



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202136285 A

(43)公開日：中華民國 110 (2021) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：110105419

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 17 日

(51)Int. Cl.：

*C07K14/315 (2006.01)**A61K39/09 (2006.01)*

(30)優先權：2020/02/18 美國

62/977,886

2020/04/22 美國

63/013,924

2020/10/09 美國

63/090,069

2020/12/09 美國

63/123,293

(71)申請人：美商 V A X C Y T E 公司 (美國) VAXCYTE, INC. (US)

美國

(72)發明人：費爾曼 杰弗里 C FAIRMAN, JEFFERY C. (US)；卡普爾 內拉吉 KAPOOR, NEERAJ (IN)；戴維 彼得 T DAVEY, PETER T. (US)；塞德拉 安吉 A SEDRA, ANGIE A. (CA)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：57 項 圖式數：37 共 450 頁

(54)名稱

含有多醣-蛋白質結合物之 A 型鏈球菌免疫原性組合物

(57)摘要

本發明提供包含 A 型鏈球菌(Group A Streptococcus, GAS)多肽抗原及至少一種多肽-多醣結合物之免疫原性組合物。本發明進一步提供使用該等組合物在個體中誘導針對 GAS 感染之免疫反應之方法。

The present disclosure provides immunogenic compositions comprising Group A Streptococcus (GAS) polypeptide antigens and at least one polypeptide-polysaccharide conjugate. The present disclosure further provides methods of using such compositions to induce immune responses against GAS infections in subjects.

指定代表圖：





202136285

【發明摘要】

【中文發明名稱】

含有多醣-蛋白質結合物之A型鏈球菌免疫原性組合物

【英文發明名稱】

GROUP A STREP IMMUNOGENIC COMPOSITIONS WITH
POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES

【中文】

本發明提供包含A型鏈球菌(Group A Streptococcus , GAS)多肽抗原及至少一種多肽-多醣結合物之免疫原性組合物。本發明進一步提供使用該等組合物在個體中誘導針對GAS感染之免疫反應之方法。

【英文】

The present disclosure provides immunogenic compositions comprising Group A Streptococcus (GAS) polypeptide antigens and at least one polypeptide-polysaccharide conjugate. The present disclosure further provides methods of using such compositions to induce immune responses against GAS infections in subjects.

【指定代表圖】

圖9

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

含有多醣-蛋白質結合物之A型鏈球菌免疫原性組合物

【英文發明名稱】

GROUP A STREP IMMUNOGENIC COMPOSITIONS WITH
POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES

【技術領域】

【0001】本申請案係關於微生物學及疫苗研發之領域。

【先前技術】

【0002】A型鏈球菌(Group A Streptococcus, GAS)係每年在全世界引起700百萬例咽炎(「鏈球菌性咽喉炎」)之主要人類病原體，且嚴重侵襲性感染、敗血症、壞死性筋膜炎、中耳炎及中毒性休克症候群之病例日益增加。咽炎於學齡兒童中高度流行且係全世界抗生素處方之主要來源，此在整個人類微生物菌群中引起抗性之選擇壓力。GAS亦造成感染後免疫介導之風濕性心臟病(RHD)，該疾病係發展中國家中之主要死亡病因。當前大約30百萬人受RHD影響，其中每年超過300,000人死亡(60% < 70歲)且損失11.5百萬失能調整後生命年。

【發明內容】

【0003】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含第一A型鏈球菌(GAS)多肽抗原；第二GAS多肽抗原；及至少一種多肽-多醣結合物，其中結合多肽係第三GAS多肽抗原或非GAS載體多肽且包含至少一種非天然胺基酸(nnAA)，且其中結合多醣係GAS多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0004】 在一些實施例中，GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原。在一些實施例中，GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原之肽片段。在一些實施例中，第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35及Sfb1。在一些實施例中，第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO。

【0005】 在一些實施例中，C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之胺基酸序列。在一些實施例中，C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0006】 在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ

ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列。

【0007】在一些實施例中，非GAS載體多肽係鐵蛋白。在一些實施例中，第三GAS多肽抗原或非GAS載體多肽係選自釀膿鏈球菌(*Streptococcus pyogene*)黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、SEQ ID NO: 25及蛋白質D。在一些實施例中，第三GAS多肽抗原係SLO。

【0008】在一些實施例中，至少一種nnAA取代結合多肽中之離胺酸、白胺酸或異白胺酸。在一些實施例中，至少一種nnAA取代結合多肽中之離胺酸、白胺酸、精胺酸或異白胺酸。在一些實施例中，nnAA包含點擊化學反應性基團。在一些實施例中，nnAA係選自2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。在一些實施例中，nnAA係pAMF。

【0009】在一些實施例中，結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SpyAD多肽在SEQ ID NO: 9之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD多肽包含SEQ ID

NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。在一些實施例中，結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SpyAD多肽在SEQ ID NO: 33之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0010】在一些實施例中，結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，ADI多肽在SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。在一些實施例中，結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，ADI多肽在SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36之胺基酸序列。

【0011】在一些實施例中，結合多肽係鐵蛋白多肽且包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，鐵蛋白多肽在SEQ ID NO: 21之位置I5處包含pAMF取代。在一些實施例中，鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0012】在一些實施例中，結合多醣包含聚鼠李糖核心。在一些實施例中，結合多醣具有約5 kDa至約7 kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣係四聚體、六聚體、八聚體或十聚體多醣。在一些實施例中，結合多醣具有約10 kDa至40 kDa之平均分子量。

【0013】 在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0014】 在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含精胺酸去亞胺酶(ADI)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。在一些實施例中，ADI多肽包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。在一些實施例中，ADI多肽包含與列SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0015】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。在一些實施例中，鐵蛋白包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列且在位置I5處包含pAMF取代。在一些實施例中，鐵蛋白包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0016】在一些實施例中，該組合物包含約10%至約50%之第一GAS抗原、約10%至約50%之第二GAS抗原及約10%至約50%之多肽-多醣結合物。在一些實施例中，該組合物進一步包含一或多種選自明礬、皂素、單磷醯基脂質A (MPL)或其組合之佐劑。在一些實施例中，該組合物包含Alhydrogel。

【0017】在一些實施例中，本發明提供在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向個體投與本文所闡述之免疫原性組合物。

【0018】在一些實施例中，個體為18歲或更年長。在一些實施例中，個體小於18歲。在一些實施例中，個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0019】在一些實施例中，GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之血清型。在一些實施例中，GAS細菌係選自M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之血清型。在一些實施例中，GAS細菌係選自M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之血

清型。在一些實施例中，GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之血清型。在一些實施例中，GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之血清型。在一些實施例中，GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之血清型。

【0020】在一些實施例中，免疫原性組合物在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之抗體反應且並不在個體中誘導針對人類組織之抗體反應。在一些實施例中，免疫原性組合物在個體中誘導針對志賀桿菌(*Shigella*)細菌之保護性免疫反應，其中志賀桿菌細菌包含具有聚鼠李糖主鏈之多醣。

【0021】在一些實施例中，本發明提供在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向個體投與本文所闡述之免疫原性組合物。在一些實施例中，本發明提供本文所闡述之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應。在一些實施例中，本發明提供本文所闡述之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之藥劑。在一些實施例中，個體為18歲或更年長。在一些實施例中，個體小於18歲。在一些實施例中，個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【圖式簡單說明】

【0022】圖1A及圖1B展示用於與GAS多醣一起製備結合物之天然多肽抗原及含有非天然胺基酸之多肽抗原之表現含量。

【0023】圖2展示與採血前對照相比多肽抗原-及多肽-多醣結合物免疫化血清之效價。

【0024】圖3A、圖3B、圖3C、圖3D及圖3E展示免疫血清與免疫前血清對照相比之抗體效價及IgG結合變化。

【0025】圖3F展示兔IgG與SpyAD敲除性GAS之結合，從而證實了與天然GAC之結合。

【0026】圖4展示免疫血清與免疫前血清對照相比之增加之殺死能力。

【0027】圖5A、圖5B、圖5C、圖5D、圖5E及圖5F展示主動免疫化實驗之結果，包括抗體效價、病灶大小及細菌負荷以及存活百分比。

【0028】圖6A及圖6B展示經受腹膜腔內攻擊之小鼠在被動免疫化後之存活百分比數據。

【0029】圖7展示經受真皮下攻擊之小鼠在被動免疫化後之病灶大小及細菌負荷數據。

【0030】圖8展示針對福氏志賀桿菌(*S. flexneri*) 2a OPS之免疫血清之ELISA效價分析。

【0031】圖9展示使用DBCO-PEG₄-NH₂衍生GAC且隨後結合至經pAMF修飾之SpyAD之一般反應圖。

【0032】圖10展示經純化天然GAC、經純化天然SpyAD[4pAMF]及其經純化多肽-多醣結合物之SEC MALS分析。

【0033】圖11展示評價抗原特異性抗血清與人類心臟溶解物之交叉反應性之西方墨點(Western blot)分析。

【0034】圖12係所選抗原之片段序列之圖示。

【0035】圖13展示所選抗原之對比性表現數據。

【0036】圖14展示所選單一及雙重SLO突變體與GFP相比之表現數據。

【0037】圖15係截短SLO序列與非截短SLO序列相比之圖示。

【0038】圖16展示截短SLO變體之表現含量(總體及可溶性)。

【0039】圖17展示藉由HisTrap管柱層析獲得之所捕獲肽片段之純度。

【0040】圖18展示所選表現肽在TEV裂解及HisTrap純化之後之純度。

【0041】圖19展示藉由粒徑篩析層析獲得之表現肽之純化結果。

【0042】圖20展示所選SLO片段在兔中之免疫原性之活體內評價。

【0043】圖21展示在OPK分析中使用來自模擬及肽組合免疫化小鼠之血清來調理GAS。

【0044】圖22A、圖22B及圖22C展示經模擬品或肽組合免疫化之野生型CD-1小鼠之真皮內攻擊(使用M1 89155 GAS)的結果(包括病灶大小及GAS負荷數據)。

【0045】圖23展示用以評價針對SLO變體之功能抗體之存在之紅血球溶血分析的結果。

【0046】圖24A、圖24B及圖24C展示不同人類嗜中性球血清型在來自免疫化兔之免疫血清存在下之GAS調理吞噬性殺死、抗血清之溶解阻斷及暴露於含有SLO之GAS上清液之人類嗜中性球的氧化爆發能力。

【0047】圖25A及圖25B展示免疫血清與其他GAS血清型表面抗原之差異性IgG結合。

【0048】圖26展示10種含有pAMF之SLO多肽變體之表現。

【0049】圖27A及27B展示在兩個純化步驟期間SLO變體之SDS-PAGE分析。

【0050】圖28展示SLO變體與DBCO-GAC之結合條件。

【0051】圖29展示3-及4-pAMF變體SLO變體結合物之SDS-PAGE分析。

【0052】圖30展示3-及4-pAMF變體SLO變體結合物之SEC-MALS數據。

【0053】圖31A及圖31B展示在使用利用所選SLO(Δ C101)變體作為載體蛋白製得之結合物實施免疫後小鼠之抗體效價及使用自利用彼等相同變體所製得結合物接種疫苗之小鼠生成之抗血清的溶血分析結果。圖31C展示在使用利用所選SLO(Δ C101)變體製得之結合物且使用長多醣作為ELISA中之包被抗原實施免疫後小鼠之抗體效價。

【0054】圖32展示SpyAD[4pAMF]及長多醣之結合物之SEC-MALS數據。

【0055】圖33A及圖33B展示22個具有3-8個pAMF之SLO變體之表現含量及含有5-8個pAMF之經純化變體的相應凝膠。

【0056】圖34展示具有長GAC之5-及6-pAMF變體SLO結合物之SDS-PAGE分析。

【0057】圖35展示具有長GAC之5-及6-pAMF變體SLO結合物之SEC-MALS數據。

【0058】圖36A、圖36B及圖36C展示源自表現缺乏GlcNAc之PS之GAS細菌菌株之經純化多醣的NMR分析。

【0059】圖37展示證實在如實例19中所闡述純化時自多醣去除M蛋白之西方墨點。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0060】本申請案主張以下申請案之益處：2020年2月18日提出申請之美國臨時申請案第62/977,886號；2020年4月22日提出申請之美國臨時申請案第63/13,924號；2020年10月9日提出申請之美國臨時申請案第63/090,069號；及2020年12月9日提出申請之美國臨時申請案第63/123,293號，該等申請案之揭示內容之全部內容以引用方式併入本文中。

政府權益之聲明

【0061】本發明在美國政府支持下以CARB-X納稅穿透實體(CARB-X Pass Through Entity)下之由衛生與公共服務部防備與響應助理部長辦公室(Health and Human Services Office of the Assistant Secretary for Preparedness and Response, HHS/ASPR)授予之許可號93.360 (子受方4500003905)來獲得。政府擁有本發明之某些權利。

概述

【0062】儘管全球高度需要，但並無針對GAS之安全且有效之商業疫苗。該病原體之特徵為接種疫苗帶來特殊挑戰，包括其不變之透明質酸(遍佈於結締組織中之一種免疫學惰性碳水化合物)莢膜。另外，免疫顯性表面錨定性GAS M蛋白高度多型(>200個*emm*類型)，且其二聚體捲曲螺旋結構之區域可在風濕性心臟病(RHD)中激起針對心臟組織之自體免疫反應。世界衛生組織(World Health Organization)、國際疫苗研究院

(International Vaccine Institute)、維康信託基金會(Wellcome Trust)、蓋茨基金會(Gates Foundation)及其他機構最近召開關於GAS疫苗研發之諮詢會以解決該等重大科學挑戰且滿足此至關重要之全球性衛生需求。

A型鏈球菌

【0063】A型鏈球菌(GAS)細菌係革蘭氏陽性(Gram positive)、 β -溶血性鏈球菌。其在人類中引起多種疾病。該等疾病包括鏈球菌性咽喉炎(極性咽炎)、中耳炎及皮膚與軟組織感染(例如膿疱病及蜂窩組織炎)。該等疾病亦可包括稀有病例之侵襲性(嚴重)病況，例如壞死性筋膜炎(食肉病)及中毒性休克症候群(TSS)。若干毒性因子有助於GAS之發病，例如M蛋白、溶血素及細胞外酶。

【0064】GAS疫苗學已主要著眼於細胞壁錨定性M蛋白。在歷史研究中，向人類志願者投與粗製全M蛋白製劑，隨後使用活GAS細菌在咽中進行攻擊。儘管該等製劑降低了GAS定殖，但在一些免疫化個體中報導了增加之急性風濕熱(ARF)發生率。迄今為止，以下兩種N-末端M蛋白疫苗製劑已達到人類臨床試驗：六價製劑(Dale JB. 1999. Vaccine, 17:193-200；Kotloff等人，2004. JAMA 292:709-715；Hall等人，2004. Infect. Immun. 72:2507-2512)及26價製劑(Hu等人，2002. Infect. Immun. 70:2171-2177；McNeil等人，2005. Clin. Infect. Dis. 41:1114-1122)。該等製劑在成人志願者中充分耐受。最近以來，研發了類似多價疫苗，包括代表30種GAS血清型之N-末端肽(Dale等人，2011. Vaccine 29:8175-8178.)。針對此實驗疫苗所產生之血清展現針對所有30種疫苗血清型以及24種(測試40種)非疫苗血清型之殺細菌活性。儘管該等製劑已展示能夠抵抗所選非疫苗血清型，但其並不抵抗所有全球性傳播之血清型(Abdissa等

人，2006. Clin. Infect. Dis. 42:1362-1367；Ikebe等人，Working Group for β -Haemolytic Streptococci in Japan. 2007. 2001-2005. Epidemiol. Infect. 135:1227-1229；Nir-Paz等人，2010. Epidemiol. Infect. 138:53-60；Steer等人，2009. Lancet Infect. Dis. 9:611-616；O'Loughlin等人，2007. Clin. Infect. Dis. 45:853-862)。所包括之30種血清型係基於盛行於北美洲及歐洲者(Dale JB等人，2011. Vaccine **29**:8175-8178.)，其通常不同於在流行區分離之各種血清型。最近已報導使用GAS蛋白及蛋白質-GAC結合物作為疫苗(Di Benedetto, R.等人，2020. J. Mol. Sci.第22期: 8558)，但該等物質使用可破壞載體蛋白及PS主鏈上之B/T細胞表位之非特異性結合方法。另外，亦使用含有潛在交叉反應性GlcNAc免疫顯性表位之天然GAC來製備該等結合物。

【0065】因此，業內需要針對GAS之改良疫苗。

組合疫苗

【0066】在一些實施例中，本發明提供包含兩種或更多種GAS多肽抗原及多肽-多醣結合物之免疫原性組合物。為清楚起見，在本文所闡述之組合物中，每一多肽係不同的。舉例而言，在包含第一多肽抗原、第二多肽抗原及第三多肽抗原或多肽-多醣結合物之組合物中，第一多肽、第二多肽及第三多肽具有不同序列。

GAS抗原

【0067】在一些實施例中，本發明之免疫原性組合物包含兩種或更多種GAS多肽抗原。在一些實施例中，GAS多肽抗原係選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、鏈球菌免疫球蛋白結合蛋白35 (Sib35)及纖維蛋白結合蛋白F1 (Sfb1)。在一些實施例中，GAS多肽抗原係選自C5a肽酶、鏈

球菌溶血素O (SLO)、鏈球菌免疫球蛋白結合蛋白35 (Sib35)、纖維蛋白結合蛋白F1 (Sfb1)以及黏附及分裂多肽(SpyAD)。該等GAS抗原中之每一者之UniProt參考鑑別符提供於下文之表1中。

表1：實例性GAS抗原之UniProt參考

抗原	UniProt Ref
C5a	P15926
SLO	P0C0I3
Sib35	Q1XG74
Sfb1	Q48VN7

【0068】 在一些實施例中，GAS多肽抗原包含全長多肽抗原序列。在一些實施例中，GAS多肽抗原包含全長多肽抗原序列之片段。舉例而言，在一些實施例中，免疫原性組合物包含C5a GAS多肽抗原，其中C5a多肽係全長C5a多肽之片段。在一些實施例中，C5a片段包含全長蛋白之胺基酸90-1035 (例如包含SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30)。在一些實施例中，免疫原性組合物包含SLO GAS多肽抗原，其中SLO多肽係全長SLO多肽之片段。在一些實施例中，SLO片段包含全長蛋白之胺基酸79-571 (例如包含SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32)。

【0069】 在一些實施例中，GAS多肽抗原在野生型胺基酸序列中包含一或多個胺基酸突變。舉例而言，在一些實施例中，免疫原性組合物包含C5a GAS多肽抗原，其中C5a多肽包含一或多個胺基酸突變。在一些實施例中，胺基酸突變係D131A及S513A (例如SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 30)。在一些實施例中，免疫原性組合物包含SLO GAS多肽抗原，其中SLO多肽包含一或多個胺基酸突變。在一些實施例

中，胺基酸突變係W535A (例如SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 32)。

【0070】實例性GAS抗原之胺基酸序列提供於下文之表2中。突變胺基酸係以加粗體文字來指示。在一些實施例中，加下劃線及斜體之胺基酸係自成熟GAS抗原所裂解。

表2：實例性GAS抗原

抗原	胺基酸序列	SEQ ID:
SLO [79-571 片段] WT，具有His標籤及TEV序列	<u>MHHHHHHGSGENLYFQG</u> APKEMPL ESAEKEEKKSE DKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLA KNGETIE NFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDS V TDRTPAALQLANKGFTENKPDAVVTKRNPQKIHI DLPGMGDKATVEVNDPTYANVST AIDNLVNQWH DNYSGGNTL PARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSK ILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLP NNPADVFDKSVTFKELQRKGV SNEAPPLFVSNVAY GRTVFVKLETSSKSNDVEAAFS AALKGTDVKTNG KYSDILENSSFTAVVLGGDA AEHNKVVTKDFDVIR NVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNR TEYVETTSTEYTS GKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANS RNIRIMARECTGLAWEWWRKVIDERDVKLSKEINV NISGSTLSPYGSITYK	5

SLO [79-571 片 段] W535A ， 具 有前導序列	<u>MHHHHHHGSGENLYFQG</u> APKEMPLES AEKEEKKSE DKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLA KNGETIE NFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSV TDRTYPAALQLANKGFTENKPDAVVTKRNPQKIHI DLPGMGDKATVEVNDPTYANVST AIDNLVNQWH DNYSGGNTL PARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSK ILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLP NNPADVFDKSVTFKELQRKGVSN EAPPLFVSNVAY GRTVFVKLETSSKSNDVEAAFS AALKGTDVKTNG KYSDILENSSFTA VVLGGDAAEHNKV VTKDFDVIR NVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNR TEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANS RNIRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEINV NISGSTLSPYGSITYK	7
SLO(ΔC101) 片 段 W535A ， 不 具有前導序 列且具有來 自裂解之G懸 突	GAPKEMPLES AEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKI YSLNYNELEVLA KNGETIENFVPKEGVKKADKFIVI ERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANKGF TENKPDAVVTKRNPQKIHI DLPGMGDKATVEVNDP TYANVST AIDNLVNQWHDNYSGGNTL PARTQYTE SMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEK KVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKEL QRKGVSN EAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSND VEAAFS AALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTA VVLG GDAAEHNKV VTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYP ISYTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSGKIN LSHQ	53

C5a [90-1035 片段] WT， 具有前導序 列	<u>MHHHHHHGSGENLYFQG</u> KTADTPVTSKATIRDLND PSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIDAGFDKNHEAWR LTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKV AYYHDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSET KEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYA QAIRDAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKK AFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFSGGKTRLPLADHPD YGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETATVKTA DKQDKEMPVLSTNRFEPNKA YDYAYANRGMKED DFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKKAGAVGVL IYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNP KKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIK PDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSM SAPLVAGI MGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMS SATA LYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVT DKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQEL YYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPA NSSKQVTVPIDASRFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRF KQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKD GSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALT TESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAK QDDDSHYIHRHANGKP YAAISPNGDGNRDYVQF QGTFLRNAKNLVAEVL DKEGNVVWTSEVTEQVVK NYNNDLASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANG TYTYRVRYP TPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVATS ATFSTEDRRLTLASKPKTSQP VYRERIA YTYMDED LPTTEYISP NEDGTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDF TYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK	1
---------------------------------------	--	---

C5a [90-1035 片 段] D131A/S513 A，具有前導 序列	<u>MHHHHHHGSGENLYFQG</u> KTADTPVTSKATIRDLND PSQVKTLQEKAGKGAGTVVA VIAAGFDKNHEAWR LTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKV A YYHDYSKD GKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSET KEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYA QAIRDAVN LGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKK AFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPD YGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETATVKTA DKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKED DFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKKAGAVGVL IYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNP KKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIK PDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTAMSAPLVAGI MGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSATA LYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVT DKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQEL YYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPA NSSKQVTVPIDASRFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRF KQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKD GSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALT TESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAK QDDDSHYIHRHANGKPYYAAISPNGDGNRDYVQF QGTFLRNAKNLVAEVL DKEGNV VWTSEVTEQVVK NYNNDLASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANG TYTYRVRYP TPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVATS ATFSTEDRRLTLASKPKTSQP VYRERIA YTYMDED LPTTEYISP NEDGTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDF TYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK	3
---	--	---

【0071】上文表2及本發明其他處中之殘基位置係指根據全長序列中之殘基位置(例如如藉由參照UniProt序列資料庫在表1及3中所鑑別)用於

鑑別由nnAA修飾之片段及/或離胺酸殘基(例如某些離胺酸殘基之pAMF代替)的殘基編號。

【0072】 在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有與SEQ ID NO: 1-4中之任一者至少95%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成之C5a GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有與SEQ ID NO: 29-30中之任一者至少95%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成之C5a GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列或由其組成之C5a GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有SEQ ID NO: 29-30中之任一者之胺基酸序列或由其組成之C5a GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有與SEQ ID NO: 5-8中之任一者至少95%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成之SLO GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53中之任一者至少95%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成之SLO GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有SEQ ID NO: 5-8中之任一者之胺基酸序列或由其組成之SLO GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列或由其組成之SLO

GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有與SEQ ID NO: 10或33至少95%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成之SpyAD GAS多肽抗原。在一些實施例中，免疫原性組合物包含含有SEQ ID NO: 10或33之胺基酸序列或由其組成之SpyAD GAS多肽抗原。

多肽-多醣結合物

【0073】 在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物包含至少一種多肽-多醣結合物。多肽-多醣結合物包含結合多肽(亦稱為載體蛋白)及在一或多個胺基酸位置處結合至結合多肽之多醣。在一些實施例中，結合多肽係選自SpyAD、ADI、SEQ ID NO: 25、鐵蛋白及蛋白質D。實例性結合多肽之UniProt參考鑑別符提供於下文之表3中。

表3：實例性結合多肽之UniProt及CAS參考

抗原	UniProt (或CAS) Ref
SpyAD	Q9A1H3
ADI	P0C0B3
蛋白質D	R4R7Q5
鐵蛋白	P02792
CRM197	(CAS: 1272033-67-6)

【0074】 在一些實施例中，結合多肽包含全長多肽抗原序列。在一些實施例中，結合多肽包含全長多肽序列之片段。舉例而言，在一些實施例中，免疫原性組合物包含多肽-多醣結合物，其中結合多肽係SpyAD且係全長SpyAD多肽之片段(例如SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10)。在一些實施例中，SpyAD片段包含全長蛋白之胺基酸33-849 (例如包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10)。在一些實施例中，免疫原性組合物包含多肽-多醣結合物，其中結合多肽係ADI且係全長ADI多肽之片段(例如包含SEQ

ID NO: 13或SEQ ID NO: 14)。在一些實施例中，免疫原性組合物包含多肽-多醣結合物，其中結合多肽係鐵蛋白且係全長鐵蛋白多肽之片段(例如SEQ ID NO: 21或SEQ ID NO: 22)。

【0075】在一些實施例中，結合多肽在野生型胺基酸序列中包含一或多個胺基酸突變。舉例而言，在一些實施例中，結合多肽係SpyAD，其中SpyAD多肽包含一或多個胺基酸突變。在一些實施例中，結合多肽係ADI，其中ADI多肽包含一或多個胺基酸突變。在一些實施例中，胺基酸突變係D277A (例如SEQ ID NO: 15或SEQ ID NO: 16)。

【0076】在一些實施例中，結合多肽包含一或多個非天然胺基酸(nnAA)。在一些實施例中，一或多個nnAA包含點擊化學反應性基團。在本文中，「點擊化學反應性基團」係指能夠與第二點擊化學反應性基團發生點擊化學反應之部分(例如疊氮化物或炔烴)。在一些實施例中，一種點擊化學反應性基團與第二點擊化學反應性基團反應形成經取代三唑。此類點擊反應之實例可參見(例如)國際PCT公開案第WO 2018/126229號。用於生物醫學應用中之無金屬點擊反應之一般實例可參見(例如) Kim等人，*Chemical Science*, 2019, 10, 7835-7851。包含點擊化學反應性基團之nnAA之實例包括2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。在一些實施例中，結合多肽包含一或多個nnAA，其中每一nnAA係pAMF。

【0077】實例性結合多肽之胺基酸序列提供於下文之表4中。適於經

nnAA取代之位點係加粗體及加下劃線之字體來指示。在一些實施例中，加下劃線及斜體之胺基酸係在產生期間自成熟蛋白質所裂解。

表4：實例性載體蛋白

蛋白質	胺基酸序列	SEQ ID:
ADI [全長] WT，具有前導序列	<u>MHHHHHHGSGENLYFQGT</u> AQTPIHVYSEIG K LKKV LLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHD AFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEY LSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGV QKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPF AIDPMPNLYFT RDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYG K YIFTHHP IYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDV LAV GISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEFANN RKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTY DNEELHIVEE K GDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITN AILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRC MSMPFERED I	13

蛋白質	胺基酸序列	SEQ ID:
ADI [全長] D277A，具有 前導序列	<u>MHHHHHHGSGENLYFQ</u> GTAQTPIHVYSEIG <u>K</u> LKKV LLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHD AFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEY LSEANIRGRATKKAIARELLMAIEDNQELIEKTMAGV QKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFT RDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYG <u>K</u> YIFTHHP IYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDV LAV GISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLA FE FANN RKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTY DNEELHIVEE <u>K</u> GDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITN AILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFERED I	15

蛋白質	胺基酸序列	SEQ ID:
SpyAD [33-849 片 段] WT，具有前導序列	<u>MHHHHHHGSGENLYFOG</u> QVKADDRASGETKASNT HDDSLPKPETIQEAKATIDAVEKTLSQQKAELTELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKAL TSAQEITYNTL ASSEETLLAQGAEHQRELTATETELHNAQADQHSK ETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLE NQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAELSRLKSS APSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASGYIG SASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADR NRFVDPDNLTPEVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLP PVTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQP GVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYEN IGAFNDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTY GHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGS LNEHFV MFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVS DTIAA IKGKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQL QGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAA KAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQ AAARVTALVAKKAHLQYLRDFKLNPNRLQVIRERI DNTKQDLAKTTSSLLNAQEAL AALQAKQSSLEATI ATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVA PPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASAR LAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQ PSSKTSYSGSGSSTTSNLISDVDESTQR	9

蛋白質	胺基酸序列	SEQ ID:
hFL [全長] WT，具有前 導序列	<u>MHHHHHHGSGSSQ</u> IRQNYSTDVEAAVNSLVNLYL QASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAECKR EGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTP DAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLC DFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGL GEYLFERLTLKHD	21
eCRM- pAMF6 突變 體	MGADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTKPGYVDSIQX GIQKPKSGTQGNYYYYDWKEFYSTDNKKYDAAGYSV DNENPLSGKAGGVVKVTYPGLTKVLALKVDNAET IKKELGLSLTEPLMEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLS LPFAEGSSSVEYINNWEQAKALSVELEINFETRGRK GQDAMYEYMAQACAGNRVRNSVGSSLSCINLDW DVIRDXTKTKIESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEEK AXQYLEEFHQTALEHPELSELXTVTGTNPVFAGAN YAAWAVNVAQVIDSETADNLEKTTAALSILPGIGS VMGIADGAVHHNTEEIVAQSIALSSLMVAQAIPV GELVDIGFAAYNFVESIINLFQVVHNSYNRPAYSPG HXTQPFLHDGYAVSWNTVEDSIIRTGFQGESGHI KITAENTPLPIAGVLLPTIPGKLDVNKSKTHISVNGR KIRMRCRAIDGDVTFCRPKSPVYVGNGVHANLHV AFHRSSEKIHNSNEISSDSIGVLGYQKTVDHTEKVNS XLSLFFEIKS	25

【0078】 在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且在SEQ ID NO: 9之位置K64、K287、K396及K657處包含4個nnAA取代。在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且在SEQ ID NO: 33之位置K64、K287、K396及K657處包含4個nnAA取代。在一些實施例中，4個nnAA各自係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且包含與SEQ ID NO: 11或SEQ ID NO: 12

至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，4個nnAA各自係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且包含與SEQ ID NO: 34至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且包含SEQ ID NO: 11或SEQ ID NO: 12之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成。

【0079】 在一些實施例中，結合多肽係ADI且在SEQ ID NO: 13之位置K15、K193及K316處包含三個nnAA取代。在一些實施例中，結合多肽係ADI且在SEQ ID NO: 35之位置K15、K193及K316處包含三個nnAA取代。在一些實施例中，三個nnAA各自係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係ADI且包含與SEQ ID NO: 17、18、19或20中之任一者至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，三個nnAA各自係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係SpyAD且包含與SEQ ID NO: 26、27、37或38中之任一者至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係ADI且包含SEQ ID NO: 17、18、19或20中之任一者之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係ADI且包含SEQ ID NO: 26、27、37、38中之任一者之胺基酸序列或由其組成。

【0080】 在一些實施例中，結合多肽係SLO多肽。在一些實施例中，結合多肽係SLO(Δ C101)且在選自SEQ ID NO: 53之K98、K112、R151、K189、K272、K323、K357、K375、K407及K464之位置處包含三個或四個nnAA取代。在一些實施例中，結合多肽係SLO(Δ C101)且包

含在以下位置處經取代之nnAA或由其組成：位置K98、R151、K272及K357；位置K112、K189、K323及K375；位置R151、K272、K357及K407；位置R151、K272、K375及K464；位置K112、K272、K357及K464；位置K98、K189及K357；位置K112、K189及K323；位置K98、R151及K272；位置K112、K272及K375；或位置K112、K323及K407。在一些實施例中，三個或四個nnAA各自係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係SLO多肽且包含與SEQ ID NO: 55、56、57、58、59、60、61、62、63或64中之任一者至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係SLO多肽且包含SEQ ID NO: 55、56、57、58、59、60、61、62、63或64中之任一者之胺基酸序列或由其組成。

【0081】在一些實施例中，結合多肽係SLO多肽。在一些實施例中，結合多肽係SLO(Δ C101)且在選自SEQ ID NO: 53之K98、K112、R151、K189、K272、K323、K357、K375、K407及K464之位置處包含5、6、7或8個nnAA取代。在一些實施例中，結合多肽係SLO(Δ C101)且包含在以下位置處經取代之nnAA或由其組成：位置K98、R151、K272、K357及K407；位置K112、K189、K323、K375及K464；位置K112、R151、K272、K357及K407；位置K98、R151、K272、K357、K407及K464；位置K112、R151、K189、K323、K375及K464；位置K98、K112、K189、K323、K375及K464；位置K112、R151、K189、K272、K357、K407及K464；位置K98、R151、K189、K323、K375、K407及K464；位置K112、K189、K272、K357、K375、K407及K464；位置K98、K112、R151、K189、K272、K323、K357及K375；位置K98、

R151、K189、K272、K323、K357、K407及K464；或位置K112、K189、K272、K323、K357、K375、K407及K464。在一些實施例中，5、6、7或8個nnAA各自係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係SLO多肽且包含與SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75或76中之任一者至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係SLO多肽且包含SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75或76中之任一者之胺基酸序列或由其組成。

【0082】在一些實施例中，結合多肽係鐵蛋白且在SEQ ID NO: 21之位置I5處包含一個nnAA取代。在一些實施例中，nnAA係pAMF。在一些實施例中，結合多肽係鐵蛋白且包含與SEQ ID NO: 23或SEQ ID NO: 24至少95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，結合多肽係ADI且包含SEQ ID NO: 23或SEQ ID NO: 24或由其組成。

多醣

【0083】在一些實施例中，結合多醣係GAS多醣，例如A型碳水化合物(GAC)。GAC係由聚鼠李糖主鏈與免疫顯性GlcNAc側鏈構成並存在於所有GAS血清型菌株之表面上(不論M類型如何)，且已作為GAS候選疫苗進行檢驗。結合多醣可定義為結合物之多醣組分。經親和純化之抗GAC抗體成功地調理了三種所測試GAS血清型(Salvadori等人，1995. J. Infect. Dis. 171:593-600.)，且經GAC免疫化之小鼠可抵抗腹膜腔內及鼻內GAS攻擊(Sabharwal等人，2006. J. Infect. Dis. 193:129-135)。然而，抗GAC抗體與宿主心臟瓣膜蛋白(Goldstein等人，1967. Nature 213:44-

47)及細胞骨架蛋白(例如肌動蛋白、角蛋白、肌球蛋白及波形蛋白)之間之免疫學交叉反應性會引發關於使用GAC作為GAS疫苗組分之重要潛在安全性問題。

【0084】在一些實施例中，可改造釀膿鏈球菌細菌細胞以產生多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。因此，在一些實施例中，結合多醣係缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈之GAC變體(例如參見國際PCT公開案第WO 2013/020090號、美國專利第10,780,155號及Gao, N. J.等人，2020年12月29日，Infectious Microbes and Diseases, doi: 10.1097/IM9.0000000000000044)。在一些實施例中，結合多醣係包含聚鼠李糖核心之GAC。在一些實施例中，結合多醣具有約3kDa至約10kDa、約5kDa至約10kDa、約9kDa至約10kDa、約9kDa至約10kDa、約3kDa至約9kDa、約3kDa至約7kDa、約3kDa至約5kDa、約5kDa至約9kDa或約5kDa至約7kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣具有約3kDa、4kDa、5kDa、6kDa、7kDa、8kDa、9kDa或約10kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣係四聚體、五聚體、六聚體、七聚體、八聚體、九聚體或十聚體多醣。

【0085】在一些實施例中，結合多醣具有介於約10 kDa至約45 kDa之間之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣具有約10 kDa至約15 kDa、約15 kDa至約20 kDa、約20 kDa至約25 kDa、約25 kDa至約30 kDa、約30 kDa至約35 kDa或約35 kDa至約40 kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣具有約15 kDa至約40 kDa、約15 kDa至約35 kDa、約15 kDa至約30 kDa、約15 kDa至約25 kDa或約15 kDa至約45 kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣具有約20 kDa至約40

kDa、約20 kDa至約35 kDa、約20 kDa至約30 kDa或約20 kDa至約45 kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣具有約10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kD或約45 kDa之平均分子量。在一些實施例中，結合多醣具有至少約10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa或約35 kDa之平均分子量。

【0086】在一些實施例中，結合多醣係自GAS細菌培養物或細菌原液所純化。該純化之方法為業內已知，例如參見WO 2010/049806、國際PCT公開案第WO 2013/020090號及van Sorge等人，*Cell Host Microbe.*, 2014, 15(6), 729-740。亦參見實例1。在一些實施例中，結合多醣係合成多醣。多醣之合成方法為業內已知，例如參見Zhao等人，*Org. Chem. Front.*, 2019, 6, 3589-3596。亦參見實例3。在一些實施例中，使用點擊化學反應性基團修飾結合多醣以促進與結合蛋白之結合。點擊化學反應性基團之實例可參見(例如)國際PCT公開案第WO 2018/126229號，該公開案之全部內容以引用方式併入本文中。舉例而言，在一些實施例中，結合多醣經DBCO或DBCO-PEG (例如DBCO-PEG-NH₂)修飾。在一些實施例中，結合多醣經DBCO-(PEG)₄-NH₂修飾。

【0087】在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約50 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約100 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約200 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約500 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約1000 kDa之平均分子質量。在一

些實施例中，多肽-多醣結合物具有約100 kDa至約200 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約100 kDa至約300 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約100 kDa至約400 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約100 kDa至約500 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約100 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約500 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約1000 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約2000 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約3000 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約4000 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約1000 kDa至約3000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約1000 kDa至約2000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約2000 kDa至約3000 kDa之平均分子質量。在一些實施例中，多肽-多醣結合物具有約5000 kDa或更大之平均分子質量。

實例性組合疫苗

【0088】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含GAS C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SpyAD結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈之變體。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD

蛋白包含SEQ ID NO: 11或SEQ ID NO: 12之胺基酸序列。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 11或SEQ ID NO: 12之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成。

【0089】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含GAS C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SpyAD結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈之變體。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 32至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 44至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 45至少95%一致之胺基酸序列。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 46至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 47至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 48至少95%

一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 49至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 50至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 51至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 52至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列或由其組成。

【0090】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含GAS C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SpyAD結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈之變體。在一些實施例中，C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致之胺基酸序列或由其組成；SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列或由其組成；且SpyAD結合蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成。在一些

實施例中，C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列或由其組成；SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列或由其組成；且SpyAD結合蛋白包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列或由其組成且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。在一些實施例中，SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成。

【0091】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 52之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 32之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 29之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含：包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列或由其組成之C5a肽酶多肽抗原；包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列或由其組成之SLO

多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含含有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含：包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列或由其組成之C5a肽酶多肽抗原；包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列或由其組成之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含含有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含：包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列或由其組成之C5a肽酶多肽抗原；包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列或由其組成之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含含有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含：包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列或由其組成之C5a肽酶多肽抗原；包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列或由其組成之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含含有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列或由其組成之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0092】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含C5a肽酶多肽抗原；GAS SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含ADI結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈之變體。在一些實施例中，ADI多肽包含與SEQ ID NO: 13-16中之任一者至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 17-20中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，ADI多肽包含與SEQ ID NO: 35-36中之任一者至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置K15、K193及

K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 37-38中之任一者之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 17-20中之任一者之胺基酸序列或由其組成。在一些實施例中，ADI多肽包含與SEQ ID NO: 35-36中之任一者至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。在一些實施例中，ADI多肽包含SEQ ID NO: 37-38中之任一者之胺基酸序列或由其組成。

【0093】在一些實施例中，本發明提供一種免疫原性組合物，其包含C5a肽酶多肽抗原；GAS SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈之變體。在一些實施例中，鐵蛋白多肽包含與SEQ ID NO: 21或SEQ ID NO: 22至少95%一致之胺基酸序列或由其組成且在位置I5處包含pAMF取代。在一些實施例中，鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23或SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。在一些實施例中，鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23或SEQ ID NO: 24之胺基酸序列或由其組成。

治療方法

【0094】在一些實施例中，本發明提供在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向個體投與本文所闡述之免疫原性組合物。在某些實施例中，提供本文所闡述之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應。在一些實施例中，本文提供本文所闡述之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0095】在本文中，術語「個體」係指哺乳動物。在一些實施例

中，個體係小鼠、大鼠、狗、天竺鼠、綿羊、非人類靈長類動物或人類。在一些實施例中，個體係人類。在一些實施例中，人類個體為18歲或更年長。在一些實施例中，人類個體小於18歲。

【0096】 在一些實施例中，人類個體介於6個月齡與17歲之間。在一些實施例中，人類個體介於6個月齡與9歲之間、介於6個月齡與8歲之間、介於6個月齡與7歲之間、介於6個月齡與6歲之間、介於6個月齡與5歲之間、介於6個月齡與4歲之間、介於6個月齡與3歲之間、介於6個月齡與2歲之間或介於6個月齡與1歲之間。在一些實施例中，人類個體介於5歲與17歲之間、介於7歲與17歲之間、介於9歲與17歲之間、介於11歲與17歲之間、介於13歲與17歲之間或介於15歲與17歲之間。在一些實施例中，人類個體為6個月齡、1歲、2歲、3歲、4歲、5歲、6歲、7歲、8歲、9歲、10歲、11歲、12歲、13歲、14歲、15歲、16歲、17歲或18歲。

【0097】 在本文中，術語「保護性免疫反應」涵蓋在個體中誘發抗GAS抗體反應。可藉由業內已知方式來測定在投與本文所闡述之免疫原性組合物之後所生成之效價，例如藉由衍生自免疫化個體之血清試樣之ELISA分析(參見實例6)。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至多種(亦即兩種或更多種) GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至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或更多種GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物不誘發針對人類蛋白質或組織之抗體反應。

【0098】在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M18、M22、M25、M28、M62、M71、M72、M74、M75、M77、M80、M81、M83、M87、M89及M92之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M18、M22、M25、M28、M62、M71、M72、M74、M75、M77、M80、M81、M83、M87、M89及M92之GAS血清型。

【0099】在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之GAS血清型。

【0100】在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之GAS血清型。

【0101】在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療

個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之GAS血清型。

【0102】 在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之GAS血清型。

【0103】 在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之GAS血清型。

【0104】 在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至至少一種選自M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之GAS血清型。在一些實施例中，本文所闡述之

免疫原性組合物在所治療個體中誘發抗體反應，其中所生成抗體結合至兩種或更多種選自M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之GAS血清型。

【0105】在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發關於結合至一或多種志賀桿菌血清型之抗體反應。在一些實施例中，本文所闡述之免疫原性組合物在所治療個體中誘發關於結合至一或多種GAS血清型且亦結合至一或多種志賀桿菌血清型之抗體反應。在一些實施例中，志賀桿菌血清型包含含有聚鼠李糖主鏈之多醣。包含該等多醣之實例性志賀桿菌血清型包括福氏志賀桿菌，例如福氏志賀桿菌2A及3A以及福氏志賀桿菌6。

其他經編號實施例

【0106】本發明之其他實施例提供於下文之經編號實施例中：

【0107】實施例1：一種免疫原性組合物，其包含第一A型鏈球菌(GAS)多肽抗原；第二GAS多肽抗原；及至少一種多肽-多醣結合物，其中結合多肽係第三GAS多肽抗原或非GAS載體多肽且包含至少一種非天然胺基酸，且其中結合多醣係GAS多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0108】實施例2：如實施例1之免疫原性組合物，其中該等GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原。

【0109】實施例3：如實施例1之免疫原性組合物，其中該等GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原之肽片段。

【0110】實施例4：如實施例1至3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O

(SLO)、Sib35及Sfb1。

【0111】實施例5：如實施例1至3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO。

【0112】實施例6：如實施例5之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3至少95%一致之胺基酸序列。

【0113】實施例7：如實施例5之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之胺基酸序列。

【0114】實施例8：如實施例5之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7至少95%一致之胺基酸序列。

【0115】實施例9：如實施例5之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。

【0116】實施例10：如實施例1至9中任一項之免疫原性組合物，其中該非GAS載體多肽係鐵蛋白。

【0117】實施例11：如實施例1至10中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、eCRM及蛋白質D。

【0118】實施例12：如實施例1至11中任一項之免疫原性組合物，其中該至少一種nnAA取代該結合多肽中之離胺酸、白胺酸或異白胺酸。

【0119】實施例13：如實施例1至11中任一項之免疫原性組合物，其中該nnAA包含點擊化學反應性基團。

【0120】實施例14：如實施例13之免疫原性組合物，其中該nnAA係選自2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-

疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。

【0121】實施例15：如實施例13之免疫原性組合物，其中該nnAA係pAMF。

【0122】實施例16：如實施例12至15中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列。

【0123】實施例17：如實施例16之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 9之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0124】實施例18：如實施例17之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

【0125】實施例19：如實施例12至15中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列。

【0126】實施例20：如實施例19之免疫原性組合物，其中該ADI多肽在SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0127】實施例21：如實施例20之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0128】實施例22：如實施例12至15中任一項之免疫原性組合物，

其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列。

【0129】實施例23：如實施例22之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽在SEQ ID NO: 21之位置I5處包含pAMF取代。

【0130】實施例24：如實施例23之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0131】實施例25：如實施例1至23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣包含聚鼠李糖核心。

【0132】實施例26：如實施例1至23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣具有約5KDa至約7 KDa之平均分子量。

【0133】實施例27：如實施例1至26中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣係四聚體、六聚體、八聚體或十聚體多醣。

【0134】實施例28：一種免疫原性組合物，其包含A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0135】實施例29：如實施例28之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0136】實施例30：如實施例28之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

【0137】實施例31：一種免疫原性組合物，其包含A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結

合物，該結合物包含精胺酸去亞胺酶(ADI)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0138】實施例32：如實施例31之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0139】實施例33：如實施例31之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0140】實施例34：一種免疫原性組合物，其包含A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0141】實施例35：如實施例34之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列且在位置I5處包含pAMF取代。

【0142】實施例35A：如實施例34之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0143】實施例36：如實施例1至35中任一項之免疫原性組合物，其中該組合物包含約10%至約50%之該第一GAS抗原、約10%至約50%之該第二GAS抗原及約10%至約50%之該多肽-多醣結合物。

【0144】實施例37：如實施例1至36中任一項之免疫原性組合物，其進一步包含一或多種選自明礬、皂素、單磷醯基脂質A (MPL)或其組合之佐劑。

【0145】實施例38：一種在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之

保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例1至37中任一項之免疫原性組合物。

【0146】實施例38A：一種如實施例1至37中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應。

【0147】實施例38B：一種如實施例1至37中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0148】實施例39：如實施例38至38B中任一項之方法，其中該個體為18歲或更年長。

【0149】實施例40：如實施例38至38B中任一項之方法，其中該個體小於18歲。

【0150】實施例41：如實施例38至38B中任一項之方法，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0151】實施例42：如實施例38至41中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之血清型。

【0152】實施例43：如實施例38至41中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之血清型。

【0153】實施例44：如實施例38至41中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之血清型。

【0154】實施例45：如實施例38至41中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之血清型。

【0155】實施例46：如實施例38至41中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之血清型。

【0156】實施例47：如實施例38至41中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之血清型。

【0157】實施例48：如實施例38至47中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對該A型鏈球菌(GAS)細菌之抗體反應且並不在該個體中誘導針對人類組織之抗體反應。

【0158】實施例49：如實施例38至48中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應，其中志賀桿菌細菌包含具有聚鼠李糖主鏈之多醣。

【0159】實施例50：一種在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例1至37中任一項之免疫原性組合物。

【0160】實施例51：一種如實施例1至37中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應。

【0161】實施例52：一種如實施例1至37中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0162】實施例53：如實施例50至52中任一項之方法或用途，其中該個體為18歲或更年長。

【0163】實施例54：如實施例53之方法或用途，其中該個體小於18歲。

【0164】實施例55：如實施例54之方法或用途，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0165】實施例II-1.一種免疫原性組合物，其包含

a. 第一A型鏈球菌(GAS)多肽抗原；

b. 第二GAS多肽抗原；及

c. 至少一種多肽-多醣結合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽抗原或非GAS載體多肽且包含至少一種非天然胺基酸，且其中該結合多醣係GAS多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0166】實施例II-2.如實施例II-1之免疫原性組合物，其中該等GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原。

【0167】實施例II-3.如實施例II-1之免疫原性組合物，其中該等GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原之肽片段。

【0168】實施例II-4.如實施例II-1至II-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35及Sfb1。

【0169】實施例II-5.如實施例II-1至II-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO。

【0170】實施例II-6.如實施例II-5之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3至少95%一致之胺基酸

序列。

【0171】實施例II-7.如實施例II-5之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之胺基酸序列。

【0172】實施例II-8.如實施例II-1至II-6中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0173】實施例II-9.如實施例II-5之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7至少95%一致之胺基酸序列。

【0174】實施例II-10.如實施例II-1至II-6或II-9中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【0175】實施例II-11.如實施例II-5之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。

【0176】實施例II-12.如實施例II-1至II-6中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0177】實施例II-13.如實施例II-1至II-12中任一項之免疫原性組合物，其中該非GAS載體多肽係鐵蛋白。

【0178】實施例II-14.如實施例II-1至II-13中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、eCRM及蛋白質D。

【0179】實施例II-15.如實施例II-1至II-14中任一項之免疫原性組合物，其中該至少一種nnAA取代結合多肽中之離胺酸、白胺酸或異白胺酸。

【0180】實施例II-16.如實施例II-1至II-14中任一項之免疫原性組合物，其中該nnAA包含點擊化學反應性基團。

【0181】實施例II-17.如實施例II-16之免疫原性組合物，其中該nnAA係選自2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。

【0182】實施例II-18.如實施例II-16之免疫原性組合物，其中該nnAA係pAMF。

【0183】實施例II-19.如實施例II-15至II-18中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列。

【0184】實施例II-20.如實施例II-19之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 9之位置K64、K287、K386及K657處包含

pAMF取代。

【0185】實施例II-21.如實施例II-20之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

【0186】實施例II-22.如實施例II-15至II-18中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列。

【0187】實施例II-23.如實施例II-22之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 33位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0188】實施例II-24.如實施例II-23之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0189】實施例II-25.如實施例II-15至II-18中任一項之免疫原性組合物，其中結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列。

