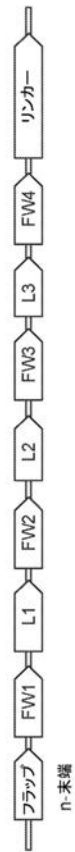
【図 2 1 A】



【図 2 1 B】



【図 2 1 C】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2018/050511
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(B) - C07K 16/00; C07K 16/28; C07K 16/46; C07K 19/00; C12N 15/13; C40B 30/04 (2018.01) CPC - A61K 38/00; A61K 2039/505; C07K 2317/24; C07K 2317/565; C07K 2317/567; C07K 2319/00; C12N 15/1037; C40B 40/02; G01N 2333/726 (2018.08)		
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) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 435/7.1; 506/9; 506/14; 530/387.3; 536/23.53; 536/23.5 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	DOUTHWAITE et al. "Affinity maturation of a novel antagonistic human monoclonal antibody with a long VH CDR3 targeting the Class A GPCR formyl-peptide receptor 1," mAbs, 01 January 2015 (01.01.2015), Vol. 7, Iss. 1, Pgs. 152-166. entire document	6-9, 12-15, 17, 20-22, 25-28 6, 10, 11, 16, 18, 19, 23, 24, 34, 35
X -- Y	US 2017/0253644 A1 (VIB VZW et al) 07 September 2017 (07.09.2017) entire document	29-33, 36 19
Y	US 2017/0066844 A1 (DISTRIBUTED BIO, INC.) 09 March 2017 (09.03.2017) entire document	6, 16, 18, 19, 34, 35
Y	US 2013/0164308 A1 (RINAT NEUROSCIENCE CORP. et al) 27 June 2013 (27.06.2013) entire document	10, 11, 23, 24
A	WO 2016/173719 A1 (ABCHECK S.R.O. et al) 03 November 2016 (03.11.2016) entire document	1-36
A	JO et al. "Engineering therapeutic antibodies targeting G-protein-coupled receptors," Exp Mol Med, 05 February 2016 (05.02.2016), Vol. 48, e207, Pgs. 1-9. entire document	1-36
A	WO 2016/161244 A2 (THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE) 06 October 2016 (06.10.2016) entire document	1-36
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* 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 "T" 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 20 November 2018		Date of mailing of the international search report 11 JAN 2019
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/050511

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☐ forming part of the international application as filed:
☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 2420-2436 were searched.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I		テーマコード (参考)	
<i>C 4 0 B 40/10 (2006.01)</i>	C 4 0 B	40/10		
<i>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</i>	A 6 1 K	39/395	N	
<i>A 6 1 P 3/04 (2006.01)</i>	A 6 1 K	39/395	D	
<i>A 6 1 P 3/10 (2006.01)</i>	A 6 1 P	3/04		
	A 6 1 P	3/10		

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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

F ターム(参考) 4B065 AA87X AA87Y AA90X AA90Y AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA19
CA24 CA25 CA44
4C085 AA14 AA16 BB41 BB43 BB44 EE01
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA50 DA75 DA76 EA20 FA74