【0190】實施例II-26.如實施例II-25之免疫原性組合物，其中ADI多肽在SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0191】實施例II-27.如實施例II-26之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0192】實施例II-28.如實施例II-15至II-18中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列。

【0193】實施例II-29.如實施例II-28之免疫原性組合物，其中ADI多

肽在SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0194】實施例II-30.如實施例II-29之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0195】實施例II-31.如實施例II-15至II-18中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列。

【0196】實施例II-32.如實施例II-31之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽在SEQ ID NO: 21之位置I5處包含pAMF取代。

【0197】實施例II-33.如實施例II-32之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0198】實施例II-34.如實施例II-1至II-33中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣包含聚鼠李糖核心。

【0199】實施例II-35.如實施例II-1至II-33中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣具有約5KDa至約7 KDa之平均分子量。

【0200】實施例II-36.如實施例II-1至II-35中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣係四聚體、六聚體、八聚體或十聚體多醣。

【0201】實施例II-37.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之

變體。

【0202】實施例II-38.如實施例II-37之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0203】實施例II-39.如實施例II-37之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

【0204】實施例II-40.如實施例II-37之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0205】實施例II-41.如實施例II-37之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0206】實施例II-42.如實施例II-41之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0207】實施例II-43.如實施例II-1或II-37之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0208】實施例II-44.如實施例II-1或II-37之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 52之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多

肽及GAS結合多醣。

【0209】實施例II-45.如實施例II-1或II-37之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 32之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0210】實施例II-46.如實施例II-1或II-37之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 29之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0211】實施例II-47.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含精胺酸去亞胺酶(ADI)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0212】實施例II-48.如實施例II-47之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0213】實施例II-49.如實施例II-47之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0214】實施例II-50.如實施例II-47至II-48之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0215】實施例II-51.如實施例II-47至II-48之免疫原性組合物，其

中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0216】 實施例II-52.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0217】 實施例II-53.如實施例II-52之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列且在位置I5處包含pAMF取代。

【0218】 實施例II-54.如實施例II-52之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0219】 實施例II-55.如實施例II-1至II-54中任一項之免疫原性組合物，其中該組合物包含約10%至約50%之該第一GAS抗原、約10%至約50%之該第二GAS抗原及約10%至約50%之該多肽-多醣結合物。

【0220】 實施例II-56.如實施例II-1至II-55中任一項之免疫原性組合物，其進一步包含一或多種選自明礬、皂素、單磷醯基脂質A (MPL)或其組合之佐劑。

【0221】 實施例II-57.一種在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例II-1至II-56中任一項之免疫原性組合物。

【0222】 實施例II-58.如實施例II-57之方法，其中該個體為18歲或更年長。

【0223】 實施例II-59.如實施例II-57之方法，其中該個體小於18

歲。

【0224】實施例II-60.如實施例II-57之方法，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0225】實施例II-61.如實施例II-57至II-60中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之血清型。

【0226】實施例II-62.如實施例II-57至II-60中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之血清型。

【0227】實施例II-63.如實施例II-57至II-60中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之血清型。

【0228】實施例II-64.如實施例II-57至II-60中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之血清型。

【0229】實施例II-65.如實施例II-57至II-60中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之血清型。

【0230】實施例II-66.如實施例II-57至II-60中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之血清型。

【0231】實施例II-67.如實施例II-57至II-66中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對該A型鏈球菌(GAS)細菌之抗體反

應且並不在該個體中誘導針對人類組織之抗體反應。

【0232】實施例II-68.如實施例II-57至II-67中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應，其中該志賀桿菌細菌包含具有聚鼠李糖主鏈之多醣。

【0233】實施例II-69.一種在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例II-1至II-56中任一項之免疫原性組合物。

【0234】實施例II-70.一種如實施例II-1至II-56中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應。

【0235】實施例II-71.一種如實施例II-1至II-56中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0236】實施例II-72.如實施例II-69至II-71中任一項之方法或用途，其中該個體為18歲或更年長。

【0237】實施例II-73.如實施例II-72之方法或用途，其中該個體小於18歲。

【0238】實施例II-74.如實施例II-73之方法或用途，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0239】實施例III-1.一種免疫原性組合物，其包含

- a. 第一A型鏈球菌(GAS)多肽抗原；
- b. 第二GAS多肽抗原；及
- c. 至少一種多肽-多醣結合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽抗原

或非GAS載體多肽且包含至少一種非天然胺基酸，且其中該結合多醣係GAS多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0240】實施例III-2.如實施例III-1之免疫原性組合物，其中該等GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原。

【0241】實施例III-3.如實施例III-1之免疫原性組合物，其中該等GAS多肽抗原中之至少一者係全長GAS抗原之肽片段。

【0242】實施例III-4.如實施例III-1至III-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35、Sfb1及SpyAD。

【0243】實施例III-5.如實施例III-1至III-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35及Sfb1。

【0244】實施例III-6.如實施例III-1至III-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO。

【0245】實施例III-7.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3至少95%一致之胺基酸序列。

【0246】實施例III-7A.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3至少95%一致。

【0247】實施例III-8.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之胺基酸序列。

【0248】實施例III-9.如實施例III-1至III-6中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶

多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0249】實施例III-9A.如實施例III-1至III-6中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶多肽抗原由SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列組成。

【0250】實施例III-10.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7至少95%一致之胺基酸序列。

【0251】實施例III-10A.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原與SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7至少95%一致。

【0252】實施例III-11.如實施例III-1至III-7或III-10中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【0253】實施例III-11A.如實施例III-17、III-10、III-7A或III-10A中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致。

【0254】實施例III-12.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。

【0255】實施例III-12A.如實施例III-6之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 7之胺基酸序列組成。

【0256】實施例III-13.如實施例III-1至III-7中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0257】實施例III-13A.如實施例III-1至III-7或III-7A中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列組成。

【0258】實施例III-14.如實施例III-1至III-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SpyAD。

【0259】實施例III-15.如實施例III-14之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致之胺基酸序列。

【0260】實施例III-15A.如實施例III-14之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3至少95%一致。

【0261】實施例III-16.如實施例III-14之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0262】實施例III-16A.如實施例III-14之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原由SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之胺基酸序列組成。

【0263】實施例III-17.如實施例III-1至III-16中任一項之免疫原性組合物，其中該非GAS載體多肽係鐵蛋白。

【0264】實施例III-18.如實施例III-1至III-16中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、eCRM及蛋白質D。

【0265】實施例III-19.如實施例III-1至III-16中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、eCRM、蛋白質D及SLO。

【0266】實施例III-20.如實施例III-1至III-19中任一項之免疫原性組合物，其中該至少一種nnAA取代該結合多肽中之離胺酸、白胺酸或異白胺酸。

【0267】實施例III-21.如實施例III-1至III-19中任一項之免疫原性組合物，其中該nnAA包含點擊化學反應性基團。

【0268】實施例III-22.如實施例III-16之免疫原性組合物，其中該nnAA係選自2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。

【0269】實施例III-23.如實施例III-21之免疫原性組合物，其中該nnAA係pAMF。

【0270】實施例III-24.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列。

【0271】實施例III-24A.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係與SEQ ID NO: 9至少95%一致之SpyAD多肽。

【0272】實施例III-25.如實施例III-24之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 9之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0273】實施例III-26.如實施例III-25之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

【0274】實施例III-26A.如實施例III-25之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列(由其組成)。

【0275】實施例III-27.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列。

【0276】實施例III-27A.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且與SEQ ID NO: 33至少95%一致。

【0277】實施例III-28.如實施例III-27之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 33之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0278】實施例III-29.如實施例III-28之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0279】實施例III-30.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列。

【0280】實施例III-30A.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致。

【0281】實施例III-31.如實施例III-30之免疫原性組合物，其中該ADI多肽在SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0282】實施例III-32.如實施例III-31之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0283】實施例III-32A.如實施例III-31之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列組成。

【0284】實施例III-33.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列。

【0285】實施例III-33A.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致。

【0286】實施例III-34.如實施例III-33之免疫原性組合物，其中該ADI多肽在SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36之位置K15、K193及K316處

包含pAMF取代。

【0287】實施例III-35.如實施例III-34之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0288】實施例III-35A.如實施例III-34之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列組成。

【0289】實施例III-36.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係SLO多肽且包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【0290】實施例III-36A.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係SLO多肽且與SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 53至少95%一致。

【0291】實施例III-37.如實施例III-36之免疫原性組合物，其中該SLO多肽在選自K98、K112、R151、K189、K272、K323、K357、K375、K407或K464之位置處包含3或4個pAMF取代。

【0292】實施例III-38.如實施例III-36或III-37之免疫原性組合物，其中該SLO多肽包含SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列。

【0293】實施例III-38A.如實施例III-36或III-37之免疫原性組合物，其中該SLO多肽由SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO:

57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列組成。

【0294】實施例III-39.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列。

【0295】實施例III-39A.如實施例III-20至III-23中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且與SEQ ID NO: 21至少95%一致。

【0296】實施例III-40.如實施例III-39之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽在SEQ ID NO: 21之位置I5處包含pAMF取代。

【0297】實施例III-41.如實施例III-40之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0298】實施例III-41A.如實施例III-40之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽由SEQ ID NO: 23之胺基酸序列組成。

【0299】實施例III-42.如實施例III-1至III-41中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣包含聚鼠李糖核心。

【0300】實施例III-43.如實施例III-1至III-41中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣具有約5KDa至約7 KDa之平均分子量。

【0301】實施例III-44.如實施例III-1至III-43中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣係四聚體、六聚體、八聚體或十聚體多醣。

【0302】實施例III-45.一種免疫原性組合物，其包含

a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；

b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及

c. 多肽-多醣結合物，其包含釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0303】實施例III-46.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 9至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0304】實施例III-46A.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白與SEQ ID NO: 9至少95%一致且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0305】實施例III-47.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

【0306】實施例III-47A.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白由SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11之胺基酸序列組成。

【0307】實施例III-48.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0308】實施例III-48A.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白與SEQ ID NO: 33至少95%一致且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0309】實施例III-49.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0310】實施例III-49A.如實施例III-45之免疫原性組合物，其中該

SpyAD蛋白由SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列組成。

【0311】實施例III-50.如實施例III-49之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0312】實施例III-50A.如實施例III-49或III-49A之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列組成。

【0313】實施例III-51.如實施例III-1或III-45之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0314】實施例III-52.如實施例III-1或III-45之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 52之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0315】實施例III-53.如實施例III-1或III-45之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 32之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0316】實施例III-54.如實施例III-1或III-45之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 29之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0317】實施例III-55.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含精胺酸去亞胺酶(ADI)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0318】實施例III-56.如實施例III-55之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0319】實施例III-56A.如實施例III-55之免疫原性組合物，其中該ADI多肽與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15至少95%一致且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0320】實施例III-57.如實施例III-55之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0321】實施例III-57A.如實施例III-55之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19之胺基酸序列組成。

【0322】實施例III-58.如實施例III-55至III-56之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0323】實施例III-58A.如實施例III-55至III-56或III-56A中任一項

之免疫原性組合物，其中該ADI多肽與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0324】實施例III-59.如實施例III-55至III-56之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0325】實施例III-59A.如實施例III-55至III-56或III-56A中任一項之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列組成。

【0326】實施例III-60.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0327】實施例III-61.如實施例III-60之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列且在位置I5處包含pAMF取代。

【0328】實施例III-61A.如實施例III-60之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白與SEQ ID NO: 21至少95%一致且在位置I5處包含pAMF取代。

【0329】實施例III-62.如實施例III-60之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0330】實施例III-62A.如實施例III-60之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白由SEQ ID NO: 23之胺基酸序列組成。

【0331】實施例III-63.如實施例III-1至III-62中任一項之免疫原性組合物，其中該組合物包含約10%至約50%之該第一GAS抗原、約10%至約

50%之該第二GAS抗原及約10%至約50%之該多肽-多醣結合物。

【0332】實施例III-64.如實施例III-1至III-63中任一項之免疫原性組合物，其進一步包含一或多種選自明礬、皂素、單磷醯基脂質A (MPL)或其組合之佐劑。

【0333】實施例III-65.一種在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例III-1至56中任一項之免疫原性組合物。

【0334】實施例III-66.如實施例III-65之方法，其中該個體為18歲或更年長。

【0335】實施例III-67.如實施例III-65之方法，其中該個體小於18歲。

【0336】實施例III-68.如實施例III-65之方法，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0337】實施例III-69.如實施例III-65至III-68中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之血清型。

【0338】實施例III-70.如實施例III-65至III-68中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之血清型。

【0339】實施例III-71.如實施例III-65至III-68中任一項之方法，其中該GAS細菌係選自M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之血清型。

【0340】實施例III-72.如實施例III-65至III-68中任一項之方法，其

中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之血清型。

【0341】實施例III-73.如實施例III-65至III-68中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之血清型。

【0342】實施例III-74.如實施例III-65至III-68中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之血清型。

【0343】實施例III-75.如實施例III-65至III-74中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對該 A 型鏈球菌(GAS)細菌之抗體反應且並不在該個體中誘導針對人類組織之抗體反應。

【0344】實施例III-76.如實施例III-65至III-75中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應，其中該志賀桿菌細菌包含具有聚鼠李糖主鏈之多醣。

【0345】實施例III-77.一種在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例III-1至56中任一項之免疫原性組合物。

【0346】實施例III-78.一種如實施例III-1至III-54中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應。

【0347】實施例III-79.一種如實施例III-1至III-54中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0348】實施例III-80.如實施例III-77至III-79中任一項之方法或用途，其中該個體為18歲或更年長。

【0349】實施例III-81.如實施例III-80之方法或用途，其中該個體小於18歲。

【0350】實施例III-82.如實施例III-81之方法或用途，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0351】實施例IV-1.一種免疫原性組合物，其包含

a. 第一A型鏈球菌(GAS)多肽抗原；

b. 第二GAS多肽抗原；及

c. 至少一種多肽-多醣結合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽抗原或非GAS載體多肽且包含至少一種非天然胺基酸，且其中該結合多醣係GAS多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0352】實施例IV-2.如實施例IV-1之免疫原性組合物，其中至少一種GAS多肽抗原係全長GAS抗原。

【0353】實施例IV-3.如實施例IV-1之免疫原性組合物，其中至少一種GAS多肽抗原係全長GAS抗原之肽片段。

【0354】實施例IV-4.如實施例IV-1至IV-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35、Sfb1及SpyAD。

【0355】實施例IV-5.如實施例IV-1至IV-3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35及Sfb1。

【0356】實施例IV-6.如實施例IV-1至IV-3中任一項之免疫原性組合

物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO。

【0357】實施例IV-7.如實施例IV-1至IV-6中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致之胺基酸序列。

【0358】實施例IV-8.如實施例IV-1至IV-5中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致。

【0359】實施例IV-9.如實施例IV-6之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0360】實施例IV-10.如實施例IV-1至IV-6中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0361】實施例IV-11.如實施例IV-1至IV-6中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶多肽抗原由SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列組成。

【0362】實施例IV-12.如實施例IV-1至IV-11中任一項之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32至少95%一致之胺基酸序列。

【0363】實施例IV-13.如實施例IV-1至IV-11中任一項之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原與SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32至少95%一致。

【0364】實施例IV-14.如實施例IV-1至IV-9中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽

抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【0365】實施例IV-15.如實施例IV-1至IV-9中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致。

【0366】實施例IV-16.如實施例IV-1至IV-11中任一項之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32之胺基酸序列。

【0367】實施例IV-17.如實施例IV-6之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32之胺基酸序列組成。

【0368】實施例IV-18.如實施例IV-1至IV-9中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0369】實施例IV-19.如實施例IV-1至IV-9中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽

抗原由SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列組成。

【0370】實施例IV-20.如實施例IV-1至IV-4中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SpyAD。

【0371】實施例IV-21.如實施例IV-1至IV-6、16-17或20中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致之胺基酸序列。

【0372】實施例IV-22.如實施例IV-20或IV-21之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致。

【0373】實施例IV-23.如實施例IV-1至IV-6、16-17或20中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【0374】實施例IV-24.如實施例IV-1至IV-6、16-17、20或23中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原由SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列組成。

【0375】實施例IV-25.如實施例IV-1至IV-24中任一項之免疫原性組合物，其中該非GAS載體多肽係鐵蛋白。

【0376】實施例IV-26.如實施例IV-1至IV-24中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原或非GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、SEQ ID NO: 25及蛋白

質D。

【0377】實施例IV-27.如實施例IV-1至IV-24中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原或非GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、SEQ ID NO: 25、蛋白質D及SLO。

【0378】實施例IV-28.如實施例IV-1至IV-27中任一項之免疫原性組合物，其中該至少一種nnAA取代該結合多肽中之離胺酸、白胺酸、精胺酸或異白胺酸。

【0379】實施例IV-29.如實施例IV-1至IV-27中任一項之免疫原性組合物，其中該nnAA包含點擊化學反應性基團。

【0380】實施例IV-30.如實施例IV-1至IV-29中任一項之免疫原性組合物，其中該nnAA係選自2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。

【0381】實施例IV-31.如實施例IV-29或IV-30之免疫原性組合物，其中該nnAA係pAMF。

【0382】實施例IV-32.如實施例IV-26至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列。

【0383】實施例IV-33.如實施例IV-28至IV-32中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多

肽且與SEQ ID NO: 33至少95%一致。

【0384】實施例IV-34.如實施例IV-26至IV-33中任一項之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 33之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0385】實施例IV-35.如實施例IV-26至IV-31或34中任一項之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0386】實施例IV-36.如實施例IV-34之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽由SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列組成。

【0387】實施例IV-37.如實施例IV-26至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列。

【0388】實施例IV-38.如實施例IV-26至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致。

【0389】實施例IV-39.如實施例IV-26至IV-31或37-38中任一項之免疫原性組合物，其中該ADI多肽在SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36之位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0390】實施例IV-40.如實施例IV-39之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0391】實施例IV-41.如實施例IV-26至IV-31或39中任一項之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ

ID NO: 38之胺基酸序列組成。

【0392】實施例IV-42.如實施例IV-27至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係SLO多肽且包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【0393】實施例IV-43.如實施例IV-27至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係SLO多肽且與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32或SEQ ID NO: 53至少95%一致。

【0394】實施例IV-44.如實施例IV-42或IV-43之免疫原性組合物，其中該SLO多肽在選自K98、K112、R151、K189、K272、K323、K357、K375、K407或K464之位置處包含3或4個pAMF取代。

【0395】實施例IV-45.如實施例IV-44之免疫原性組合物，其中該SLO多肽包含SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列。

【0396】實施例IV-46.如實施例IV-44之免疫原性組合物，其中該SLO多肽由SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列組成。

【0397】實施例IV-47.如實施例IV-42或IV-43之免疫原性組合物，其中該SLO多肽在選自K98、K112、R151、K189、K272、K323、K357、K375、K407或K464之位置處包含5、6、7或8個pAMF取代。

【0398】實施例IV-48.如實施例IV-47之免疫原性組合物，其中該

SLO多肽包含SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75或SEQ ID NO: 76之胺基酸序列。

【0399】實施例IV-49.如實施例IV-47之免疫原性組合物，其中該SLO多肽由SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75或SEQ ID NO: 76之胺基酸序列組成。

【0400】實施例IV-50.如實施例IV-28至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列。

【0401】實施例IV-51.如實施例IV-28至IV-31中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且與SEQ ID NO: 21至少95%一致。

【0402】實施例IV-52.如實施例IV-50或IV-51之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽在SEQ ID NO: 21之位置I5處包含pAMF取代。

【0403】實施例IV-53.如實施例IV-52之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0404】實施例IV-54.如實施例IV-52之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽由SEQ ID NO: 23之胺基酸序列組成。

【0405】實施例IV-55.如實施例IV-1至IV-54中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈。

【0406】實施例IV-56.如實施例IV-1至IV-56中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣具有約5 kDa至約7 kDa之平均分子量。

【0407】實施例IV-57.如實施例IV-1至IV-56中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣具有約10 kDa至約45 kDa之平均分子量。

【0408】實施例IV-58.如實施例IV-1至IV-55中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣係四聚體、六聚體、八聚體或十聚體多醣。

【0409】實施例IV-59.一種免疫原性組合物，其包含

a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；

b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及

c. 多肽-多醣結合物，其包含釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0410】實施例IV-60.如實施例IV-59之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0411】實施例IV-61.如實施例IV-59之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白與SEQ ID NO: 33至少95%一致且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【0412】實施例IV-62.如實施例IV-59至IV-61之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【0413】實施例IV-63.如實施例IV-59至IV-61之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白由SEQ ID NO: 34之胺基酸序列組成。

【0414】實施例IV-64.如實施例IV-59至IV-63中任一項之免疫原性

組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0415】實施例IV-65.如實施例IV-59至IV-64中任一項之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列組成。

【0416】實施例IV-66.如實施例IV-1或IV-59之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0417】實施例IV-67.如實施例IV-1或IV-59之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 52之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0418】實施例IV-68.如實施例IV-1或IV-59之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 32之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0419】實施例IV-69.如實施例IV-1或IV-59之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 29之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗

原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【0420】 實施例IV-70.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含精胺酸去亞胺酶(ADI)結合多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0421】 實施例IV-71.如實施例IV-70之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0422】 實施例IV-72.如實施例IV-70之免疫原性組合物，其中該ADI多肽與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【0423】 實施例IV-73.如實施例IV-72之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0424】 實施例IV-74.如實施例IV-72中任一項之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列組成。

【0425】 實施例IV-75.一種免疫原性組合物，其包含

- a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；
- b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及
- c. 多肽-多醣結合物，其包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【0426】 實施例IV-76.如實施例IV-75之免疫原性組合物，其中該鐵

蛋白包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列且在位置I5處包含pAMF取代。

【0427】實施例IV-77.如實施例IV-75之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白與SEQ ID NO: 21至少95%一致且在位置I5處包含pAMF取代。

【0428】實施例IV-78.如實施例IV-75之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列。

【0429】實施例IV-79.如實施例IV-75之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白由SEQ ID NO: 23之胺基酸序列組成。

【0430】實施例IV-80.如實施例IV-1至IV-79中任一項之免疫原性組合物，其中該組合物包含約10%至約50%之該第一GAS抗原、約10%至約50%之該第二GAS抗原及約10%至約50%之該多肽-多醣結合物。

【0431】實施例IV-81.如實施例IV-1至IV-80中任一項之免疫原性組合物，其進一步包含一或多種選自明礬、皂素、單磷醯基脂質A (MPL)或其組合之佐劑。

【0432】實施例IV-82.如實施例IV-1至IV-81中任一項之免疫原性組合物，其中該多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。

【0433】實施例IV-83.一種誘導在個體中針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例IV-1至IV-82中任一項之免疫原性組合物。

【0434】實施例IV-84.如實施例IV-83之方法，其中該個體為18歲或更年長。

【0435】實施例IV-85.如實施例IV-65之方法，其中該個體小於18

歲。

【0436】實施例IV-86.如實施例IV-65之方法，其中該個體介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

【0437】實施例IV-87.如實施例IV-83至IV-86中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M6、M11、M12、M22、M28、M75及M89之血清型。

【0438】實施例IV-88.如實施例IV-83至IV-86中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M3、M5、M9、M12、M18、M22、M25、M28、M71、M72及M74之血清型。

【0439】實施例IV-89.如實施例IV-83至IV-86中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M4、M6、M11、M12、M22、M44、M75、M77、M77及M81之血清型。

【0440】實施例IV-90.如實施例IV-83至IV-86中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M6、M9、M12、M18、M22、M75、M77、M89及M92之血清型。

【0441】實施例IV-91.如實施例IV-83至IV-86中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M5、M6、M9、M11、M12、M13、M28、M62及M89之血清型。

【0442】實施例IV-92.如實施例IV-83至IV-86中任一項之方法，其中該 GAS 細菌係選自 M1、M2、M3、M4、M6、M12、M22、M28、M49、M53、M68、M77、M80、M83、M87、M89及M92之血清型。

【0443】實施例IV-93.如實施例IV-83至IV-92中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對該 A 型鏈球菌(GAS)細菌之抗體

反應且並不在該個體中誘導針對人類組織之抗體反應。

【0444】 實施例IV-94.如實施例IV-83至IV-93中任一項之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應，其中該志賀桿菌細菌包含具有聚鼠李糖主鏈之多醣。

【0445】 實施例IV-95.一種在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如實施例IV-1至IV-82中任一項之免疫原性組合物。

【0446】 實施例IV-96.一種如實施例IV-1至IV-82中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應。

【0447】 實施例IV-97.一種如實施例IV-1至IV-82中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0448】 實施例IV-98.一種如實施例IV-1至IV-82中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【0449】 實施例IV-99.一種如實施例IV-1至IV-82中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應。

【0450】 實施例IV-100.如實施例IV-93至IV-99中任一項之方法或用途，其中該個體為18歲或更年長。

【0451】 實施例IV-101.如實施例IV-100之方法或用途，其中該個體小於18歲。

【0452】 實施例IV-102.如實施例IV-100之方法或用途，其中該個體

介於5歲與17歲之間、介於6個月與9歲之間或介於5歲與9歲之間。

以引用方式併入

【0453】本文所引用之所有參考文獻、文章、出版物、專利、專利公開案及專利申請案之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中。然而，提及本文所引用之任何參考文獻、文章、出版物、專利、專利公開案及專利申請案並不且不應理解為承認或以任何形式表明，其在世界上任何國家構成有效先前技術或形成一般通常知識之一部分。。

實例

實例1：GAS多醣之表現及純化

【0454】實施實驗以表現來自GAS細菌培養物之GAS多醣並純化。

【0455】自適當重組GAS群落製備500 mL起始培養物，使細菌生長數小時，然後接種較大體積之1.25 L培養物以在37°C下無振盪過夜生長。將細菌粒化，使用PBS洗滌一次。使用聚苯乙烯尖端將5 mL較冷之48%氫氟酸水溶液添加至50 mL錐形管中之細胞糰粒中，使用血清學移液管小心地上下抽吸以破壞糰粒。使用較小磁攪拌棒，將混合物在4°C下攪拌48小時。在通風櫥中，將錐形管置於冰上，向細菌懸浮液中添加45 mL (10×48% HF體積)冰冷Milli-Q® (超純)水以準備透析。

【0456】對於透析而言，使用去離子水填充用於透析之4L塑膠燒杯。將攪拌棒添加至每一燒杯中，且使燒杯在冷室中冷卻並加蓋。針對每一細菌培養切割1000 MWCO再生纖維素透析管(4L燒杯使用最大約17 cm)。需要3個切管以用於6份1.25L培養物。使用去離子水洗滌該等管並使用Milli-Q® (超純)水沖洗，然後浸沒於含有冷Milli-Q® (超純)水之燒杯中。在通風櫥中，將管子置於燒杯中，然後小心填充經稀釋細菌懸浮液

並使用夾具密封。如下所述來透析試樣：第1天：4°C，攪拌；第2天：換水，4°C，攪拌；第3天：換水，室溫，攪拌。

【0457】將透析管之內容物轉移至離心管中並在4°C下以14,000 rpm旋轉20 min。使用Milli-Q® (超純)水沖洗50 mL錐形管3次以去除任何可溶性塑膠殘餘物。將最多30 mL含有多醣之上清液傾析至每一管中並在乾冰中冷凍1小時。然後凍乾冷凍試樣，且將殘餘物再懸浮於8 mL冷水中，並視需要輕輕進行超音波處理。在每一多醣製劑中添加1 mL 10x蛋白酶K緩衝液(500 mM Tris HCl、10 mM CaCl₂)及12.5 mg蛋白酶K。將試樣在雜交烘箱中於56°C下培育過夜，並偶爾混合。使用100 µL於乙醇中之100 mM PMSF (最終5 mM)終止反應且在37°C下培育1-2小時，並週期性混合。然後將混合物在攪拌下於含有0.05%疊氮化鈉之去離子水中透析24小時以去除鹽。冷凍所得粗製多醣溶液並凍乾。

【0458】藉由粒徑篩析層析使用100 cm × 1.5 cm Biogel P4管柱來純化粗製多醣，該管柱經7%乙醇預平衡且配備有設置為每一試樣20.0 min之螺旋收集器。將粗製材料再懸浮於500 µL 7%乙醇中並在4000 rpm下離心5分鐘以去除任何不溶性微粒物質。將試樣加載於管柱上，且使用500 µL 7%乙醇洗脫預加載體積及4個後續部分。使用7%乙醇洗脫管柱，並收集約20小時。使用苯酚-硫酸法分析各部分以檢測是否存在多醣，且在490 nm下讀取試樣以進行量化。彙集在苯酚-硫酸測試中測試為陽性之部分並凍乾以得到最終純化PS產物。

實例2：經pAMF修飾之結合多肽之表現及純化

【0459】實施實驗以表現及純化來自無細胞蛋白質合成提取物之經pAMF修飾之結合多肽。

【0460】使用衍生自經改造以產生用於在琥珀色終止密碼子處插入 nnAA 之正交 tRNA 之大腸桿菌(*E. coli*)之提取物(XtractCF⁺)，在無細胞蛋白質合成(CFPS)反應中表現含有 nnAA (例如 pAMF)之結合多肽(例如 SpyAD (SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 34))。用於選殖、表現及純化該等經修飾結合多肽之試樣方案可參見(例如) Kapoor 等人，*Biochemistry*, 2018, 57(5), 516-519。

【0461】作為一實例，可使用 DASbox 微型生物反應器系統在 25°C、恆定 650 rpm 攪拌、pH 7.2、30% 溶解氧下實施受控性大規模抗原表現 10 h。在 10 h 之後，收穫反應液並在 4°C 下以 15,000 × g 旋轉 30 min，通過 0.45 μm 過濾器，將濾液加載於 5 ml HisTrap excel 管柱(Cytiva)上，該管柱經緩衝液 A [50 mM Tris、150 mM M NaCl、10 mM 咪唑]平衡及深度洗滌直至吸光度返回基線為止(圖 17 展示來自所選 SLO 變體之純化之試樣凝膠)。使用緩衝液 B [50 mM Tris、150 mM M NaCl、500 mM 咪唑]之 50% 分級梯度洗脫蛋白質，且彙集洗脫部分，濃縮並與過量經純化加 his6 標籤之 TEV 蛋白酶一起培育過夜，同時針對緩衝液 A 進行透析(圖 18 展示在 TEV 裂解 SLO 肽後之試樣凝膠)。將經透析裂解反應液加載回經預平衡之 HisTrap excel 5 ml 管柱(Cytiva)上且未加標籤蛋白質收集於流經(FT)部分中。此後，濃縮 FT 並加載於經緩衝液 S [50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl]預平衡之 Superdex 200 26/60 粒徑篩析層析(SEC)管柱上，且藉由 SDS-PAGE 凝膠分析來評價經洗脫部分之純度(圖 19 展示所選 SLO 變體在粒徑篩析層析後之純度)。將經純化 SpyAD[4pAMF]與過量二苯并環辛炔-PEG4-四甲基玫瑰紅(DBCO-TAMRA)染料在室溫下一起培育 1h 以藉由 SDS-PAGE 凝膠證實 pAMF 位點，且使用 Syngene G-box 凝膠成像儀記錄

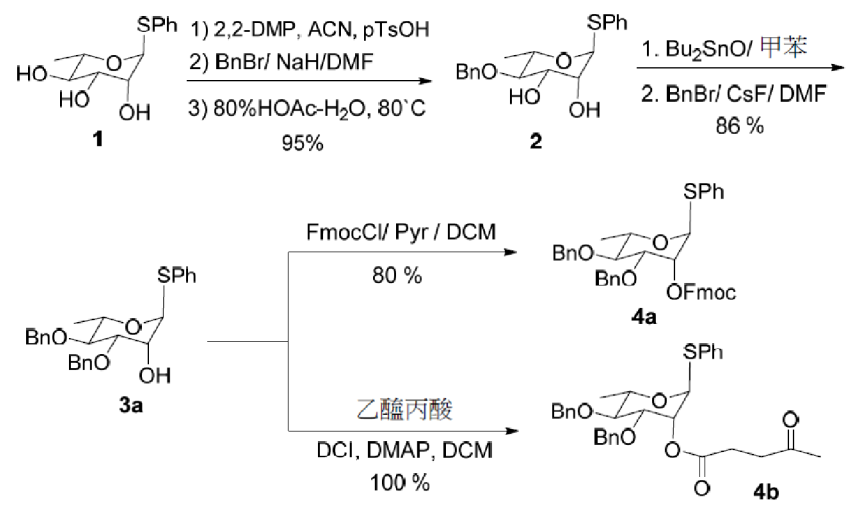
螢光讀出。

【0462】根據類似上述方法之方法使用CFPS來製備未由nnAA修飾之多肽。圖12展示表現於CFPS中之GAS蛋白抗原及所選免疫原性核心片段之模組架構。

【0463】對SpyAD (SEQ ID NO: 9)實施單位點誘變研究以理解使用pAMF代替單一胺基酸殘基對表現之影響，如在總蛋白及可溶性蛋白二者中所量測。圖1A展示源自離胺酸掃描誘變研究之表現含量。如所展示，將pAMF殘基引入SpyAD蛋白中之單一點處對總蛋白及可溶性蛋白之表現具有可變效應。圖1B展示含有nnAA之抗原及抗原結合物之表現含量。圖13展示SLO變體、C5a肽酶及SpyAD之大於95%之純度(如藉由安全藍(Safe Blue)染色所量測)，且進一步展示將pAMF納入SpyAD變體SpyAD[4pAMF]中(如藉由DBCO-TAMRA標記所證實)。

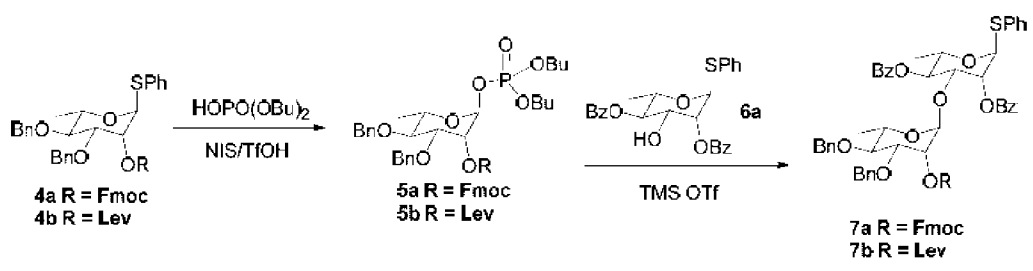
實例3：經點擊化學反應性基團修飾之鼠李糖多醣之合成及純化

【0464】使用逐步方式合成經DBCO修飾之多醣，從而容許調整寡聚物長度。

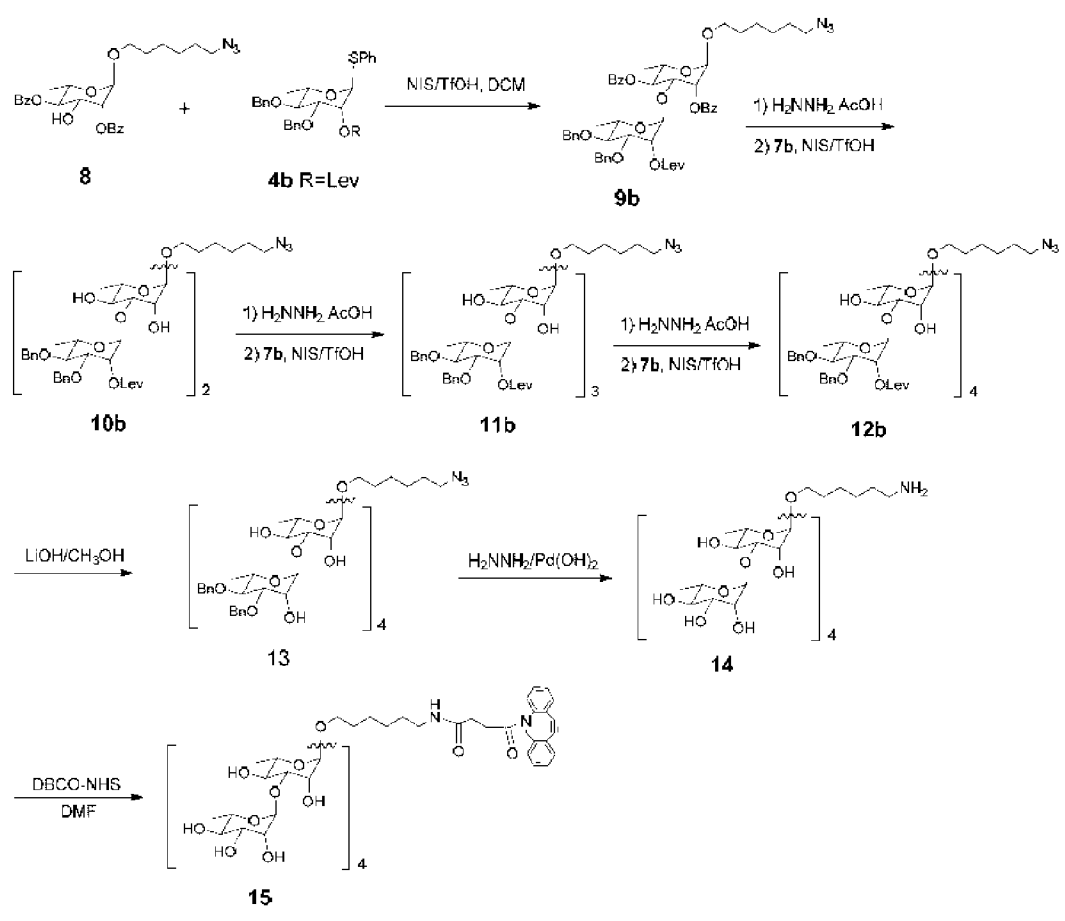


【0465】單醣中間體4a及4b之合成：對單體1實施單苄基化以提供2，進一步實施苄基保護以得到中間體3a。使用乙酐丙酸在酯化條件下處

理**3a**以提供乙醯丙酸(Lev)酯單體**4a**。或者，對**3a**實施Fmoc保護以提供單體**4b**。

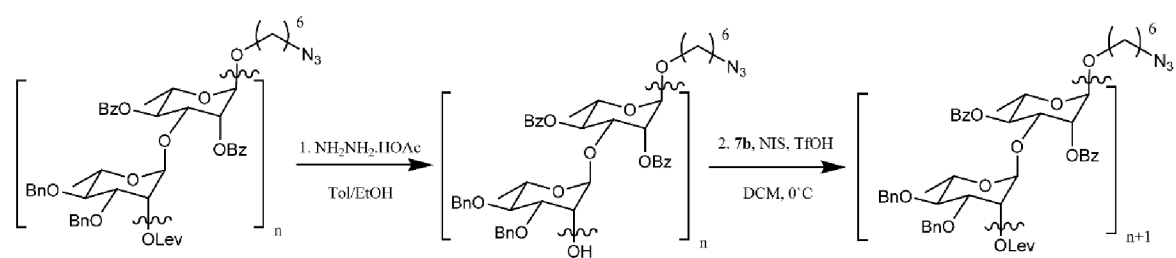


【0466】二醣供體**7a**及**7b**之合成：將單醣中間體**4a/b**轉化成磷酸酯**5a/b**，隨後使用TMSOTf及**6a**處理以提供二醣供體**7a/b**。



【0467】具有點擊化學反應性基團之鼠李糖八醣之合成：使疊氮化物中間體**8**在NIS/TfOH存在下偶合至單醣中間體**4b**以得到二聚體**9b**，然後使用二醣供體**7b**實施三個連續去保護/偶合反應序列以得到經部分保護

之八聚體中間體**12b**。使用LiOH/甲醇處理**12b**會水解乙醯丙酸酯以得到**13**，且使用H₂NNH₂/Pd(OH)₂進一步處理會同時還原側接疊氮化物且還原性裂解剩餘苄基醚以提供**14**。使**14**與DBCO-NHS偶合會得到最終八醣**15**。



【0468】可藉由改變使用供體**7b**之去保護/偶合序列(如上述一般反應圖中所展示)之數量來製備具有不同長度之多醣(例如十二醣及六醣)。

【0469】亦可經由固相合成使用源自單體**4a**之上述中間體之經Fmoc保護之衍生物來合成本發明多醣。

實例4：經純化PS與DBCO-PEG連接體之鍵聯

【0470】可使用DBCO-PEG連接體對經純化多醣(例如藉由實例1之方法所產生者)實施官能化。

【0471】通常，向多醣水溶液(在添加所有試劑之後之最終濃度為5.5 mM)中添加硼酸鹽緩衝液(1M, pH 8.5)，其中硼酸鹽在最終體積中之最終濃度為100 mM。然後添加水以填充任何額外反應體積。在劇烈攪拌下添加2.5當量(相對於多醣重複單元)之四氟硼酸1-氰基-4-二甲基胺基吡啶鎓(CDAP；來自於乙腈中之100 mg/mL溶液)。將CDAP儲存於-20°C下且溶液必須在即將使用之前製備。在添加CDAP之後5分鐘(此時刻較為關鍵-長於5 min任何時間會導致減少DBCO-PEG-胺納入)，添加0.5莫耳當量之二苯并環辛炔-胺連接體(來自DMSO儲備溶液，最終DMSO濃度為5% v/v)。將DBCO-PEG4-胺連接體儲存於-20°C下且必須在即將使用之前製

備。在進一步反應一小時之後，以1:10（按體積）添加甘胺酸(2M, pH 8.35)以得到200 mM甘胺酸之最終濃度，從而驟冷任何未反應氰酸酯。在驟冷1 h之後，然後經由Zeba旋轉管柱純化所衍生多醣。將2-3 mL溶液添加至每一10 mL Zeba管柱中。以Bound/Free DBCO HPLC方法分析經純化多醣以測定殘餘DBCO-PEG4-胺連接體及DMAP是否藉由管柱純化完全去除。可視需要進一步純化材料。使用蔥酮分析量測多醣濃度，且使用309 nm下之吸光度量測二苯并環辛炔濃度。組合該兩個值以估計經二苯并環辛炔官能基衍生之多醣之百分比。用於CDAP反應之DBCO百分比應介於5-10%之間。

【0472】GAC之DBCO-PEG4衍生：在劇烈攪拌下，向GAC於100 mM硼酸鹽緩衝液(pH 8.5)中之6 mM溶液中添加三當量(相對於多醣重複單元)四氟硼酸1-氰基-4-二甲基胺基吡啶鎢(CDAP；來自於乙腈中之100 mg/mL溶液)以促進反應性羥基處之氰基化。在添加CDAP之後5分鐘，添加2莫耳當量之於DMSO中之二苯并環辛炔-胺連接體儲備液，其中最終DMSO濃度為5% (v/v)。在DBCO衍生之後，將200 mM甘胺酸添加至反應液中以使淬滅未反應氰酸酯。經由zeba旋轉去鹽管柱純化DBCO源多醣且藉由反相評價所回收材料之純度。在309 nm下監測吸光度時HPLC中之單峰證實，過量DBCO連接體及其他反應副產物已完全去除。最後，使用蔥酮分析(參見下文)量測多醣濃度且使用309 nm下之吸光度量測二苯并環辛炔濃度。組合該兩個值以估計經二苯并環辛炔官能基衍生之多醣之百分比。對於結合而言，GAC之DBCO衍生%保持於5-10%之間。

【0473】總多醣濃度之蔥酮分析：在冷硫酸中製備蔥酮試劑(Sigma-Aldrich, CAS#90-44-8)之2 mg/ml儲備液，同時在水中製備包含2x鼠李糖

之多醣重複單元(PSRU)之1 mM儲備液並作為標準品。一式三份在孔中平鋪(96孔板) 100 μ l PSRU儲備液(連續稀釋成參考標準品)或未知試樣(以1:3稀釋)，隨後添加200 μ l /孔之蔥酮試劑儲備液。充分混合所有反應液並使用板蓋密封以供在95°C下培育10 min。將板短暫置於冰上以冷卻至環境溫度，然後使用UV/VIS讀板儀在620 nm下量測吸光度。為測定未知試樣之濃度，使用PSRU標準濃度及吸光度來生成最小平方擬合回歸。

實例5：載體蛋白與DBCO源多醣之結合

【0474】通常，藉由使DBCO基團之環辛炔部分與納入載體蛋白中之nnAA側鏈之疊氮化物部分進行反應，使含有nnAA (例如pAMF)之載體蛋白鐵蛋白(SEQ ID NO: 23)、SpyAD (SEQ ID NO: 34)、ADI (SEQ ID NO: 27及SEQ ID NO: 38)、SEQ ID NO: 25及蛋白質D結合至實例3及實例4之經純化DBCO源多醣。DBCO與疊氮化物基團之間之結合反應之試樣方案可參見(例如) Zimmerman等人，*Bioconjugate Chemistry*, 2014, 25(2), 351-361及Kapoor等人，*Biochemistry*, 2018, 57(5), 516-519。

【0475】*pAMF*源GAC與SpyAD之結合：將SpyAD[4pAMF] (SEQ ID NO: 34)與DBCO源GAC以1:1比率[各0.5 mg/ml]混合以促進經由點擊化學之結合。在結合後，抵靠50 kDa截止膜透析反應混合物以去除過量之未反應游離多醣。藉由SEC (多角度光散射) MALS分析所回收結合物且使用蔥酮分析來估計濃度。圖9係概述使用DBCO-(PEG)₄-NH₂衍生GAC且隨後結合至pAMF源SpyAD之反應圖。圖10展示經純化天然GAC、經純化天然SpyAD[4pAMF]及經純化結合物之SEC MALS分析。經純化天然GAC之SEC-MALS分析估計平均分子質量為7.2 kDa。經純化天然SpyAD[4pAMF]之SEC-MALS分析估計平均分子質量為87.3 kDa。經純

化結合物之點擊化學後SEC-MALS分析估計平均組合分子質量為153.4 kDa。插圖展示SpyAD[4pAMF]在結合前及結合後之安全藍染色性SDS-PAGE分析，其中在結合之後並無未反應蛋白質剩餘。

【0476】使用Agilent HPLC 1100除氣器、溫度受控性自動採樣儀(4°C)、管柱室(25°C)及UV-VIS二極體陣列檢測器(Agilent, Santa Clara, CA)以及DAWN-HELEOS多角度雷射光散射檢測器及Optilab T-rEX差示折射干涉儀(Wyatt Technology, Santa Barbara, CA)來實施SEC MALS-UV-RI，該差示折射干涉儀耦合至三個串聯TOSOH管柱：TSKgel Guard PWXL，6.0 mm ID × 4.0 cm長，12 μm顆粒；TOSOH TSKgel 6000 PWXL，7.8 mm ID × 30 cm長，13 μm顆粒；及TSKgel 3000 PWXL，7.8 mm ID × 30 cm長，7μm顆粒。以0.5 mL/min流速使用由含有5% (v/v)乙腈之0.2 μm過濾性1x PBS組成之移動相且注射50-100 μg試樣以供分析。使用Agilent Open Lab軟體來控制HPLC，且使用Wyatt Astra 7軟體進行數據收集及分子量分析。

實例6：由GAS抗原及抗原-多醣結合物誘導之抗體反應

【0477】實施實驗以評價由經純化GAS抗原及其結合物所產生之抗體反應。簡言之，使用50 μg每一指示抗原或結合物或媒劑對照在第0、14及28天經肌內對兔實施免疫。在免疫化之前(預採血)及在免疫化之後第7、21及35天(終末採血)對動物採血。自每一血樣收穫血清且藉由ELISA評價針對免疫化抗原之抗體效價。

【0478】對於抗體效價之ELISA分析而言，將所指示重組蛋白抗原以3 μg/孔之濃度平鋪於無菌PBS中。使用100 μL所製備抗原塗覆高結合性平底96孔板，在室溫下培育過夜而無需攪動。使用Aquamax微量板洗

滌器利用100 μ L PBS + 0.05% Tween 20將板洗滌3次，然後乾燥墨點於紙巾上。使用100 μ L試劑稀釋劑2將各孔阻斷2小時。亦可使用100 μ L含有1% BSA之PBS。可將加蓋並密封之板在4°C下於阻斷溶液中儲存3天。然後如上所述使用100 μ L PBS + 0.05% Tween 20將板洗滌3次。

【0479】藉由將試樣稀釋至1x試劑稀釋劑2中(典型稀釋度為1:400至1:10⁶)來製備血清試樣。然後將100 μ L所製備血清添加至板中，隨後培育2小時。使用所彙集免疫化前兔血清作為陰性對照，且使用無兔血清之孔作為背景對照。如上所述使用100 μ L PBS + 0.05% Tween 20將板洗滌3次。然後將板與100 μ L結合HRP之山羊抗兔IgG (H+L)二級抗體(以1:4000稀釋至1x試劑稀釋劑2中)一起培育2小時。然後如上所述使用100 μ L PBS + 0.05% Tween 20將板洗滌3次。遵循製造商說明書來製備TMB受質，且在室溫下添加等體積之試劑A及試劑B。向每孔中添加100 μ L所製備TMB受質，且將板在避光下培育不超過30分鐘。向每孔中添加50 μ L 2N硫酸以停止反應。在450 nm及540 nm下讀取ELISA板，且自450 nm下之值減去540 nm下之值以進行背景校正。基於截止值:背景對照之吸光度值+ 3*背景對照之標準偏差來測定效價。

【0480】如圖2中所展示，與採血前對照相比，使用ADI (SEQ ID NO: 38)、SLO (SEQ ID NO: 32)、C5a (SEQ ID NO: 30)、SpyCEP、Sib35、SpyAD (SEQ ID NO: 33)及SpyAD-PS結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)實施免疫會誘發穩定之抗體反應。亦測試Sfb1，但其生成較弱抗體效價。不同組中之每一個別抗原識別符代表實驗中之不同兔。

實例7：GAS-抗原誘發抗體與GAS血清型之結合

【0481】實施實驗以評價GAS-抗原誘導結合各種GAS血清型之抗體反應之能力。簡言之，使用20 µg SpyAD-PS結合物或50 µg C5a肽酶在第0、14及28天對兔實施免疫。在免疫化之前(免疫前血清)及在免疫化之後第7、21及35天(免疫血清)對動物採血。自每一血樣收穫血清。

【0482】將所有血清試樣在55°C下熱滅活30分鐘。使各種血清型之GAS生長至OD₆₀₀=0.4，洗滌並以 2×10^8 cfu/mL冷凍。將經冷凍GAS儲備液解凍，添加10%山羊血清，且混合物在室溫下培育1小時。對於結合分析而言，將100 µL經阻斷GAS (以及山羊血清)添加至1.5 mL微離心管中。將2 µL免疫前或免疫血清添加至每一管中。充分混合試樣並在室溫下培育1小時。將試樣在3500 G下旋轉5分鐘並使用500 µL PBS洗滌1次。然後將試樣與螢光二級抗兔二級抗體一起培育。然後將試樣轉移至置於500 µL PBS中之FACS管中。藉由流式細胞術量測螢光信號強度並使用FlowJo軟體計算，且比較免疫血清及免疫前血清之信號強度。

【0483】圖3A展示使用SpyAD結合物(SEQ ID NO: 34之結合物)實施免疫後之血清與免疫前血清對M1菌株(1-21)之IgG結合。圖3B展示使用C5a肽酶(SEQ ID NO: 30)實施免疫後之血清與免疫前血清對各種M1菌株(1-21)之IgG結合。SpyAD結合物及C5a肽酶之IgG與所有臨床相關GAS菌株之結合程度展示於圖3C中，其中二者展示強烈結合至> 95%之臨床相關GAS。

【0484】*GAS疫苗抗原之免疫原性之其他評估*：根據上述方案，使用5 µg於240 µL總體積琥珀酸鹽緩衝液(加有佐劑Adju-phos (Invivogen))中之SLO、C5a肽酶或SpyAD-GAC結合物對動物實施免疫。為測定由接種疫苗誘發之免疫球蛋白g (IgG)效價，藉由ELISA評估終末採血(第35天)

兔抗血清。對於所有三種蛋白質抗原(SpyAD、C5a肽酶及SLO)而言，與自免疫化前兔彙集之血清(「免疫前(彙集)」)或其他免疫化兔組相比，經重組蛋白免疫化之兔組展示針對靶抗原之顯著增加(3-至4- $\log_{10}$ 倍)之抗體效價(圖3D，每一點代表衍生自一種動物之血清，每組使用2-3隻動物運行)，從而證實了對每一各別抗原之反應特異性。由SpyAD-GAC結合物生成之抗SpyAD蛋白效價並不差於僅SpyAD重組蛋白之效價，從而表明關鍵B細胞表位不受pAMF位點影響。使用流式細胞術來評估兔源IgG與不同M蛋白血清型(m1-6、M12、M28)之8種活野生型GAS菌株之表面之結合親和力。對於大多數菌株而言，各別免疫化血清之結合較免疫前血清之基線IgG結合增加1000-400% (圖3E，每一直方圖中之右上角中之數值展示增加之免疫化兔血清信號免疫化前血清信號的平均百分比)。對於8種菌株中之6種而言，針對SpyAD-GAC結合物產生之抗血清之GAS表面結合大約兩倍於使用僅針對SpyAD產生之抗血清所看到的IgG結合程度。圖3F展示兔IgG與SpyAD敲除性GAS之結合，從而證實了與天然GAC之結合。

實例8：嗜中性球殺死分析

【0485】實施實驗以測定來自抗原及結合物免疫化兔之免疫血清誘發M1、M3及M3GAS菌株之嗜中性球殺死之能力。根據實例7中所闡述之方案使用指示抗原對兔實施免疫。對於單一抗原而言，使用50 μ g抗原對兔實施免疫。對於結合抗原而言，使用20 μ g結合物對兔實施免疫。

【0486】嗜中性球分離：使用21 G蝴蝶針自健康志願者將25 mL血液抽取至真空肝素管中。遵循製造商方案使用Polymorphprep自新鮮血液分離嗜中性球。所有血清(包括免疫前血清、免疫血清及FBS)在65°C下加熱30分鐘並偶爾混合，然後用於分析中。

【0487】嗜中性球殺死分析方案：將GAS菌株之過夜培養物以1:10之比率接種於托德休伊特培養液(Todd Hewitt Broth, THB)中。在培養物達到OD₆₀₀=0.4時，離心培養物並再懸浮於含有10%免疫前或免疫血清之HBSS中直至達到5×10⁵個群落形成單位(CFU)/mL。將GAS菌株在室溫下於RPMI +血清中保持30分鐘。將所製備嗜中性球以5×10⁶個細胞/mL之濃度再懸浮於HBSS + 4% FBS + 4%仔兔補體(BRC)中。將100 μL嗜中性球(5×10⁵個細胞)接種於96孔平底板中，其中一式三份運行每一條件。將100 μL所製備細菌(5×10⁴ cfu/孔)添加至每一嗜中性球孔中。將所接種細菌以連續稀釋液形式平鋪於血液瓊脂板上以隨後對接種物cfu進行計數。將96孔板在500 G下離心5分鐘且然後在37°C + 5% CO₂下培育30分鐘。在培育30分鐘後，充分混合試樣，以連續稀釋液形式平鋪於血液瓊脂板上，並在37°C下培育過夜。對GAS群落進行計數且將接種物CFU對所回收CFU之比率%計算為存活%。藉由首先計算免疫前血清組及免疫血清組中之殺死% (100-存活%)來計算與免疫前血清組相比之殺死%增加。然後，計算免疫血清組之殺死%與免疫前血清組之殺死%相比之增加。

【0488】圖4展示源自抗原ADI 1625 (SEQ ID NO: 36)、ADI結合突變體1807 (經pAMF取代之SEQ ID NO: 38之結合物)、ADI結合突變體1809 (SEQ ID NO: 38之結合物)、SLO 1627 (SEQ ID NO: 32)、C5a肽酶1630 (SEQ ID NO: 30)、SpyAD 1642 (SEQ ID NO: 33)、SpyAD結合物1644、1630+1627+1644、1630+1627+1809、1630+1627及M1之免疫化之血清較免疫前血清增加GAS血清型M1、M2及M3之殺死的能力。使用SEQ ID NO: 12之肽來製備經pAMF取代之SpyAD結合物，且使用SEQ ID NO: 20之肽來製備ADI結合物。

實例9：GAS抗原及結合物誘發增加GAS攻擊後存活之主動免疫反應

【0489】 在藉由真皮下及腹膜腔內注射進行攻擊之前對小鼠實施主動免疫。

表5：主動免疫化實驗時間線-真皮下及腹膜腔內攻擊

真皮下攻擊-步驟	腹膜腔內攻擊-步驟
第1天：第1免疫化	第1天：第1免疫化
第14天：第2免疫化	第14天：第2免疫化
第28天：第3免疫化	第28天：第3免疫化
第42天：感染攻擊	第41天：將小鼠剃毛
第49天：終止實驗	第42天：感染攻擊
	第45天：使小鼠安樂死並收集病灶

【0490】 第1、第2及第3免疫化-真皮下及腹膜腔內攻擊：藉由組合50 µL明礬(鋁膠)與10 µg抗原或5 µg結合物並充分混合以使抗原吸附於明礬上來製備抗原/佐劑混合物。將每一抗原/佐劑混合物抽取至配備有26 ½號針之1 mL注射器中。使用吸入之異氟醚將每一小鼠麻醉並將100 µL所製備疫苗注射至後腿肌肉中。

【0491】 攻擊用小鼠之準備-真皮下攻擊：使用異氟醚將小鼠麻醉。使用電動剃刀將小鼠之後背剃毛，注意不要劃傷皮膚。將脫毛膏施加至經剃毛後背上且靜置幾分鐘，然後使用紙巾將其充分擦拭乾淨。將小鼠拍乾並使其自異氟醚處理恢復。

【0492】 攻擊用材料之製備-真皮下及腹膜腔內攻擊：使M1 89155菌株GAS生長至對數生長中期。使用無菌磷酸鹽緩衝鹽水調節細胞濃度，連續稀釋細菌並平鋪於瓊脂上以證實細菌劑量。對於真皮下攻擊而言，靶向CFU/10 µL/小鼠為 1×10^6 ，且將細菌抽取至配備有26 ½號針之500 µL漢密爾頓注射器(Hamilton syringe)中。對腹膜腔內攻擊而言，在第35天，

靶向CFU/100 μ L/小鼠為 1×10^7 ，且將細菌抽取至配備有26 $\frac{1}{2}$ 號針之1 mL注射器中。使用吸入之異氟醚將小鼠麻醉且然後將200 μ L M1 89155細菌注射至腹膜腔中。使小鼠在正常空氣中自麻醉狀態恢復。在1週過程中追蹤小鼠存活，並每天檢查多次。

【0493】真皮下攻擊及病灶收集：對於真皮下攻擊而言，在第35天，使用吸入之異氟醚將小鼠麻醉且然後使用漢密爾頓注射器之重複分配器將10 μ L M1 89155細菌注射至經剃毛後背中。在3天過程中，每天藉由使經異氟醚麻醉之小鼠與尺子並排進行拍照來追蹤病灶大小。在第3天收集病灶之前，針對每一皮膚病灶準備含有1.0 mm二氧化矽珠粒及1 mL PBS之無菌2 mL螺口管。記錄每一管之重量。在第3天，當病灶完全發展時，使用CO₂及頸椎脫位術對小鼠實施安樂死。使用清潔手術儀器，切下每一皮膚病灶並置於預稱重管中。記錄管重以供組織質量計算。將該等管置於MagnaLyser珠粒攪拌器中，且將該等管在6000 rpm下攪拌60 s。然後將該等管置於冰上以冷卻60 s，隨後重複攪拌循環。連續稀釋試樣，且將溶解物置於瓊脂上以量化細菌負荷。

【0494】實施兩個平行實驗，其中在整個實驗中對一組動物採血以測試接種疫苗後之抗原特異性抗體效價。在另一組中，在實驗過程期間並不對小鼠採血。最後以類似方式攻擊兩組動物以實施病灶大小及CFU/mg分析。圖5A展示採血組主動免疫化實驗之結果(如藉由病灶大小及病灶CFU/mg所量測)，從而證實本發明結合物之性能優於單獨之多醣。類似地，圖5B展示非採血組主動免疫化實驗之結果(如藉由病灶大小及病灶CFU/mg所量測)，其中SpyAD (經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)及ADI (ADImut2結合物使用經pAMF取代之SEQ ID NO: 27，且

ADImut5結合物使用經pAMF取代之SEQ ID NO: 38)之GAC結合物所提供保護優於相應之單獨蛋白質。最佳保護係由C5a肽酶(SEQ ID NO: 4)賦予。圖5C展示每一免疫化後之第一、第二及第三抗體效價。圖5D展示經受主動免疫化且隨後經受腹膜腔內攻擊之小鼠之存活數據。展示一定保護之唯一組係投與總共30 µg蛋白質之6抗原組合之組。

【0495】使用抗原或抗原結合物組合之主動免疫化：如上所述，在藉由腹膜腔內注射進行攻擊之前使用一或多種抗原或抗原結合物對小鼠實施主動免疫。

表6：主動免疫化實驗時間線-真皮下及腹膜腔內攻擊

腹膜腔內攻擊-步驟
第1天：第1免疫化
第14天：第2免疫化
第28天：第3免疫化
第42天：腹膜腔內攻擊

【0496】使用以下8種治療中之一者對小鼠(n=10/組)實施免疫：模擬免疫化(PBS +明礬)；5 µg SpyAD-GAC結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)；5 µg ADImut5-GAC結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 38之結合物)；10 µg C5a肽酶(SEQ ID NO: 30)；10 µg鏈球菌溶血素O (SEQ ID NO: 32)；10 µg C5a肽酶(SEQ ID NO: 30)及10 µg鏈球菌溶血素O (SEQ ID NO: 32)之組合；10 µg C5a肽酶(SEQ ID NO: 30)、10 µg鏈球菌溶血素O (SEQ ID NO: 32)及5 µg SpyAD-GAC結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)之組合；或10 µg C5a肽酶(SEQ ID NO: 30)、10 µg鏈球菌溶血素O (SEQ ID NO: 32)及5 µg ADImut5-GAC結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 38之結合物)之組合。使用SEQ ID NO:

12之肽來製備SpyAD結合物，且使用SEQ ID NO: 20之肽來製備ADImut5結合物。

【0497】圖5E展示在腹膜腔內攻擊之後經單一抗原/抗原結合物或兩種抗原/抗原結合物(組合)主動免疫化之小鼠之存活。僅經SLO免疫化之小鼠具有最大存活，但並無個別抗原或雙抗原組合在攻擊之後6天提供100%之保護。值得注意地，在腹膜腔內攻擊之前使用三元組合對小鼠實施主動免疫時，在6天之後觀察到100%存活。該等數據展示於圖5F中。

實例10：GAS抗原及結合物誘發增加GAS攻擊後存活之被動免疫反應

【0498】在藉由腹膜腔內注射進行攻擊之前對小鼠實施被動免疫。

【0499】實施實驗以評價由自GAS抗原及GAS結合物免疫化小鼠分離之抗血清在轉移至隨後使用GAS攻擊之小鼠時所賦予之保護作用。簡言之，使用5 μ g ADI抗原(SEQ ID NO: 36)、C5a抗原(SEQ ID NO: 30)、Sfb1抗原(SEQ ID NO: 28)、SpyAD抗原(SEQ ID NO: 33)、ADI:GAC結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 38之結合物)或SpyAD:GAC結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)在第0、3及6週對兔接種疫苗。在第8週自每一動物收集血清。

【0500】被動免疫化-腹膜腔內攻擊：將在冰上轉移之經解凍兔血清(大約 200 μ L/小鼠)抽取至配備有30號針之1 mL注射器中。使用無菌磷酸鹽緩衝鹽水稀釋生長至對數生長中期之M1 89155菌株GAS以調節細胞濃度。靶向CFU/100 μ L/小鼠為 1×10^7 ，且將細菌抽取至配備有26 $\frac{1}{2}$ 號針之1 mL注射器中。將兔血清在注射器中升溫至室溫，且使用吸入之異氟醚將小鼠麻醉。將200 μ L兔血清經眶後轉移至每一經麻醉小鼠中。在血清轉

移之後5分鐘，將200 µL M1 81955細菌注射至腹膜腔中，且使小鼠在正常空氣中自異氟醚恢復。在1週過程中追蹤小鼠存活，並每天檢查多次。

【0501】已經受被動免疫化且實施後續GAS攻擊之小鼠之存活展示於圖6A及圖6B中。所有經SLO 1627之抗原及抗原結合物(pAMF結合物)、ADI結合物Mut5 1809、SpyAD結合物1644、C5a肽酶1630、SLO+C5a肽酶、SLO+C5a+ADI結合物及SLO+C5a+SpyAD結合物治療之組皆較免疫前免疫化小組展示改良之存活。

實例11：GAS抗原及結合物誘發增加GAS攻擊後之存活之被動免疫反應

【0502】在攻擊之前藉由真皮下注射對小鼠實施被動免疫。

表7：被動免疫化實驗時間線-真皮下攻擊

真皮下攻擊-步驟
第1天：準備小鼠
第0天：製備材料、血清轉移及攻擊
第3天：病灶收集

【0503】*攻擊用小鼠之準備-真皮下攻擊*：使用異氟醚將小鼠麻醉。使用電動剃刀將小鼠之後背剃毛，注意不要劃傷皮膚。將脫毛膏施加至經剃毛後背上且靜置幾分鐘，然後使用紙巾將其充分擦拭乾淨。將小鼠拍乾並使其自異氟醚處理恢復。

【0504】*材料製備、血清轉移及攻擊-真皮下攻擊*：使M1 89155菌株GAS生長至對數生長中期。使用無菌磷酸鹽緩衝鹽水調節細胞濃度，連續稀釋細菌並平鋪於瓊脂上以證實細菌劑量。對於真皮下攻擊而言，靶向CFU/10 µL/小鼠為 1×10^6 ，且將細菌抽取至配備有26 ½號針之500 µL漢密爾頓注射器中。將兔血清解凍並轉移於冰上，然後抽取至配備有30號針之

1 mL注射器中。將兔血清在注射器中升溫至室溫，且使用吸入之異氟醚將小鼠麻醉。將200 μ L兔血清經眶後轉移至每一經麻醉小鼠中。在血清轉移之後5分鐘，使用重複分配器將10 μ L M1 81955細菌注射至小鼠之經剃毛後背中，且使小鼠在正常空氣中自異氟醚恢復。在3天過程中，每天藉由對位於尺子旁邊之經異氟醚麻醉之小鼠拍照來追蹤病灶大小。

【0505】細菌負荷分析之病灶收集：在第3天於病灶收集之前，每一皮膚病灶準備含有1.0 mm二氧化矽珠粒及1 mL PBS之無菌2 mL螺口管。記錄每一管之重量。在第3天，當病灶完全發展時，使用CO₂及頸椎脫位術對小鼠實施安樂死。使用清潔手術儀器，切下每一皮膚病灶並置於預稱重管中。記錄管重以供組織質量計算。將該等管置於MagnaLyser珠粒攪拌器中，且將該等管在6000 rpm下攪拌60 s。然後將該等管置於冰上以冷卻60 s，隨後重複攪拌循環。連續稀釋試樣，且將溶解物置於瓊脂上以量化細菌負荷。

【0506】已經受被動免疫化且使用GAS實施真皮下攻擊之小鼠之病灶大小及細菌負荷數據展示於圖7中。小鼠(n=10，經抗原及抗原結合物ADI (SEQ ID NO: 36)、ADI結合物(SEQ ID NO: 38)、SLO (SEQ ID NO: 32)、C5a肽酶(SEQ ID NO: 30)、sfbl (SEQ ID NO: 28)、SpyAD (SEQ ID NO: 33)、SpyAD結合物(經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)治療)在48h之後所展現之病灶大小小於免疫前小組，且大部分組中之細菌負荷在72小時之後顯著降低，其中SpyAD結合物減小細菌負荷之性能最佳。

實例12：人類I期及IIA期臨床試驗設計

【0507】初始I期臨床研究係在18-29歲健康成人(N=96)中進行之隨

機化、安慰劑對照、遞增劑量之研究(表3)。此初始臨床研究之目標係安全性、劑量反應及免疫原性(IgG抗體)。因此年齡範圍內之許多個體具有預存在之GAS暴露及免疫性，故全面評估基線免疫性以理解預存在免疫性對疫苗反應之影響。評估對於每一疫苗組分之IgG反應及針對不同組中不同M血清型之同時GAS分離物之OPK抗體效價。

表8：I期臨床試驗組

I期臨床試驗設計				
組	N	治療	劑量	時間表
1A	24	GAS疫苗	低	第0、28天
1B	8	安慰劑		第0、28天
2A	24	GAS疫苗	中等	第0、28天
2B	8	安慰劑		第0、28天
3A	24	GAS疫苗	高	第0、28天
3B	8	安慰劑		第0、28天

【0508】2A期臨床研究係隨機化、安慰劑對照、多中心之研究，其用以在10至17歲個體、隨後5至9歲兒童之連續小組(N=96)中評估疫苗(表4)。此研究之目標係評估安全性、免疫原性(血清之IgG抗體反應及調理吞噬殺死活性)及初步效能(GAS咽炎發生率)。監測每一患者12個月以測定治療組中之鏈球菌咽炎發生率。

表9：IIA期臨床試驗組

IIA期臨床試驗設計				
N	年齡(歲)	治療	劑量	時間表
36	10-17	GAS疫苗	由PI決定	第0、28天
12	10-17	安慰劑		第0、28天
36	5-9	GAS疫苗	中等	第0、28天
12	5-9	安慰劑		第0、28天

實例13：GAS結合物在交叉反應性實驗中誘導生成結合至福氏志賀

桿菌2a OPS之抗血清

【0509】實施實驗以評價由經純化GAS結合物產生之抗血清與福氏志賀桿菌2a O-抗原多醣(OPS)之結合。

【0510】*OPS純化*：直接自經pSEC10-wzzB質體轉變以過度表現wzzB（從而增加OPS鏈長）之志賀桿菌細胞生質中之脂多醣(LPS)收穫OPS，且藉由使用冰乙酸將培養物pH降至3.5-3.7並在100°C下於浸沒於沸騰水浴中之玻璃瓶中培育4 h來條件化發酵生長培養基(補充有胺基酸)或搖瓶(STm D65)培養物。藉由在Sorvall RC5冷凍離心機中使用GS3轉子於4°C下以10k × g離心30分鐘來分離水解後上清液與不溶性材料。將上清液部分加入1 M NaCl中並藉由切向流微過濾經由0.2 μm空心纖維過濾器在4.5 psi跨膜壓(TMP)下過濾，使全部體積通過，隨後使用等效體積之1 M NaCl沖洗。然後將0.2 μm清除之1 M NaCl滲透液在30 kDa Hydrosart TFF膜上於14 psi TMP下濃縮10倍，且針對35透析體積之1 M NaCl、隨後10透析體積之50 mM Tris (pH 7)進行透析。

【0511】然後以10 mL/min（於20 mM Tris (pH 7)、50 mM NaCl中）使於20 mM Tris (pH 7)、50 mM NaCl中之滯留物部分通過3 × 3 mL Sartobind NanoQ陰離子交換膜(串聯連接，使用AKTA Purifier)。將流經部分加入25% (v/v)硫酸銨中並在4°C下培育過夜。藉由在Sorvall RC5 冷凍離心機中使用GS3轉子於10k × g / 4°C下離心30 min且隨後經由0.45 μm Stericup真空過濾單元(Millipore, MA)過濾來去除沈澱材料。然後利用Slice 200 TFF裝置使用10 kDa Hydrosart膜在7.5 psi TMP下藉由TFF將濾液濃縮10倍，且針對10透析體積之去離子水進行透析。將TFF滯留物凍乾並儲存於-20°C下直至使用。

【0512】*免疫化*：簡言之，根據實例6之方案使用ADI-mut2、ADI-mut5及SpyAD結合物經肌內對兔實施免疫。

【0513】*血清IgG ELISA*：自每一終末抽血收穫血清，且藉由ELISA評價針對福氏志賀桿菌2a OPS之血清IgG抗體效價。如下所述來製備2a OPS抗原之工作溶液：將5.0 µg/ml之經純化2a OPS稀釋於碳酸鹽塗覆緩衝液(pH 9.6)中。隨後，藉由向每一板孔中添加100 µl工作溶液來塗覆Immulon 2HB 「U形」底微量滴定板(Thermo Labsystems #3655)。然後將板在37°C下培育3 h。在該培育後，使用PBS-Tween (0.05%)將板洗滌6次且在各洗滌之間浸泡兩分鐘之時段。然後在4°C下使用含有10%脫脂奶粉(NFDM)之1X PBS以250 µl/孔過夜阻斷板。在阻斷之後，如上所述再次洗滌板。

【0514】將測試試樣(兔血清)及採血前對照稀釋於PBS-Tween 10% NFDM中並添加至板中。在每一板上實施一系列稀釋且一式兩份來測試樣品及對照。如上文所闡述，將板在37°C下培育1 h且然後使用PBS-Tween洗滌。接下來，將經辣根過氧化物酶(HRP)標記之抗兔IgG (Invitrogen #65-6120)在PBS-Tween 10%脫脂奶粉(NFDM)中稀釋至1:2000。使所有孔皆接收100 µl適當抗體溶液且將板在37°C下培育1 h。再次洗滌板且將100 µl TMB Microwell過氧化物酶受質(SeraCare #5120-0047)添加至每一孔中。將板在室溫及攪動下於暗處培育15分鐘。藉由向所有孔中添加100 µl 1M磷酸來停止比色反應。立即使用Multiskan FC™微量板讀數儀量測450nm下之吸光度值。

【0515】圖8展示效價分析之結果。值得注意地，衍生自所有三種GAS結合物ADI-mut2 (經pAMF取代之SEQ ID NO: 27之結合物)、ADI-

mut5 (經pAMF取代之SEQ ID NO: 38之結合物)及SpyAD (經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)之血清皆展現，其在1:10稀釋度下之福氏志賀桿菌2a OPS結合最多係採血前對照之大約60倍。

實例14：GAS結合物在血清殺細菌分析(SBA)中顯示針對福氏志賀桿菌菌株之殺細菌活性

【0516】實施實驗以測定來自GAS結合物免疫化兔之免疫血清誘發福氏志賀桿菌菌株之嗜中性球殺死之能力。使用指示結合物根據實例7中所闡述之方案對兔實施免疫，然後實施殺細菌分析。簡言之，根據前述方法來實施血清殺細菌分析(SBA)及群落數位影像分析(Nahm等人，mSphere, 2018, 2018年6月13日；3(3), pii: e00146-18；及其中所涉及之SBA方案)。

【0517】表9展示源自藉由SpyAD結合物1645 (經pAMF取代之SEQ ID NO: 34之結合物)及ADI結合物突變體1807、1808、1809及1810 (經pAMF取代之SEQ ID NO: 38之結合物)之免疫化之血清針對福氏志賀桿菌2a、3a及6之殺細菌能力。所展示值係SBA (血清殺細菌活性)效價，且所有5種結合物皆相對於免疫前控制顯示殺細菌活性。針對宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)未觀察到殺死，且此組中之效價由此報告為所測試最低稀釋度之一半。如先前所闡述，使用PnQC19 (一種人類對照血清)來正規化志賀桿菌SBA效價(Nahm等人，mSphere, 2018, 2018年6月13日；3(3), pii: e00146-18)。針對福氏志賀桿菌6所展示之效價係原始效價之平均值(2個實驗)。並未向福氏志賀桿菌6指派PnQC19值。

表10：兔GAS抗體之血清殺細菌活性

結合物	福氏志賀桿菌2a	福氏志賀桿菌3a	福氏志賀桿菌6	宋內氏志賀桿菌
-----	----------	----------	---------	---------

結合物	福氏志賀桿 菌2a	福氏志賀桿 菌3a	福氏志賀桿 菌6	宋內氏志 賀桿菌
免疫前血清	nd	nd	233	nd
1645	1301	1333	980	30
1807	384	2496	553	30
1808	671	703	394	30
1809	487	1325	1401	30
1810	1654	652	532	30
PnQC19	28000	19000	6915	1100

**實例15：使用SpyAD-GAC進行免疫化並不誘發可檢測含量之與人
類心臟表位交叉反應之抗體**

【0518】藉由SDS-PAGE使用4-12% Bis-Tris凝膠分離不同量之正常成人人類心臟組織溶解物(Novus Biologicals目錄號：NB820-59217)與含有SDS之變性上樣染料，然後使用製造商方案藉由iBlot (Thermo Fisher)轉移於PVDF膜上。最後，將墨點在環境溫度下阻斷1 h，隨後使用針對每一GAS抗原生成之兔抗血清(以1:1000稀釋)進行探究。在三個30 min洗滌之後，添加結合HRP之抗兔(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.，目錄號：211-035-109)二級抗體(以1:10,000稀釋)並在一起培育墨點與pico受質(Thermo Fisher Scientific目錄號：34580)之後於Syngene G-Box F3影像掃描儀上記錄化學發光。墨點阻斷、洗滌及抗體/血清稀釋皆稀釋於TBS + 5% BSA中。

【0519】在藉由聚丙烯醯胺凝膠電泳分離之正常人類心臟溶解物中對SLO、C5a肽酶及SpyAD-GAC兔免疫血清實施西方墨點分析。使用相同兔免疫化方案針對完整GAS M1蛋白產生之抗體用作對照。如圖11中所展示，儘管抗M1抗血清與溶解物之極高分子量組分發生反應，針對SLO

(SEQ ID NO: 8)、C5a肽酶(SEQ ID NO: 4)及SpyAD-GAC (經pAMF取代之SEQ ID NO: 12之結合物)抗血清未看到與人類心臟組織之交叉反應性，且該等抗血清識別各別同族GAS蛋白(或在SpyAD-GAC之情形下識別蛋白質載體)。此分析與以下情形一致：(a) SLO、C5a肽酶或SpyAD與人類蛋白質缺乏序列同源性，及(b)在基因缺失GlcNAc側鏈(其代表常見哺乳動物糖表位)後GAC通常僅包含重複鼠李糖(不存在於人類中之一種糖)。

實例16：表現經截短SLO肽並評價其在兔模型及鼠類模型二者中之免疫原性

【0520】舉例而言，根據上述方法來表現經截短SLO變體。圖15展示10種對應於SEQ ID NO: 44至SEQ ID NO: 53 (TEV裂解後)之該等變體序列($\Delta C11$ 、 $\Delta C21$ 、 $\Delta C31$ 、 $\Delta C41$ 、 $\Delta C51$ 、 $\Delta C61$ 、 $\Delta C71$ 、 $\Delta C81$ 、 $\Delta C91$ 及 $\Delta C101$)之圖示。圖16展示該等變體之表現(以總蛋白濃度及可溶性蛋白濃度兩種形式)以及其相應凝膠。值得注意的是，在每一變體中觀察到差異性截短模式。一些變體(如 $\Delta C41$ 及 $\Delta C51$)具有約50 kDa之若干緊密洗脫帶，而諸如 $\Delta C31$ 或 $\Delta C81$ 等變體則並不展示對應於分子質量之任何可辨別帶。

【0521】圖17比較在藉由HisTrap層析進行初始純化之後若干肽(包括經截短SLO變體)之表現。變體 $\Delta C91$ 及 $\Delta C101$ 表現為對應於正確蛋白質分子質量之單一獨特帶以及一些較小截短片段。圖18及圖19比較在TEV裂解以及藉由HisTrap (圖18)及粒徑篩析層析(圖19)再純化之步驟期間之SLO以及變體 $\Delta C91$ 及 $\Delta C101$ 。

【0522】免疫化兔血清之生成：經由類似於上述方案之方案使用明

礬+ 50 µg SLO、SLO ΔC91或SLO ΔC101經肌內對兔實施免疫。對動物進行採血，且在第0、7、21及35天分析血清針對每一各別抗原之ELISA效價。圖20展示三種SLO變體中之每一者之ELISA效價。

【0523】 使用多價醣結合物疫苗實施免疫會顯著抵抗全身性及真皮內GAS攻擊：藉由在第0、14及28天經肌內注射抗原來對CD-1小鼠實施主動免疫以檢驗增強之細菌清除對SpyAD-GAC + SLO(ΔC101) + C5a肽酶之3組分/4GAS抗原調配物之強保護效能的貢獻。在攻擊後第42天自9隻免疫化(及10隻模擬免疫)動物收集小鼠血清，並測試該等抗血清促進藉新分離人類嗜中性球對M1 GAS之離體OPK殺死之效能(圖21)。在使用免疫後SpyAD-GACPR290 + SLO(ΔC101) + C5a肽酶小鼠抗血清調理GAS時，在嗜中性球暴露後回收到約20%之原始M1 GAS接種物，與之相比，在使用模擬免疫小鼠血清調理GAS之對照研究中則回收到約60% CFU (圖21， $P < 0.01$)。同樣，使用真皮內M1 GAS感染攻擊經SpyAD-GACPR + SLO(ΔC101) + C5a肽酶或模擬(僅PBS及佐劑)對照免疫化之小鼠。由所得急性發炎性反應生成之壞死病灶之大小並不在兩組之間顯著不同(圖22A及22B)，但在SpyAD-GACPR + SLO(ΔC101) + C5a肽酶免疫化組中，感染部位處之清除組織中之回收細菌CFU/gm減小兩倍以上(圖22C， $P = 0.0012$)。

【0524】 用以評價是否存在針對SLO變體之功能抗體之紅血球溶血分析：測試在添加至紅血球中時針對SLO截短變體之抗血清阻斷相應SLO之溶血活性的能力。圖23展示在將0.1 µg/mL重組SLO添加至含有紅血球及抗血清之孔中時之結果。全長SLO及SLO(ΔC101)抗血清阻斷細胞溶解，而SLO(ΔC91)抗血清則不阻斷溶解。

【0525】疫苗抗血清之GAS調理吞噬性殺死及SLO活性阻斷之評估：使用5種不同M蛋白血清型之GAS菌株(M1-M5)評估針對GAS疫苗抗原(SLO、C5a肽酶、SpyAD及SpyAD-GAC)產生之兔抗血清促進人類嗜中性球調理吞噬性殺死(OPK)之能力。藉由使用各別熱滅活抗血清或免疫前血清對照預調理30 min來實施此分析，然後在感染複數(MOI) = 0.1個細菌/嗜中性球下於2%仔兔補體存在下暴露於新分離人類嗜中性球30 min。所有抗血清皆誘導在GAS之短期OPK發生統計學上顯著之增加(圖24A)。該分析所使用之GAS接種物係在MOI = 0.00140或MOI = 0.000141下採用人類前髓細胞性白血病HL-60細胞系之公開OPK分析之100至1,000倍，從而更準確地概括支持主要人類先天性免疫細胞功能之免疫化靶。以類似方式來評估針對SpyAD蛋白及SpyAD-GAC產生之抗血清。此外，由針對SLO、C5a肽酶及SpyAD-GAC產生之每一抗血清之三分之一構成以維持一致總血清濃度之組合抗血清的性能類似於或優於個別組分，從而指示其OPK功能並無交叉253干擾。因SLO係並不錨定至GAS表面之分泌性細胞毒素，故其對增強之嗜中性球殺死之貢獻並不源自增加吞噬性攝取，而係源自減小嗜中性球抗微生物功能之SLO介導之膜損害及損傷。不論由SLO抑或SLO(Δ C101)抗原誘發，抗SLO兔免疫血清皆顯著抑制經純化SLO針對人類紅血球之溶血活性直至稀釋度為1:2,048 (圖24B)。另外，抗SLO或抗SLO(Δ C101)免疫血清同等程度地保留針對GAS上清液(SLO)介導之抑制之嗜中性球氧化爆發功能(過氧化物生成) (圖24C)。

【0526】以類似於彼等上述方法運行之IgG結合分析來測試其他血清型。在三劑量免疫化(在第0、14及28天經肌內注射抗原)後第42天自9隻免

疫化(及10隻模擬免疫化)動物收集小鼠血清，且經由流式細胞術針對活 GAS 菌株之IgG結合來測試該等抗血清之效能。自經3劑量模擬或組合 SpyAD-GACP R + SLO(Δ C101) + C5a肽酶免疫化之雌性CD-1小鼠收集血清。圖25A及25B展示來自結合至多種血清型之GAS表面抗原之模擬抗血清(亮直方圖)或多價組合抗血清(暗直方圖)之鼠類IgG的螢光強度，如經由流式細胞術所量化。平均螢光強度匯總於柱形散佈圖中，每一點代表個別小鼠血清(圓係模擬治療小鼠，且正方形係治療組小鼠)。添加甲氧西林(Methicillin)抗性金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) USA300作為對照以展示IgG結合之GAS特異性。

實例17：表現具有3或4個nnAA之經截短SLO(Δ C101)多肽且結合

【0527】舉例而言，根據上述方法來表現含有nnAA之經截短SLO(Δ C101)變體。該等變體含有3或4個對應於SEQ ID NO: 55至SEQ ID NO: 64之pAMF殘基。SEQ ID NO: 54含有所有含nnAA殘基。圖26展示該10種變體之表現含量(以總蛋白濃度及可溶性蛋白濃度兩種形式)以及其相應凝膠。如先前所闡述進行純化。簡言之，收穫CFPS物，旋轉並過濾，然後以0.75 ml/min加載於預平衡hisTRAP excel 1 ml管柱上並在單一步驟中使用於6 ml最終體積中之250 mM咪唑進行洗脫。使用SDS-PAGE分析5 ul之每一步驟部分。圖27A展示藉由hisTRAP初始純化後之變體凝膠。然後將hisTRAP洗脫部分在50 mM Tris (pH8)中稀釋3倍以使最終鹽濃度達到50 mM NaCl，然後加載於AEX管柱上。使用SDS-PAGE分析來分析FT及洗脫部分以檢測是否存在每一變體。圖27B展示第二純化步驟後之變體凝膠。表11展示在自2-2.5 mL溶液回收之後所表現變體之最終濃度。

表11：純化後之最終變體濃度

蛋白質名稱	濃度(mg/ml)
SLO(Δ C101)-var1	0.8
SLO(Δ C101)-var2	1.0
SLO(Δ C101)-var3	0.6
SLO(Δ C101)-var4	1.0
SLO(Δ C101)-var5	1.2
SLO(Δ C101)-var6	2.7
SLO(Δ C101)-var7	2.3
SLO(Δ C101)-var8	1.0
SLO(Δ C101)-var9	2.2
SLO(Δ C101)-var10	1.6

【0528】使 SLO (Δ C101) 變體結合至如上文所闡述之 DBCO 源 GAC。圖28展示每一變體之具體結合條件。如圖29中所展示，藉由 SDS page 分析結合反應。每一凝膠之第一泳道展示結合前蛋白。藉由 SEC-MALS 測定最終結合物大小，其結果展示於圖30中。

實例18：評價具有3或4個nnAA之經截短SLO(Δ C101)多肽在鼠類模型中之免疫原性及其溶血效價

【0529】在鼠類模型中藉由如上文在實例9中所闡述之方法來評價實例17之3-及4-pAMF SLO(Δ C101)變體及其多醣結合物。在第0、7及14天對小鼠實施免疫，隨後在第21天處死後進行終末採血。

【0530】使用5 μ g之實例17之經pAMF取代之SLO(Δ C101)-var1、SLO(Δ C101)-var5、SLO(Δ C101)-var6及SLO(Δ C101)-var10 (對應於SEQ ID NO: 55、59、60及64)中的每一多醣結合物對小鼠實施免疫。在終末採血之後量測之針對SLO(Δ C101)之抗體效價展示於圖31A中。亦在溶血分析中根據實例16之方案來評估相同變體及其GAC結合物。結果展示於

圖31B中。圖31C亦展示在終末採血之後量測之抗體效價，然而，此ELISA利用長多醣(藉由實例19之方法產生)而非SLO(Δ C101)作為包被抗原。總而言之，該等數據展示，經pAMF取代之變體SLO(Δ C101)-var1、SLO(Δ C101)-var5、SLO(Δ C101)-var6及SLO(Δ C101)-var10之結合物個別地針對PS及肽組分產生抗體。

實例19：較高分子量(長)多醣之表現、純化及結合

【0531】 實施實驗以自GAS細菌培養物提取GAS多醣並純化。

【0532】 *鹼水解*：將所製備GAS細胞糰粒再懸浮於50 mM NaCl溶液中。使用血清學移液管，添加50mL NaCl並渦旋直至再懸浮。添加10N氫氧化鈉及1M硼氫化鈉直至達到4N NaOH及25mM NaBH₄之最終濃度。將經再懸浮糰粒分配至各離心瓶中，其中最終靶體積為160mL/1L發酵體積。在分配溶液時，使用恆定渦旋以確保均質性。將瓶置於65°C預加熱培育器中之振盪器上並保持2小時。在培育之後，將水解溶液在25°C下以14,000 x g離心30 min以粒化任何細胞碎屑，應確保在離心之前使水解試樣冷卻至室溫。在停止離心後立即收集上清液以不干擾糰粒，且將上清液中和至pH 6.5 $\pm$ 0.3。在中和時，將瓶置於4°C冰浴上，使用37% HCl調節pH，且視需要使用1M NaOH進一步調節。然後將試樣在4°C下培育過夜。

【0533】 *過濾*：在培育之後，形成白色沈澱物。將溶液在10,000xg下離心30 min。形成含有宿主細胞蛋白(HCP)之大塊白色糰粒。收集澄清上清液。使用37% HCl將pH調節至3.0，且將溶液在室溫下培育1小時。使用Clarisolve過濾器 μ Pod -40MS過濾試樣。舉例而言：在23mL/min之幫浦流速下，使水流經過濾器直至啟動，且然後打開閥門並使用120mL體

積沖洗，並使用120 mL體積之15mM NaCl平衡。使提取物以23mL/min之相同幫浦流速通過過濾器，且收集來自過濾器之澄清滲透液。使用60mL 15mM NaCl洗滌過濾器，且沖洗出管及過濾器內容物。棄除濾液。將試樣pH再調節至 6.5 ± 0.3 。然後實施切向流過濾(TFF-10k)以去除鹽，濃縮(超濾)，然後緩衝液交換(滲濾)於10mM NaCl中。

【0534】**變溶菌素(Mutanolysin)處理**：藉由添加1M MgCl_2 直至達到1mM MgCl_2 之最終濃度且添加200 mM磷酸鈉(10×)直至達到20mM磷酸鈉(pH 6.8)之最終濃度來製備用於變溶菌素處理之溶液。添加變溶菌素溶液(5000 IU/mL)直至達到120 IU/mL。將試樣在37°C及振盪下培育過夜。

【0535】**蛋白酶-K處理**：然後藉由添加蛋白酶-K溶液直至最終濃度為40 IU/mL (45u/mg 蛋白酶-K)來使用蛋白酶-K處理試樣。將混合物在50°C下培育過夜且同時輕輕混合。

【0536】**沈澱及過濾**：為使試樣中之酶、核酸及HCP沈澱，添加於20mM磷酸鈉緩衝液(pH 6.8)中之CTAB，在30°C下振盪1小時。將以下所有所用溶液預熱：PS試樣、5% CTAB儲備溶液及200mM磷酸鹽鈉(pH 6.8)。在加熱的同時混合(磁力攪拌棒) PS溶液，且經加熱攪拌板配備有內部溫度計以始終監測溶液中之溫度。將200mM磷酸鈉(pH 6.8)溶液添加至PS溶液中直至達到20mM磷酸鈉之最終濃度。將5% CTAB添加至PS溶液中直至達到1% CTAB濃度。將溶液混合1小時。使用40MS過濾器，對沈澱溶液實施深度過濾。舉例而言，使用200mL MilliQ H2O以23mL/min之幫浦流速沖洗系統，且一旦水開始自排放口流出，則立即關閉排放口，從而迫使溶液自出口流出(底料)。然後使用75mL 20mM磷酸鈉(pH 6.8)及15mM NaCl之溶液沖洗系統。在23mL/min下過濾試樣，並使用60mL

20mM磷酸鈉(pH 6.8)及15mM NaCl溶液以20 mL/min沖洗。收集滲透液直至洗脫出氣泡為止。棄除濾液。

【0537】將PS溶液及274 mM KI升溫至30°C。將足量274mM KI添加至混合PS溶液中直至達成27.4mM KI之最終濃度。將混合物在30°C及混合下培育1小時。將溶液在培育後於30°C、10,000xg下離心30分鐘。收集上清液且棄除糰粒，注意糰粒易於破碎。然後經由0.45μm過濾器真空過濾上清液。

【0538】首先藉由TFF-10k濃縮試樣，隨後使用9DV之350mM NaCl滲濾且最後使用2 DV之MilliQ水滲濾。舉例而言，TFF系統體積為約35mL，其中幫浦流速設定於200mL/min，且使用9 DV (50mL)之緩衝液在TMP: 7-8 psi下實施滲濾。

【0539】然後藉由疏水性相互作用層析使用經3M氯化鈉及50mM磷酸鈉(pH 6.8)預平衡之HiPrep™ Butyl Fast Flow 16/10來純化多醣溶液。將氯化鈉及磷酸鹽緩衝液添加至多醣溶液中直至達到3M氯化鈉及50mM磷酸鉀(pH 6.8)。使多醣溶液通過HIC樹脂且以流經模式進行操作。使用相同平衡緩衝液洗滌樹脂且收集流經液及洗滌液以供進一步處理。

【0540】實施最終TFF (10kDa/ 3kDa)以藉由針對9DV之15mM NaCl或WFI進行滲濾來去除PS試樣中之高NaCl內容物。然後對經純化PS溶液實施0.22 μm過濾。

【0541】圖36A、圖36B及圖36C展示藉由合成實例1所產生源自表現缺乏GlcNAc之PS之GAS細菌菌株之經純化多醣的NMR分析(參見PCT/US2012/049604)。NMR證實存在聚鼠李糖且不存在GlcNAc。對於試樣製備而言，將經純化多醣溶液凍乾並交換至D₂O中，其中添加TSP作

為內部標準品。在50°C下於400 MHz儀器上獲得質子NMR光譜，其中信號係40次掃描之平均值。應用0.2 Hz之譜線加寬。該純化方案亦能夠產生不含M蛋白之經純化多醣，如藉由圖37之西方墨點所證實。

【0542】 長多醣之衍生及結合：如先前在上述方法(實例4)中所闡述使用DBCO-PEG來衍生具有較高分子量(長)之多醣。然後根據實例4之方法使DBCO源PS結合至本文所闡述之載體蛋白。舉例而言，使SpyAD[4pAMF] (SEQ ID NO: 34)結合至長多醣並在3.5小時之後及透析後進行分析。該等結合物之SEC-MALS分析展示於圖32中。在3.5小時之後，觀察到大於1 MDa之結合物。在透析後，經分離結合物之大小分佈展示大約186 kDa處之峰。

實例20：表現具有5、6、7或8個nnAA之經截短SLO(Δ C101)多肽，純化，並結合

【0543】 舉例而言，根據上述方法來表現含有nnAA之經截短SLO(Δ C101)變體。該等變體含有5、6、7或8個對應於SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75及SEQ ID NO: 76之pAMF殘基。圖33A以總蛋白濃度及可溶性蛋白濃度之形式展示該12個pAMF變體(5pAMF-8pAMF)以及實例17之變體之表現含量。圖33B展示表現(SEQ ID NO: 65-76對應於var1-var12)之相應凝膠。如先前所闡述進行純化。簡言之，收穫CFPS物，旋轉並過濾，然後以0.75 ml/min加載於預平衡hisTRAP excel 1 ml管柱上並在單一步驟中使用於6 ml最終體積中之250 mM咪唑進行洗脫。使用SDS-PAGE安全藍染色分析5 μ l之每一步驟部

分。此後，將洗脫液稀釋3倍並加載於CaptoQ管柱上以供最終純化，且使用安全藍染色及DBCO TAMRA標記進行分析。濃縮FT部分並以200 μ l等分試樣形式儲存於-80°C下。

【0544】 *SLO(Δ C101)*多肽與5、6、7或8個nnAA之結合：使用上述方法(包括於實例4中)使含有5、6、7或8個nnAA之多肽結合至GAS多醣。以此方式，使SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 68及SEQ ID NO: 69之含有pAM之SLO (Δ C101)變體結合至長DBCO源GAC。如圖34中所展示，藉由SDS page分析結合反應。每一變體之第一泳道展示結合前蛋白。藉由SEC-MALS測定最終結合物大小，其結果展示於圖35中。

序列識別符說明

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
1	C5a [90-1035片 段] WT，具有 前導序列	MHHHHHHGSGENLYFQGKTADTPVTSKATIRDLNDP SQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIDAGFDKNHEAWRLT DKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYY HDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRL EGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIRDAVN LGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGV SIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVVGTPAAADS TLTVASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEMPVLSTNRF EPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDID FKDKIANAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQM PAAFISRKDGLLLKDNPKKTITFNATPKVLPTASGTKL SRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLS GTSMSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLA KKVLMSSATALYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKA SAATMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKS DKPQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQ KITIPANSSKQVTVPIDASRFSKDLLAQMKNGYFLEGF VRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSK DGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALT ESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAKQD DDSHYYIHRHANGKPYA AISPNGDGNRDYVQFQGTF LRNAKNLVAEVL DKEGNV VWTSEVTEQVVKNYNND LASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVR YTPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVATSATFSTEDRR LTLASKPKTSQPVYRERIA YTYMDEDLPTTEYISPNE GTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNIT YTPVTKLLEGHSENK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
2	C5a [90-1035片 段] WT，不具 有前導序列	KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKGAGGAGTV VAVIDAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAK KEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGTAVDQEHGT HVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIV NGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAALA YANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKTR LPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETA TVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAJDYAYANRGM KEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKKAGAVGV LIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNP KKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPD IAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSMSAPLVAGIMGLL QKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSATALYDEDE KAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSK VHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDK VDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDAS RFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYI GFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSDAKDQL DGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGVENI EDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYIHRHANGKPYA AISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVAEVL DKEGN VVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFEKTRWDG KDKDGKVVANGTYTYRVRYPPISSGAKEQHTDFDVI VDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERI AYTYMDEDLPTTEYISPNEGTFTLPEEAETMEGATV PLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
3	C5a [90-1035片 段 D131A/S513A ，具有前導序 列	MHHHHHHGSGENLYFQGKTADTPVTSKATIRDLNDP SQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIAAGFDKNHEAWRLT DKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYY HDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRL EGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIRDAVN LGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGV SIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVVGTPAAADS TLTVASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEMPVLSTNRF EPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDID FKDKIANAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQM PAAFISRKDGLLLKDNPKKTITFNATPKVLPTASGTKL SRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLS GTAMSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLA KKVLMSSATALYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKA SAATMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKS DKPQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQ KITIPANSSKQVTVPIDASRFSKDLLAQMKNGYFLEGF VRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSK DGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALT ESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAKQD DDSHYYIHRHANGKPYA AISPNGDGNRDYVQFQGTF LRNAKNLVAEVL DKEGNVVWTSEVTEQVVKNYNND LASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKV VANGTYTYRVR YTPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVATSATFSTEDRR LTLASKPKTSQPVYRERIA YTYMDEDLPTTEYISPNE GTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNIT YTPVTKLLEGHSENK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
4	C5a [90-1035片 段 D131A/S513A ，不具有前導 序列	KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKGAGGAGTV VAVIAAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAK KEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGTAVDQEHGT HVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIV NGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAALA YANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKTR LPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETA TVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAIDYAYANRGM KEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKKAGAVGV LIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNP KKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPD IAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTAMSAPLVAGIMGLL QKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSATALYDEDE KAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSK VHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDK VDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDAS RFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYI GFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSDAKDQL DGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGVENI EDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYIHRHANGKPYA AISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVAEVL DKEGN VVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFEKTRWDG KDKDGKVVANGTYTYRVRYPISSGAKEQHTDFDVI VDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERI AYTYMDEDLPTTEYISPNEGTFTLPEEAETMEGATV PLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
5	SLO [79-571 片段] WT，具有 His 標籤及 TEV 序列	MHHHHHHGSGENLYFQGAPKEMPLES AEKEEKKSED KKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLA KNGETIENFV PKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDS VTDRTY PAALQLANKGFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMG DKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQWHDNYS GGNT LPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFK SISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSV TFKELQRKGVSNEAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSK SNDVEAAFS AALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVL GGDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTS GKINLSH QGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNNWY SKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAWEWWRKVI DERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
6	SLO [79-571 片 段] WT，不具 有前導序列	APKEMPLES AEKEEKK SEDKKK SEEDHTEEINDKIYSL NYNELEVLA KNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERKK KNINTTPVDISIIDS VTDRTPAALQLANKGFTENKPD AVVTKRNPQKI HIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVST AIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQI EAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSN EAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFS AALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKV VTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAWEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISG STLSPYGSITYK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
7	SLO [79-571 片 段] W535A ， 具有前導序列	MHHHHHHGSGENLYFQGAPKEMPLSAEKEEKKSED KKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGETIENFV PKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTY PAALQLANKGFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMG DKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQWHDNYSGGNT LPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFK SISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSV TFKELQRKGVSNEAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSK SNDVEAAFS AALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVL GGDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTS GKINLSH QGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNNWY SKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRKVI DERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
8	SLO [79-571 片 段] W535A ， 不具有前導序 列	APKEMPLES AEKEEKK SEDKKK SEEDHTEEINDKIYSL NYNELEVLA KNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERKK KNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKPD AVVTKRNPQKIHIDLP GMGDKATVEVNDPTYANVST AIDNLVNQWHDNYS GGNTLPARTQYTESMVYSKSQI EAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSN EAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFS AALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKV VTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTS GKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISG STLSPYGSITYK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
9	SpyAD [33-849 片段] WT，具 有前導序列	MHHHHHHGSGENLYFQGQVKADDRASGETKASNTH DDSLPKPETIQEAKATIDAVEKTL SQQKAELTELATAL TKTTAEINHLKEQQDNEQKAL TSAQEIYTNTLASSEET LLAQGAEHQRELTATETELHNAQADQH SKETALSEQ KASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAI TKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQ LTEELAAQKAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNN TMKAPQGYPLEELKKLEASGYIGSASYN NYKEHAD QIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTP EVQN ELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLST SYKKTHGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTIIEDS AGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNP NAPVYLGF STSNVGSLNEHFVMFPESNIANHQRFNKTPIKAVGSTK DYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQEADIM AAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGS LRTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQT EALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRDFKLNPNRLQV IRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALALQAKQSSLE ATIAATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQV APPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASAR LAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPS SKTSYGSGSSTTSNLISDVDESTQR

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
10	SpyAD [33-849 片段] WT，不 具有前導序列	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATIDA VEKTLSSQKKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQ KAL TSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQREL TATETE LHNAQADQH SKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVK TSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELE KAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAEELS RLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASG YIGSASYN NYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPAD RNR FVDPDNLTP EVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPP VTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFN DVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFL RVDKHNP NAPVYLG FSTSNV GSLNEHFVMFPESNIAN HQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVS SLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSD SLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLEATRDQ SLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHL QYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNA QEALAALQAKQSSLEATIATTEHQLTLLKTLANEKEY RHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQE MVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVA SNAIVSKITSSITQPSSKTSYSGSGSSTTSNLISDVDESTQ R

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
11	SpyAD [33-849 片段] nnAA (例 如 pAMF) 突 變 體，具有前導 序列 X = nnAA (例 如 pAMF) 位 置 K64/K287/K386 /K657 - 根據全 長序列編號	MHHHHHHGSGENLYFQGQVKADDRASGETKASNTH DDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSSQKAELTELATAL TKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEET LLAQGAEHQRELTATETELHNAQADQHSEKETALSEQ KASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAI TKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQ LTEELAAQKAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNN TMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGSASYNYYKEHAD QIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPREVQN ELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLST SYKXTHGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTIIEDS AGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNP NAPVYLGF STSNVGSLSNEHFVMFPESNIANHQRFNKTPIKAVGSTK DYAQRVGTVSDTIAAIKGVSSLENRLSAIHQEADIM AAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGS LRTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQT EALAEQAAARVTALVAKX ₁ AHLQYLRDFKLNPNRLQV IRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALALQAKQSSLE ATIAATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQV APPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASAR LAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPS SKTSYGGSGSSTTSNLISDVDESTQR

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
12	SpyAD [33-849 片段] nnAA (例 如 pAMF) 突 變 體，不具有前 導序列 X = nnAA (例 如 pAMF) K64/K287/K386 /K657 -根據全 長序列編號	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDA VEKTLSSQKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQ KALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRELATETE LHNAQADQHSEKETAELSEQKASISAETTRAQDLVEQVK TSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELE KAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAELS RLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASG YIGSASYNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPAD RNRFVDPDNLTPENVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPP VTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFN DVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFL RVDKHNPNAPVYLGSTSNVGSLSNEHFVMFPESNIAN HQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVS SLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSD SLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLEATRDQ SLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKX A HL QYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNA QEALAALQAKQSSLEAT I ATTEHQLTLLKTLANEKEY RHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQE MVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVA SNAIVSKITSSITQPSSKTSYSGSGSSTTSNLISDVDESTQ R

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
13	ADI [全長] WT，具有前導 序列	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGKLKKVL LHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFA QALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEAN IRGRATKKAIARELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPE IPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVY DRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLDTVFTMVDY DKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELL AANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTI APGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRG GPRCMSMPFEREDI
14	ADI [全長] WT，不具有前 導序列	TAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERL LFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAE SLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIED NQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFA IDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYG KYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSK DVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVT YDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
15	ADI [全長] D277A，具有 前導序列	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGKLKKVL LHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFA QALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEAN IRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPE IPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVY DRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDY DKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELL AANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTI APGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRG GPRCMSMPFEREDI
16	ADI [全長] D277A，不具 有前導序列	TAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERL LFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAE SLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIED NQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFA IDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYG KYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSK DVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVT YDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
17	ADI [全長] nnAA (例如 pAMF)，具有 前導序列 X = nnAA (例 如pAMF)位置- K15、K193、 K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVVYSEIGXLKKVL LHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFA QALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEAN IRGRATKKAIARELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPE IPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVY DRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLDTVFTMVDY DKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELL AANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTI APGVVVVYNRNTITNAILESGLKLIKIHGSELVRGRG GPRCMSMPFEREDI
18	ADI [全長] nnAA (例如 pAMF)突變 體，不具有前 導序列 X = nnAA (例 如pAMF)位置- K15、K193、 K316	TAQTPIHVVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERL LFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAE SLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIED NQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFA IDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLSNHMFSETRNRETLYG XYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSK DVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVT YDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDN LVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILE SKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
19	ADI (mut5) [全長] D277AnnAA (例如pAMF)，具有前導序列 X = nnAA (例如pAMF)位置-K15、K193、K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGXLKKVL LHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFA QALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEAN IRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPE IPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVY DRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDY DKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELL AANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTI APGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRG GPRCMSMPFEREDI
20	ADI (mut5) [全長] D277AnnAA (例如pAMF)，不具有前導序列 X = nnAA (例如pAMF)位置-K15、K193、K316	TAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERL LFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAE SLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIED NQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFA IDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYG XYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSK DVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVT YDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDN LVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILE SKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
21	hFL [全 長] WT，具有前導 序列	MHHHHHHGSGSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQA SYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEKREGYE RLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKA AMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFL DEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTL KHD
22	hFL [全 長] WT，不具有前 導序列	SSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYF DRDDVALEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRG GRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQ ALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMG DHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
23	hFL [全 長] nnAA (例 如 pAMF)，具有 前導序列 X = nnAA (例 如pAMF)位置- I5	MHHHHHHGSGSSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQ ASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEKREGY ERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMK AAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHF LDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLT LKHD
24	hFL [全 長] nnAA (例 如 pAMF)，不具 有前導序列 X = nnAA (例 如pAMF)位置- I5	SSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYF DRDDVALEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRG GRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQ ALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMG DHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
25	eCRM-pAMF6 突變體	MGADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTPGYVDSIQXGI QKPKSGTQGNYDDDWKEFYSTDNKYDAAGYSVDNE NPLSGKAGGVVKVTYPGLTKVLALKVDNAETIKKEL GLSLTEPLMEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLSLPFAEGS SSVEYINNWEQAKALSVELEINFETRGRGQDAMYE YMAQACAGNRVRNSVGSSLSCINLDWDVIRDXTKTK IESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEEKAXQYLEEFHQTA LEHPELSELXTVTGTNPVFAGANYAAWAVNVAQVID SETADNLEKTTAALSILPGIGSVMGIADGAVHHNTEEI VAQSIALSSLMVAQAIPLVGELVDIGFAAYNFVESIINL FQVVHNSYNRPAYSPGHXTQPFLHDGYAVSWNTVED SIIRTGFQGESGHDIKITAENTPLPIAGVLLPTIPGKLDV NKSNGTHISVNGRKIRMRCRAIDGDVTFCRPKSPVYVG NGVHANLHVAFHRSSSEKIHSNEISSDSIGVLGYQKTV DHTKVNSXLSLFFEIKS

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
26	ADI (mut2) [全長] D277AnnAA (例如pAMF)，具有前導序列 X = nnAA (例如pAMF)位置-K123、K247、K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGKLKKVL LHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFA QALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEAN IRGRATKKAIARELLMAIEDNQELIEXTMAGVQKSELPE IPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVY DRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEXLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDY DKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELL AANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTI APGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRG GPRCMSMPFEREDI
27	ADI (mut2) [全長] D277AnnAA (例如pAMF)，不具有前導序列，且具有來自裂解之G懸突 X = nnAA (例如pAMF)位置-K123、K247、K316	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLER LLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAA ESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIE DNQELIEXTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPF AIDPMPNLYFTRDPFATIGTG VSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVY DRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEXLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDY DKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELLA AANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTI APGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
28	具有前導序列 之Sfb1重複區	MHHHHHHGSGVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTKDT QTGMSGQTTPQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTKD TQTGMSGQTASQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTK DTQTGMSGQTTPQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFT KDTQTGMSGFSET

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
29	C5a [90-1035片 段] WT，不具 有前導序列且 具有來自裂解 之G懸突	GKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGT VVAVIDAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKA KKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHG THVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VNGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAAL AYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKT RLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTET ATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRG MKEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKKAGAV GVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKD NPKKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIK PDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSM SAPLVAGIMG LLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMS SATALYDE DEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTS SKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQT DKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPI DASRFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSI PYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANS DAK DQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGV ENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYIHRHANGKP YAAISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVAEVL DKE GNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFEKTRW DGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQH TDFD VIVDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQP VYRE RIAYTYMDEDLPTTEYISPNEGTFRTLPEEAETMEGAT VPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
30	C5a [90-1035片 段] D131A/S513A ，不具有前導 序列且具有來 自裂解之G懸突	GKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGT VVAVIAAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKA KKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHG THVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VNLGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAAL AYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKT RLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTET ATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRG MKEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKKAGAV GVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKD NPKKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIK PDIAAPGQDILSSVANNNKYAKLSGTAMSAPLVAGIMG LLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSATALYDE DEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNST SKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQT DKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPI DASRFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSI PYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSDAK DQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGV ENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDDSHYYIHRHANGKP YAAISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVAEVL DKE GNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFEKTRW DGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQH TDFD VIVDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRE RIAYTYMDEDLPTTEYISPNEGTF TLP EEAETMEGAT VPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
31	SLO [79-571 片段] WT，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAWEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISG STLSPYGSITYK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
32	SLO [79-571 片 段] W535A ， 不具有前導序 列且具有來自 裂解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISG STLSPYGSITYK

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
33	SpyAD [33-849 片段] WT，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATID AVEKTLSQQKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNE QKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRELTATET ELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQV KTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSE LEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEA ELSRKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLE ASGYIGSASYNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDI PADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQFAAHMINSVRRQL GLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQ PGVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENI GAFNDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGH AINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLSNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIK GKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTL KQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLEA TRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAK KAHLQYLRDFKLNP NRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSS LLNAQEALAAALQAKQSSLEATATTEHQLTLLKTLAN EKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTP LVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTS EMVASNAIVSKITSSITQPSSKTSYGSGSSTTSNLISDV DESTQR

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
34	SpyAD [33-849 片段] nnAA (例 如 pAMF) ， 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突 X = nnAA (例 如 pAMF) 位 置 K64/K287/K386 /K657 -編號	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATID AVEKTLSQQKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNE QKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRELTATET ELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQV KTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSE LEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEA ELSRKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLE ASGYIGSASYNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDI PADRNRFVDPDNLTPENVNELAQFAAHMINSVRRQL GLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQ PGVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENI GAFNDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGH AINFLRVDKHNPNAVLYLGFSTSNVGSLSNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIK GKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTL KQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLEA TRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAK X ₁ AHLQYLRDFKLNP ₁ NRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSS LLNAQEALAAALQAKQSSLEAT ₁ IATTEHQLTLLKTLAN EKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTP LVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTS EMVASNAIVSKITSSITQPSSKTSYGSGSSTTSNLISDV DESTQR

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
35	ADI [全長] WT，不具有前 導序列且具有 來自裂解之G懸 突	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLER LLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAA ESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIE DNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPF AIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLY GKYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLS KDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSV TYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
36	ADI [全長] D277A，不具 有前導序列且 具有來自裂解 之G懸突	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLER LLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAA ESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIE DNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPF AIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLY GKYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLS KDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSV TYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
37	ADI [全長] nnAA (例如 pAMF)，不具 有前導序列且 具有來自裂解 之G懸突 X = nnAA (例 如pAMF)位置- K15、K193、 K316	GTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLER LLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAA ESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIE DNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPF AIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLY GXYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLS KDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSV TYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
38	ADI (mut5) [全 長] D277A nnAA (例如 pAMF)，不具 有前導序列且 具有來自裂解 之G懸突 X = nnAA (例 如pAMF)位置- K15、K193、 K316	GTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLER LLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAA ESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIARELLMAIE DNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPF AIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLY GXYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLS KDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSV TYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGD NLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAIL ESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
39	hFL [全 長] WT，具有前導 序列	MHHHHHHGSGSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQA SYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEKREGYE RLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKA AMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFL DEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTL KHD
40	hFL [全 長] WT，不具有前 導序列	SSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYF DRDDVALEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRG GRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQ ALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMG DHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
41	hFL [全 長] nnAA (例 如 pAMF)，具有 前導序列 X = nnAA (例 如pAMF)位置- I5	MHHHHHHGSGSSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQ ASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEKREGY ERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMK AAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHF LDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLT LKHD
42	hFL [全 長] nnAA (例 如 pAMF)，不具 有前導序列 X = nnAA (例 如pAMF)位置- I5	SSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYF DRDDVALEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRG GRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQ ALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMG DHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
43	eCRM-pAMF6 突變體	GADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTPGYVDSIQXGIQK PKSGTQGNYYDDDWKEFYSTDNKKYDAAGYSVDNENP LSGKAGGVVKVTYPGLTKVLALKVDNAETIKKELGL SLTEPLMEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLSLPFAEGSSS VEYINNWEQAKALSVELEINFETRGRGQDAMYEYM AQACAGNRVRNSVGSSLSCINLDWDVIRDXTKTKIES LKEHGPIKNKMSESPNKTVSEEKAXQYLEEFHQTALE HPELSELXTVTGTNPVFAGANYAAWAVNVAQVIDSE TADNLEKTTAALSILPGIGSVMGIADGAVHHNTEEIVA QSIALSSLMVAQAIPLVGELVDIGFAAYNFVESIINLFQ VVHNSYNRPAYSPGHXTQPFLHDGYAVSWNTVEDSII RTGFQGESGHDIKITAENTPLPIAGVLLPTIPGKLDV NK SKTHISVNGRKIRMRCRAIDGDVTFCRPKSPVYVGNG VHANLHVAFHRSSEKIH SNEISSDSIGVLGYQKTVDH TKVNSXLSLFFEIKS

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
44	SLO(Δ C11) W535A，不具 有前導序列且 具有來自裂解 之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISG S
45	SLO(Δ C21) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLS

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
46	SLO(Δ C31) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMARECTGLAAEWWRK
47	SLO(Δ C41) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRN IRIMAREC

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
48	SLO(Δ C51) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANS
49	SLO(Δ C61) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPF

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
50	SLO(Δ C71) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGKINLSHQQAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWD
51	SLO(Δ C81) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGKINLSHQQAYVAQYEILWDEIN YDDKG

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
52	SLO(Δ C91) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEIL
53	SLO(Δ C101) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
54	SLO(Δ C101) 片 段 W535A，不 具有前導序列 且具有來自裂 解之G懸突 X = nnAA (例 如 pAMF) 或天 然 胺 基 酸 (例 如：K98、 K112、R151、 K189、K272、 K323、K357、 K375、K407、 K464；或 K 或 R。)	GAPKEMPLESAEEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
55	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 1 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (420995) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、R151、 K272、K357	GAPKEMPLESAEEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
56	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 2 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (420996) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、K189、 K323、K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
57	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 3 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (420997) X = nnAA (例 如pAMF)位置- R151、K272、 K357、K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
58	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 4 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (420998) X = nnAA (例 如pAMF)位置- R151、K272、 K375、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
59	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF)5 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (420999) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、K272、 K357、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
60	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 6 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (421000) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98 、 K189 、 K357	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
61	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 7 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (421001) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112 、 K189 、 K323	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
62	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 8 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (421002) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98 、 R151 、 K272	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
63	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 9 -不具 有前導序列且 具有來自裂解 之 G 懸 突 (421003) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112 、 K272 、 K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
64	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (421004) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、K323、 K407	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
65	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426507) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、R151、 K272、K357、 K407	GAPKEMPLESAEKEEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
66	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426508) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、K189、 K323、K375、 K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
67	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426509) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、R151、 K272、K357、 K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
68	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426510) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、R151、 K272、K357、 K407、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENKP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
69	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426511) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、R151、 K189、K323、 K375、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
70	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426512) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、K112、 K189、K323、 K375、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSED X KKSEEDHTEEIND X IYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTEN X P DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTF X ELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV X TNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVT K DFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSG X INLSHQ
71	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426513) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、R151、 K189、K272、 K357、K407、 K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSED K KKSEEDHTEEIND X IYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIE X K KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTEN X P DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNS X ILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTF K ELQRKGVSNEAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSS X SNDVEAAFSAAALKGTDV K TNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVT X DFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSG X INLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
72	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426514) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、R151、 K189、K323、 K375、K407、 K464	GAPKEMPLSAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
73	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426515) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、K189、 K272、K357、 K375、K407、 K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAAFSAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
74	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426516) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、K112、 R151、K189、 K272、K323、 K357、K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAAFSAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
75	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426510) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K98、R151、 K189、K272、 K323、K357、 K407、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIEXX KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAAFSAALKGTDV KTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

序 列 編 號	名稱/說明	胺基酸序列
76	SLO(Δ C101) 片 段 W535A - nnAA (例 如 pAMF) 10 - 不 具有前導序列 且具有來自裂 解之 G 懸突 (426515) X = nnAA (例 如pAMF)位置- K112、K189、 K272、K323、 K357、K375、 K407、K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYS LNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERK KKNINTTPVDISIIDSVTDRTPAALQLANKGFTENXP DAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVS TAIDNLVNQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQ IEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIF YTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLF VSNVAYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAAFSAALKGTDV XTNGKYSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTXDFD VIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

【序列表】

<110> 美商VAXCYTE公司(Vaxcyte, INC.)

<120> 含有多醣-蛋白質結合物之A型鏈球菌免疫原性組合物

<130> STRO-011/04TTW 331540-2078

<150> US 62/977,886

<151> 2020-02-18

<150> US 63/013,924

<151> 2020-04-22

<150> US 63/090,069

<151> 2020-10-09

<150> US 63/123,293

<151> 2020-12-09

<160> 76

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 962

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C5a [90-1035片段] - WT，具有前導序列

<400> 1

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5 10 15

Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp

20 25 30

Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys

35 40 45

Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn

50 55 60

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

260 265 270

Thr Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg
275 280 285

Phe Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met
290 295 300

Lys Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu
305 310 315 320

Arg Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala
325 330 335

Gly Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro
340 345 350

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
355 360 365

Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
370 375 380

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
385 390 395 400

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
405 410 415

Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
420 425 430

Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
435 440 445

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
450 455 460

Thr	Pro	Ser	Glu	Arg	Leu	Asp	Leu	Ala	Lys	Lys	Val	Leu	Met	Ser	Ser
465					470					475					480
Ala	Thr	Ala	Leu	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu	Lys	Ala	Tyr	Phe	Ser	Pro	Arg
				485					490					495	
Gln	Gln	Gly	Ala	Gly	Ala	Val	Asp	Ala	Lys	Lys	Ala	Ser	Ala	Ala	Thr
			500						505					510	
Met	Tyr	Val	Thr	Asp	Lys	Asp	Asn	Thr	Ser	Ser	Lys	Val	His	Leu	Asn
		515						520					525		
Asn	Val	Ser	Asp	Thr	Phe	Glu	Val	Thr	Val	Thr	Val	His	Asn	Lys	Ser
	530						535					540			
Asp	Lys	Pro	Gln	Glu	Leu	Tyr	Tyr	Gln	Ala	Thr	Val	Gln	Thr	Asp	Lys
545					550					555					560
Val	Asp	Gly	Lys	His	Phe	Ala	Leu	Ala	Pro	Lys	Ala	Leu	Tyr	Glu	Thr
				565					570					575	
Ser	Trp	Gln	Lys	Ile	Thr	Ile	Pro	Ala	Asn	Ser	Ser	Lys	Gln	Val	Thr
			580						585					590	
Val	Pro	Ile	Asp	Ala	Ser	Arg	Phe	Ser	Lys	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	Met
		595						600					605		
Lys	Asn	Gly	Tyr	Phe	Leu	Glu	Gly	Phe	Val	Arg	Phe	Lys	Gln	Asp	Pro
	610						615					620			
Thr	Lys	Glu	Glu	Leu	Met	Ser	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Gly	Asp
625					630						635				640
Phe	Gly	Asn	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Lys	Pro	Ile	Tyr	Asp	Ser	Lys	Asp
				645						650				655	
Gly	Ser	Ser	Tyr	Tyr	His	Glu	Ala	Asn	Ser	Asp	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu

660 665 670

Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala
675 680 685

Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu
690 695 700

Gly Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr
705 710 715 720

Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr
725 730 735

Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn
740 745 750

Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg
755 760 765

Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val
770 775 780

Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
785 790 795 800

Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
805 810 815

Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr
820 825 830

Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
835 840 845

Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
850 855 860

Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
865 870 875 880

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
885 890 895

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
900 905 910

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
915 920 925

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
930 935 940

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser
945 950 955 960

Asn Lys

<210> 2
<211> 945
<212> PRT
<213> 釀膿鏈球菌

<400> 2

Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp Leu
1 5 10 15

Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys Gly
20 25 30

Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn His
35 40 45

Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser Lys
50 55 60

Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly Glu
65 70 75 80

Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp Gly
85 90 95

Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile Leu
100 105 110

Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu Gly
115 120 125

Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val Asn
130 135 140

Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp Ala
145 150 155 160

Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala Ala
165 170 175

Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp Tyr
180 185 190

Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp Ser
195 200 205

Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp Tyr
210 215 220

Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val Ala
225 230 235 240

Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys Thr
245 250 255

Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg Phe
260 265 270

Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met Lys
275 280 285

Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu Arg
290 295 300

Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala Gly
305 310 315 320

Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro Ile
325 330 335

Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg Lys
340 345 350

Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe Asn
355 360 365

Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser Arg
370 375 380

Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp Ile
385 390 395 400

Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys Tyr
405 410 415

Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly Ile
420 425 430

Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met Thr
435 440 445

Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser Ala
450 455 460

Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg Gln
465 470 475 480

Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr Met
485 490 495

Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn Asn
500 505 510

Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser Asp
515 520 525

Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys Val
530 535 540

Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr Ser
545 550 555 560

Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr Val
565 570 575

Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met Lys
580 585 590

Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro Thr
595 600 605

Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp Phe
610 615 620

Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp Gly
625 630 635 640

Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu Asp
645 650 655

Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala Leu
660 665 670

Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu Gly
675 680 685

Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr Ile
690 695 700

Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr Ile
705 710 715 720

His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Gly
725 730 735

Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg Asn
740 745 750

Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val Val
755 760 765

Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn Asp
770 775 780

Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp Asp
785 790 795 800

Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr Tyr
805 810 815

Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His Thr
820 825 830

Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr Ser
835 840 845

Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys Pro
850 855 860

Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr Met
865 870 875 880

Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp Gly
885 890 895

Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr Val
900 905 910

Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala Gly
915 920 925

Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser Asn
930 935 940

Lys
945

<210> 3
<211> 962
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C5a [90-1035片段] D131A/S513A突變體，具有前導序列

<400> 3

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

Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp
20 25 30

Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys
35 40 45

Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn
50 55 60

His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser
65 70 75 80

Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly
85 90 95

Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp
100 105 110

Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile
115 120 125

Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu
130 135 140

Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val
145 150 155 160

Asn Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp
165 170 175

Ala Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala
180 185 190

Ala Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp
195 200 205

Tyr Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp
210 215 220

Ser Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp
225 230 235 240

Tyr Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val
245 250 255

Ala Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys
260 265 270

Thr Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg
275 280 285

Phe Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met
290 295 300

Lys Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu
305 310 315 320

Arg Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala
325 330 335

Gly Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro
340 345 350

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
355 360 365

Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
370 375 380

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
385 390 395 400

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
405 410 415

Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
420 425 430

Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
435 440 445

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
450 455 460

Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
465 470 475 480

Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
485 490 495

Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
500 505 510

Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
515 520 525

Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
530 535 540

Asp Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys
545 550 555 560

Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr
565 570 575

Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr
580 585 590

Val Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met
595 600 605

Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro
610 615 620

Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp
625 630 635 640

Phe Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp
645 650 655

Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu
660 665 670

Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala
675 680 685

Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu
690 695 700

Gly Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr
705 710 715 720

Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr
725 730 735

Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn
740 745 750

Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg
755 760 765

Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val
770 775 780

Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
785 790 795 800

Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
805 810 815

Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr
820 825 830

Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
835 840 845

Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
850 855 860

Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
865 870 875 880

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
885 890 895

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
900 905 910

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
915 920 925

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
930 935 940

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser
945 950 955 960

Asn Lys

<210> 4
<211> 945
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C5a [90-1035片段] D131A/S513A突變體，不具有前導序列

<400> 4

Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp Leu
1 5 10 15

Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys Gly
20 25 30

Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn His
35 40 45

Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser Lys
50 55 60

Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly Glu
65 70 75 80

Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp Gly
85 90 95

Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile Leu
100 105 110

Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu Gly
115 120 125

Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val Asn
130 135 140

Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp Ala
145 150 155 160

Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala Ala
165 170 175

Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp Tyr
180 185 190

Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp Ser
195 200 205

Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp Tyr
210 215 220

Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val Ala
225 230 235 240

Ser	Tyr	Ser	Pro	Asp	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Thr	Ala	Thr	Val	Lys	Thr
245					250					255					
Ala	Asp	Lys	Gln	Asp	Lys	Glu	Met	Pro	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Arg	Phe
260					265					270					
Glu	Pro	Asn	Lys	Ala	Tyr	Asp	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Gly	Met	Lys
275					280					285					
Glu	Asp	Asp	Phe	Lys	Asp	Val	Lys	Gly	Lys	Ile	Ala	Leu	Ile	Glu	Arg
290					295					300					
Gly	Asp	Ile	Asp	Phe	Lys	Asp	Lys	Ile	Ala	Asn	Ala	Lys	Lys	Ala	Gly
305					310					315					320
Ala	Val	Gly	Val	Leu	Ile	Tyr	Asp	Asn	Gln	Asp	Lys	Gly	Phe	Pro	Ile
325					330					335					
Glu	Leu	Pro	Asn	Val	Asp	Gln	Met	Pro	Ala	Ala	Phe	Ile	Ser	Arg	Lys
340					345					350					
Asp	Gly	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Asn	Pro	Lys	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Asn
355					360					365					
Ala	Thr	Pro	Lys	Val	Leu	Pro	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Ser	Arg
370					375					380					
Phe	Ser	Ser	Trp	Gly	Leu	Thr	Ala	Asp	Gly	Asn	Ile	Lys	Pro	Asp	Ile
385					390					395					400
Ala	Ala	Pro	Gly	Gln	Asp	Ile	Leu	Ser	Ser	Val	Ala	Asn	Asn	Lys	Tyr
405					410					415					
Ala	Lys	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala	Met	Ser	Ala	Pro	Leu	Val	Ala	Gly	Ile
420					425					430					
Met	Gly	Leu	Leu	Gln	Lys	Gln	Tyr	Glu	Thr	Gln	Tyr	Pro	Asp	Met	Thr
435					440					445					

Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser Ala
450 455 460

Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg Gln
465 470 475 480

Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr Met
485 490 495

Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn Asn
500 505 510

Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser Asp
515 520 525

Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys Val
530 535 540

Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr Ser
545 550 555 560

Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr Val
565 570 575

Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met Lys
580 585 590

Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro Thr
595 600 605

Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp Phe
610 615 620

Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp Gly
625 630 635 640

Ser	Ser	Tyr	Tyr	His	Glu	Ala	Asn	Ser	Asp	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp
645					650					655					
Gly	Asp	Gly	Leu	Gln	Phe	Tyr	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Phe	Thr	Ala	Leu
660					665					670					
Thr	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Trp	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala	Val	Lys	Glu	Gly
675					680					685					
Val	Glu	Asn	Ile	Glu	Asp	Ile	Glu	Ser	Ser	Glu	Ile	Thr	Glu	Thr	Ile
690					695					700					
Phe	Ala	Gly	Thr	Phe	Ala	Lys	Gln	Asp	Asp	Asp	Ser	His	Tyr	Tyr	Ile
705					710					715					720
His	Arg	His	Ala	Asn	Gly	Lys	Pro	Tyr	Ala	Ala	Ile	Ser	Pro	Asn	Gly
725					730					735					
Asp	Gly	Asn	Arg	Asp	Tyr	Val	Gln	Phe	Gln	Gly	Thr	Phe	Leu	Arg	Asn
740					745					750					
Ala	Lys	Asn	Leu	Val	Ala	Glu	Val	Leu	Asp	Lys	Glu	Gly	Asn	Val	Val
755					760					765					
Trp	Thr	Ser	Glu	Val	Thr	Glu	Gln	Val	Val	Lys	Asn	Tyr	Asn	Asn	Asp
770					775					780					
Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Gly	Ser	Thr	Arg	Phe	Glu	Lys	Thr	Arg	Trp	Asp
785					790					795					800
Gly	Lys	Asp	Lys	Asp	Gly	Lys	Val	Val	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr	Thr	Tyr
805					810					815					
Arg	Val	Arg	Tyr	Thr	Pro	Ile	Ser	Ser	Gly	Ala	Lys	Glu	Gln	His	Thr
820					825					830					
Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Val	Asp	Asn	Thr	Thr	Pro	Glu	Val	Ala	Thr	Ser
835					840					845					

Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys Pro
850 855 860

Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr Met
865 870 875 880

Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp Gly
885 890 895

Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr Val
900 905 910

Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala Gly
915 920 925

Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser Asn
930 935 940

Lys
945

<210> 5
<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO [79-571]片段，具有前導序列

<400> 5

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

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
20 25 30

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
35 40 45

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
50 55 60

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
65 70 75 80

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
85 90 95

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
100 105 110

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
115 120 125

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
130 135 140

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
145 150 155 160

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
165 170 175

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
180 185 190

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
195 200 205

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
210 215 220

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
225 230 235 240

Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
245					250					255					
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
260					265					270					
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe
275					280					285					
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe
290					295					300					
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser
305					310					315					320
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp
325					330					335					
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg
340					345					350					
Asn	Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr
355					360					365					
Pro	Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly
370					375					380					
Val	Asn	Asn	Arg	Thr	Glu	Tyr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Thr
385					390					395					400
Ser	Gly	Lys	Ile	Asn	Leu	Ser	His	Gln	Gly	Ala	Tyr	Val	Ala	Gln	Tyr
405					410					415					
Glu	Ile	Leu	Trp	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr	Asp	Asp	Lys	Gly	Lys	Glu	Val
420					425					430					
Ile	Thr	Lys	Arg	Arg	Trp	Asp	Asn	Asn	Trp	Tyr	Ser	Lys	Thr	Ser	Pro
435					440					445					

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
450 455 460

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Trp Glu Trp Trp Arg Lys Val
465 470 475 480

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
485 490 495

Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
500 505 510

<210> 6
<211> 493
<212> PRT
<213> 釀膿鏈球菌

<400> 6

Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys Lys
1 5 10 15

Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile Asn
20 25 30

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

Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys Lys
50 55 60

Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn Thr
65 70 75 80

Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr Tyr
85 90 95

Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys Pro

100 105 110

Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp Leu
115 120 125

Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr Tyr
130 135 140

Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His Asp
145 150 155 160

Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr Glu
165 170 175

Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val Asn
180 185 190

Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile Ser
195 200 205

Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe Tyr
210 215 220

Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp Lys
225 230 235 240

Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu Ala
245 250 255

Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe Val
260 265 270

Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe Ser
275 280 285

Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser Asp
290 295 300

Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp	Ala	
305					310					315					320	
Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg	Asn	
				325					330						335	
Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr	Pro	
			340					345							350	
Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly	Val	
		355					360							365		
Asn	Asn	Arg	Thr	Glu	Tyr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Thr	Ser	
		370					375					380				
Gly	Lys	Ile	Asn	Leu	Ser	His	Gln	Gly	Ala	Tyr	Val	Ala	Gln	Tyr	Glu	
385					390					395					400	
Ile	Leu	Trp	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr	Asp	Asp	Lys	Gly	Lys	Glu	Val	Ile	
				405						410					415	
Thr	Lys	Arg	Arg	Trp	Asp	Asn	Asn	Trp	Tyr	Ser	Lys	Thr	Ser	Pro	Phe	
			420						425						430	
Ser	Thr	Val	Ile	Pro	Leu	Gly	Ala	Asn	Ser	Arg	Asn	Ile	Arg	Ile	Met	
		435						440					445			
Ala	Arg	Glu	Cys	Thr	Gly	Leu	Ala	Trp	Glu	Trp	Trp	Arg	Lys	Val	Ile	
		450					455						460			
Asp	Glu	Arg	Asp	Val	Lys	Leu	Ser	Lys	Glu	Ile	Asn	Val	Asn	Ile	Ser	
465						470					475				480	
Gly	Ser	Thr	Leu	Ser	Pro	Tyr	Gly	Ser	Ile	Thr	Tyr	Lys				
				485						490						
<210> 7																

<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO [79-571片段] - W535突變體，具有前導序列

<400> 7

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

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
20 25 30

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
35 40 45

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
50 55 60

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
65 70 75 80

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
85 90 95

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
100 105 110

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
115 120 125

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
130 135 140

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
145 150 155 160

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

165 170 175

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
180 185 190

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
195 200 205

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
210 215 220

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
225 230 235 240

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
245 250 255

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
260 265 270

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
275 280 285

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
290 295 300

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
305 310 315 320

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
325 330 335

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
340 345 350

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
355 360 365

Pro	Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly	
370						375					380					
Val	Asn	Asn	Arg	Thr	Glu	Tyr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Thr	
385					390					395					400	
Ser	Gly	Lys	Ile	Asn	Leu	Ser	His	Gln	Gly	Ala	Tyr	Val	Ala	Gln	Tyr	
				405					410					415		
Glu	Ile	Leu	Trp	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr	Asp	Asp	Lys	Gly	Lys	Glu	Val	
		420						425					430			
Ile	Thr	Lys	Arg	Arg	Trp	Asp	Asn	Asn	Trp	Tyr	Ser	Lys	Thr	Ser	Pro	
		435					440					445				
Phe	Ser	Thr	Val	Ile	Pro	Leu	Gly	Ala	Asn	Ser	Arg	Asn	Ile	Arg	Ile	
	450					455					460					
Met	Ala	Arg	Glu	Cys	Thr	Gly	Leu	Ala	Ala	Glu	Trp	Trp	Arg	Lys	Val	
465					470					475					480	
Ile	Asp	Glu	Arg	Asp	Val	Lys	Leu	Ser	Lys	Glu	Ile	Asn	Val	Asn	Ile	
				485					490					495		
Ser	Gly	Ser	Thr	Leu	Ser	Pro	Tyr	Gly	Ser	Ile	Thr	Tyr	Lys			
			500					505					510			
<210> 8																
<211> 493																
<212> PRT																
<213> 人工序列																
<220>																
<223> SLO [79-571片段] - W535突變體，不具有前導序列																
<400> 8																
Ala	Pro	Lys	Glu	Met	Pro	Leu	Glu	Ser	Ala	Glu	Lys	Glu	Glu	Lys	Lys	
1				5					10					15		

Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile Asn
20 25 30

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

Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys Lys
50 55 60

Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn Thr
65 70 75 80

Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr Tyr
85 90 95

Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys Pro
100 105 110

Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp Leu
115 120 125

Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr Tyr
130 135 140

Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His Asp
145 150 155 160

Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr Glu
165 170 175

Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val Asn
180 185 190

Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile Ser
195 200 205

Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe Tyr

210					215					220									
Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp	Lys				
225					230					235					240				
Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu	Ala				
245					250					255									
Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe	Val				
260					265					270									
Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe	Ser				
275					280					285									
Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser	Asp				
290					295					300									
Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp	Ala				
305					310					315					320				
Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg	Asn				
325					330					335									
Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr	Pro				
340					345					350									
Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly	Val				
355					360					365									
Asn	Asn	Arg	Thr	Glu	Tyr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Thr	Ser				
370					375					380									
Gly	Lys	Ile	Asn	Leu	Ser	His	Gln	Gly	Ala	Tyr	Val	Ala	Gln	Tyr	Glu				
385					390					395					400				
Ile	Leu	Trp	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr	Asp	Asp	Lys	Gly	Lys	Glu	Val	Ile				
405					410					415									

Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro Phe
420 425 430

Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile Met
435 440 445

Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val Ile
450 455 460

Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile Ser
465 470 475 480

Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
485 490

<210> 9
<211> 834
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SpyAD [33-849片段] WT，具有前導序列

<400> 9

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

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
20 25 30

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
35 40 45

Lys Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
50 55 60

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
65 70 75 80

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

275 280 285

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
290 295 300

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
305 310 315 320

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
325 330 335

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
340 345 350

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
355 360 365

Tyr Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
370 375 380

Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
385 390 395 400

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
405 410 415

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
420 425 430

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
435 440 445

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
450 455 460

Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
465 470 475 480

Asn	Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Glu	His	Phe	Val	Met	Phe	Pro	Glu	Ser	Asn	
				485					490					495		
Ile	Ala	Asn	His	Gln	Arg	Phe	Asn	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Ala	Val	Gly	
			500					505					510			
Ser	Thr	Lys	Asp	Tyr	Ala	Gln	Arg	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Asp	Thr	Ile	
		515					520					525				
Ala	Ala	Ile	Lys	Gly	Lys	Val	Ser	Ser	Leu	Glu	Asn	Arg	Leu	Ser	Ala	
	530					535					540					
Ile	His	Gln	Glu	Ala	Asp	Ile	Met	Ala	Ala	Gln	Ala	Lys	Val	Ser	Gln	
545					550					555					560	
Leu	Gln	Gly	Lys	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Gln	Ser	Asp	Ser	Leu	Asn	
			565						570					575		
Leu	Gln	Val	Arg	Gln	Leu	Asn	Asp	Thr	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	
		580						585					590			
Leu	Leu	Ala	Ala	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Gln	Leu	Glu	Ala	Thr	Arg	Asp	
	595						600					605				
Gln	Ser	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala	Ser	Leu	Lys	Ala	Ala	Leu	His	Gln	Thr	
	610					615					620					
Glu	Ala	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Ala	Leu	Val	Ala	
625					630				635					640		
Lys	Lys	Ala	His	Leu	Gln	Tyr	Leu	Arg	Asp	Phe	Lys	Leu	Asn	Pro	Asn	
			645					650					655			
Arg	Leu	Gln	Val	Ile	Arg	Glu	Arg	Ile	Asp	Asn	Thr	Lys	Gln	Asp	Leu	
		660						665					670			
Ala	Lys	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Ala	Gln	Glu	Ala	Leu	Ala	Ala	

675

680

685

Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
690 695 700

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
705 710 715 720

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
725 730 735

Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
740 745 750

Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala
755 760 765

Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu
770 775 780

Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys
785 790 795 800

Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser
805 810 815

Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr
820 825 830

Gln Arg

<210> 10
<211> 817
<212> PRT
<213> 釀膿鏈球菌

<400> 10

Gln	Val	Lys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Ser	Gly	Glu	Thr	Lys	Ala	Ser	Asn
1			5					10					15		
Thr	His	Asp	Asp	Ser	Leu	Pro	Lys	Pro	Glu	Thr	Ile	Gln	Glu	Ala	Lys
		20					25					30			
Ala	Thr	Ile	Asp	Ala	Val	Glu	Lys	Thr	Leu	Ser	Gln	Gln	Lys	Ala	Glu
		35					40					45			
Leu	Thr	Glu	Leu	Ala	Thr	Ala	Leu	Thr	Lys	Thr	Thr	Ala	Glu	Ile	Asn
	50					55					60				
His	Leu	Lys	Glu	Gln	Gln	Asp	Asn	Glu	Gln	Lys	Ala	Leu	Thr	Ser	Ala
65				70					75					80	
Gln	Glu	Ile	Tyr	Thr	Asn	Thr	Leu	Ala	Ser	Ser	Glu	Glu	Thr	Leu	Leu
			85						90					95	
Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	His	Gln	Arg	Glu	Leu	Thr	Ala	Thr	Glu	Thr	Glu
		100						105					110		
Leu	His	Asn	Ala	Gln	Ala	Asp	Gln	His	Ser	Lys	Glu	Thr	Ala	Leu	Ser
	115						120					125			
Glu	Gln	Lys	Ala	Ser	Ile	Ser	Ala	Glu	Thr	Thr	Arg	Ala	Gln	Asp	Leu
	130					135					140				
Val	Glu	Gln	Val	Lys	Thr	Ser	Glu	Gln	Asn	Ile	Ala	Lys	Leu	Asn	Ala
145				150					155					160	
Met	Ile	Ser	Asn	Pro	Asp	Ala	Ile	Thr	Lys	Ala	Ala	Gln	Thr	Ala	Asn
			165						170					175	
Asp	Asn	Thr	Lys	Ala	Leu	Ser	Ser	Glu	Leu	Glu	Lys	Ala	Lys	Ala	Asp
		180						185					190		
Leu	Glu	Asn	Gln	Lys	Ala	Lys	Val	Lys	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Glu	Leu
	195						200					205			

Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg
210 215 220

Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn
225 230 235 240

Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Leu
245 250 255

Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
260 265 270

Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu
275 280 285

Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
290 295 300

Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala
305 310 315 320

His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr
325 330 335

Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr
340 345 350

Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro
355 360 365

Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile
370 375 380

Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met
385 390 395 400

Tyr	Glu	Asn	Ile	Gly	Ala	Phe	Asn	Asp	Val	His	Thr	Val	Asn	Gly	Ile
405				410				415							
Lys	Arg	Gly	Ile	Tyr	Asp	Ser	Ile	Lys	Tyr	Met	Leu	Phe	Thr	Asp	His
420				425				430							
Leu	His	Gly	Asn	Thr	Tyr	Gly	His	Ala	Ile	Asn	Phe	Leu	Arg	Val	Asp
435				440				445							
Lys	His	Asn	Pro	Asn	Ala	Pro	Val	Tyr	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Ser	Asn
450				455				460							
Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Glu	His	Phe	Val	Met	Phe	Pro	Glu	Ser	Asn	Ile
465				470				475				480			
Ala	Asn	His	Gln	Arg	Phe	Asn	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Ala	Val	Gly	Ser
485				490				495							
Thr	Lys	Asp	Tyr	Ala	Gln	Arg	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Asp	Thr	Ile	Ala
500				505				510							
Ala	Ile	Lys	Gly	Lys	Val	Ser	Ser	Leu	Glu	Asn	Arg	Leu	Ser	Ala	Ile
515				520				525							
His	Gln	Glu	Ala	Asp	Ile	Met	Ala	Ala	Gln	Ala	Lys	Val	Ser	Gln	Leu
530				535				540							
Gln	Gly	Lys	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Gln	Ser	Asp	Ser	Leu	Asn	Leu
545				550				555				560			
Gln	Val	Arg	Gln	Leu	Asn	Asp	Thr	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	Leu
565				570				575							
Leu	Ala	Ala	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Gln	Leu	Glu	Ala	Thr	Arg	Asp	Gln
580				585				590							
Ser	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala	Ser	Leu	Lys	Ala	Ala	Leu	His	Gln	Thr	Glu
595				600				605							

Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala Lys
610 615 620

Lys Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn Arg
625 630 635 640

Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu Ala
645 650 655

Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala Leu
660 665 670

Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu His
675 680 685

Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His
690 695 700

Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro
705 710 715 720

Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr Pro
725 730 735

Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala Ser
740 745 750

Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu Val
755 760 765

Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys Ile
770 775 780

Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser Gly
785 790 795 800

Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr Gln
805 810 815

Arg

<210> 11
<211> 834
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SpyAD [33-849片段] nnAA (例如pAMF) K64/K287/K386/K657突變體，具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (49)..(49)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (272)..(272)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (371)..(371)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (642)..(642)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 11

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

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
20 25 30

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
35 40 45

Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
50 55 60

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
65 70 75 80

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
85 90 95

Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu
100 105 110

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr
115 120 125

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu
130 135 140

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp
145 150 155 160

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn
165 170 175

Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala
180 185 190

Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala
195 200 205

Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu
210 215 220

Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser
225 230 235 240

Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn

245 250 255

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa
260 265 270

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
275 280 285

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
290 295 300

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
305 310 315 320

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
325 330 335

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
340 345 350

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
355 360 365

Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
370 375 380

Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
385 390 395 400

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
405 410 415

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
420 425 430

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
435 440 445

His	Leu	His	Gly	Asn	Thr	Tyr	Gly	His	Ala	Ile	Asn	Phe	Leu	Arg	Val	
450						455					460					
Asp	Lys	His	Asn	Pro	Asn	Ala	Pro	Val	Tyr	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Ser	
465					470					475					480	
Asn	Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Glu	His	Phe	Val	Met	Phe	Pro	Glu	Ser	Asn	
				485					490						495	
Ile	Ala	Asn	His	Gln	Arg	Phe	Asn	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Ala	Val	Gly	
			500					505						510		
Ser	Thr	Lys	Asp	Tyr	Ala	Gln	Arg	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Asp	Thr	Ile	
		515					520					525				
Ala	Ala	Ile	Lys	Gly	Lys	Val	Ser	Ser	Leu	Glu	Asn	Arg	Leu	Ser	Ala	
530						535					540					
Ile	His	Gln	Glu	Ala	Asp	Ile	Met	Ala	Ala	Gln	Ala	Lys	Val	Ser	Gln	
545					550					555					560	
Leu	Gln	Gly	Lys	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Gln	Ser	Asp	Ser	Leu	Asn	
				565					570						575	
Leu	Gln	Val	Arg	Gln	Leu	Asn	Asp	Thr	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	
			580					585						590		
Leu	Leu	Ala	Ala	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Gln	Leu	Glu	Ala	Thr	Arg	Asp	
		595					600					605				
Gln	Ser	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala	Ser	Leu	Lys	Ala	Ala	Leu	His	Gln	Thr	
		610				615						620				
Glu	Ala	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Ala	Leu	Val	Ala	
625					630					635					640	
Lys	Xaa	Ala	His	Leu	Gln	Tyr	Leu	Arg	Asp	Phe	Lys	Leu	Asn	Pro	Asn	

645 650 655

Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
660 665 670

Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
675 680 685

Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
690 695 700

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
705 710 715 720

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
725 730 735

Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
740 745 750

Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala
755 760 765

Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu
770 775 780

Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys
785 790 795 800

Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser
805 810 815

Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr
820 825 830

Gln Arg

<210> 12
<211> 817
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SpyAD [33-849片段] nnAA (例如pAMF) K64/K287/K386/K657突變體，不具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可為任何天然胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (255)..(255)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (354)..(354)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (625)..(625)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 12

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn
1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa
20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu
35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn

50					55					60					
His	Leu	Lys	Glu	Gln	Gln	Asp	Asn	Glu	Gln	Lys	Ala	Leu	Thr	Ser	Ala
65					70					75					80
Gln	Glu	Ile	Tyr	Thr	Asn	Thr	Leu	Ala	Ser	Ser	Glu	Glu	Thr	Leu	Leu
				85					90					95	
Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	His	Gln	Arg	Glu	Leu	Thr	Ala	Thr	Glu	Thr	Glu
			100					105					110		
Leu	His	Asn	Ala	Gln	Ala	Asp	Gln	His	Ser	Lys	Glu	Thr	Ala	Leu	Ser
		115					120					125			
Glu	Gln	Lys	Ala	Ser	Ile	Ser	Ala	Glu	Thr	Thr	Arg	Ala	Gln	Asp	Leu
	130					135					140				
Val	Glu	Gln	Val	Lys	Thr	Ser	Glu	Gln	Asn	Ile	Ala	Lys	Leu	Asn	Ala
145					150					155					160
Met	Ile	Ser	Asn	Pro	Asp	Ala	Ile	Thr	Lys	Ala	Ala	Gln	Thr	Ala	Asn
			165						170					175	
Asp	Asn	Thr	Lys	Ala	Leu	Ser	Ser	Glu	Leu	Glu	Lys	Ala	Lys	Ala	Asp
			180					185					190		
Leu	Glu	Asn	Gln	Lys	Ala	Lys	Val	Lys	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Glu	Leu
		195					200					205			
Ala	Ala	Gln	Lys	Ala	Ala	Leu	Ala	Glu	Lys	Glu	Ala	Glu	Leu	Ser	Arg
	210					215					220				
Leu	Lys	Ser	Ser	Ala	Pro	Ser	Thr	Gln	Asp	Ser	Ile	Val	Gly	Asn	Asn
225					230					235					240
Thr	Met	Lys	Ala	Pro	Gln	Gly	Tyr	Pro	Leu	Glu	Glu	Leu	Lys	Xaa	Leu
				245					250					255	

Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
260 265 270

Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu
275 280 285

Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
290 295 300

Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala
305 310 315 320

His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr
325 330 335

Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr
340 345 350

Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro
355 360 365

Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile
370 375 380

Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met
385 390 395 400

Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile
405 410 415

Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp His
420 425 430

Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp
435 440 445

Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser Asn

450					455					460						
Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Glu	His	Phe	Val	Met	Phe	Pro	Glu	Ser	Asn	Ile	
465					470					475					480	
Ala	Asn	His	Gln	Arg	Phe	Asn	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Ala	Val	Gly	Ser	
					485					490					495	
Thr	Lys	Asp	Tyr	Ala	Gln	Arg	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Asp	Thr	Ile	Ala	
					500					505					510	
Ala	Ile	Lys	Gly	Lys	Val	Ser	Ser	Leu	Glu	Asn	Arg	Leu	Ser	Ala	Ile	
					515					520					525	
His	Gln	Glu	Ala	Asp	Ile	Met	Ala	Ala	Gln	Ala	Lys	Val	Ser	Gln	Leu	
530					535					540						
Gln	Gly	Lys	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Gln	Ser	Asp	Ser	Leu	Asn	Leu	
545					550					555					560	
Gln	Val	Arg	Gln	Leu	Asn	Asp	Thr	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	Leu	
					565					570					575	
Leu	Ala	Ala	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Gln	Leu	Glu	Ala	Thr	Arg	Asp	Gln	
					580					585					590	
Ser	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala	Ser	Leu	Lys	Ala	Ala	Leu	His	Gln	Thr	Glu	
595					600					605						
Ala	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Ala	Leu	Val	Ala	Lys	
610					615					620						
Xaa	Ala	His	Leu	Gln	Tyr	Leu	Arg	Asp	Phe	Lys	Leu	Asn	Pro	Asn	Arg	
625					630					635					640	
Leu	Gln	Val	Ile	Arg	Glu	Arg	Ile	Asp	Asn	Thr	Lys	Gln	Asp	Leu	Ala	
					645					650					655	

Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala Leu
660 665 670

Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu His
675 680 685

Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His
690 695 700

Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro
705 710 715 720

Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr Pro
725 730 735

Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala Ser
740 745 750

Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu Val
755 760 765

Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys Ile
770 775 780

Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser Gly
785 790 795 800

Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr Gln
805 810 815

Arg

- <210> 13
- <211> 427
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] WT，具有前導序列

<400> 13

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

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
65 70 75 80

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
85 90 95

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
100 105 110

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
115 120 125

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
130 135 140

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
145 150 155 160

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
165 170 175

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser

180185190

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
195200205

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
210215220

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
225230235240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
245250255

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
260265270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
275280285

Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
290295300

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
305310315320

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
325330335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
340345350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
355360365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370375380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 14
<211> 410
<212> PRT
<213> 釀膿鏈球菌

<400> 14

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu Lys
1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro
20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp
35 40 45

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly
50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80

Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala Asn
85 90 95

Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met Ala
100 105 110

Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln
115 120 125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
130 135 140

Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu
145 150 155 160

Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
165 170 175

Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Lys
180 185 190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
195 200 205

Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
210 215 220

Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
225 230 235 240

Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
245 250 255

Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
260 265 270

Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
275 280 285

Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
290 295 300

Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala Glu
305 310 315 320

Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
325 330 335

Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
340 345 350

Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg
355 360 365

Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile
370 375 380

Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
385 390 395 400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 15

<211> 427

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ADI [全長] D277A突變體，具有前導序列

<400> 15

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

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
50 55 60

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

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
275 280 285

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
290 295 300

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
305 310 315 320

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 16
<211> 410
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] D277A突變體，不具有前導序列

<400> 16

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu Lys
1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro
20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp
35 40 45

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly
50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80

Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala Asn
85 90 95

Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met Ala
100 105 110

Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln
115 120 125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
130 135 140

Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu
145 150 155 160

Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
165 170 175

Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Lys
180 185 190

Tyr	Ile	Phe	Thr	His	His	Pro	Ile	Tyr	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Pro	Met
195					200					205					
Val	Tyr	Asp	Arg	Asn	Glu	Thr	Thr	Arg	Ile	Glu	Gly	Gly	Asp	Glu	Leu
210					215					220					
Val	Leu	Ser	Lys	Asp	Val	Leu	Ala	Val	Gly	Ile	Ser	Gln	Arg	Thr	Asp
225					230					235					240
Ala	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	Leu	Leu	Val	Asn	Ile	Phe	Lys	Gln	Asn	Leu
245					250					255					
Gly	Phe	Lys	Lys	Val	Leu	Ala	Phe	Glu	Phe	Ala	Asn	Asn	Arg	Lys	Phe
260					265					270					
Met	His	Leu	Ala	Thr	Val	Phe	Thr	Met	Val	Asp	Tyr	Asp	Lys	Phe	Thr
275					280					285					
Ile	His	Pro	Glu	Ile	Glu	Gly	Asp	Leu	Arg	Val	Tyr	Ser	Val	Thr	Tyr
290					295					300					
Asp	Asn	Glu	Glu	Leu	His	Ile	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Asp	Leu	Ala	Glu
305					310					315					320
Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Leu	Gly	Val	Glu	Lys	Val	Asp	Leu	Ile	Arg	Cys
325					330					335					
Gly	Gly	Asp	Asn	Leu	Val	Ala	Ala	Gly	Arg	Glu	Gln	Trp	Asn	Asp	Gly
340					345					350					
Ser	Asn	Thr	Leu	Thr	Ile	Ala	Pro	Gly	Val	Val	Val	Val	Tyr	Asn	Arg
355					360					365					
Asn	Thr	Ile	Thr	Asn	Ala	Ile	Leu	Glu	Ser	Lys	Gly	Leu	Lys	Leu	Ile
370					375					380					
Lys	Ile	His	Gly	Ser	Glu	Leu	Val	Arg	Gly	Arg	Gly	Gly	Pro	Arg	Cys
385					390					395					400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 17
<211> 427
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] WT nnAA (例如pAMF) K15/K193/K316，具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (209)..(209)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (332)..(332)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 17

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

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu
20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
65 70 75 80

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
85 90 95

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
100 105 110

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
115 120 125

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
130 135 140

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
145 150 155 160

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
165 170 175

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
180 185 190

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
195 200 205

Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
210 215 220

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
225 230 235 240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
245 250 255

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
260 265 270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
275 280 285

Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
290 295 300

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
305 310 315 320

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala
325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 18
<211> 410
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] WT nnAA (例如pAMF) K15/K193/K316，不具有前導序列

<220>

<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (192)..(192)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (315)..(315)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 18

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu Lys
1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro
20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp
35 40 45

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly
50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80

Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala Asn
85 90 95

Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met Ala
100 105 110

Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln
115 120 125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
130 135 140

Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu
145 150 155 160

Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
165 170 175

Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Xaa
180 185 190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
195 200 205

Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
210 215 220

Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
225 230 235 240

Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
245 250 255

Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
260 265 270

Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
275 280 285

Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
290 295 300

Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala Glu
305 310 315 320

Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
325 330 335

Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
340 345 350

Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg
355 360 365

Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile
370 375 380

Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
385 390 395 400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 19
<211> 427
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] D277A nnAA (例如pAMF) K15/K193/K316，具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (209)..(209)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (332)..(332)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 19

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

Gly	Thr	Ala	Gln	Thr	Pro	Ile	His	Val	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Xaa	Leu
20				25				30							
Lys	Lys	Val	Leu	Leu	His	Arg	Pro	Gly	Lys	Glu	Ile	Glu	Asn	Leu	Met
35				40				45							
Pro	Asp	Tyr	Leu	Glu	Arg	Leu	Leu	Phe	Asp	Asp	Ile	Pro	Phe	Leu	Glu
50				55				60							
Asp	Ala	Gln	Lys	Glu	His	Asp	Ala	Phe	Ala	Gln	Ala	Leu	Arg	Asp	Glu
65				70				75				80			
Gly	Ile	Glu	Val	Leu	Tyr	Leu	Glu	Thr	Leu	Ala	Ala	Glu	Ser	Leu	Val
85				90				95							
Thr	Pro	Glu	Ile	Arg	Glu	Ala	Phe	Ile	Asp	Glu	Tyr	Leu	Ser	Glu	Ala
100				105				110							
Asn	Ile	Arg	Gly	Arg	Ala	Thr	Lys	Lys	Ala	Ile	Arg	Glu	Leu	Leu	Met
115				120				125							
Ala	Ile	Glu	Asp	Asn	Gln	Glu	Leu	Ile	Glu	Lys	Thr	Met	Ala	Gly	Val
130				135				140							
Gln	Lys	Ser	Glu	Leu	Pro	Glu	Ile	Pro	Ala	Ser	Glu	Lys	Gly	Leu	Thr
145				150				155				160			
Asp	Leu	Val	Glu	Ser	Asn	Tyr	Pro	Phe	Ala	Ile	Asp	Pro	Met	Pro	Asn
165				170				175							
Leu	Tyr	Phe	Thr	Arg	Asp	Pro	Phe	Ala	Thr	Ile	Gly	Thr	Gly	Val	Ser
180				185				190							
Leu	Asn	His	Met	Phe	Ser	Glu	Thr	Arg	Asn	Arg	Glu	Thr	Leu	Tyr	Gly
195				200				205							
Xaa	Tyr	Ile	Phe	Thr	His	His	Pro	Ile	Tyr	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Pro
210				215				220							

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
225 230 235 240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
245 250 255

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
260 265 270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
275 280 285

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
290 295 300

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
305 310 315 320

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala
325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 20
<211> 410
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] D277A nnAA (例如pAMF) K15/K193/K316，不具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (192)..(192)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (315)..(315)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 20

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu Lys
1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro
20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp
35 40 45

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly
50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80

Pro	Glu	Ile	Arg	Glu	Ala	Phe	Ile	Asp	Glu	Tyr	Leu	Ser	Glu	Ala	Asn	
				85					90					95		
Ile	Arg	Gly	Arg	Ala	Thr	Lys	Lys	Ala	Ile	Arg	Glu	Leu	Leu	Met	Ala	
				100				105						110		
Ile	Glu	Asp	Asn	Gln	Glu	Leu	Ile	Glu	Lys	Thr	Met	Ala	Gly	Val	Gln	
				115				120						125		
Lys	Ser	Glu	Leu	Pro	Glu	Ile	Pro	Ala	Ser	Glu	Lys	Gly	Leu	Thr	Asp	
				130				135						140		
Leu	Val	Glu	Ser	Asn	Tyr	Pro	Phe	Ala	Ile	Asp	Pro	Met	Pro	Asn	Leu	
				145				150				155			160	
Tyr	Phe	Thr	Arg	Asp	Pro	Phe	Ala	Thr	Ile	Gly	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	
				165					170					175		
Asn	His	Met	Phe	Ser	Glu	Thr	Arg	Asn	Arg	Glu	Thr	Leu	Tyr	Gly	Xaa	
				180					185					190		
Tyr	Ile	Phe	Thr	His	His	Pro	Ile	Tyr	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Pro	Met	
				195				200					205			
Val	Tyr	Asp	Arg	Asn	Glu	Thr	Thr	Arg	Ile	Glu	Gly	Gly	Asp	Glu	Leu	
				210				215					220			
Val	Leu	Ser	Lys	Asp	Val	Leu	Ala	Val	Gly	Ile	Ser	Gln	Arg	Thr	Asp	
				225				230				235			240	
Ala	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	Leu	Leu	Val	Asn	Ile	Phe	Lys	Gln	Asn	Leu	
				245					250					255		
Gly	Phe	Lys	Lys	Val	Leu	Ala	Phe	Glu	Phe	Ala	Asn	Asn	Arg	Lys	Phe	
				260					265					270		
Met	His	Leu	Ala	Thr	Val	Phe	Thr	Met	Val	Asp	Tyr	Asp	Lys	Phe	Thr	
				275				280					285			

Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
290 295 300

Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala Glu
305 310 315 320

Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
325 330 335

Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
340 345 350

Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg
355 360 365

Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile
370 375 380

Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
385 390 395 400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 21
<211> 184
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類鐵蛋白[全長] WT，具有前導序列

<400> 21

Met His His His His His His Gly Ser Gly Ser Ser Gln Ile Arg Gln
1 5 10 15

Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val Asn Ser Leu Val Asn Leu
20 25 30

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

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
50 55 60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn
65 70 75 80

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

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu
100 105 110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
115 120 125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130 135 140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145 150 155 160

Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165 170 175

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 22
<211> 174
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Ser Ser Gln Ile Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val

1 5 10 15

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
35 40 45

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80

Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95

Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp
100 105 110

Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe
115 120 125

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
130 135 140

Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
145 150 155 160

Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
165 170

<210> 23
<211> 184
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類鐵蛋白[全長] nnAA (例如pAMF)突變體I5，具有前導序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 23

Met	His	His	His	His	His	His	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Gln	Xaa	Arg	Gln
1				5					10					15	
Asn	Tyr	Ser	Thr	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Val	Asn	Ser	Leu	Val	Asn	Leu
			20					25					30		
Tyr	Leu	Gln	Ala	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Leu	Ser	Leu	Gly	Phe	Tyr	Phe	Asp
		35					40					45			
Arg	Asp	Asp	Val	Ala	Leu	Glu	Gly	Val	Ser	His	Phe	Phe	Arg	Glu	Leu
	50					55					60				
Ala	Glu	Glu	Lys	Arg	Glu	Gly	Tyr	Glu	Arg	Leu	Leu	Lys	Met	Gln	Asn
65				70						75				80	
Gln	Arg	Gly	Gly	Arg	Ala	Leu	Phe	Gln	Asp	Ile	Lys	Lys	Pro	Ala	Glu
				85					90					95	
Asp	Glu	Trp	Gly	Lys	Thr	Pro	Asp	Ala	Met	Lys	Ala	Ala	Met	Ala	Leu
		100						105					110		
Glu	Lys	Lys	Leu	Asn	Gln	Ala	Leu	Leu	Asp	Leu	His	Ala	Leu	Gly	Ser
		115					120					125			
Ala	Arg	Thr	Asp	Pro	His	Leu	Cys	Asp	Phe	Leu	Glu	Thr	His	Phe	Leu
	130					135					140				
Asp	Glu	Glu	Val	Lys	Leu	Ile	Lys	Lys	Met	Gly	Asp	His	Leu	Thr	Asn
145				150						155				160	
Leu	His	Arg	Leu	Gly	Gly	Pro	Glu	Ala	Gly	Leu	Gly	Glu	Tyr	Leu	Phe
			165						170					175	

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 24
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類鐵蛋白[全長] nnAA (例如pAMF)突變體I5，不具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 24

Ser Ser Gln Xaa Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
1 5 10 15

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
35 40 45

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80

Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95

Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp
100 105 110

Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe
115 120 125

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
130 135 140

Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
145 150 155 160

Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
165 170

<210> 25
<211> 536
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> eCRM - nnAA (例如pAMF)突變體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (213)..(213)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (245)..(245)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (265)..(265)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (386)..(386)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (527)..(527)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 25

Met Gly Ala Asp Asp Val Val Asp Ser Ser Lys Ser Phe Val Met Glu
1 5 10 15

Asn Phe Ser Ser Tyr His Gly Thr Lys Pro Gly Tyr Val Asp Ser Ile
20 25 30

Gln Xaa Gly Ile Gln Lys Pro Lys Ser Gly Thr Gln Gly Asn Tyr Asp
35 40 45

Asp Asp Trp Lys Glu Phe Tyr Ser Thr Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Ala
50 55 60

Gly Tyr Ser Val Asp Asn Glu Asn Pro Leu Ser Gly Lys Ala Gly Gly
65 70 75 80

Val Val Lys Val Thr Tyr Pro Gly Leu Thr Lys Val Leu Ala Leu Lys
85 90 95

Val Asp Asn Ala Glu Thr Ile Lys Lys Glu Leu Gly Leu Ser Leu Thr
100 105 110

Glu Pro Leu Met Glu Gln Val Gly Thr Glu Glu Phe Ile Lys Arg Phe
115 120 125

Gly Asp Gly Ala Ser Arg Val Val Leu Ser Leu Pro Phe Ala Glu Gly
130 135 140

Ser Ser Ser Val Glu Tyr Ile Asn Asn Trp Glu Gln Ala Lys Ala Leu
145 150 155 160

Ser Val Glu Leu Glu Ile Asn Phe Glu Thr Arg Gly Lys Arg Gly Gln
165 170 175

Asp	Ala	Met	Tyr	Glu	Tyr	Met	Ala	Gln	Ala	Cys	Ala	Gly	Asn	Arg	Val	
		180						185					190			
Arg	Asn	Ser	Val	Gly	Ser	Ser	Leu	Ser	Cys	Ile	Asn	Leu	Asp	Trp	Asp	
	195						200					205				
Val	Ile	Arg	Asp	Xaa	Thr	Lys	Thr	Lys	Ile	Glu	Ser	Leu	Lys	Glu	His	
	210					215					220					
Gly	Pro	Ile	Lys	Asn	Lys	Met	Ser	Glu	Ser	Pro	Asn	Lys	Thr	Val	Ser	
225					230					235					240	
Glu	Glu	Lys	Ala	Xaa	Gln	Tyr	Leu	Glu	Glu	Phe	His	Gln	Thr	Ala	Leu	
			245					250						255		
Glu	His	Pro	Glu	Leu	Ser	Glu	Leu	Xaa	Thr	Val	Thr	Gly	Thr	Asn	Pro	
		260						265					270			
Val	Phe	Ala	Gly	Ala	Asn	Tyr	Ala	Ala	Trp	Ala	Val	Asn	Val	Ala	Gln	
	275						280					285				
Val	Ile	Asp	Ser	Glu	Thr	Ala	Asp	Asn	Leu	Glu	Lys	Thr	Thr	Ala	Ala	
	290					295					300					
Leu	Ser	Ile	Leu	Pro	Gly	Ile	Gly	Ser	Val	Met	Gly	Ile	Ala	Asp	Gly	
305					310					315				320		
Ala	Val	His	His	Asn	Thr	Glu	Glu	Ile	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Ala	Leu	
			325					330					335			
Ser	Ser	Leu	Met	Val	Ala	Gln	Ala	Ile	Pro	Leu	Val	Gly	Glu	Leu	Val	
		340						345					350			
Asp	Ile	Gly	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asn	Phe	Val	Glu	Ser	Ile	Ile	Asn	Leu	
	355					360						365				
Phe	Gln	Val	Val	His	Asn	Ser	Tyr	Asn	Arg	Pro	Ala	Tyr	Ser	Pro	Gly	

370

375

380

His Xaa Thr Gln Pro Phe Leu His Asp Gly Tyr Ala Val Ser Trp Asn

385390395400

Thr Val Glu Asp Ser Ile Ile Arg Thr Gly Phe Gln Gly Glu Ser Gly

405410415

His Asp Ile Lys Ile Thr Ala Glu Asn Thr Pro Leu Pro Ile Ala Gly

420425430

Val Leu Leu Pro Thr Ile Pro Gly Lys Leu Asp Val Asn Lys Ser Lys

435440445

Thr His Ile Ser Val Asn Gly Arg Lys Ile Arg Met Arg Cys Arg Ala

450455460

Ile Asp Gly Asp Val Thr Phe Cys Arg Pro Lys Ser Pro Val Tyr Val

465470475480

Gly Asn Gly Val His Ala Asn Leu His Val Ala Phe His Arg Ser Ser

485490495

Ser Glu Lys Ile His Ser Asn Glu Ile Ser Ser Asp Ser Ile Gly Val

500505510

Leu Gly Tyr Gln Lys Thr Val Asp His Thr Lys Val Asn Ser Xaa Leu

515520525

Ser Leu Phe Phe Glu Ile Lys Ser

530535

<210> 26

<211> 427

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ADI (mut2) [全長] D277A nnAA (例如pAMF)突變體，具有前導序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (139)..(139)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (263)..(263)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 26

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu

20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met

35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu

50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu

65 70 75 80

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val

85 90 95

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala

100 105 110

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met

115 120 125

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Xaa Thr Met Ala Gly Val
130 135 140

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
145 150 155 160

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
165 170 175

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
180 185 190

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
195 200 205

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
210 215 220

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
225 230 235 240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
245 250 255

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Xaa Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
260 265 270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
275 280 285

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
290 295 300

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
305 310 315 320

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala

325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 27
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI (mut2) [全長] D277A nnAA (例如pAMF)突變體，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (123)..(123)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (247)..(247)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (316)..(316)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 27

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
100 105 110

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Xaa Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
130 135 140

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
145 150 155 160

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
165 170 175

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
180 185 190

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Xaa Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
260 265 270

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
275 280 285

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
290 295 300

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala
305 310 315 320

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
325 330 335

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
340 345 350

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg

385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 28
<211> 157
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有前導序列之Sfb1重複區

<400> 28

Met His His His His His His Gly Ser Gly Val Glu Thr Glu Asp Thr
1 5 10 15

Lys Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe
20 25 30

Thr Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Gln Thr Thr Pro Gln Val
35 40 45

Glu Thr Glu Asp Thr Lys Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser
50 55 60

Glu Ser Val Glu Phe Thr Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Gln
65 70 75 80

Thr Ala Ser Gln Val Glu Thr Glu Asp Thr Lys Glu Pro Gly Val Leu
85 90 95

Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe Thr Lys Asp Thr Gln Thr
100 105 110

Gly Met Ser Gly Gln Thr Thr Pro Gln Val Glu Thr Glu Asp Thr Lys
115 120 125

Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe Thr

130	135	140
Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Phe Ser Glu Thr		
145	150	155
<210>	29	
<211>	946	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	C5a [90-1035片段] WT，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突	
<400>	29	
Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp		
1	5	10 15
Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys		
	20	25 30
Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn		
	35	40 45
His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser		
	50	55 60
Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly		
65	70	75 80
Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp		
	85	90 95
Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile		
	100	105 110
Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu		
	115	120 125
Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val		

130					135					140									
Asn	Gly	Leu	Ala	Asp	Tyr	Ala	Arg	Asn	Tyr	Ala	Gln	Ala	Ile	Arg	Asp				
145					150					155					160				
Ala	Val	Asn	Leu	Gly	Ala	Lys	Val	Ile	Asn	Met	Ser	Phe	Gly	Asn	Ala				
165					170					175									
Ala	Leu	Ala	Tyr	Ala	Asn	Leu	Pro	Asp	Glu	Thr	Lys	Lys	Ala	Phe	Asp				
180					185					190									
Tyr	Ala	Lys	Ser	Lys	Gly	Val	Ser	Ile	Val	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Asp				
195					200					205									
Ser	Ser	Phe	Gly	Gly	Lys	Thr	Arg	Leu	Pro	Leu	Ala	Asp	His	Pro	Asp				
210					215					220									
Tyr	Gly	Val	Val	Gly	Thr	Pro	Ala	Ala	Ala	Asp	Ser	Thr	Leu	Thr	Val				
225					230					235					240				
Ala	Ser	Tyr	Ser	Pro	Asp	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Thr	Ala	Thr	Val	Lys				
245					250					255									
Thr	Ala	Asp	Lys	Gln	Asp	Lys	Glu	Met	Pro	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Arg				
260					265					270									
Phe	Glu	Pro	Asn	Lys	Ala	Tyr	Asp	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Gly	Met				
275					280					285									
Lys	Glu	Asp	Asp	Phe	Lys	Asp	Val	Lys	Gly	Lys	Ile	Ala	Leu	Ile	Glu				
290					295					300									
Arg	Gly	Asp	Ile	Asp	Phe	Lys	Asp	Lys	Ile	Ala	Asn	Ala	Lys	Lys	Ala				
305					310					315					320				
Gly	Ala	Val	Gly	Val	Leu	Ile	Tyr	Asp	Asn	Gln	Asp	Lys	Gly	Phe	Pro				
325					330					335									

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
340 345 350

Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
355 360 365

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
370 375 380

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
385 390 395 400

Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
405 410 415

Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
420 425 430

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
435 440 445

Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
450 455 460

Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
465 470 475 480

Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
485 490 495

Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
500 505 510

Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
515 520 525

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

530					535					540					
Val	Asp	Gly	Lys	His	Phe	Ala	Leu	Ala	Pro	Lys	Ala	Leu	Tyr	Glu	Thr
545					550					555					560
Ser	Trp	Gln	Lys	Ile	Thr	Ile	Pro	Ala	Asn	Ser	Ser	Lys	Gln	Val	Thr
				565					570					575	
Val	Pro	Ile	Asp	Ala	Ser	Arg	Phe	Ser	Lys	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	Met
			580					585					590		
Lys	Asn	Gly	Tyr	Phe	Leu	Glu	Gly	Phe	Val	Arg	Phe	Lys	Gln	Asp	Pro
	595						600					605			
Thr	Lys	Glu	Glu	Leu	Met	Ser	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Gly	Asp
610						615					620				
Phe	Gly	Asn	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Lys	Pro	Ile	Tyr	Asp	Ser	Lys	Asp
625					630					635					640
Gly	Ser	Ser	Tyr	Tyr	His	Glu	Ala	Asn	Ser	Asp	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu
				645					650					655	
Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Gln	Phe	Tyr	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Phe	Thr	Ala
			660					665					670		
Leu	Thr	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Trp	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala	Val	Lys	Glu
		675					680					685			
Gly	Val	Glu	Asn	Ile	Glu	Asp	Ile	Glu	Ser	Ser	Glu	Ile	Thr	Glu	Thr
	690					695					700				
Ile	Phe	Ala	Gly	Thr	Phe	Ala	Lys	Gln	Asp	Asp	Asp	Ser	His	Tyr	Tyr
705					710					715					720
Ile	His	Arg	His	Ala	Asn	Gly	Lys	Pro	Tyr	Ala	Ala	Ile	Ser	Pro	Asn
			725						730					735	

Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg
740 745 750

Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val
755 760 765

Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
770 775 780

Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
785 790 795 800

Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr
805 810 815

Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
820 825 830

Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
835 840 845

Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
850 855 860

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
865 870 875 880

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
885 890 895

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
900 905 910

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
915 920 925

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser

930

935

940

Asn Lys
945

<210> 30
<211> 946
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C5a [90-1035片段] D131A/S513A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 30

Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp
1 5 10 15

Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys
20 25 30

Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn
35 40 45

His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser
50 55 60

Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly
65 70 75 80

Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp
85 90 95

Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile
100 105 110

Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu
115 120 125

Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val

130					135					140						
Asn	Gly	Leu	Ala	Asp	Tyr	Ala	Arg	Asn	Tyr	Ala	Gln	Ala	Ile	Arg	Asp	
145					150					155					160	
Ala	Val	Asn	Leu	Gly	Ala	Lys	Val	Ile	Asn	Met	Ser	Phe	Gly	Asn	Ala	
					165					170					175	
Ala	Leu	Ala	Tyr	Ala	Asn	Leu	Pro	Asp	Glu	Thr	Lys	Lys	Ala	Phe	Asp	
					180					185					190	
Tyr	Ala	Lys	Ser	Lys	Gly	Val	Ser	Ile	Val	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Asp	
195										200					205	
Ser	Ser	Phe	Gly	Gly	Lys	Thr	Arg	Leu	Pro	Leu	Ala	Asp	His	Pro	Asp	
210										215					220	
Tyr	Gly	Val	Val	Gly	Thr	Pro	Ala	Ala	Ala	Asp	Ser	Thr	Leu	Thr	Val	
225					230					235					240	
Ala	Ser	Tyr	Ser	Pro	Asp	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Thr	Ala	Thr	Val	Lys	
					245					250					255	
Thr	Ala	Asp	Lys	Gln	Asp	Lys	Glu	Met	Pro	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Arg	
260										265					270	
Phe	Glu	Pro	Asn	Lys	Ala	Tyr	Asp	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Gly	Met	
275										280					285	
Lys	Glu	Asp	Asp	Phe	Lys	Asp	Val	Lys	Gly	Lys	Ile	Ala	Leu	Ile	Glu	
290										295					300	
Arg	Gly	Asp	Ile	Asp	Phe	Lys	Asp	Lys	Ile	Ala	Asn	Ala	Lys	Lys	Ala	
305					310					315					320	
Gly	Ala	Val	Gly	Val	Leu	Ile	Tyr	Asp	Asn	Gln	Asp	Lys	Gly	Phe	Pro	
					325					330					335	

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
340 345 350

Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
355 360 365

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
370 375 380

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
385 390 395 400

Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
405 410 415

Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
420 425 430

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
435 440 445

Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
450 455 460

Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
465 470 475 480

Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
485 490 495

Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
500 505 510

Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
515 520 525

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

530					535					540					
Val	Asp	Gly	Lys	His	Phe	Ala	Leu	Ala	Pro	Lys	Ala	Leu	Tyr	Glu	Thr
545					550					555					560
Ser	Trp	Gln	Lys	Ile	Thr	Ile	Pro	Ala	Asn	Ser	Ser	Lys	Gln	Val	Thr
				565					570					575	
Val	Pro	Ile	Asp	Ala	Ser	Arg	Phe	Ser	Lys	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	Met
			580					585					590		
Lys	Asn	Gly	Tyr	Phe	Leu	Glu	Gly	Phe	Val	Arg	Phe	Lys	Gln	Asp	Pro
		595					600					605			
Thr	Lys	Glu	Glu	Leu	Met	Ser	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Gly	Asp
610						615					620				
Phe	Gly	Asn	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Lys	Pro	Ile	Tyr	Asp	Ser	Lys	Asp
625					630					635					640
Gly	Ser	Ser	Tyr	Tyr	His	Glu	Ala	Asn	Ser	Asp	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu
				645					650					655	
Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Gln	Phe	Tyr	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Phe	Thr	Ala
			660					665					670		
Leu	Thr	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Trp	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala	Val	Lys	Glu
		675					680					685			
Gly	Val	Glu	Asn	Ile	Glu	Asp	Ile	Glu	Ser	Ser	Glu	Ile	Thr	Glu	Thr
	690					695					700				
Ile	Phe	Ala	Gly	Thr	Phe	Ala	Lys	Gln	Asp	Asp	Asp	Ser	His	Tyr	Tyr
705					710					715					720
Ile	His	Arg	His	Ala	Asn	Gly	Lys	Pro	Tyr	Ala	Ala	Ile	Ser	Pro	Asn
			725						730					735	

Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg
740 745 750

Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val
755 760 765

Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
770 775 780

Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
785 790 795 800

Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr
805 810 815

Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
820 825 830

Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
835 840 845

Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
850 855 860

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
865 870 875 880

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
885 890 895

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
900 905 910

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
915 920 925

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser

930

935

940

Asn Lys
945

<210> 31
<211> 494
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO [79-571片段] WT，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 31

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130					135					140						
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His	
145					150					155					160	
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr	
165					170					175						
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val	
180					185					190						
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile	
195					200					205						
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe	
210					215					220						
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp	
225					230					235					240	
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu	
245					250					255						
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe	
260					265					270						
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe	
275					280					285						
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser	
290					295					300						
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp	
305					310					315					320	
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg	
325					330					335						

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Trp Glu Trp Trp Arg Lys Val
450 455 460

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
465 470 475 480

Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
485 490

<210> 32
<211> 494
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO [79-571片段] W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 32

Gly	Ala	Pro	Lys	Glu	Met	Pro	Leu	Glu	Ser	Ala	Glu	Lys	Glu	Glu	Lys
1				5					10					15	
Lys	Ser	Glu	Asp	Lys	Lys	Lys	Ser	Glu	Glu	Asp	His	Thr	Glu	Glu	Ile
			20					25					30		
Asn	Asp	Lys	Ile	Tyr	Ser	Leu	Asn	Tyr	Asn	Glu	Leu	Glu	Val	Leu	Ala
		35					40					45			
Lys	Asn	Gly	Glu	Thr	Ile	Glu	Asn	Phe	Val	Pro	Lys	Glu	Gly	Val	Lys
	50					55				60					
Lys	Ala	Asp	Lys	Phe	Ile	Val	Ile	Glu	Arg	Lys	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn
65					70					75					80
Thr	Thr	Pro	Val	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Arg	Thr
				85					90					95	
Tyr	Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Lys
			100					105					110		
Pro	Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp
			115					120				125			
Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
	130					135						140			
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145					150					155					160
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
				165				170					175		
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
			180					185					190		
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile

195

200

205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val
450 455 460

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
465 470 475 480

Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
485 490

<210> 33
<211> 818
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SpyAD [33-849片段] WT，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 33

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
1 5 10 15

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
20 25 30

Lys Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
50 55 60

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

260 265 270

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
275 280 285

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
290 295 300

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
305 310 315 320

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
325 330 335

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
340 345 350

Tyr Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
355 360 365

Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
370 375 380

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
385 390 395 400

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
405 410 415

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
420 425 430

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
435 440 445

Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
450 455 460

Asn	Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Glu	His	Phe	Val	Met	Phe	Pro	Glu	Ser	Asn
465					470					475					480
Ile	Ala	Asn	His	Gln	Arg	Phe	Asn	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Ala	Val	Gly
				485					490					495	
Ser	Thr	Lys	Asp	Tyr	Ala	Gln	Arg	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Asp	Thr	Ile
			500						505					510	
Ala	Ala	Ile	Lys	Gly	Lys	Val	Ser	Ser	Leu	Glu	Asn	Arg	Leu	Ser	Ala
		515						520					525		
Ile	His	Gln	Glu	Ala	Asp	Ile	Met	Ala	Ala	Gln	Ala	Lys	Val	Ser	Gln
	530						535						540		
Leu	Gln	Gly	Lys	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Gln	Ser	Asp	Ser	Leu	Asn
545					550					555					560
Leu	Gln	Val	Arg	Gln	Leu	Asn	Asp	Thr	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu
				565						570					575
Leu	Leu	Ala	Ala	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Gln	Leu	Glu	Ala	Thr	Arg	Asp
			580						585						590
Gln	Ser	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala	Ser	Leu	Lys	Ala	Ala	Leu	His	Gln	Thr
			595					600					605		
Glu	Ala	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Ala	Leu	Val	Ala
	610						615					620			
Lys	Lys	Ala	His	Leu	Gln	Tyr	Leu	Arg	Asp	Phe	Lys	Leu	Asn	Pro	Asn
625					630					635					640
Arg	Leu	Gln	Val	Ile	Arg	Glu	Arg	Ile	Asp	Asn	Thr	Lys	Gln	Asp	Leu
				645					650						655
Ala	Lys	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Ala	Gln	Glu	Ala	Leu	Ala	Ala

660 665 670

Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
675 680 685

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
690 695 700

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
705 710 715 720

Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
725 730 735

Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala
740 745 750

Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu
755 760 765

Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys
770 775 780

Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser
785 790 795 800

Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr
805 810 815

Gln Arg

<210> 34
<211> 818
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SpyAD [33-849片段] nnAA (例如pAMF)突變體，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (256)..(256)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (355)..(355)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (626)..(626)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 34

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
1 5 10 15

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
20 25 30

Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
50 55 60

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
65 70 75 80

Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu
85 90 95

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr
100 105 110

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu
115 120 125

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp
130 135 140

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn
145 150 155 160

Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala
165 170 175

Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala
180 185 190

Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu
195 200 205

Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser
210 215 220

Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn
225 230 235 240

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa
245 250 255

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
260 265 270

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
275 280 285

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
290 295 300

Pro	Asp	Asn	Leu	Thr	Pro	Glu	Val	Gln	Asn	Glu	Leu	Ala	Gln	Phe	Ala
305					310					315					320
Ala	His	Met	Ile	Asn	Ser	Val	Arg	Arg	Gln	Leu	Gly	Leu	Pro	Pro	Val
			325						330					335	
Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ser	Gln	Glu	Phe	Ala	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Ser
			340						345					350	
Tyr	Lys	Xaa	Thr	His	Gly	Asn	Thr	Arg	Pro	Ser	Phe	Val	Tyr	Gly	Gln
		355						360					365		
Pro	Gly	Val	Ser	Gly	His	Tyr	Gly	Val	Gly	Pro	His	Asp	Lys	Thr	Ile
		370					375					380			
Ile	Glu	Asp	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Gly	Leu	Ile	Arg	Asn	Asp	Asp	Asn
385					390						395				400
Met	Tyr	Glu	Asn	Ile	Gly	Ala	Phe	Asn	Asp	Val	His	Thr	Val	Asn	Gly
			405						410						415
Ile	Lys	Arg	Gly	Ile	Tyr	Asp	Ser	Ile	Lys	Tyr	Met	Leu	Phe	Thr	Asp
			420						425					430	
His	Leu	His	Gly	Asn	Thr	Tyr	Gly	His	Ala	Ile	Asn	Phe	Leu	Arg	Val
			435						440					445	
Asp	Lys	His	Asn	Pro	Asn	Ala	Pro	Val	Tyr	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Ser
			450				455					460			
Asn	Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Glu	His	Phe	Val	Met	Phe	Pro	Glu	Ser	Asn
465					470						475				480
Ile	Ala	Asn	His	Gln	Arg	Phe	Asn	Lys	Thr	Pro	Ile	Lys	Ala	Val	Gly
				485						490					495
Ser	Thr	Lys	Asp	Tyr	Ala	Gln	Arg	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Asp	Thr	Ile
				500						505					510

Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
515 520 525

Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn
545 550 555 560

Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
565 570 575

Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
580 585 590

Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr
595 600 605

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala
610 615 620

Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
625 630 635 640

Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
645 650 655

Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
660 665 670

Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
675 680 685

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
690 695 700

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
705 710 715 720

Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
725 730 735

Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala
740 745 750

Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu
755 760 765

Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys
770 775 780

Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser
785 790 795 800

Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr
805 810 815

Gln Arg

<210> 35
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] WT，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 35

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
100 105 110

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
130 135 140

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
145 150 155 160

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
165 170 175

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
180 185 190

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
260 265 270

Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
275 280 285

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
290 295 300

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
305 310 315 320

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
325 330 335

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
340 345 350

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 36
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] D277A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 36

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
100 105 110

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
130 135 140

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
145 150 155 160

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
165 170 175

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
180 185 190

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
260 265 270

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
275 280 285

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
290 295 300

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
305 310 315 320

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
325 330 335

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
340 345 350

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 37
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI [全長] nnAA (例如pAMF)突變體，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (193)..(193)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (316)..(316)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 37

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
100 105 110

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
130 135 140

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
145 150 155 160

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
165 170 175

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
180 185 190

Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
260 265 270

Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
275 280 285

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
290 295 300

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala
305 310 315 320

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
325 330 335

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
340 345 350

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 38
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ADI (mut5) [全長] D277A nnAA (例如pAMF)突變體，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES

<222> (15)..(15)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (193)..(193)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (316)..(316)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 38

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
100 105 110

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
130 135 140

Asp	Leu	Val	Glu	Ser	Asn	Tyr	Pro	Phe	Ala	Ile	Asp	Pro	Met	Pro	Asn
145					150					155					160
Leu	Tyr	Phe	Thr	Arg	Asp	Pro	Phe	Ala	Thr	Ile	Gly	Thr	Gly	Val	Ser
				165					170					175	
Leu	Asn	His	Met	Phe	Ser	Glu	Thr	Arg	Asn	Arg	Glu	Thr	Leu	Tyr	Gly
			180						185					190	
Xaa	Tyr	Ile	Phe	Thr	His	His	Pro	Ile	Tyr	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Pro
		195					200					205			
Met	Val	Tyr	Asp	Arg	Asn	Glu	Thr	Thr	Arg	Ile	Glu	Gly	Gly	Asp	Glu
	210					215					220				
Leu	Val	Leu	Ser	Lys	Asp	Val	Leu	Ala	Val	Gly	Ile	Ser	Gln	Arg	Thr
225					230					235					240
Asp	Ala	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	Leu	Leu	Val	Asn	Ile	Phe	Lys	Gln	Asn
				245						250				255	
Leu	Gly	Phe	Lys	Lys	Val	Leu	Ala	Phe	Glu	Phe	Ala	Asn	Asn	Arg	Lys
			260					265						270	
Phe	Met	His	Leu	Ala	Thr	Val	Phe	Thr	Met	Val	Asp	Tyr	Asp	Lys	Phe
		275						280				285			
Thr	Ile	His	Pro	Glu	Ile	Glu	Gly	Asp	Leu	Arg	Val	Tyr	Ser	Val	Thr
	290					295						300			
Tyr	Asp	Asn	Glu	Glu	Leu	His	Ile	Val	Glu	Glu	Xaa	Gly	Asp	Leu	Ala
305					310						315				320
Glu	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Leu	Gly	Val	Glu	Lys	Val	Asp	Leu	Ile	Arg
			325						330					335	
Cys	Gly	Gly	Asp	Asn	Leu	Val	Ala	Ala	Gly	Arg	Glu	Gln	Trp	Asn	Asp

340 345 350

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 39
<211> 184
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hFL [全長] WT，具有前導序列

<400> 39

Met His His His His His His Gly Ser Gly Ser Ser Gln Ile Arg Gln
1 5 10 15

Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val Asn Ser Leu Val Asn Leu
20 25 30

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

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
50 55 60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn
65 70 75 80

Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Ile Lys Lys Pro Ala Glu

859095

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu
100105110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
115120125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130135140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145150155160

Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165170175

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 40
<211> 174
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40

Ser Ser Gln Ile Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
151015

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
202530

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
354045

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
505560

Leu	Leu	Lys	Met	Gln	Asn	Gln	Arg	Gly	Gly	Arg	Ala	Leu	Phe	Gln	Asp
65				70				75						80	
Ile	Lys	Lys	Pro	Ala	Glu	Asp	Glu	Trp	Gly	Lys	Thr	Pro	Asp	Ala	Met
			85					90						95	
Lys	Ala	Ala	Met	Ala	Leu	Glu	Lys	Lys	Leu	Asn	Gln	Ala	Leu	Leu	Asp
			100					105						110	
Leu	His	Ala	Leu	Gly	Ser	Ala	Arg	Thr	Asp	Pro	His	Leu	Cys	Asp	Phe
		115					120					125			
Leu	Glu	Thr	His	Phe	Leu	Asp	Glu	Glu	Val	Lys	Leu	Ile	Lys	Lys	Met
	130					135					140				
Gly	Asp	His	Leu	Thr	Asn	Leu	His	Arg	Leu	Gly	Gly	Pro	Glu	Ala	Gly
145					150					155					160
Leu	Gly	Glu	Tyr	Leu	Phe	Glu	Arg	Leu	Thr	Leu	Lys	His	Asp		
			165						170						
<210> 41															
<211> 184															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<223> hFL [全長] nnAA (例如pAMF)突變體，具有前導序列															
<220>															
<221> MOD_RES															
<222> (14)..(14)															
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)															
<400> 41															
Met	His	His	His	His	His	His	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Gln	Xaa	Arg	Gln
1				5					10					15	
Asn	Tyr	Ser	Thr	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Val	Asn	Ser	Leu	Val	Asn	Leu
			20					25					30		

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

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
50 55 60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn
65 70 75 80

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

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu
100 105 110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
115 120 125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130 135 140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145 150 155 160

Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165 170 175

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 42
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hFL [全長] nnAA (例如pAMF)突變體，不具有前導序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 42

Ser Ser Gln Xaa Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
1 5 10 15

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
35 40 45

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80

Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95

Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp
100 105 110

Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe
115 120 125

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
130 135 140

Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
145 150 155 160

Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
165 170

<210> 43
<211> 535
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> eCRM-nnAA (例如pAMF)突變體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (212)..(212)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (244)..(244)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (264)..(264)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (385)..(385)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (526)..(526)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 43

Gly Ala Asp Asp Val Val Asp Ser Ser Lys Ser Phe Val Met Glu Asn
1 5 10 15

Phe Ser Ser Tyr His Gly Thr Lys Pro Gly Tyr Val Asp Ser Ile Gln
20 25 30

Xaa	Gly	Ile	Gln	Lys	Pro	Lys	Ser	Gly	Thr	Gln	Gly	Asn	Tyr	Asp	Asp	
	35						40					45				
Asp	Trp	Lys	Glu	Phe	Tyr	Ser	Thr	Asp	Asn	Lys	Tyr	Asp	Ala	Ala	Gly	
	50					55					60					
Tyr	Ser	Val	Asp	Asn	Glu	Asn	Pro	Leu	Ser	Gly	Lys	Ala	Gly	Gly	Val	
65					70					75					80	
Val	Lys	Val	Thr	Tyr	Pro	Gly	Leu	Thr	Lys	Val	Leu	Ala	Leu	Lys	Val	
			85					90						95		
Asp	Asn	Ala	Glu	Thr	Ile	Lys	Lys	Glu	Leu	Gly	Leu	Ser	Leu	Thr	Glu	
		100						105					110			
Pro	Leu	Met	Glu	Gln	Val	Gly	Thr	Glu	Glu	Phe	Ile	Lys	Arg	Phe	Gly	
	115						120					125				
Asp	Gly	Ala	Ser	Arg	Val	Val	Leu	Ser	Leu	Pro	Phe	Ala	Glu	Gly	Ser	
	130					135					140					
Ser	Ser	Val	Glu	Tyr	Ile	Asn	Asn	Trp	Glu	Gln	Ala	Lys	Ala	Leu	Ser	
145					150					155					160	
Val	Glu	Leu	Glu	Ile	Asn	Phe	Glu	Thr	Arg	Gly	Lys	Arg	Gly	Gln	Asp	
			165						170					175		
Ala	Met	Tyr	Glu	Tyr	Met	Ala	Gln	Ala	Cys	Ala	Gly	Asn	Arg	Val	Arg	
		180						185					190			
Asn	Ser	Val	Gly	Ser	Ser	Leu	Ser	Cys	Ile	Asn	Leu	Asp	Trp	Asp	Val	
	195						200					205				
Ile	Arg	Asp	Xaa	Thr	Lys	Thr	Lys	Ile	Glu	Ser	Leu	Lys	Glu	His	Gly	
	210					215					220					
Pro	Ile	Lys	Asn	Lys	Met	Ser	Glu	Ser	Pro	Asn	Lys	Thr	Val	Ser	Glu	

225 230 235 240

Glu Lys Ala Xaa Gln Tyr Leu Glu Glu Phe His Gln Thr Ala Leu Glu
245 250 255

His Pro Glu Leu Ser Glu Leu Xaa Thr Val Thr Gly Thr Asn Pro Val
260 265 270

Phe Ala Gly Ala Asn Tyr Ala Ala Trp Ala Val Asn Val Ala Gln Val
275 280 285

Ile Asp Ser Glu Thr Ala Asp Asn Leu Glu Lys Thr Thr Ala Ala Leu
290 295 300

Ser Ile Leu Pro Gly Ile Gly Ser Val Met Gly Ile Ala Asp Gly Ala
305 310 315 320

Val His His Asn Thr Glu Glu Ile Val Ala Gln Ser Ile Ala Leu Ser
325 330 335

Ser Leu Met Val Ala Gln Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu Leu Val Asp
340 345 350

Ile Gly Phe Ala Ala Tyr Asn Phe Val Glu Ser Ile Ile Asn Leu Phe
355 360 365

Gln Val Val His Asn Ser Tyr Asn Arg Pro Ala Tyr Ser Pro Gly His
370 375 380

Xaa Thr Gln Pro Phe Leu His Asp Gly Tyr Ala Val Ser Trp Asn Thr
385 390 395 400

Val Glu Asp Ser Ile Ile Arg Thr Gly Phe Gln Gly Glu Ser Gly His
405 410 415

Asp Ile Lys Ile Thr Ala Glu Asn Thr Pro Leu Pro Ile Ala Gly Val
420 425 430

Leu Leu Pro Thr Ile Pro Gly Lys Leu Asp Val Asn Lys Ser Lys Thr
435 440 445

His Ile Ser Val Asn Gly Arg Lys Ile Arg Met Arg Cys Arg Ala Ile
450 455 460

Asp Gly Asp Val Thr Phe Cys Arg Pro Lys Ser Pro Val Tyr Val Gly
465 470 475 480

Asn Gly Val His Ala Asn Leu His Val Ala Phe His Arg Ser Ser Ser
485 490 495

Glu Lys Ile His Ser Asn Glu Ile Ser Ser Asp Ser Ile Gly Val Leu
500 505 510

Gly Tyr Gln Lys Thr Val Asp His Thr Lys Val Asn Ser Xaa Leu Ser
515 520 525

Leu Phe Phe Glu Ile Lys Ser
530 535

<210> 44
<211> 483
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC11) W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 44

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys	Asn	Gly	Glu	Thr	Ile	Glu	Asn	Phe	Val	Pro	Lys	Glu	Gly	Val	Lys
50						55					60				
Lys	Ala	Asp	Lys	Phe	Ile	Val	Ile	Glu	Arg	Lys	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn
65					70					75				80	
Thr	Thr	Pro	Val	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Arg	Thr
				85					90					95	
Tyr	Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Lys
		100						105					110		
Pro	Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp
		115						120				125			
Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
130						135						140			
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145					150					155				160	
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
				165				170					175		
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
		180						185					190		
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
		195						200				205			
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
210						215					220				
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225					230					235				240	
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val
450 455 460

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
465 470 475 480

Ser Gly Ser

<210> 45
<211> 473
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC21)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 45

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val
450 455 460

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser
465 470

<210> 46
<211> 463
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC31)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 46

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys
450 455 460

<210> 47
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC41)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 47

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys
450

<210> 48
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223>SLO(ΔC51)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 48

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser
435 440

<210> 49
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC61)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 49

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290

295

300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305310315320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325330335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340345350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355360365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370375380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385390395400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

405410415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro

420425430

Phe

<210> 50
<211> 423
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC71)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 50

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

202136285

1	5	10	15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile	20	25	30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala	35	40	45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys	50	55	60
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn	65	70	75
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr	85	90	95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys	100	105	110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp	115	120	125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr	130	135	140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His	145	150	155
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr	165	170	175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val	180	185	190
Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile	195	200	205

Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
210						215					220				
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225					230					235					240
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
				245					250					255	
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe
			260					265						270	
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe
		275					280					285			
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser
	290					295					300				
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp
305					310					315					320
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg
				325					330					335	
Asn	Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr
			340					345					350		
Pro	Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly
		355					360					365			
Val	Asn	Asn	Arg	Thr	Glu	Tyr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Thr
		370				375					380				
Ser	Gly	Lys	Ile	Asn	Leu	Ser	His	Gln	Gly	Ala	Tyr	Val	Ala	Gln	Tyr
385					390					395					400
Glu	Ile	Leu	Trp	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr	Asp	Asp	Lys	Gly	Lys	Glu	Val

405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp
420

<210> 51
<211> 413
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC81)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 51

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly
405 410

<210> 52
<211> 403
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC91)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 52

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu

<210> 53
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<400> 53

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

- <210> 54
- <211> 393
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>

<223> SLO(ΔC101)片段W535A，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>

<221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 54

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val	
			180					185						190		
Asn	Ser	Xaa	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile	
		195					200					205				
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe	
		210				215					220					
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp	
225					230					235					240	
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Xaa	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu	
				245					250					255		
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe	
			260					265						270		
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Xaa	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe	
		275					280					285				
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Xaa	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser	
		290					295				300					
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp	
305					310					315					320	
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Xaa	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg	
				325					330					335		
Asn	Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr	
		340						345					350			
Pro	Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly	
		355				360						365				
Val	Asn	Asn	Arg	Thr	Glu	Tyr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Thr	
		370				375					380					

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 55
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體1，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 55

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50					55					60					
Lys	Ala	Asp	Lys	Phe	Ile	Val	Ile	Glu	Xaa	Lys	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn
65					70					75					80
Thr	Thr	Pro	Val	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Arg	Thr
				85					90					95	
Tyr	Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Lys
			100					105					110		
Pro	Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp
		115					120					125			
Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
	130					135					140				
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145					150					155					160
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
				165					170					175	
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
			180					185					190		
Asn	Ser	Xaa	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
		195					200					205			
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
	210					215					220				
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225					230					235					240
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
				245					250					255	

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 56
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體2，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 56

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
130				135				140							
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145				150				155				160			
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
165				170				175							
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
180				185				190							
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
195				200				205							
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
210				215				220							
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225				230				235				240			
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Xaa	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
245				250				255							
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe
260				265				270							
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe
275				280				285							
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Xaa	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser
290				295				300							
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp
305				310				315				320			
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg
325				330				335							

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 57
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體3，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 57

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

202136285

1	5	10	15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile	20	25	30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala	35	40	45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys	50	55	60
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn	65	70	75
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr	85	90	95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys	100	105	110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp	115	120	125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr	130	135	140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His	145	150	155
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr	165	170	175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val	180	185	190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile	195	200	205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 58

<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體4，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 58

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 59
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體5，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 59

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr	
				165				170					175			
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val	
			180					185					190			
Asn	Ser	Xaa	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile	
		195					200					205				
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe	
	210					215					220					
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp	
225					230					235					240	
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu	
				245					250					255		
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe	
			260					265						270		
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Xaa	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe	
		275						280				285				
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser	
	290						295					300				
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp	
305					310					315					320	
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg	
				325					330					335		
Asn	Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr	
			340					345					350			
Pro	Ile	Ser	Tyr	Thr	Ser	Val	Phe	Leu	Lys	Asn	Asn	Lys	Ile	Ala	Gly	

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 60
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體6，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 60

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50					55					60					
Lys	Ala	Asp	Lys	Phe	Ile	Val	Ile	Glu	Arg	Lys	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn
65					70					75					80
Thr	Thr	Pro	Val	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Arg	Thr
				85					90					95	
Tyr	Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Xaa
			100					105					110		
Pro	Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp
		115					120					125			
Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
	130					135					140				
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145					150					155					160
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
				165					170					175	
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
			180					185					190		
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
		195					200					205			
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
	210					215					220				
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225					230					235					240
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
				245					250					255	

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 61
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體7，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 61

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 62
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體8，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 62

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 63
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體9，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 63

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 64
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 64

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys	Ser	Glu	Asp	Lys	Lys	Lys	Ser	Glu	Glu	Asp	His	Thr	Glu	Glu	Ile
20				25				30							
Asn	Asp	Xaa	Ile	Tyr	Ser	Leu	Asn	Tyr	Asn	Glu	Leu	Glu	Val	Leu	Ala
35				40				45							
Lys	Asn	Gly	Glu	Thr	Ile	Glu	Asn	Phe	Val	Pro	Lys	Glu	Gly	Val	Lys
50				55				60							
Lys	Ala	Asp	Lys	Phe	Ile	Val	Ile	Glu	Arg	Lys	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn
65				70				75				80			
Thr	Thr	Pro	Val	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Arg	Thr
85				90				95							
Tyr	Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Lys
100				105				110							
Pro	Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp
115				120				125							
Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
130				135				140							
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145				150				155				160			
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
165				170				175							
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
180				185				190							
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
195				200				205							
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
210				215				220							

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 65
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 65

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 66
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 66

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
130				135				140							
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145				150				155				160			
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
165				170				175							
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
180				185				190							
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
195				200				205							
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
210				215				220							
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225				230				235				240			
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Xaa	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
245				250				255							
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe
260				265				270							
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe
275				280				285							
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Xaa	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser
290				295				300							
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp
305				310				315				320			
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg
325				330				335							

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 67
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 67

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 68
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 68

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

- <210> 69
- <211> 393
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 69

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 70
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 70

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr	Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Xaa	
			100					105					110			
Pro	Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp	
		115					120					125				
Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr	
	130					135					140					
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His	
145					150					155					160	
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr	
				165				170						175		
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val	
		180						185					190			
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile	
		195					200					205				
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe	
	210					215					220					
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp	
225					230					235					240	
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Xaa	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu	
				245					250					255		
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe	
		260						265						270		
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe	
		275					280					285				
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Xaa	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser	

290

295

300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305310315320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325330335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340345350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355360365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370375380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385390

<210> 71

<211> 393

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 71

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 72
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 72

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr
130				135				140							
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145				150				155				160			
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
165				170				175							
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
180				185				190							
Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
195				200				205							
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
210				215				220							
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225				230				235				240			
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Xaa	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
245				250				255							
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe
260				265				270							
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe
275				280				285							
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Xaa	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser
290				295				300							
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp
305				310				315				320			
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Xaa	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 73
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> misc_feature

<222> (298)..(298)
<223> Xaa可爲任何天然胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 73

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His
145					150					155					160
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr
				165				170						175	
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val
			180					185						190	
Asn	Ser	Xaa	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile
		195					200					205			
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe
	210					215					220				
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp
225					230					235					240
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu
				245					250					255	
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe
			260					265						270	
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Xaa	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe
		275						280				285			
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Xaa	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser
	290					295					300				
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp
305				310						315					320
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Xaa	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg
				325					330					335	
Asn	Val	Ile	Lys	Asp	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 74
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>

<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 74

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 75
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 75

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130					135					140									
Tyr	Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His				
145					150					155					160				
Asp	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Ala	Arg	Thr	Gln	Tyr	Thr				
165					170					175									
Glu	Ser	Met	Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Val				
180					185					190									
Asn	Ser	Xaa	Ile	Leu	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Asp	Phe	Lys	Ser	Ile				
195					200					205									
Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Lys	Val	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ile	Phe				
210					215					220									
Tyr	Thr	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Asn	Asn	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Asp				
225					230					235					240				
Lys	Ser	Val	Thr	Phe	Xaa	Glu	Leu	Gln	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Asn	Glu				
245					250					255									
Ala	Pro	Pro	Leu	Phe	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Tyr	Gly	Arg	Thr	Val	Phe				
260					265					270									
Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Xaa	Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Phe				
275					280					285									
Ser	Ala	Ala	Leu	Lys	Gly	Thr	Asp	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ser				
290					295					300									
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Val	Leu	Gly	Gly	Asp				
305					310					315					320				
Ala	Ala	Glu	His	Asn	Lys	Val	Val	Thr	Xaa	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Arg				
325					330					335					339				

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 76
<211> 393
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SLO(ΔC101)片段W535A- nnAA (例如pAMF)突變體10，不具有前導序列且具有來自裂解之G懸突

<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (例如pAMF)

<400> 76

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

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

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種免疫原性組合物，其包含

a. 第一A型鏈球菌(Group A Streptococcus，GAS)多肽抗原；

b. 第二GAS多肽抗原；及

c. 至少一種多肽-多醣結合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽抗原或非GAS載體多肽且包含至少一種非天然胺基酸，且其中該結合多醣係GAS多醣或其缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之變體。

【請求項2】

如請求項1之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原獨立地選自C5a肽酶、鏈球菌溶血素O (SLO)、Sib35、Sfb1及SpyAD。

【請求項3】

如請求項1之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【請求項5】

如請求項1至3中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該C5a肽酶多肽抗原由SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列組成。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項7】

如請求項1至4中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項8】

如請求項1至5中任一項之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32之胺基酸序列。

【請求項9】

如請求項3之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 32之胺基酸序列組成。

【請求項10】

如請求項1至4中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【請求項11】

如請求項1至4中任一項之免疫原性組合物，其中該等第一及第二

GAS多肽抗原係C5a肽酶及SLO，且該SLO多肽抗原由SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列組成。

【請求項12】

如請求項1或4之免疫原性組合物，其中該等第一及第二GAS多肽抗原係C5a肽酶及SpyAD。

【請求項13】

如請求項1至3、8至9或12中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含與SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項14】

如請求項1至3、8至9或12中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原包含SEQ ID NO: 29或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。

【請求項15】

如請求項1至3、8至9、12或14中任一項之免疫原性組合物，其中該C5a肽酶多肽抗原由SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 30之胺基酸序列組成。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原或非GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(Streptococcus pyogene Adhesion and Division, SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、SEQ ID NO: 25及蛋白質D。

【請求項17】

如請求項1至15中任一項之免疫原性組合物，其中該第三GAS多肽抗原或非GAS多肽抗原係選自釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)多肽、精胺酸去亞胺酶(ADI)、SEQ ID NO: 25、蛋白質D及SLO。

【請求項18】

如請求項1至17中任一項之免疫原性組合物，其中nnAA包含點擊化學反應性基團。

【請求項19】

如請求項1至18中任一項之免疫原性組合物，其中該nnAA係選自2-胺基-3-(4-疊氮基苯基)丙酸(pAF)、2-胺基-4-疊氮基丁酸、2-疊氮基-3-苯基丙酸、2-胺基-3-疊氮基丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)苯基)丙酸(pAMF)、2-胺基-3-(5-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(4-(疊氮基甲基)吡啶-2-基)丙酸、2-胺基-3-(6-(疊氮基甲基)吡啶-3-基)丙酸及2-胺基-5-疊氮基戊酸。

【請求項20】

如請求項18或19之免疫原性組合物，其中該nnAA係pAMF。

【請求項21】

如請求項16至20中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS蛋白，該第三GAS蛋白係SpyAD多肽且包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項22】

如請求項16至21中任一項之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽在SEQ ID NO: 33之位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【請求項23】

如請求項16至22中任一項之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽包含SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。

【請求項24】

如請求項22之免疫原性組合物，其中該SpyAD多肽由SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列組成。

【請求項25】

如請求項16至20中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係ADI多肽且包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項26】

如請求項16至20或25中任一項之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【請求項27】

如請求項16至20或25中任一項之免疫原性組合物，其中該ADI多肽由SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 38之胺基酸序列組成。

【請求項28】

如請求項17至20中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係第三GAS多肽，該第三GAS多肽係SLO多肽且包含與SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32或SEQ ID NO: 53至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項29】

如請求項28之免疫原性組合物，其中該SLO多肽在選自K98、

K112、R151、K189、K272、K323、K357、K375、K407或K464之位置處包含3或4個pAMF取代。

【請求項30】

如請求項29之免疫原性組合物，其中該SLO多肽包含SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列。

【請求項31】

如請求項29之免疫原性組合物，其中該SLO多肽由SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63或SEQ ID NO: 64之胺基酸序列組成。

【請求項32】

如請求項28之免疫原性組合物，其中該SLO多肽包含SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75或SEQ ID NO: 76之胺基酸序列。

【請求項33】

如請求項28之免疫原性組合物，其中該SLO多肽由SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75或SEQ ID NO: 76之胺基酸序列組成。

【請求項34】

如請求項18至20中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多肽係鐵蛋白多肽且包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列。

【請求項35】

如請求項34之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白多肽在SEQ ID NO: 21之位置15處包含pAMF取代。

【請求項36】

如請求項1至35中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣缺乏免疫顯性GlcNAc側鏈。

【請求項37】

如請求項1至36中任一項之免疫原性組合物，其中該結合多醣具有約10 kDa至約45 kDa之平均分子量。

【請求項38】

一種免疫原性組合物，其包含

a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；

b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及

c. 多肽-多醣結合物，其包含釀膿鏈球菌黏附及分裂(SpyAD)結合多肽及GAS結合多醣或缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之其變體。

【請求項39】

如請求項38之免疫原性組合物，其中該SpyAD蛋白包含與SEQ ID NO: 33至少95%一致之胺基酸序列且在位置K64、K287、K386及K657處包含pAMF取代。

【請求項40】

如請求項38或39之免疫原性組合物，其中該SLO多肽抗原包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【請求項41】

如請求項1或38之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【請求項42】

如請求項1或38之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 52之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【請求項43】

如請求項1或38之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 30之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 32之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【請求項44】

如請求項1或38之免疫原性組合物，其包含SEQ ID NO: 29之C5a肽酶多肽抗原；SEQ ID NO: 53之SLO多肽抗原；及多肽-多醣結合物，該結合物包含SEQ ID NO: 34之SpyAD結合多肽及GAS結合多醣。

【請求項45】

一種免疫原性組合物，其包含

a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；

b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及

c. 多肽-多醣結合物，其包含精胺酸去亞胺酶(ADI)結合多肽及GAS結合多醣或缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之其變體。

【請求項46】

如請求項45之免疫原性組合物，其中該ADI多肽包含與SEQ ID NO: 35或SEQ ID NO: 36至少95%一致之胺基酸序列且在位置K15、K193及K316處包含pAMF取代。

【請求項47】

一種免疫原性組合物，其包含

a. A型鏈球菌(GAS) C5a肽酶多肽抗原；

b. GAS鏈球菌溶血素O (SLO)多肽抗原；及

c. 多肽-多醣結合物，其包含鐵蛋白多肽及GAS結合多醣或缺乏免疫顯性N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)側鏈之其變體。

【請求項48】

如請求項47之免疫原性組合物，其中該鐵蛋白包含與SEQ ID NO: 21至少95%一致之胺基酸序列且在位置I5處包含pAMF取代。

【請求項49】

如請求項1至48中任一項之免疫原性組合物，其中該多肽-多醣結合物具有約10 kDa至約5000 kDa之平均分子質量。

【請求項50】

一種在個體中誘導針對A型鏈球菌(GAS)細菌之保護性免疫反應之方

法，其包含向該個體投與如請求項1至49中任一項之免疫原性組合物。

【請求項51】

如請求項50之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對該A型鏈球菌(GAS)細菌之抗體反應且並不在該個體中誘導針對人類組織之抗體反應。

【請求項52】

如請求項50或51之方法，其中該免疫原性組合物在該個體中誘導針對志賀桿菌(Shigella)細菌之保護性免疫反應，其中該志賀桿菌細菌包含具有聚鼠李糖主鏈之多醣。

【請求項53】

一種在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之方法，其包含向該個體投與如請求項1至49中任一項之免疫原性組合物。

【請求項54】

一種如請求項1至49中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應。

【請求項55】

一種如請求項1至49中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對志賀桿菌細菌之保護性免疫反應之藥劑。

【請求項56】

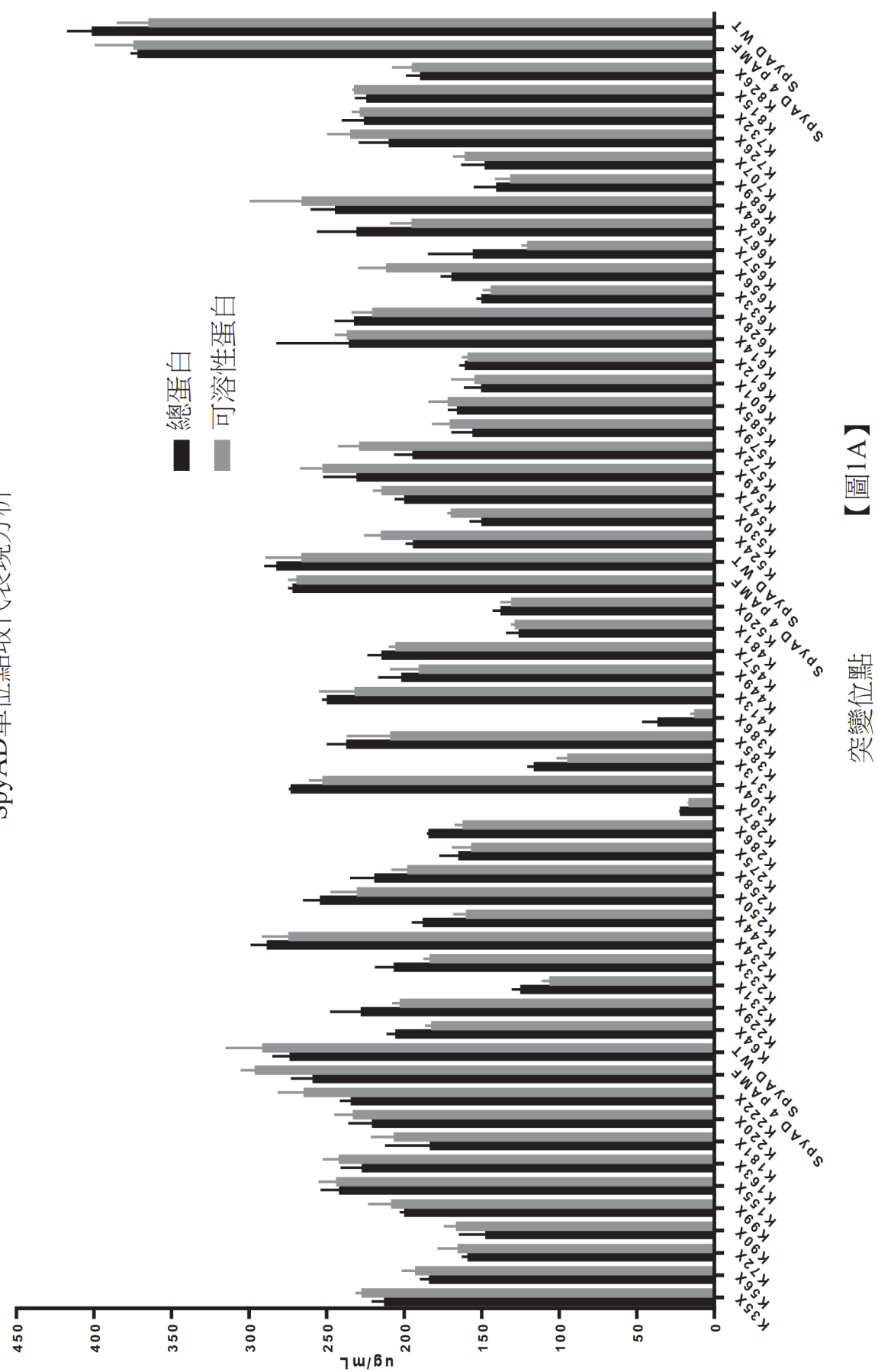
一種如請求項1至49中任一項之免疫原性組合物之用途，其用以製造用於在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應之藥劑。

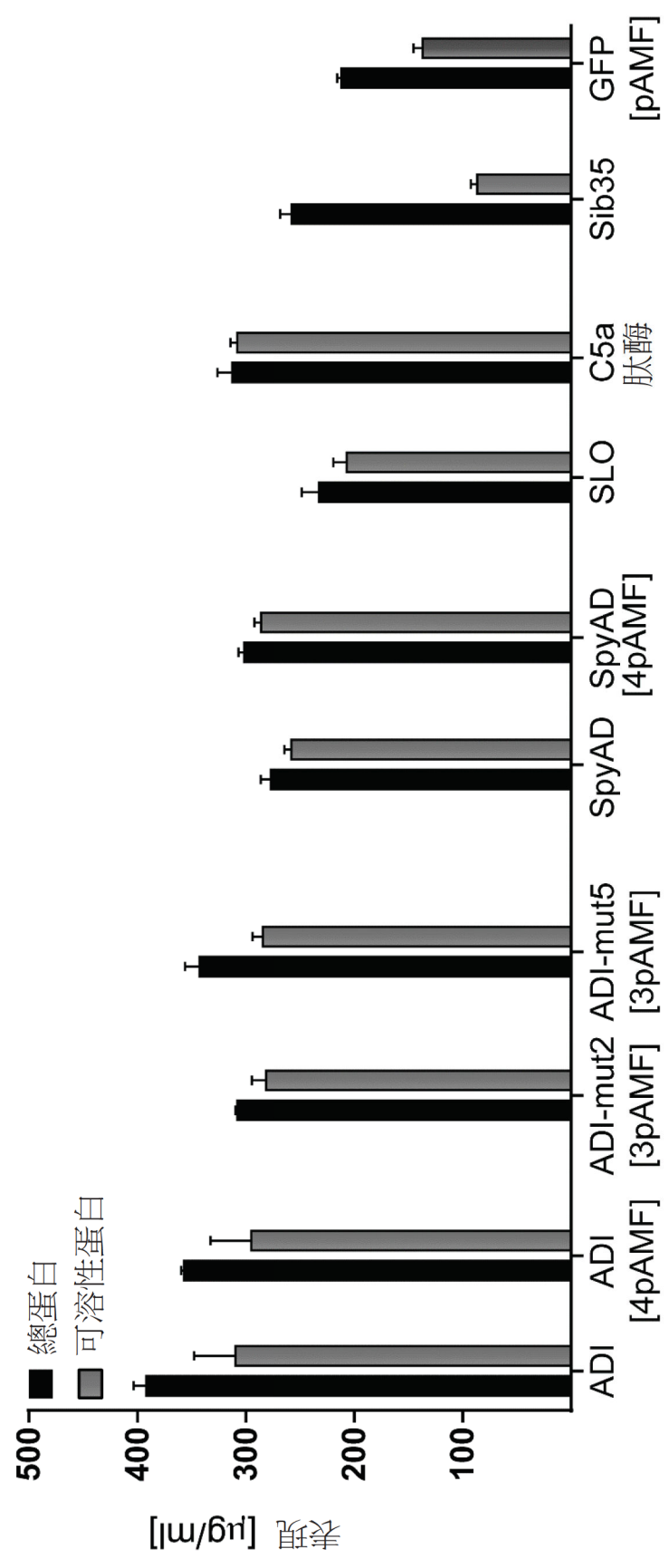
【請求項57】

一種如請求項1至82中任一項之免疫原性組合物之用途，其用於在個體中誘導針對GAS細菌之保護性免疫反應。

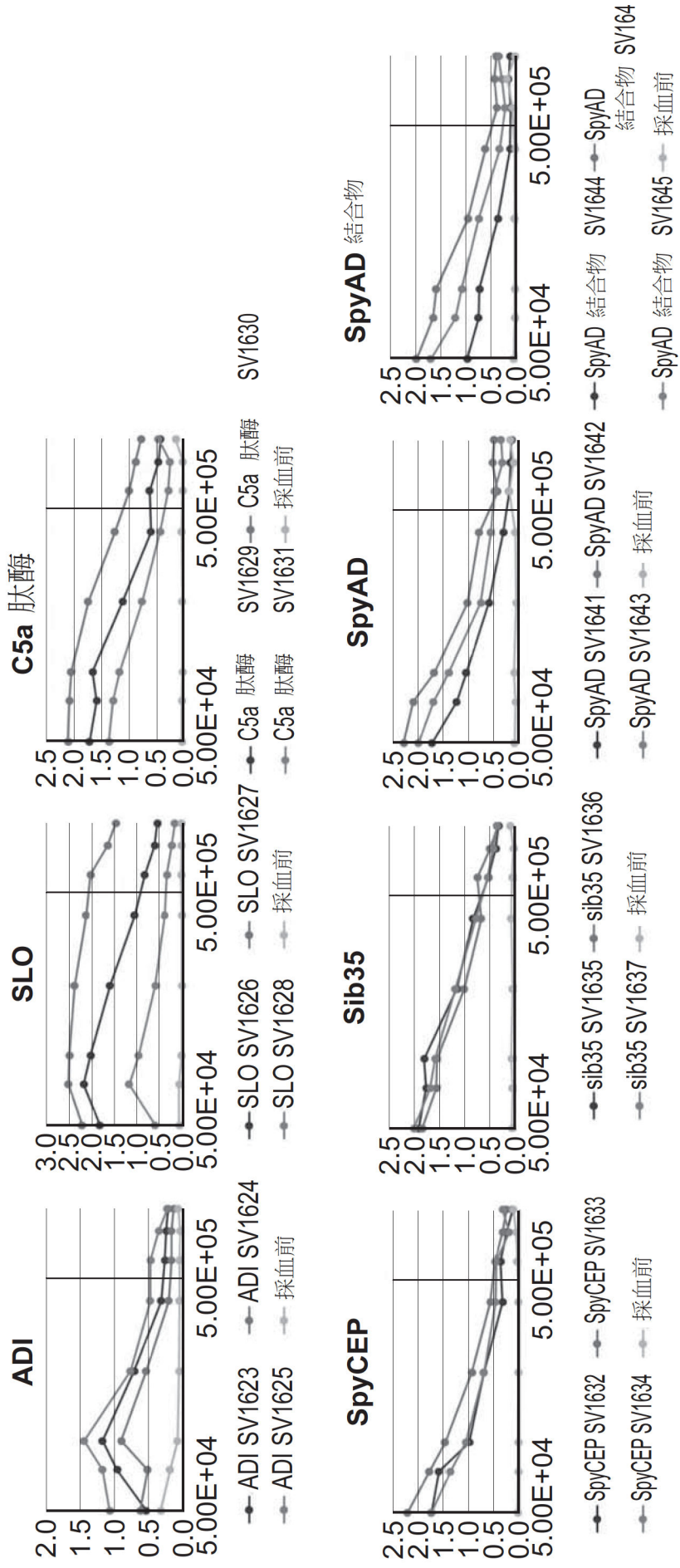
【發明圖式】

SpyAD單位點取代代表現分析

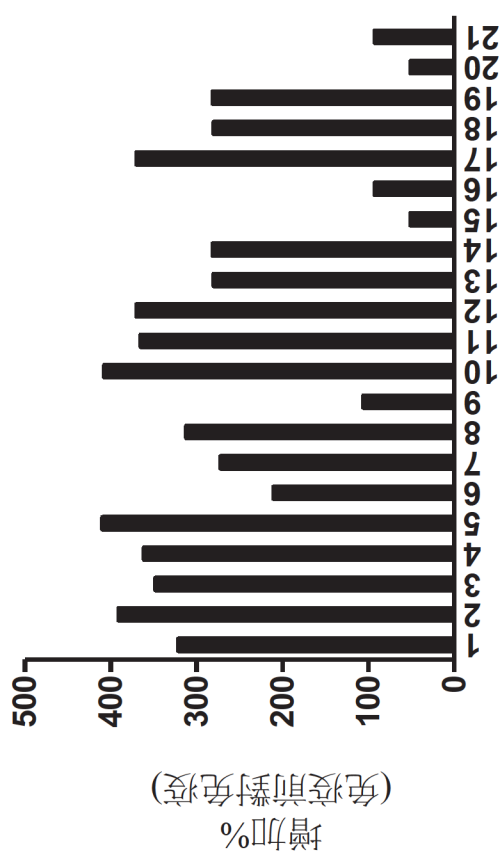




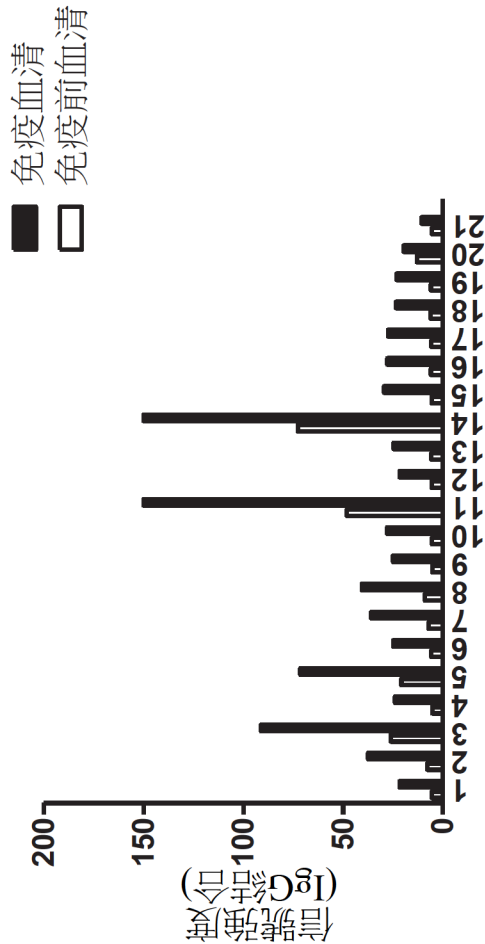
【圖1B】

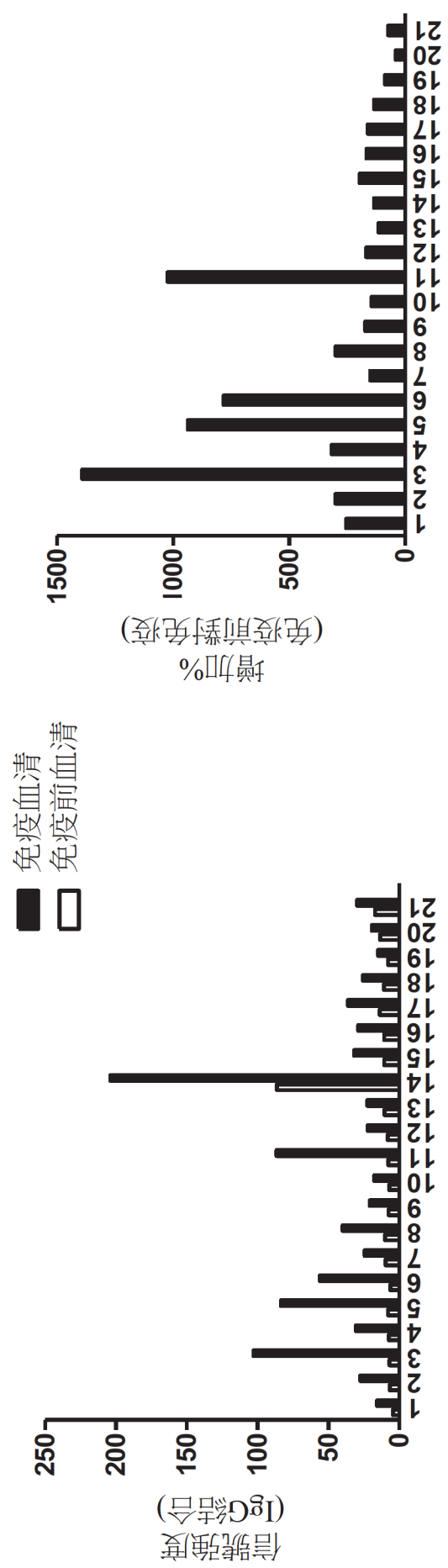


【圖2】

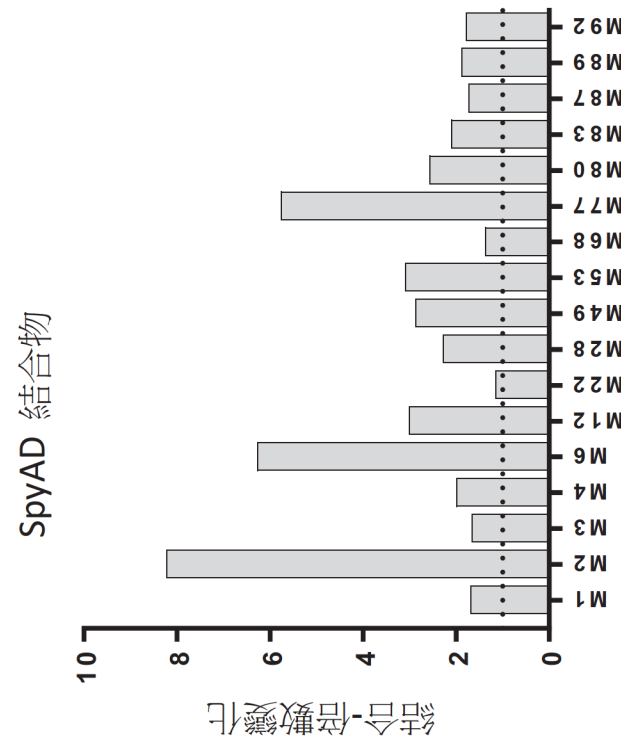
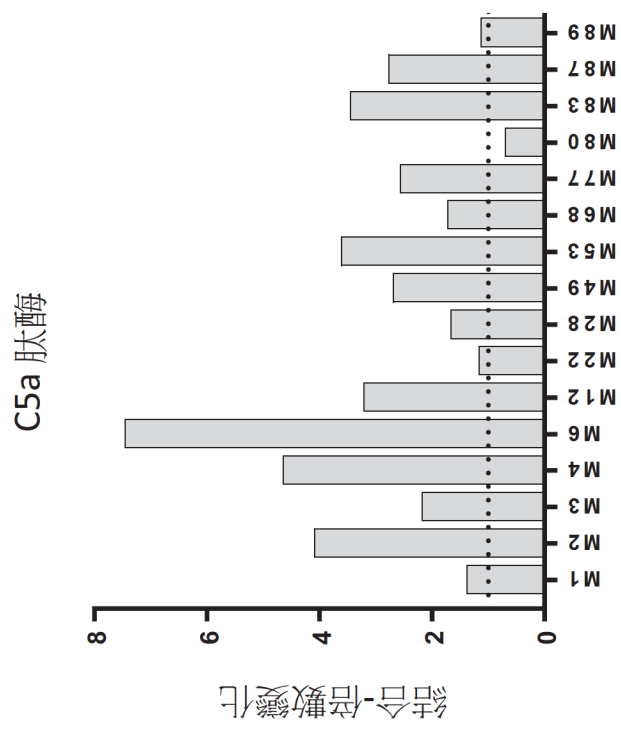


【圖3A】

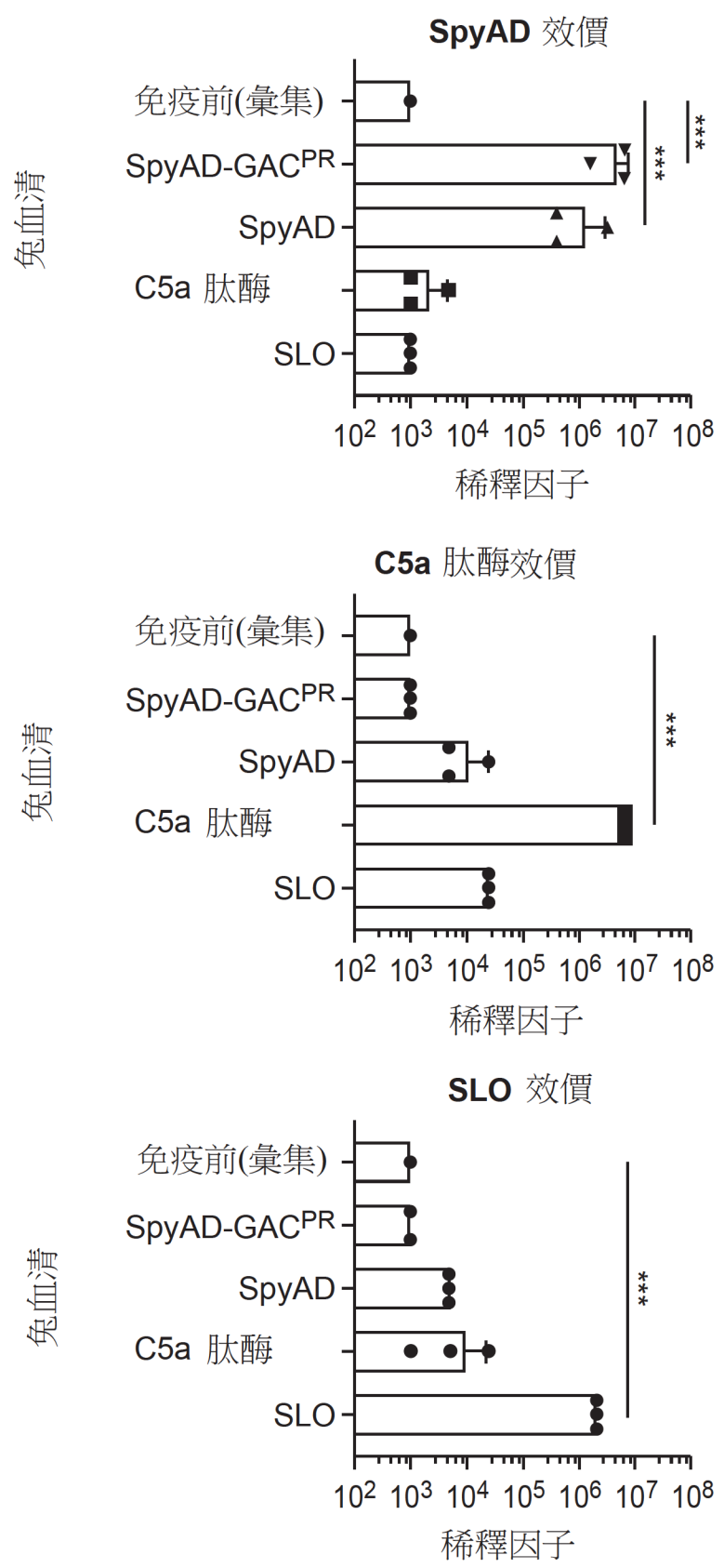




【圖3B】

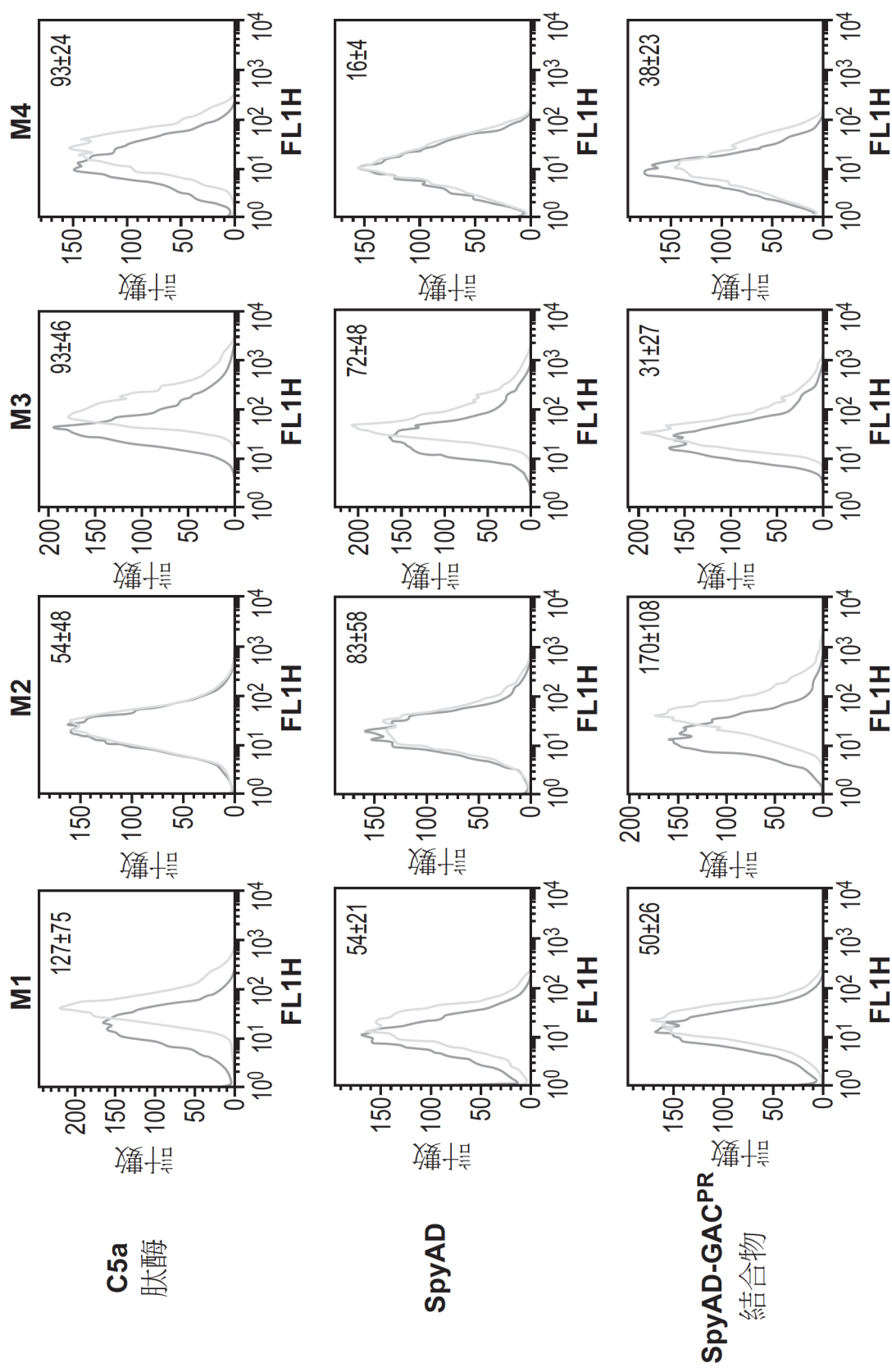


【圖3C】

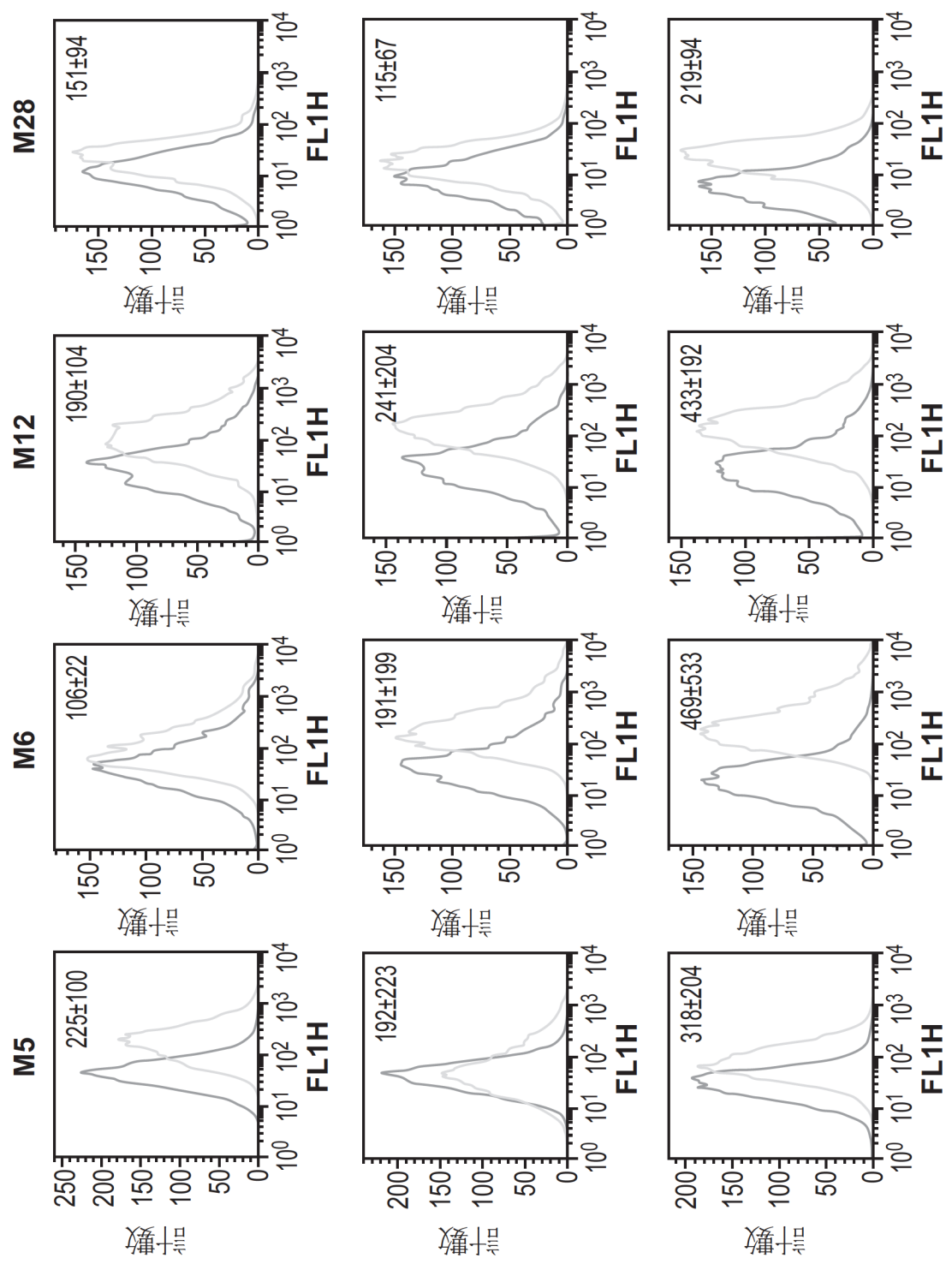


【圖3D】

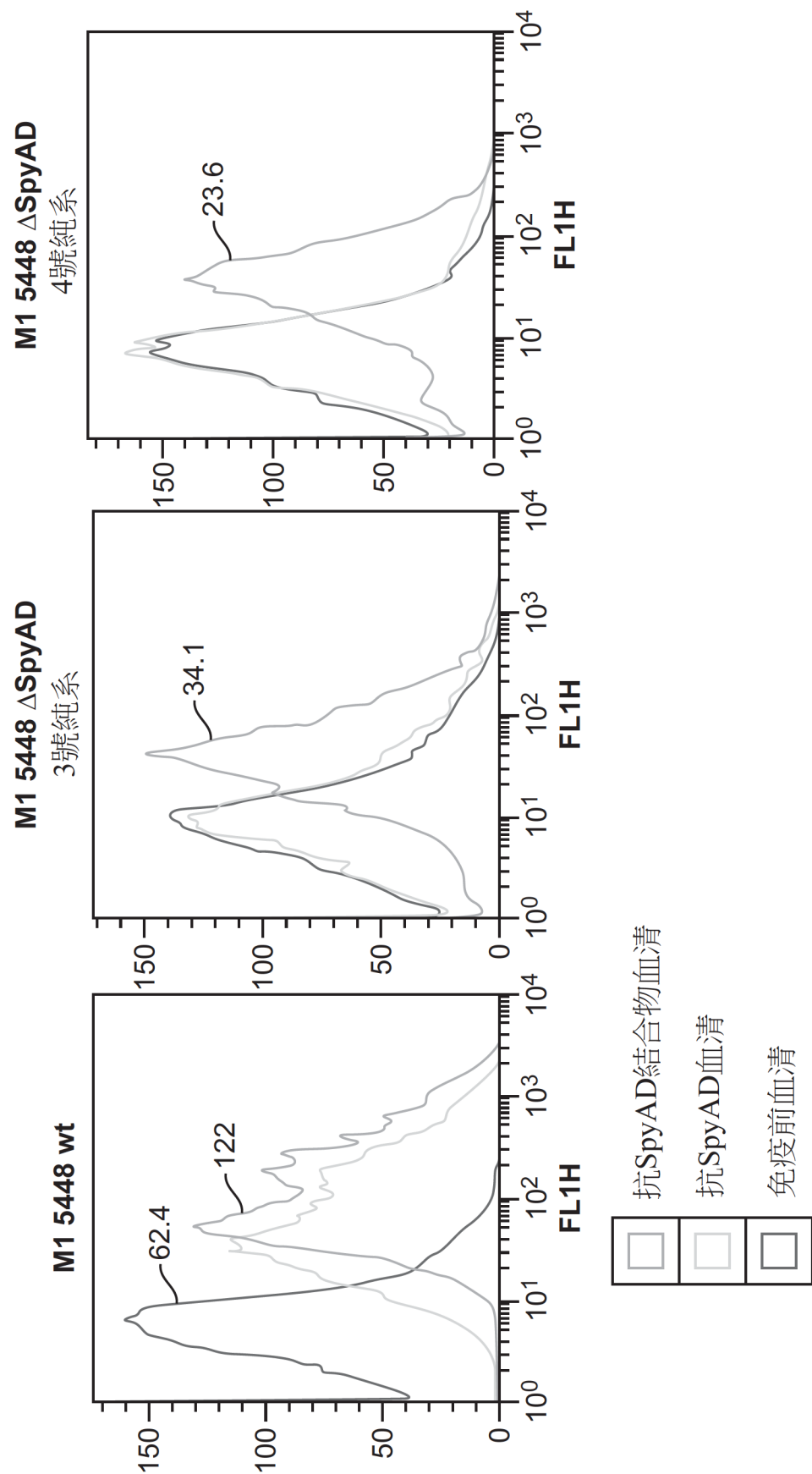
GAS 菌株血清型



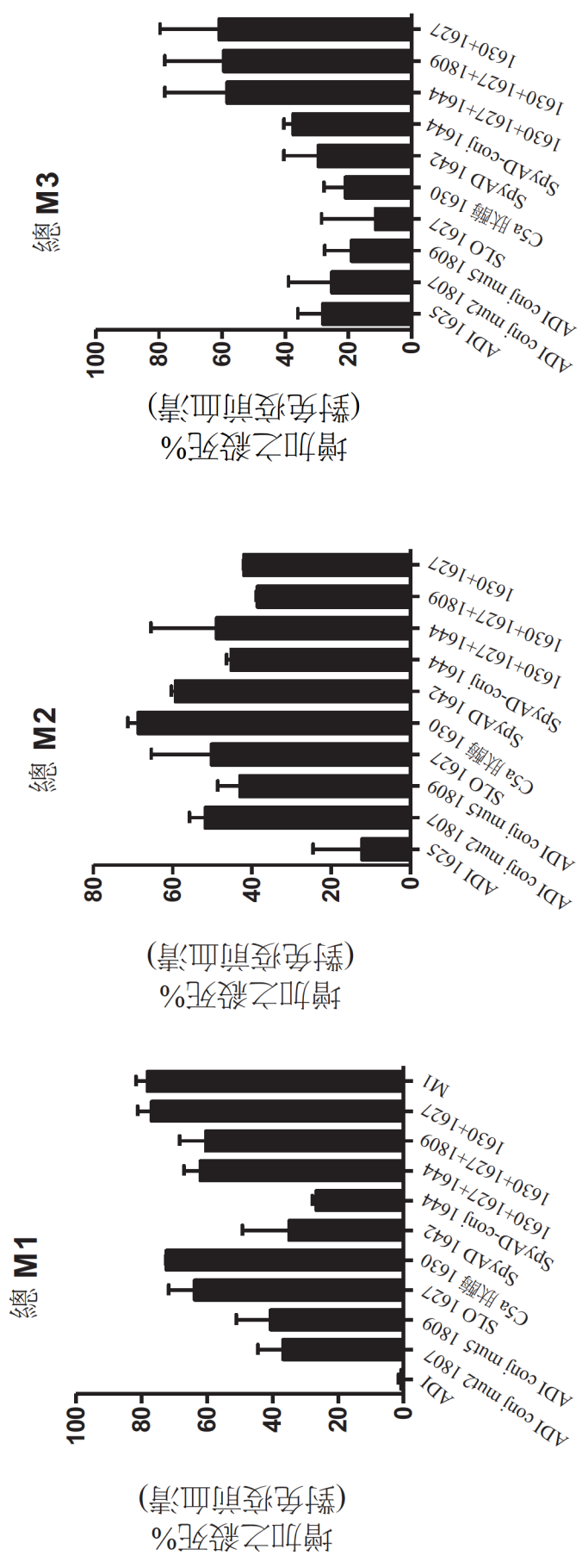
【圖3E】



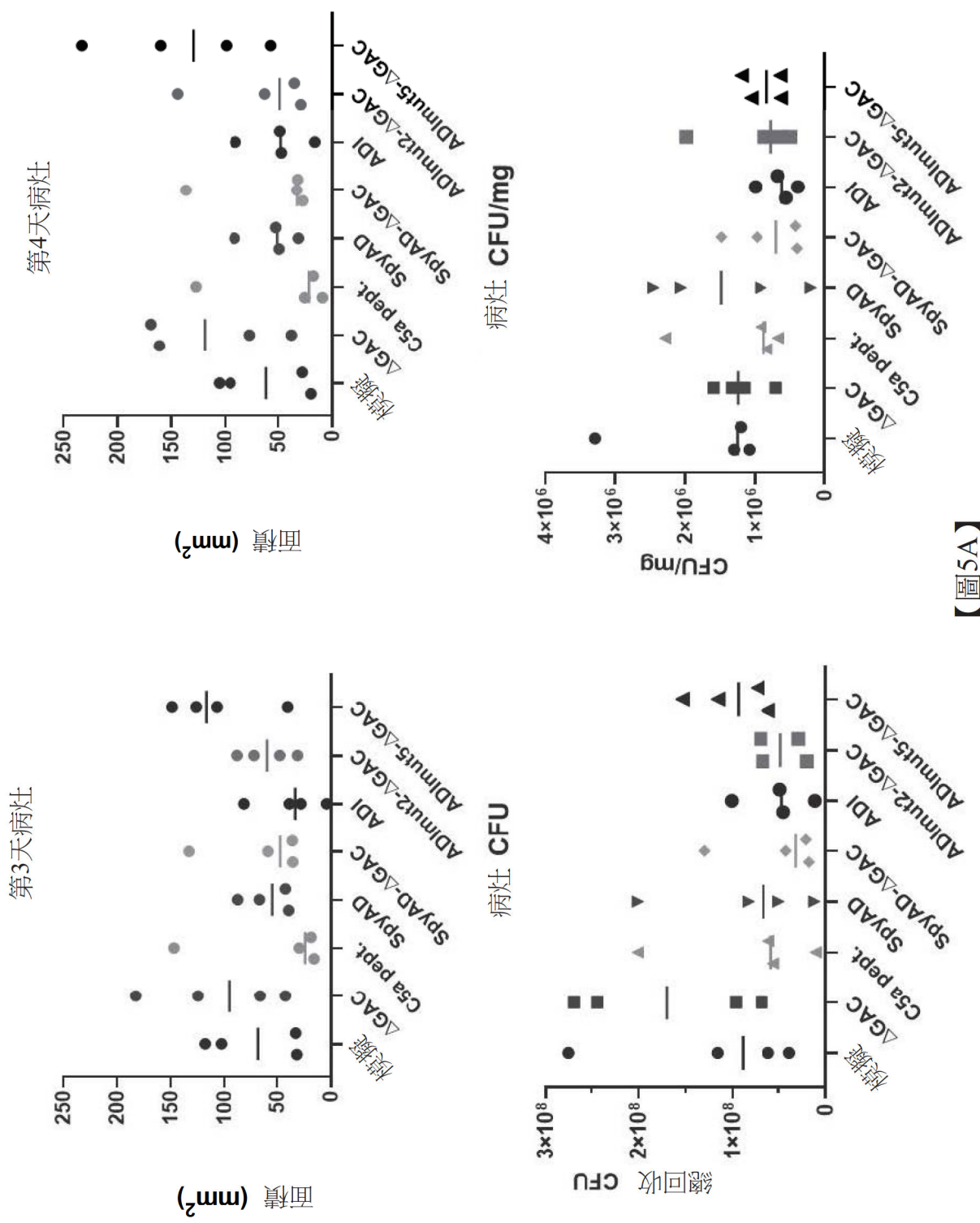
【圖3E】(續)



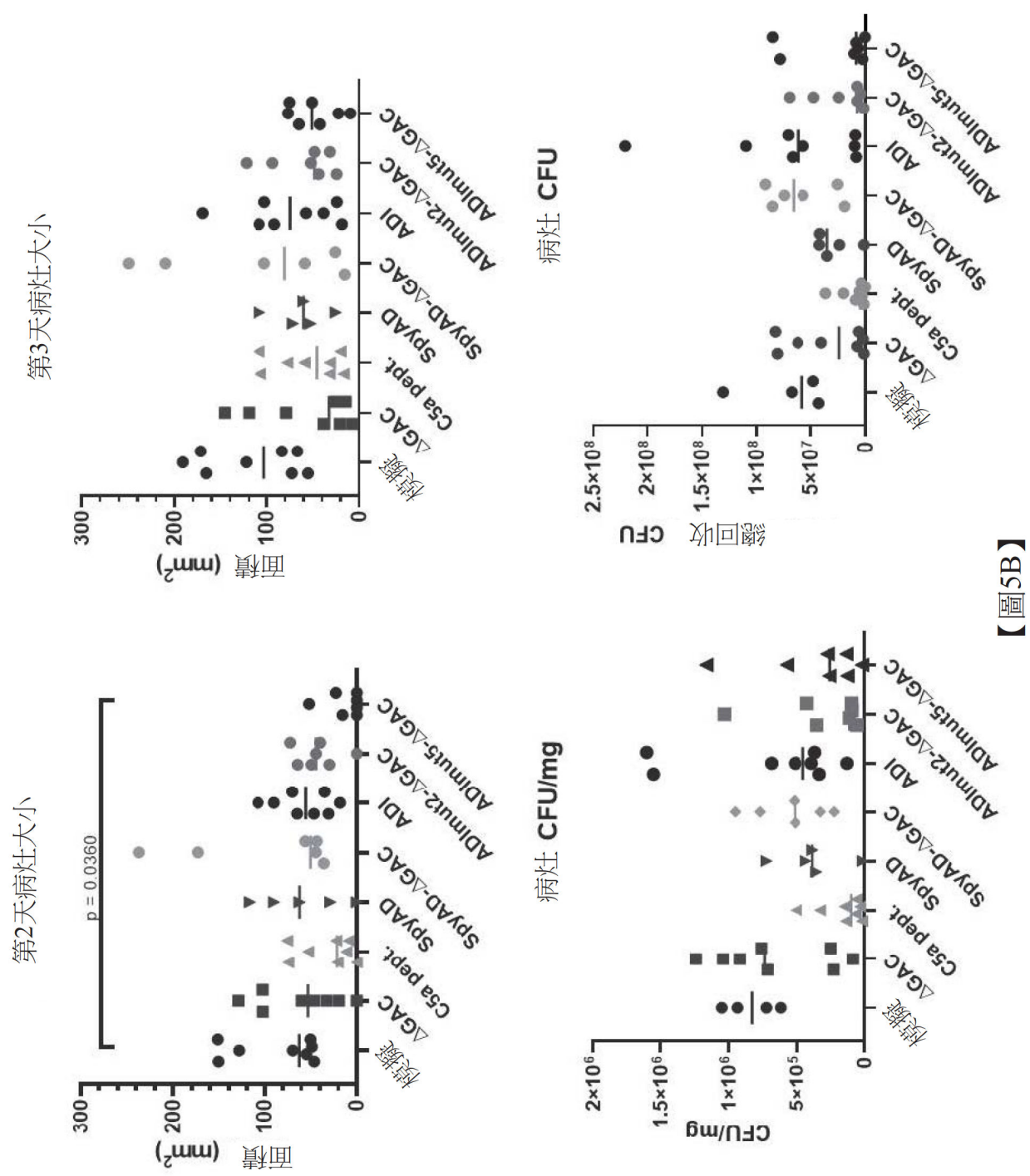
【圖3F】



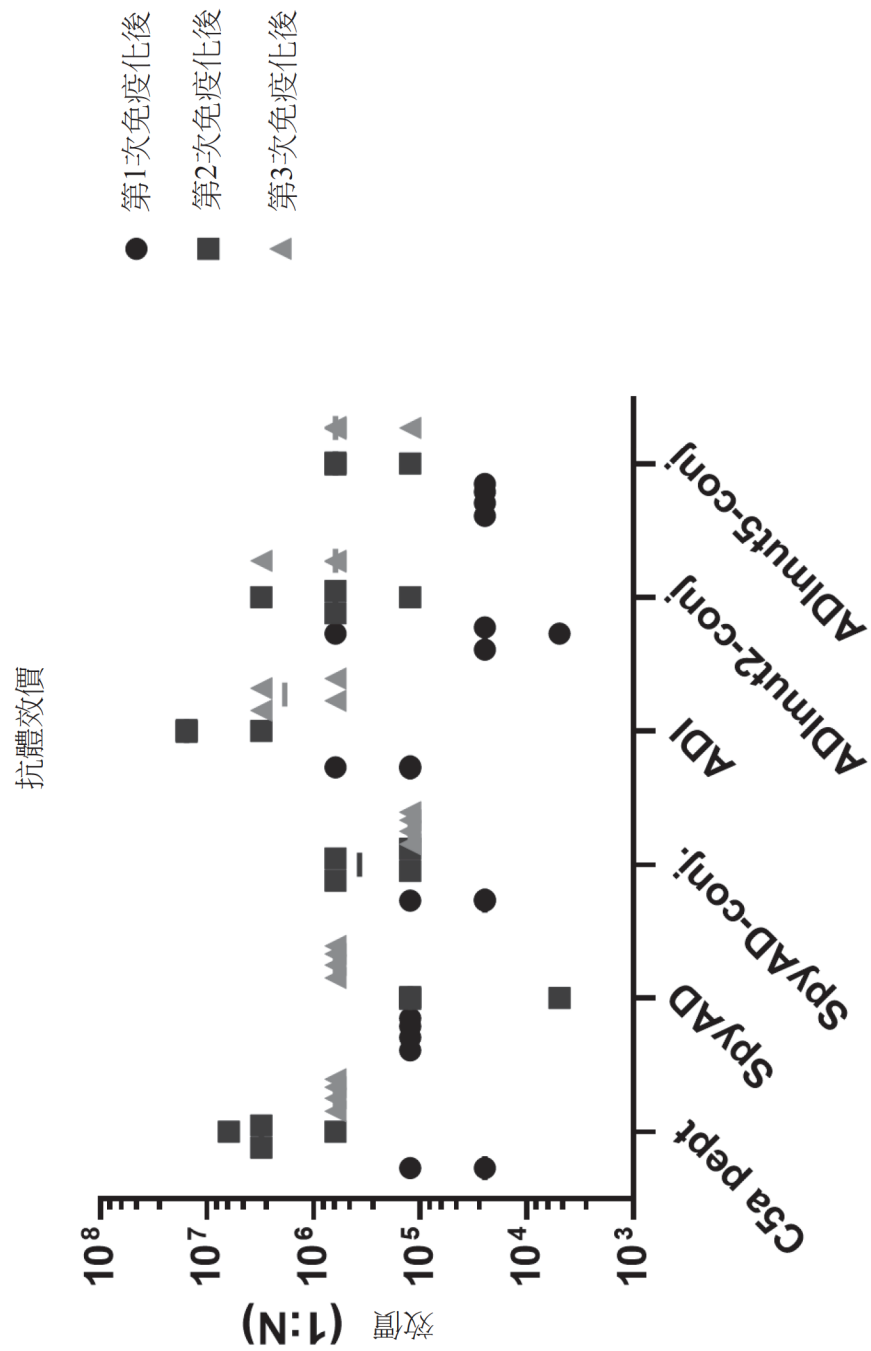
【圖4】



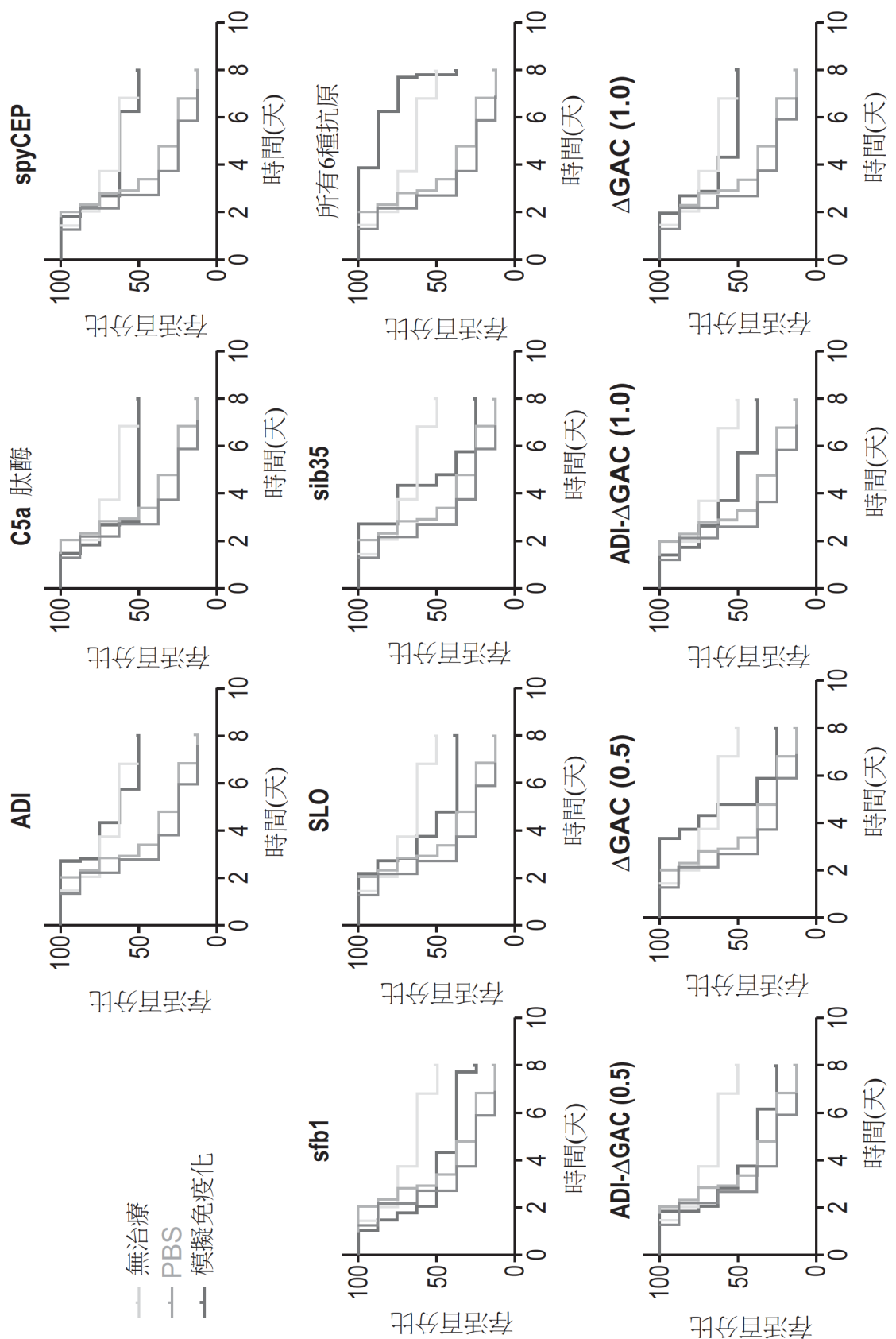
【圖5A】



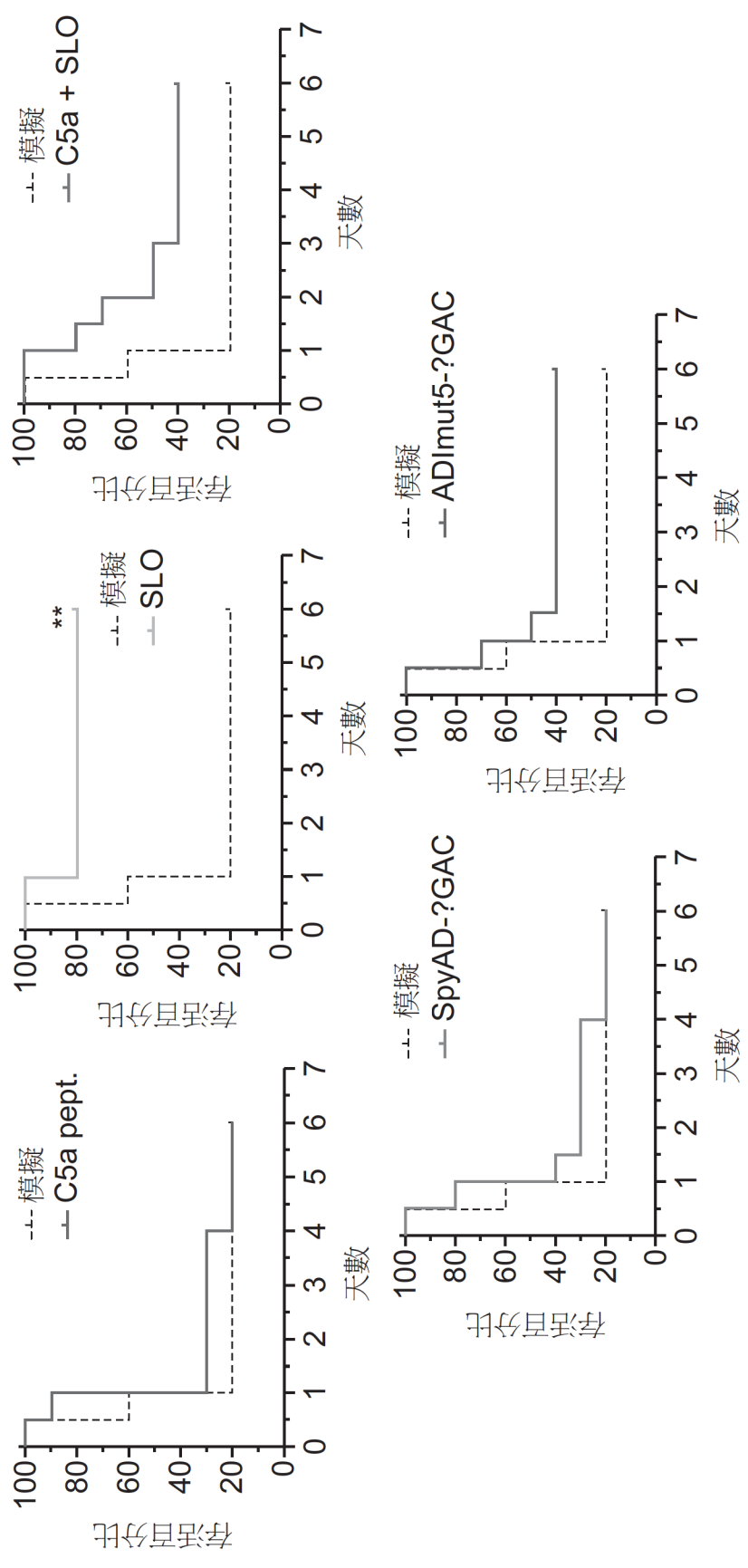
【圖5B】



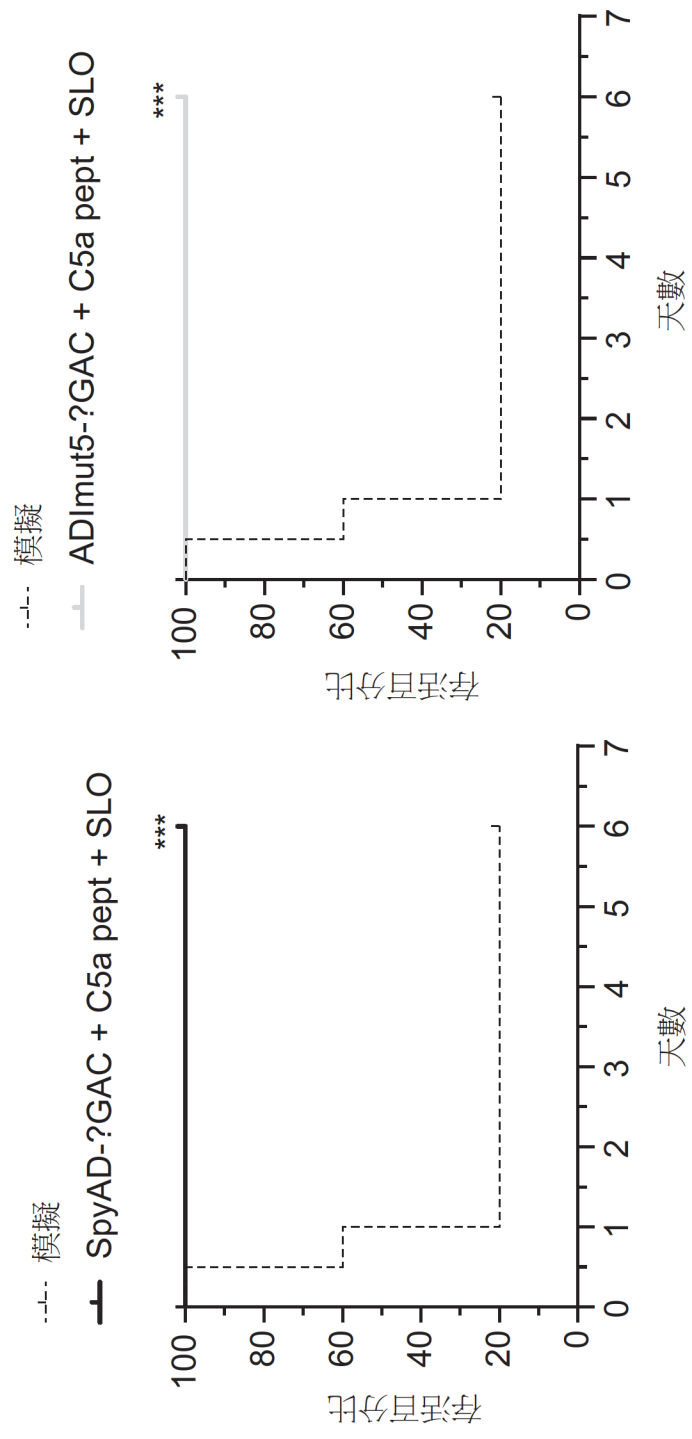
【圖5C】



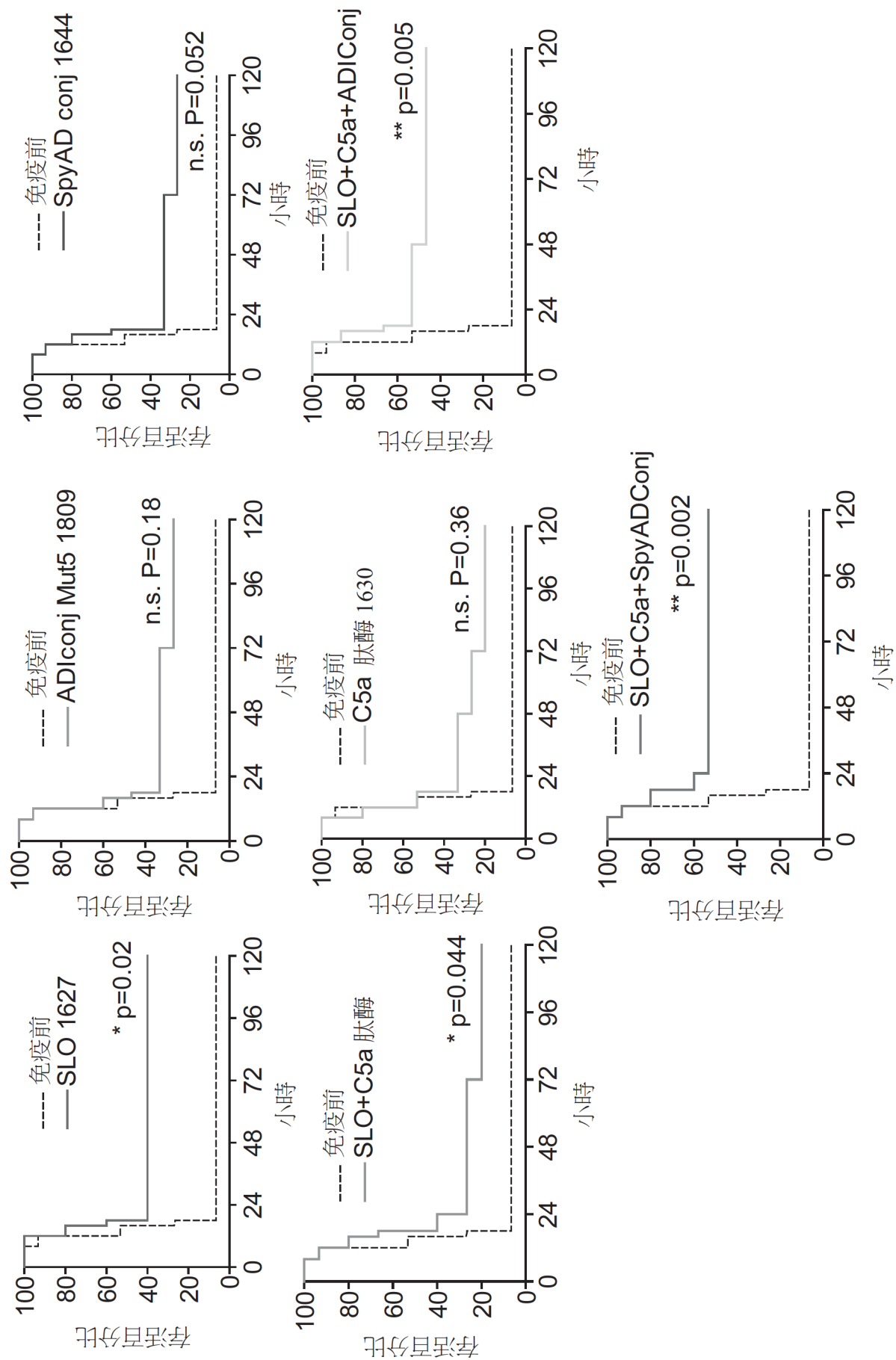
【圖5D】



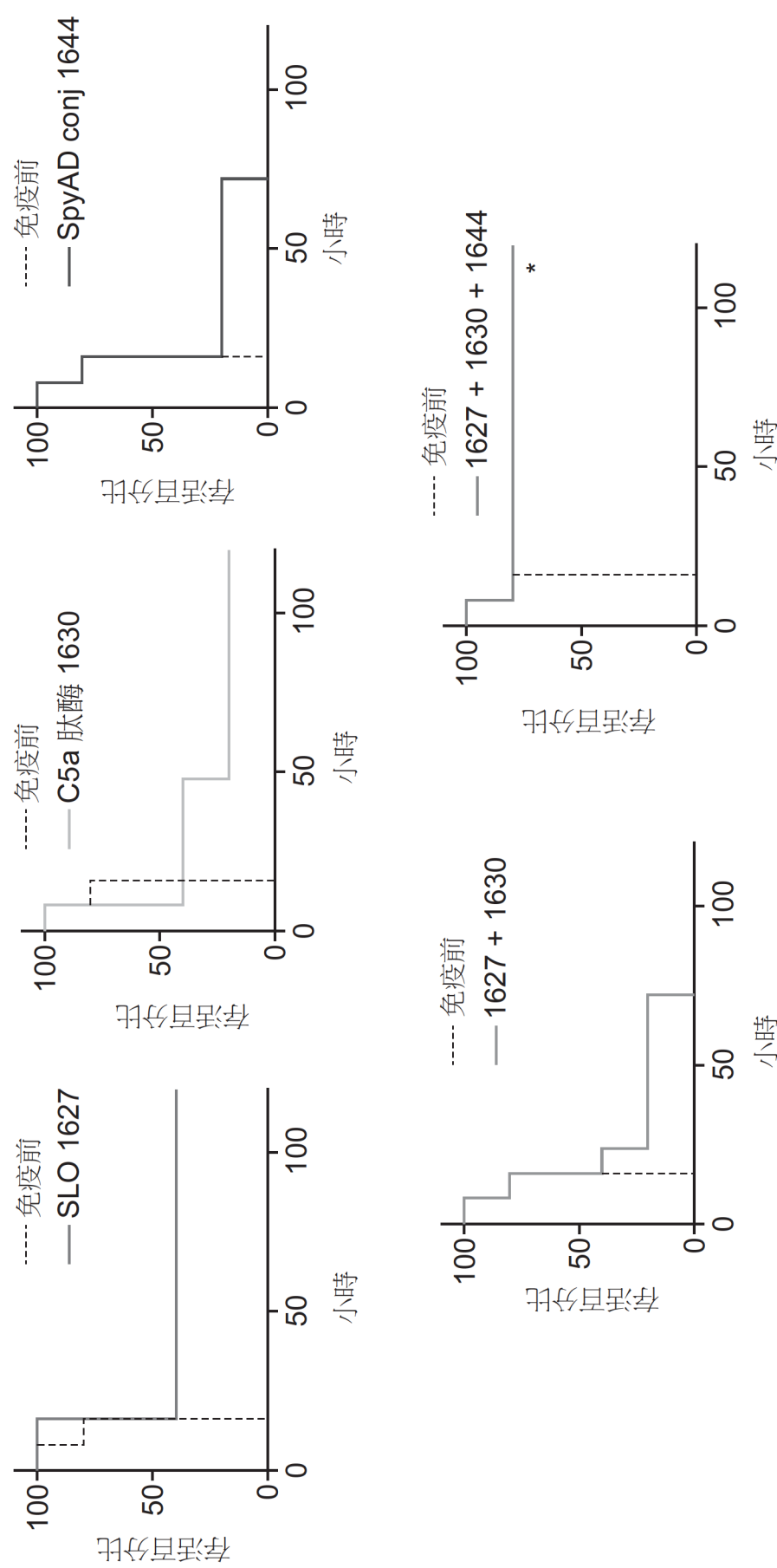
【圖5E】



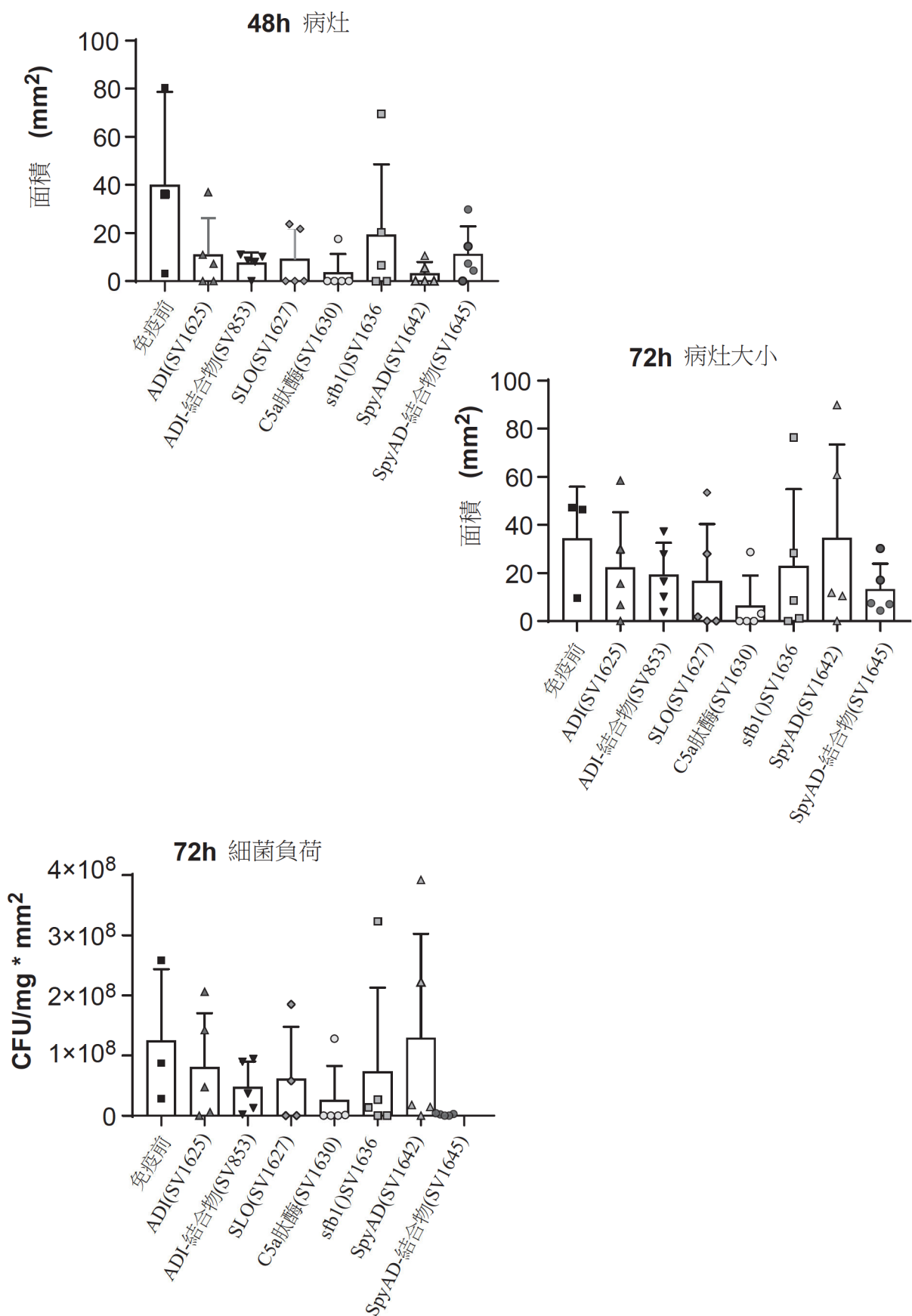
【圖5F】



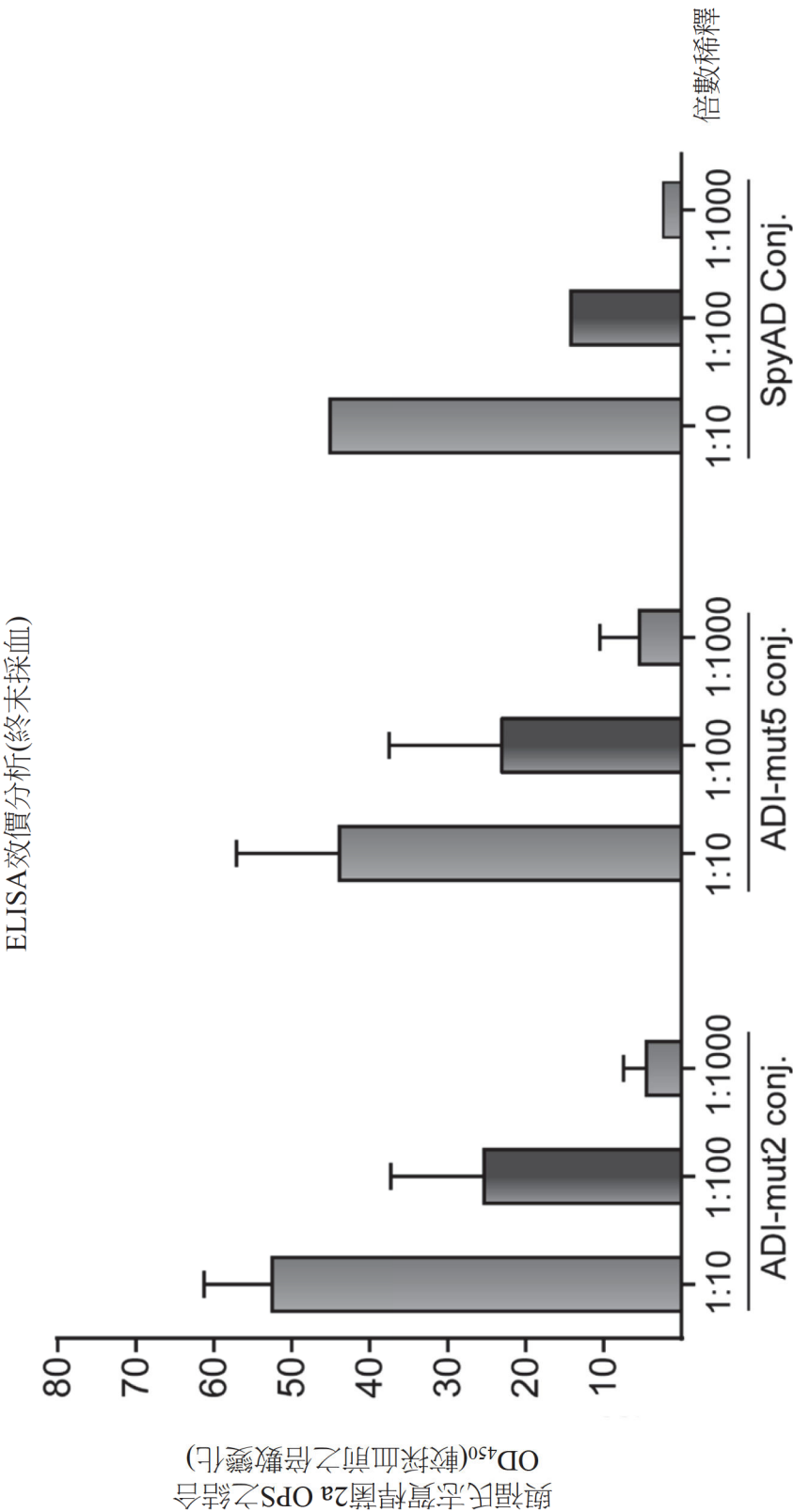
【圖6A】



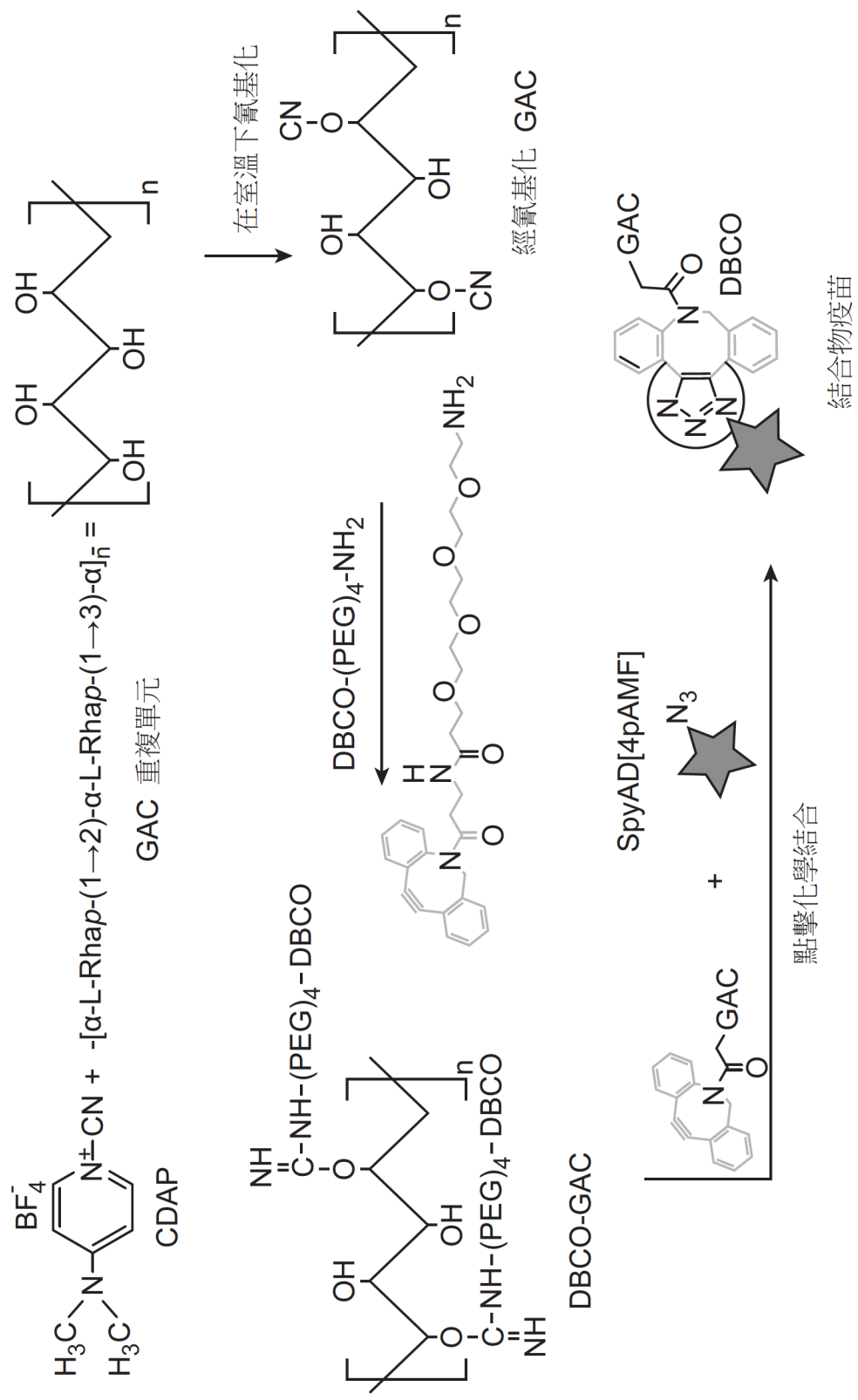
【圖6B】



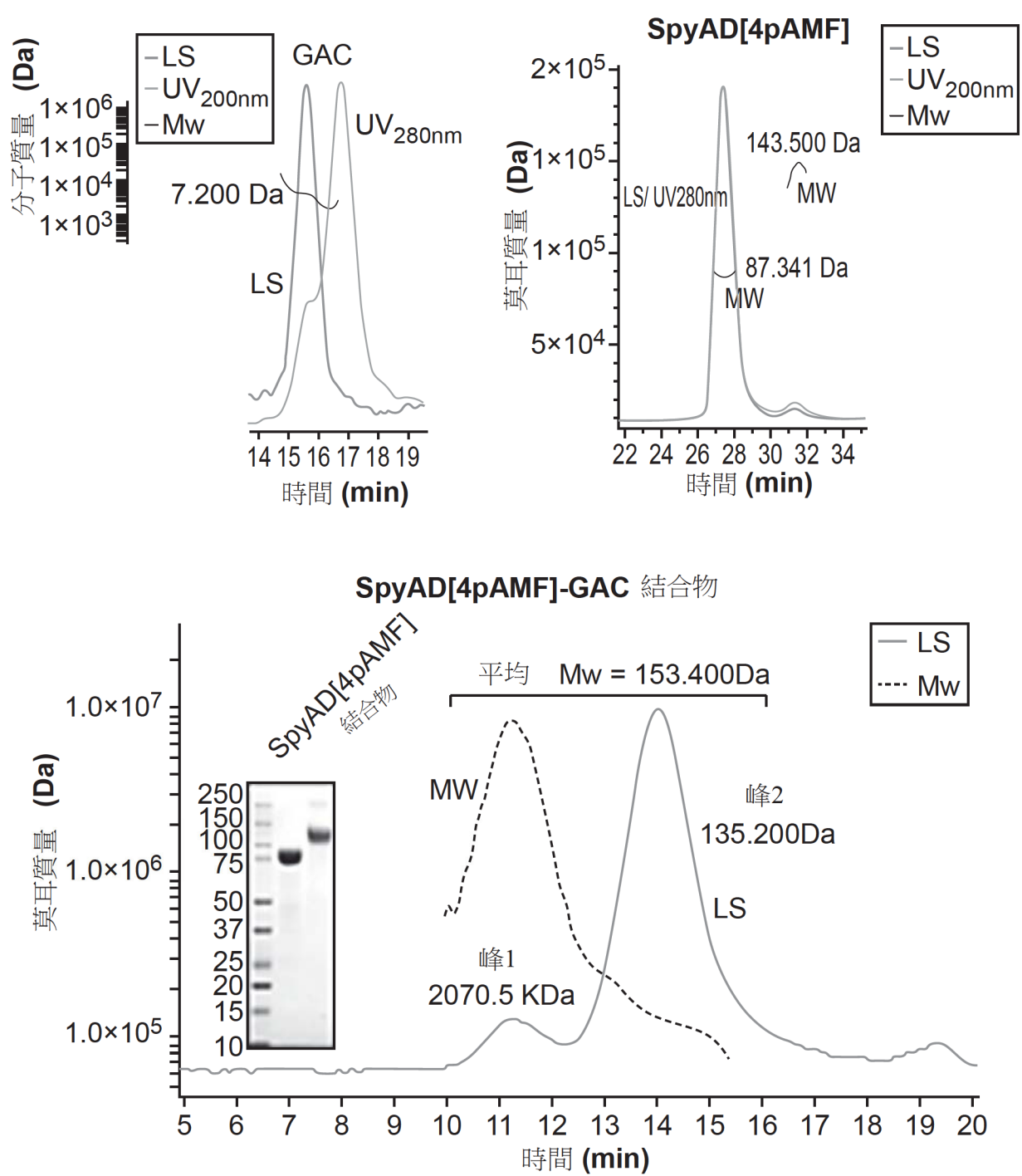
【圖7】



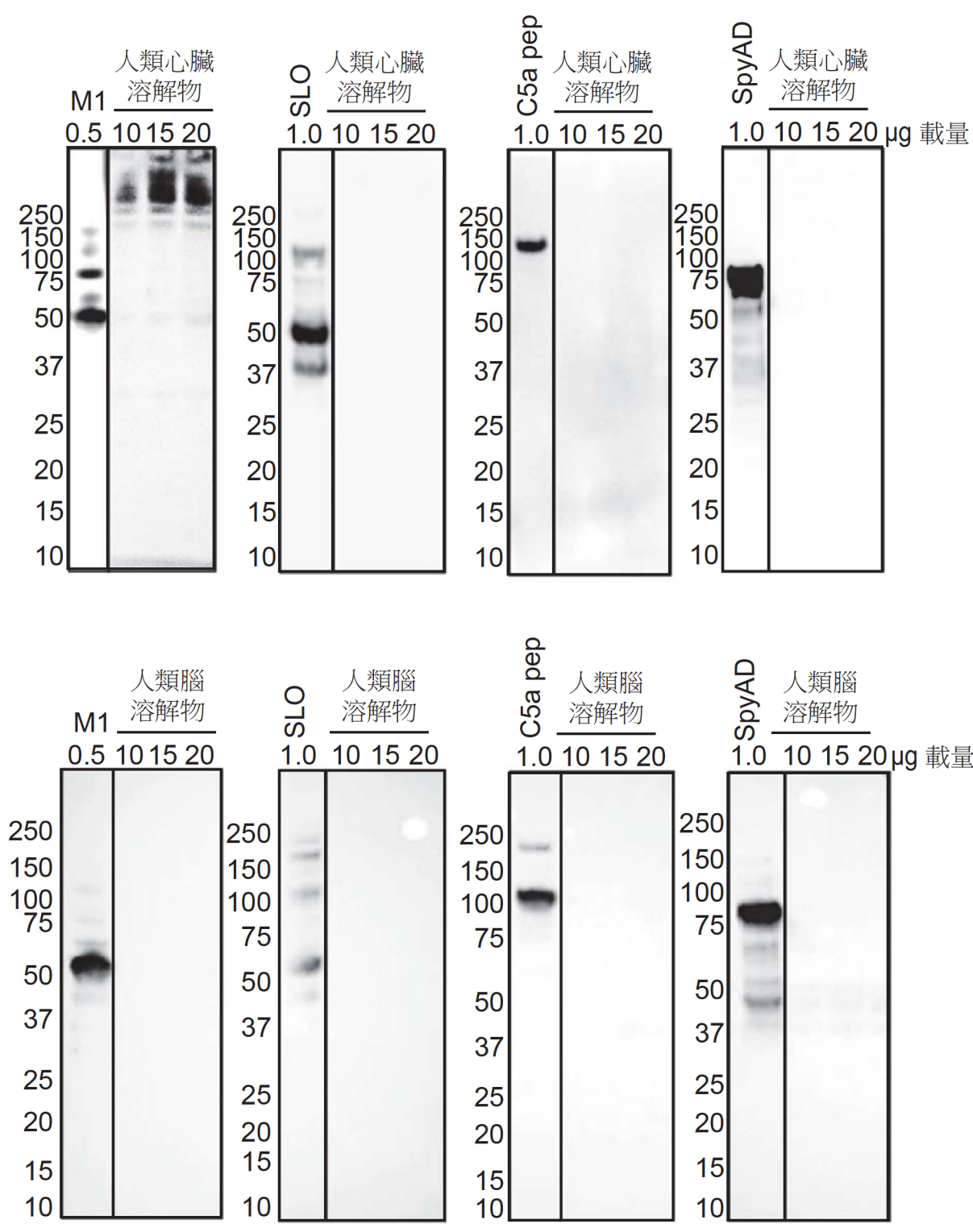
【圖8】



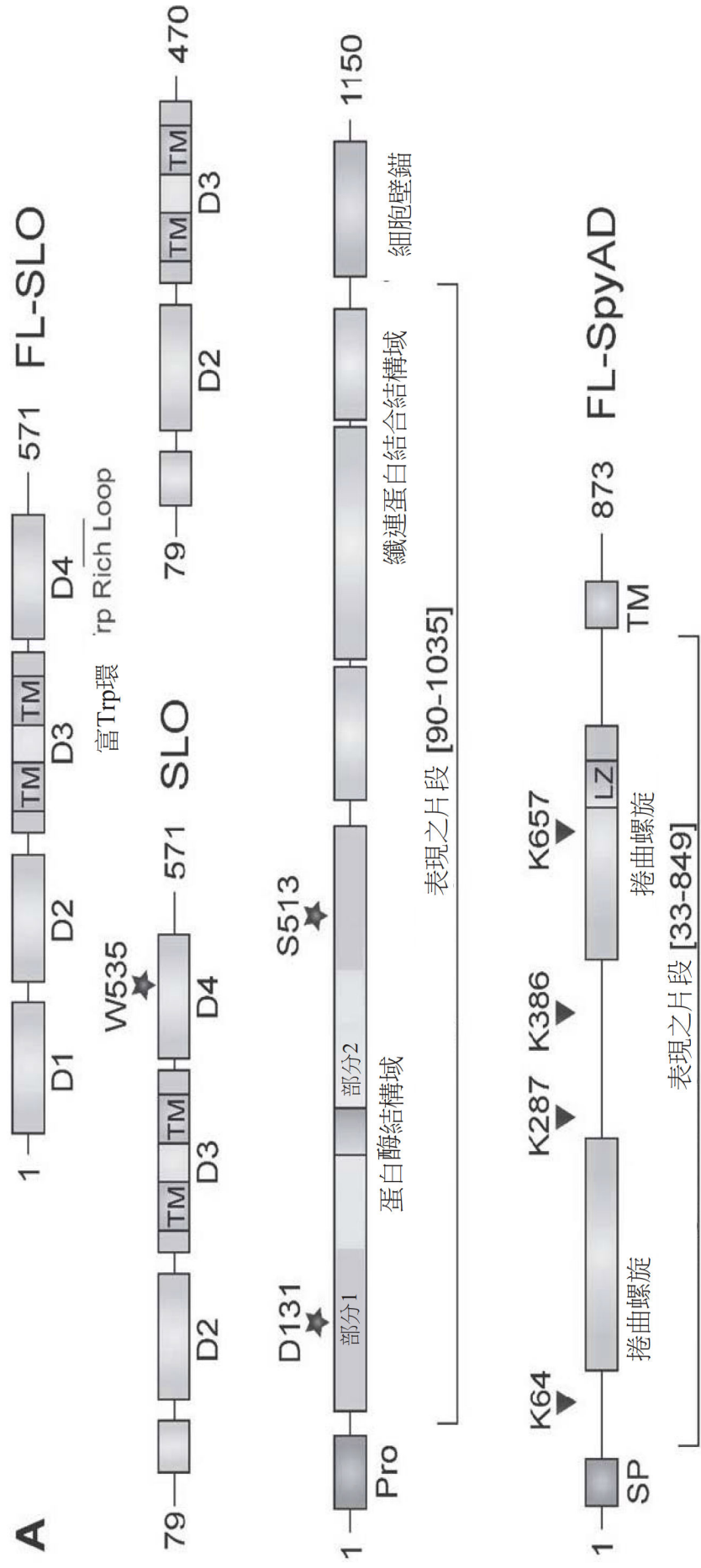
【圖9】



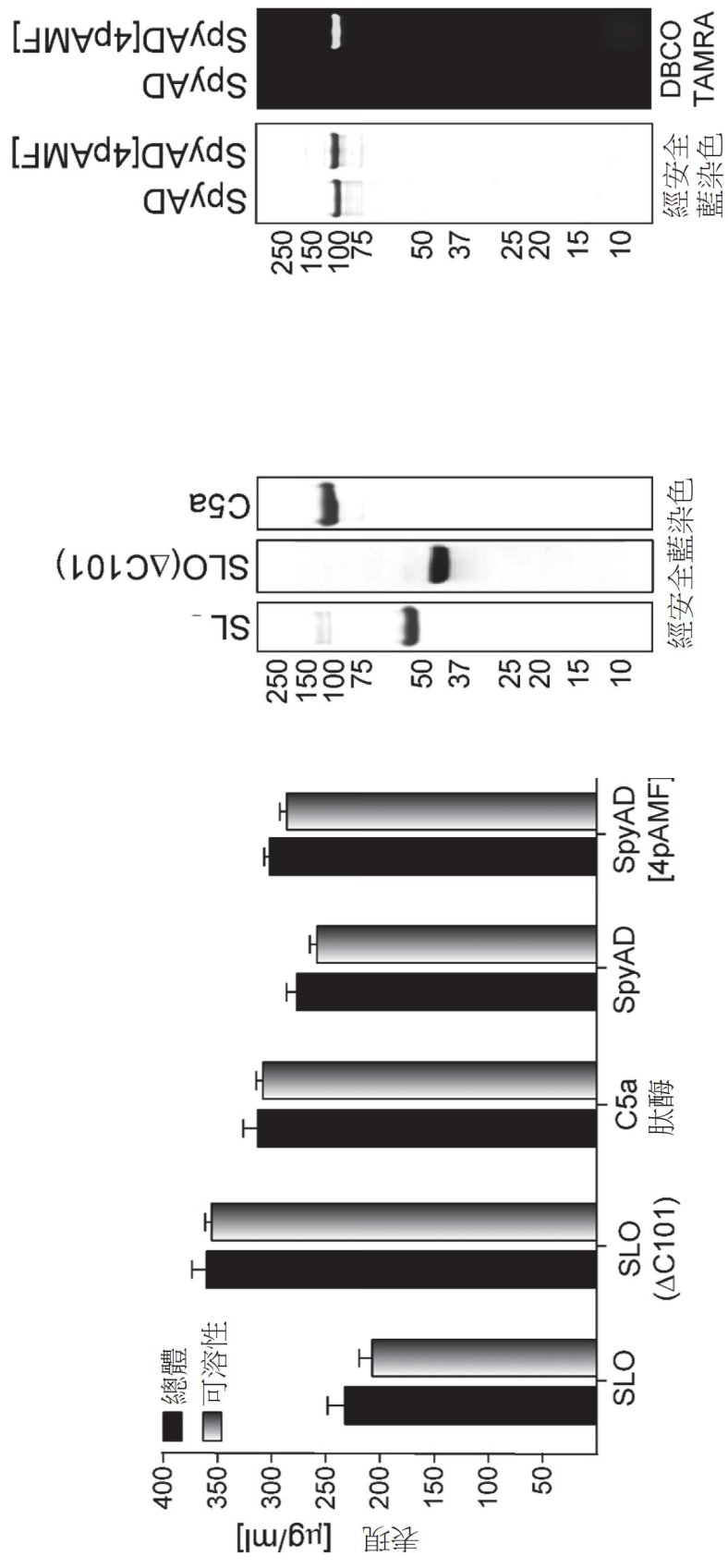
【圖10】



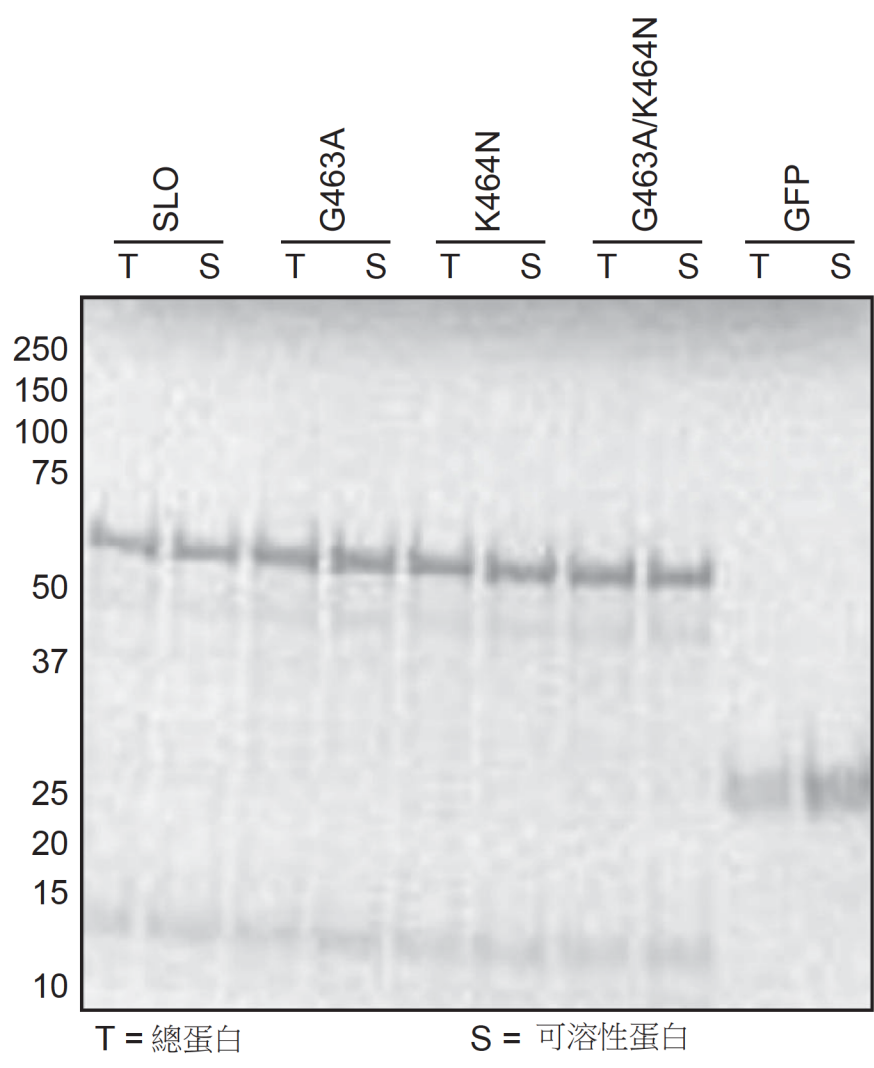
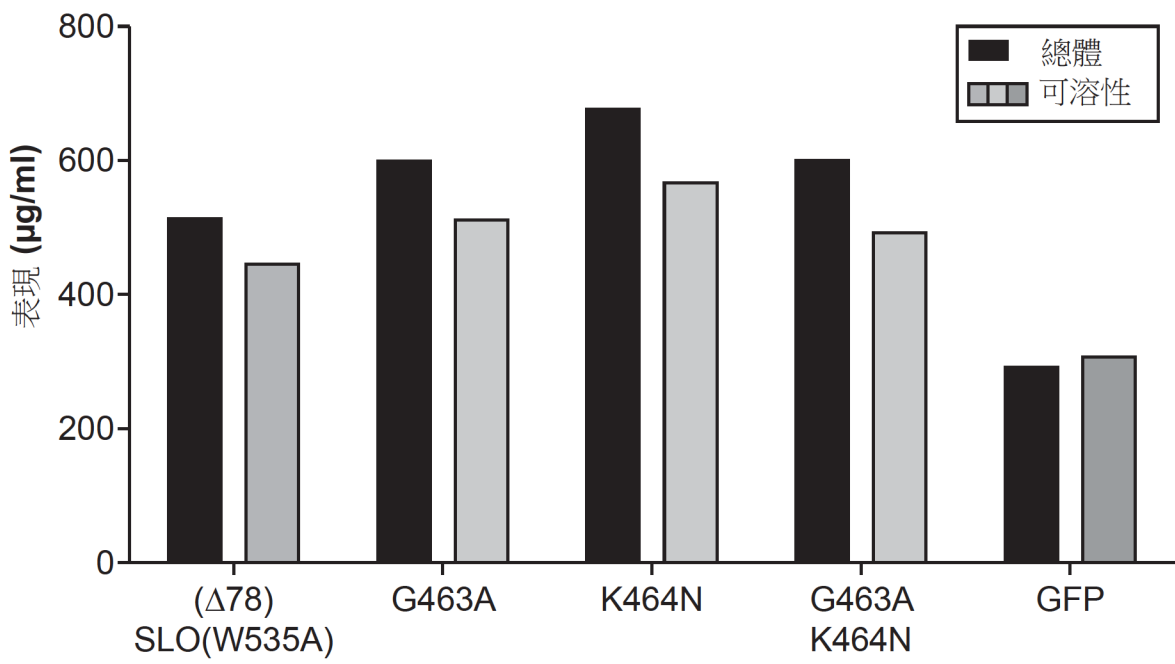
【圖11】



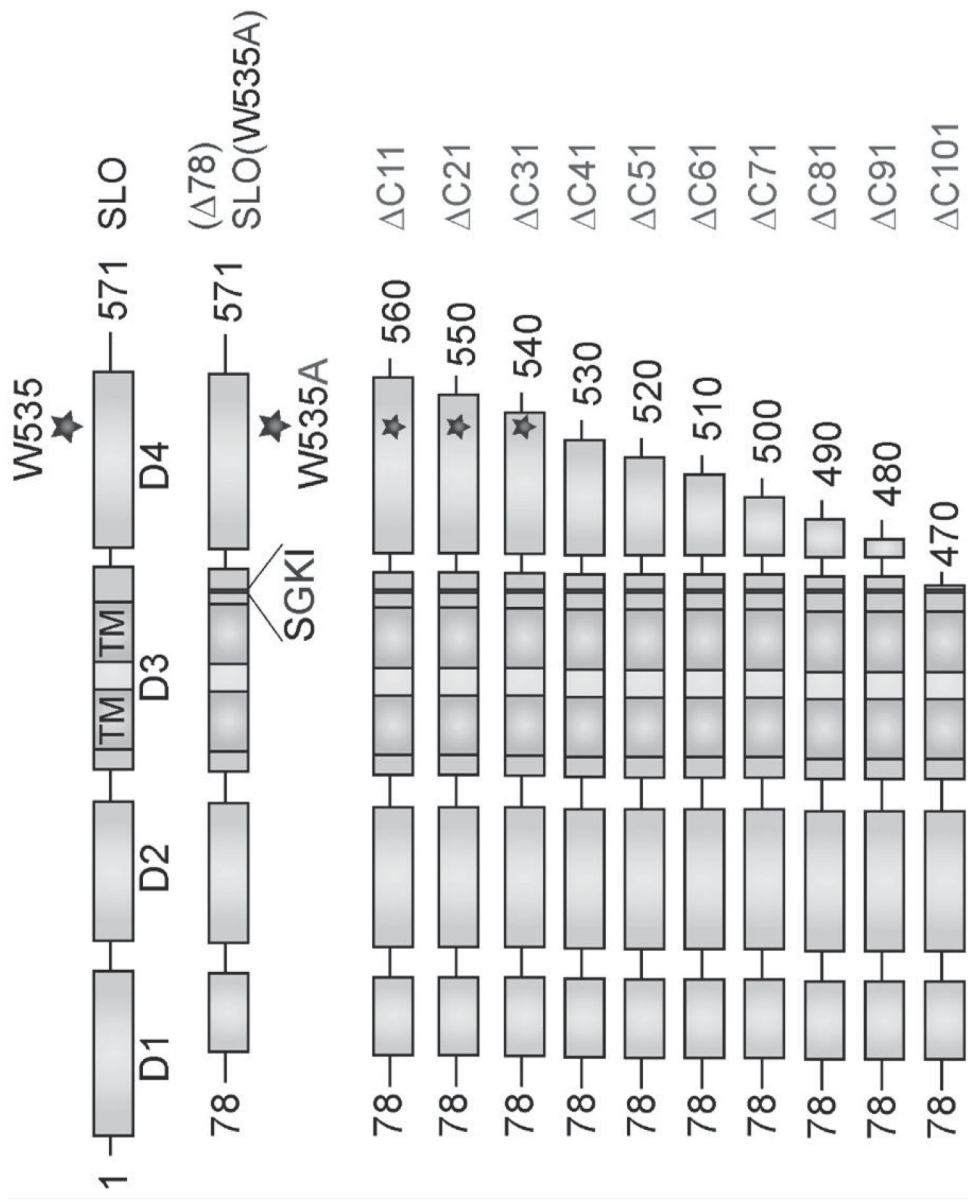
【圖12】



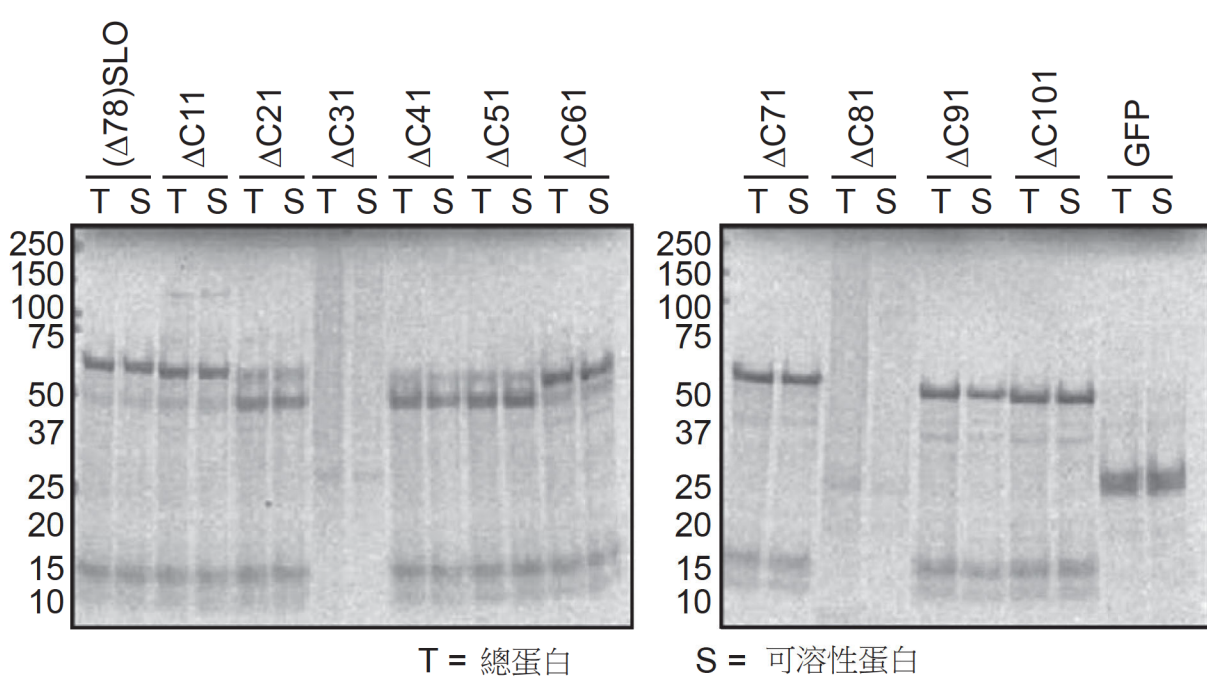
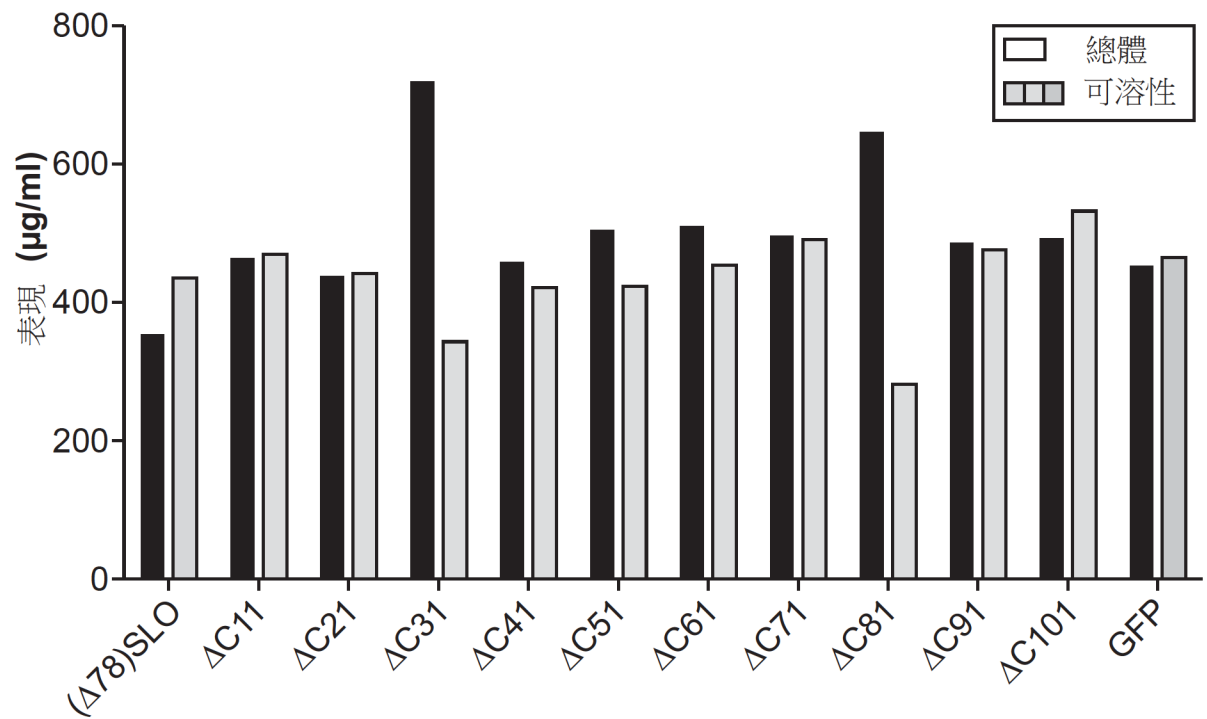
【圖13】



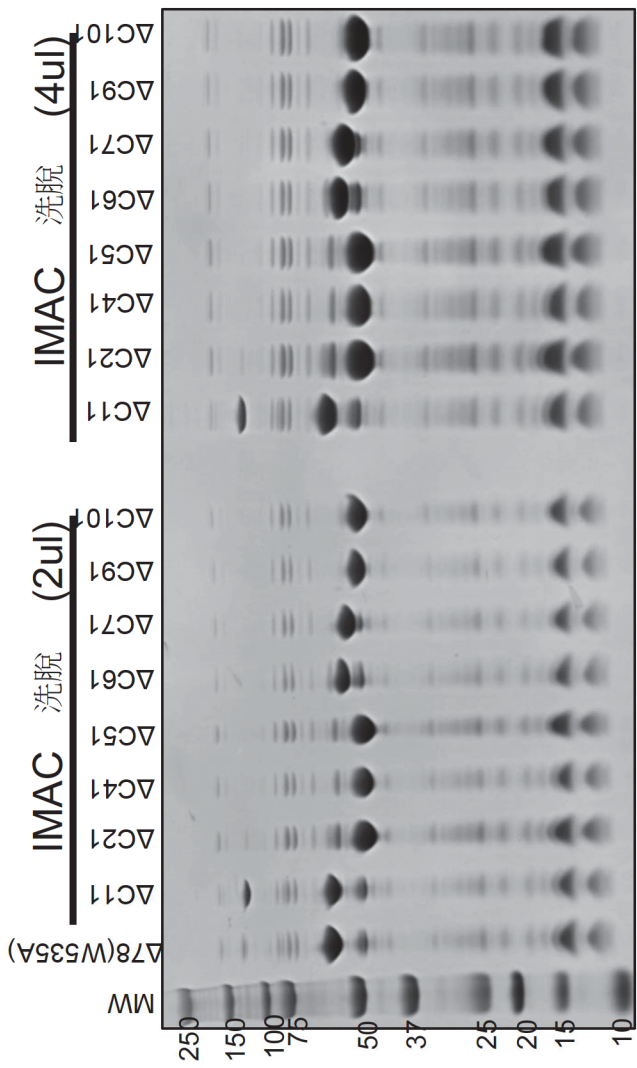
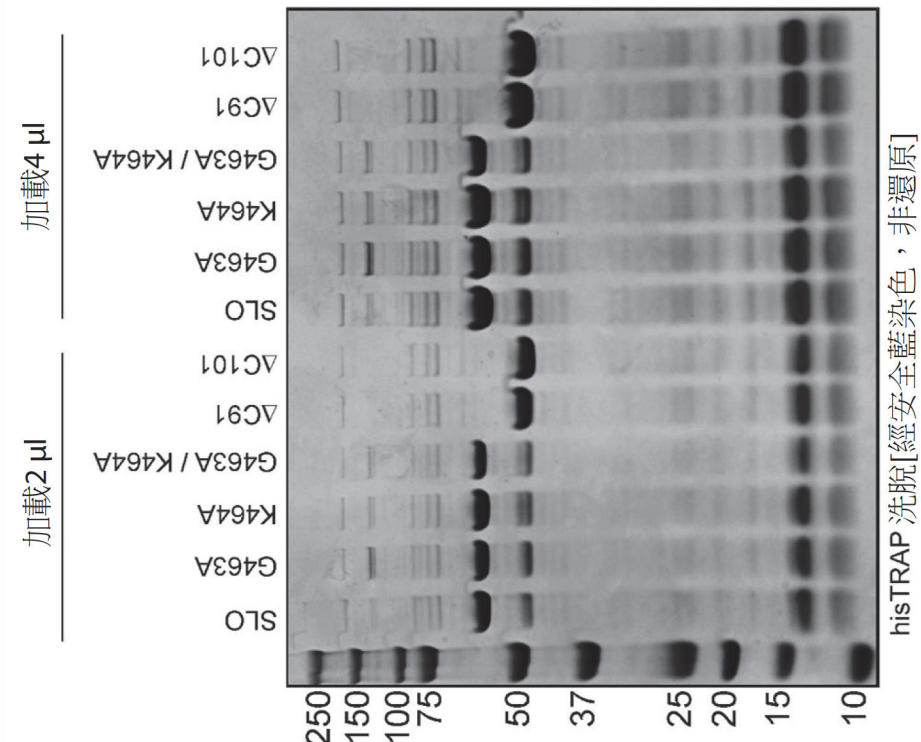
【圖14】



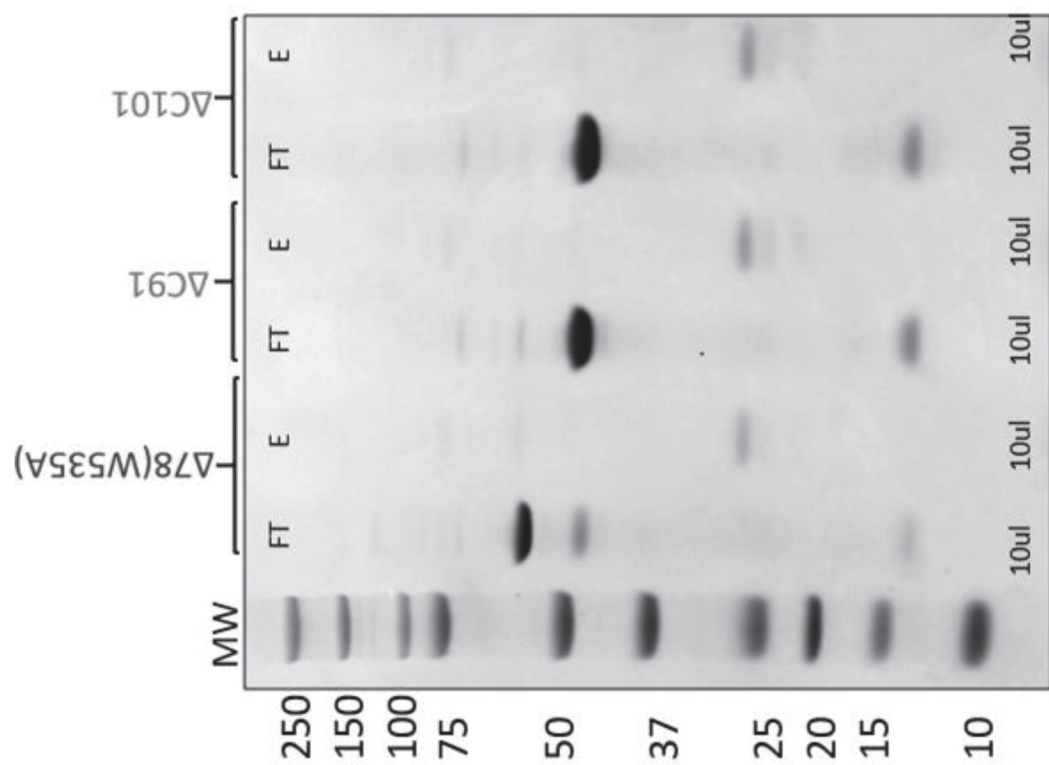
【圖15】



【圖16】

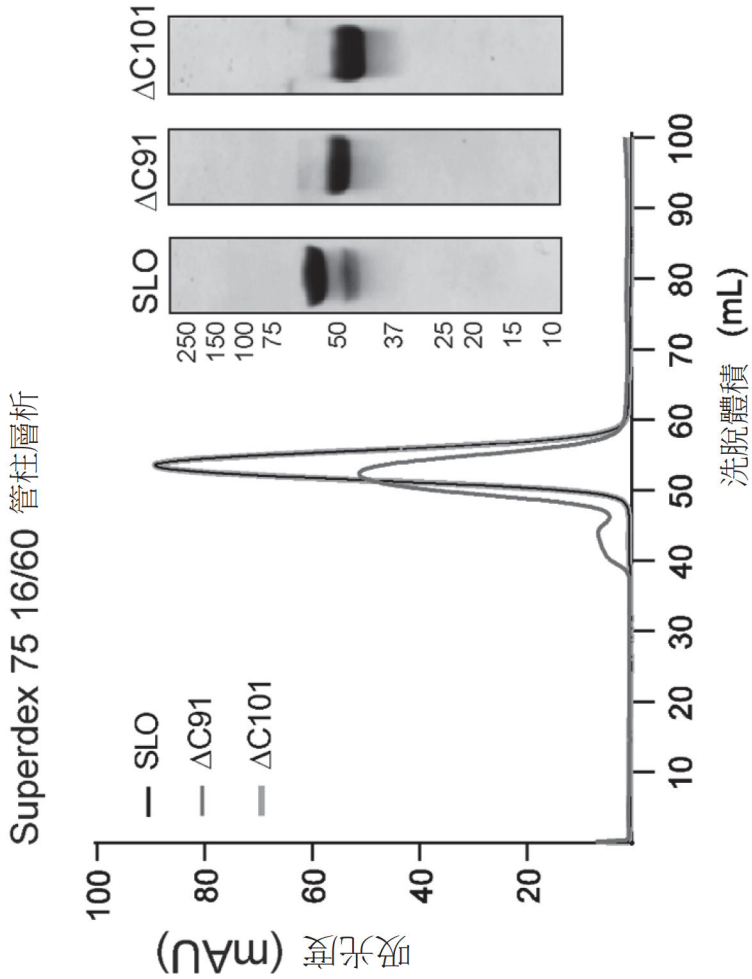
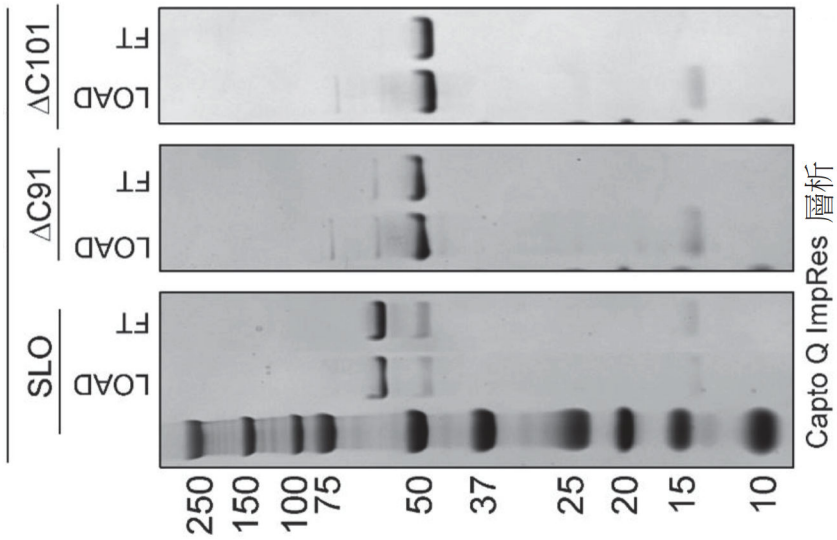


【圖17】

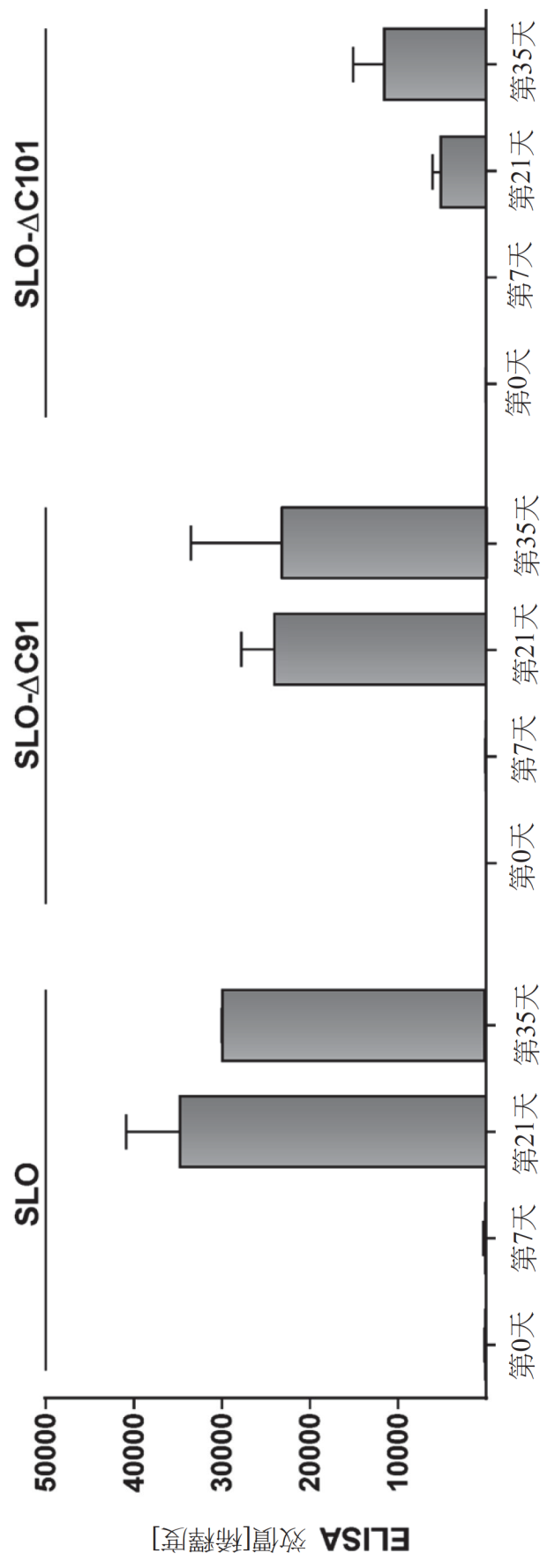


【18回】

在TEV蛋白酶介導之his6標籤裂解後

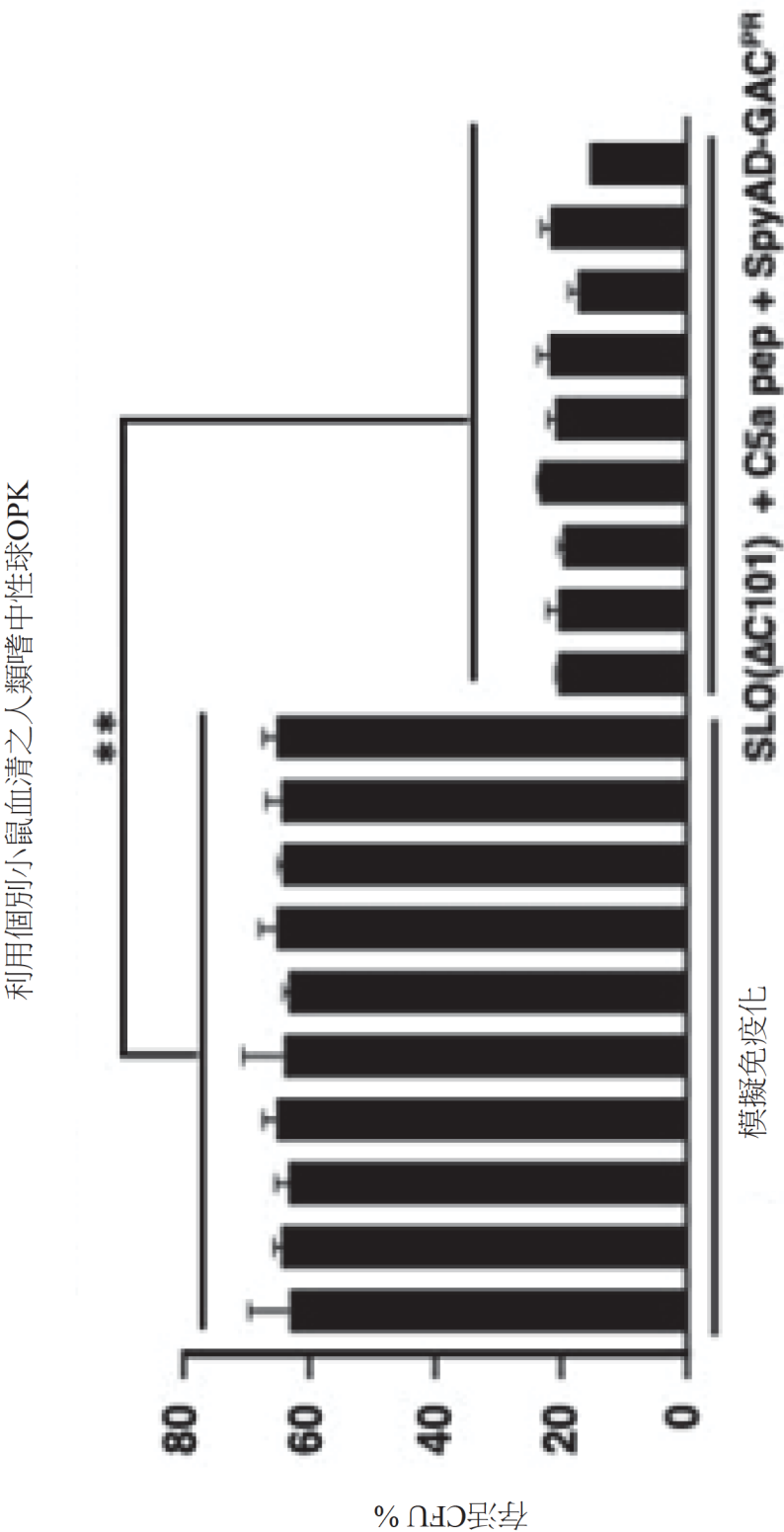


【圖19】

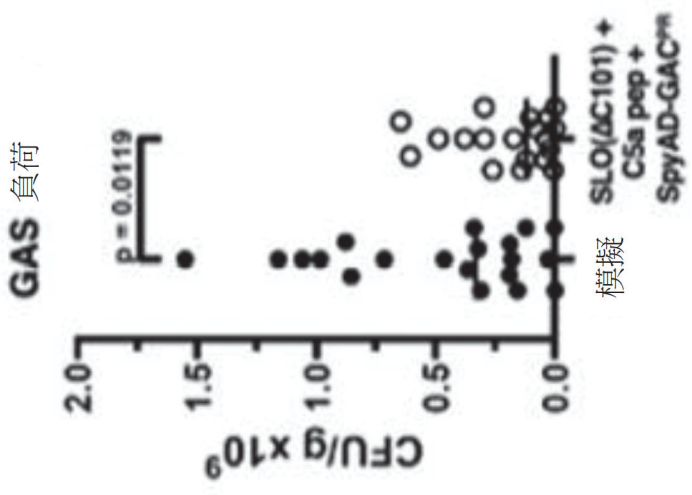


免疫化劑量：50 μg + 明礬/肌肉注射
針對各別抗原實施ELISA

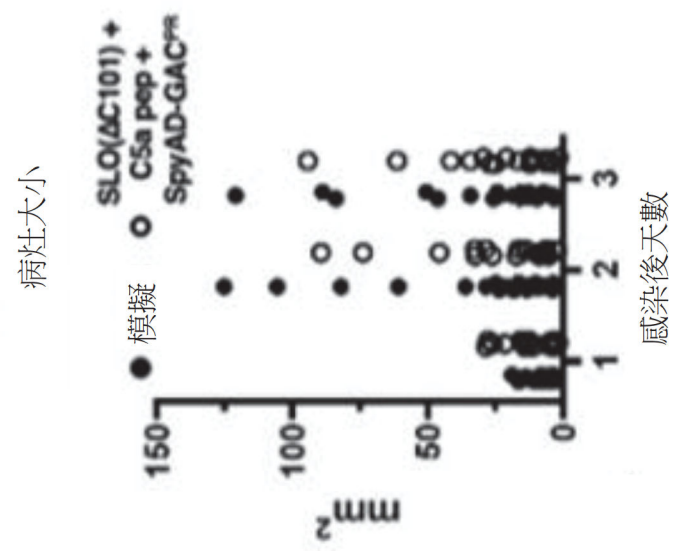
【圖20】



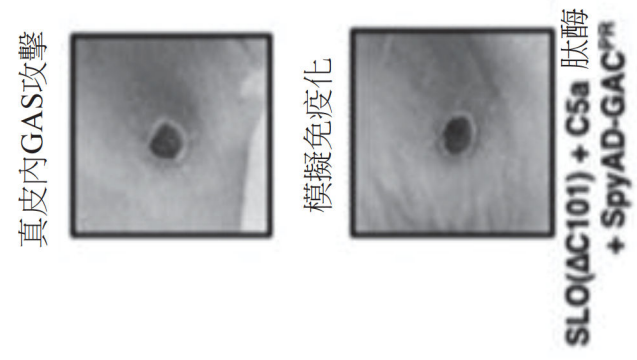
【圖21】



【圖22C】

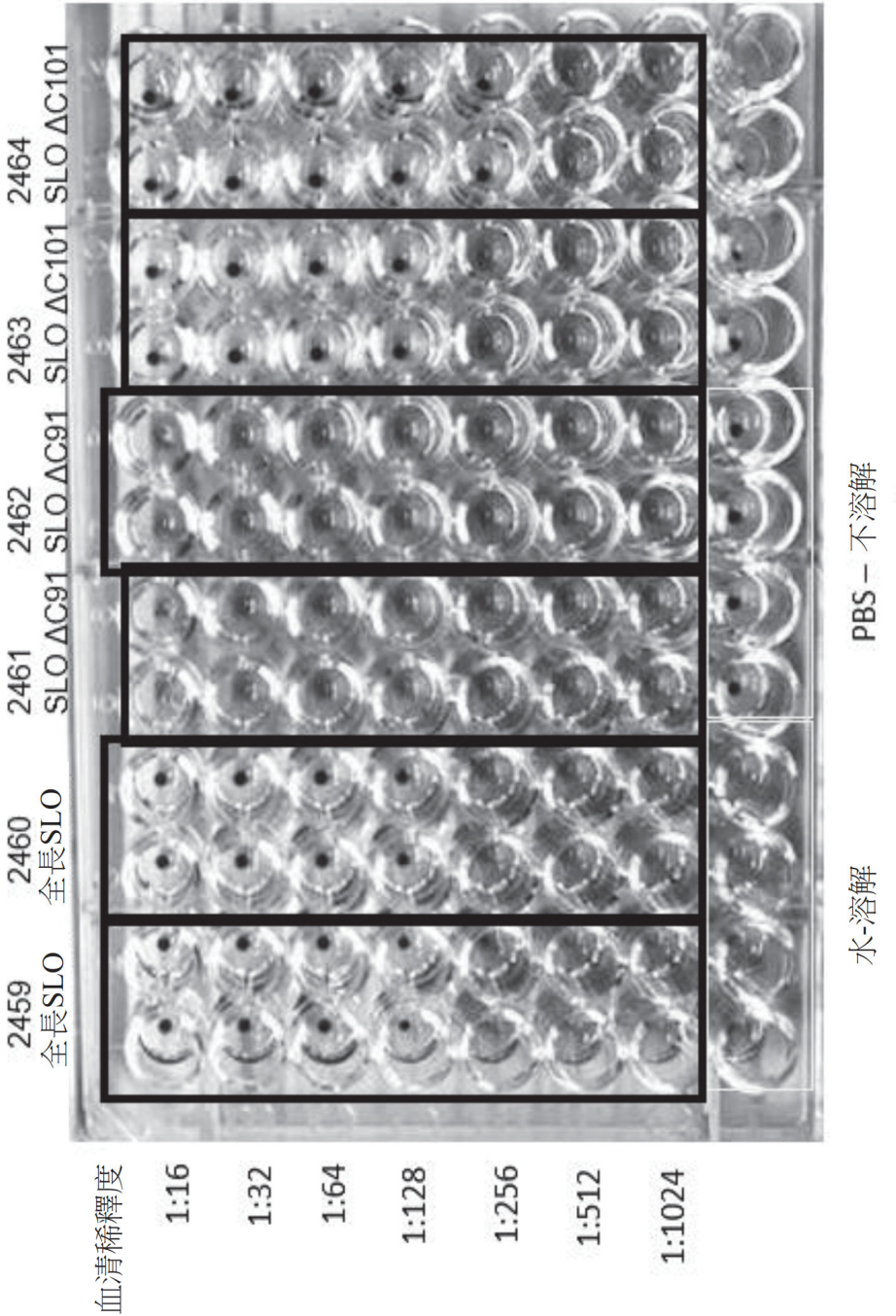


【圖22B】



【圖22A】

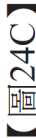
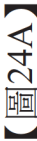
將0.1ug/ml重組SLO添加至暗盒中之所有孔中

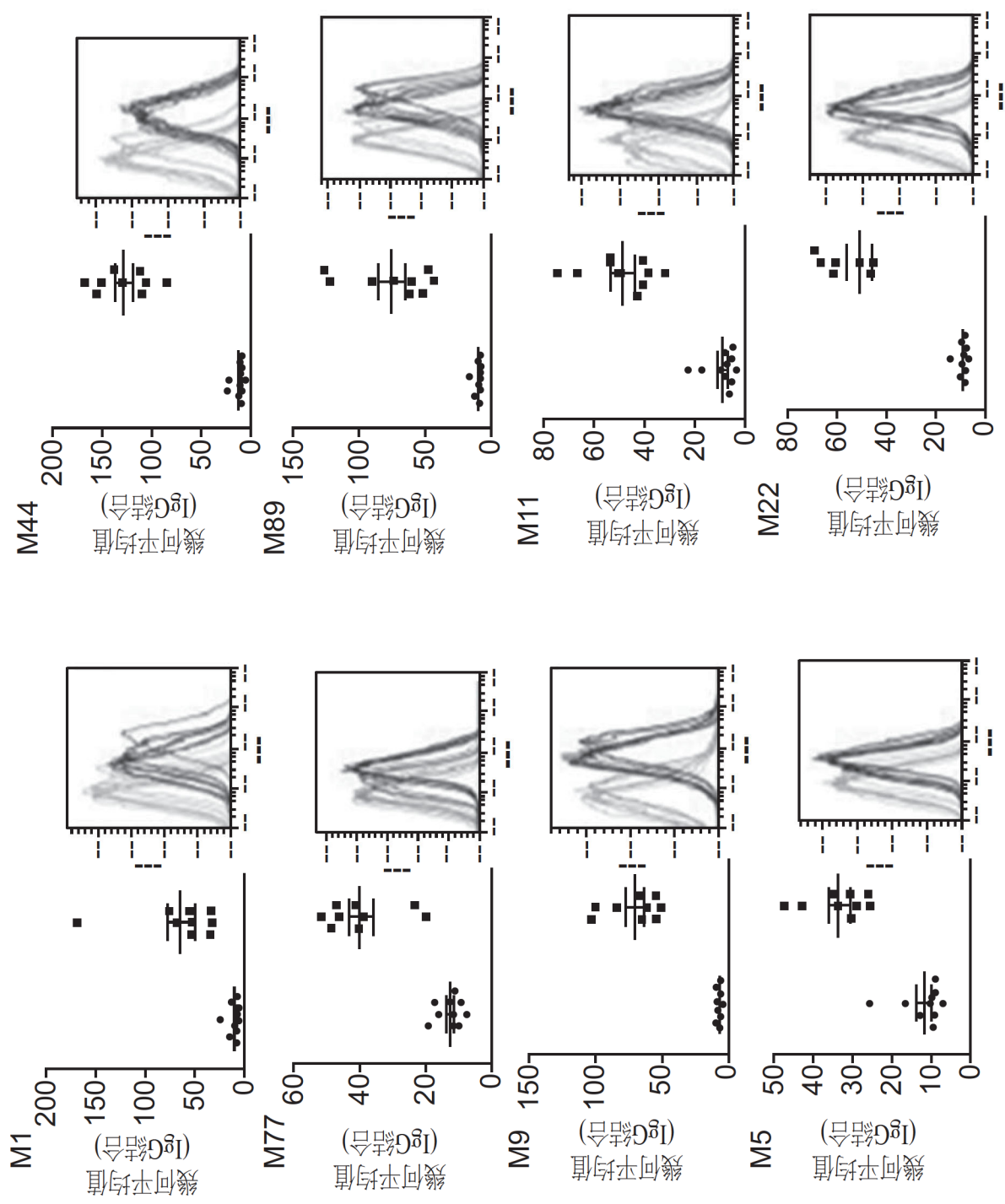


全長SLO及SLO-ΔC101
抗血清阻斷細胞溶解，
而SLO-ΔC91抗血清則不
阻斷溶解。

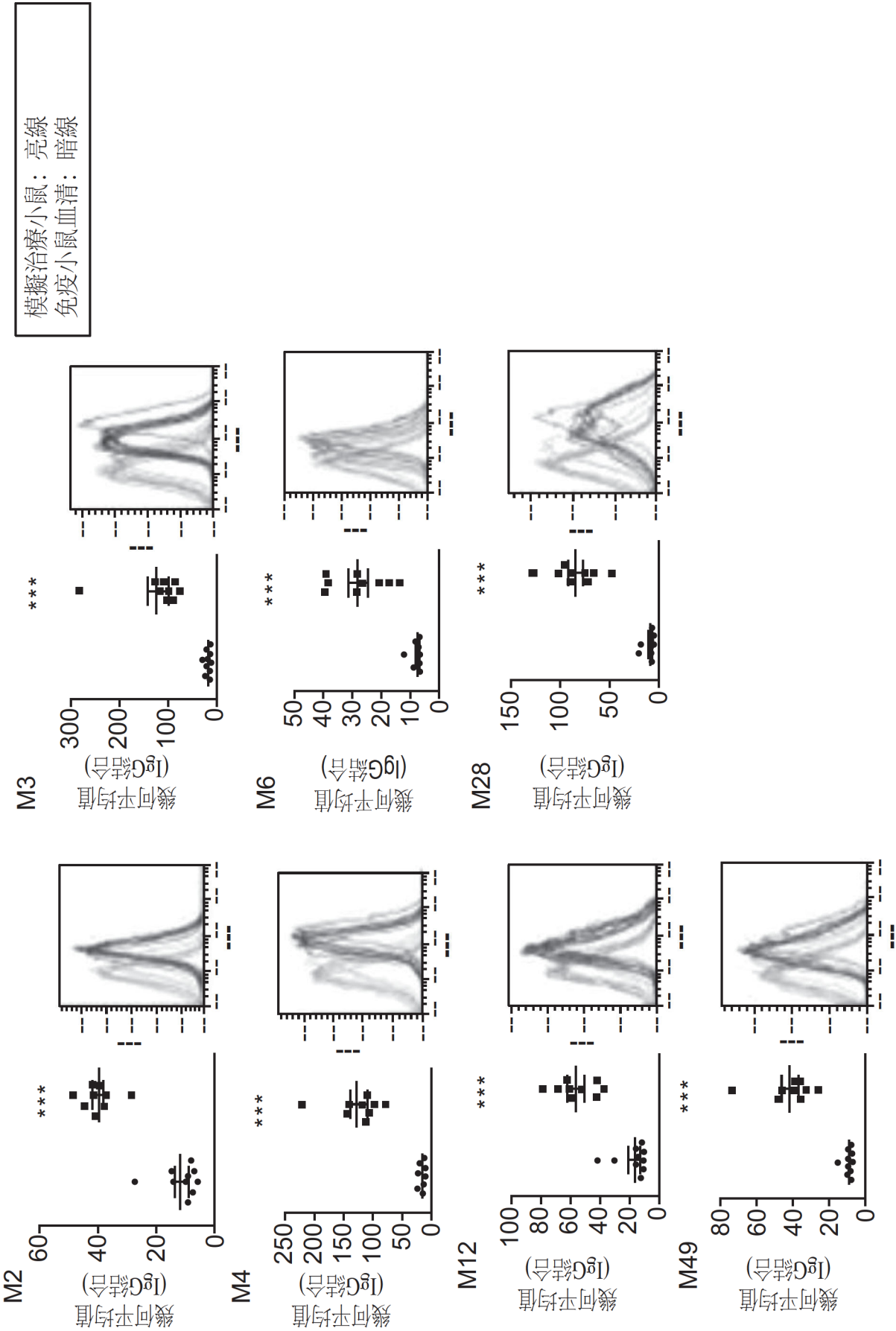
【圖23】

【圖24B】

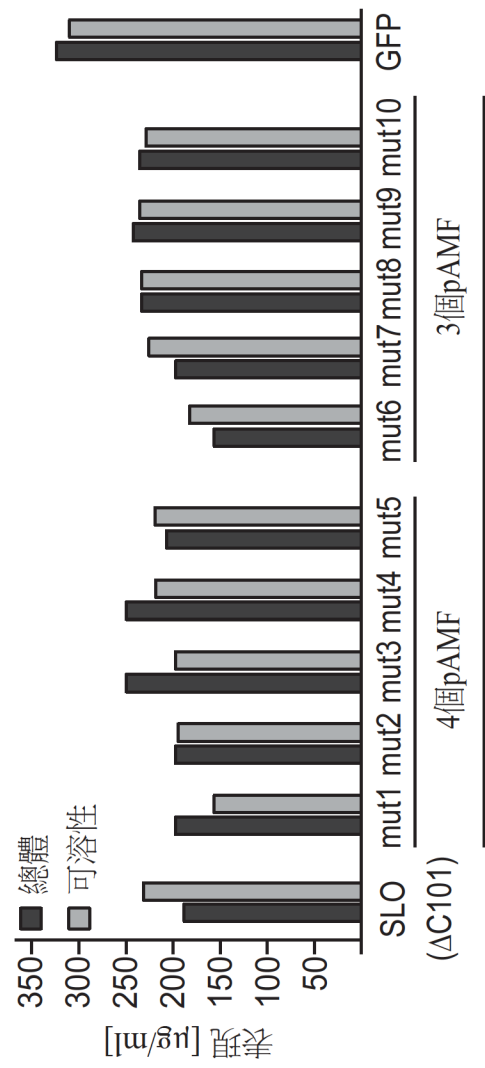




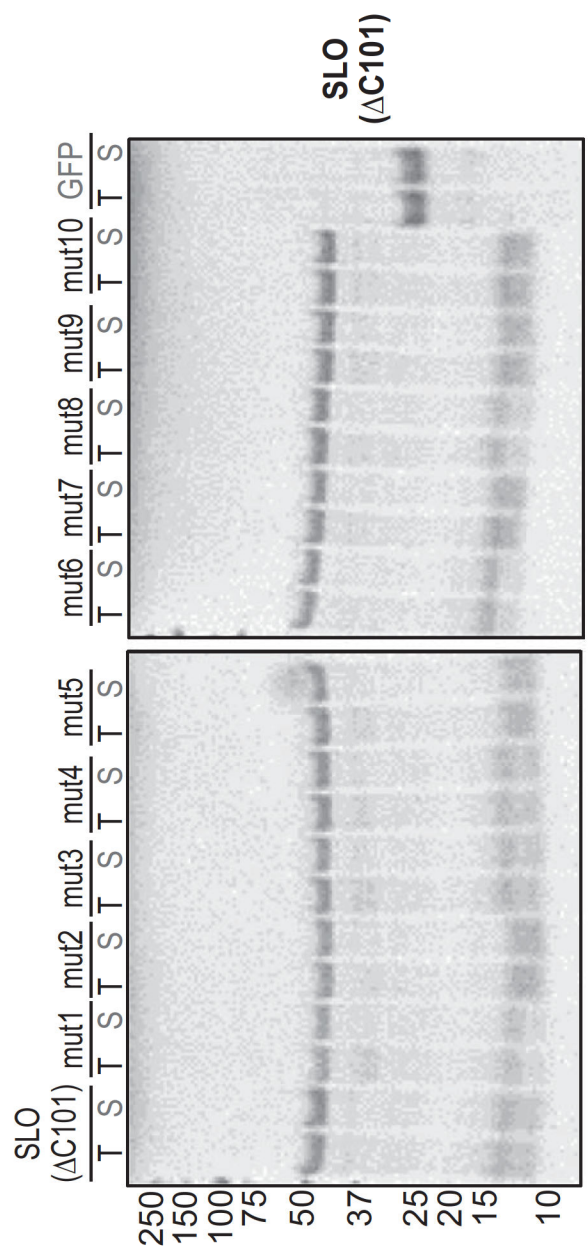
【圖25A】



【圖25B】

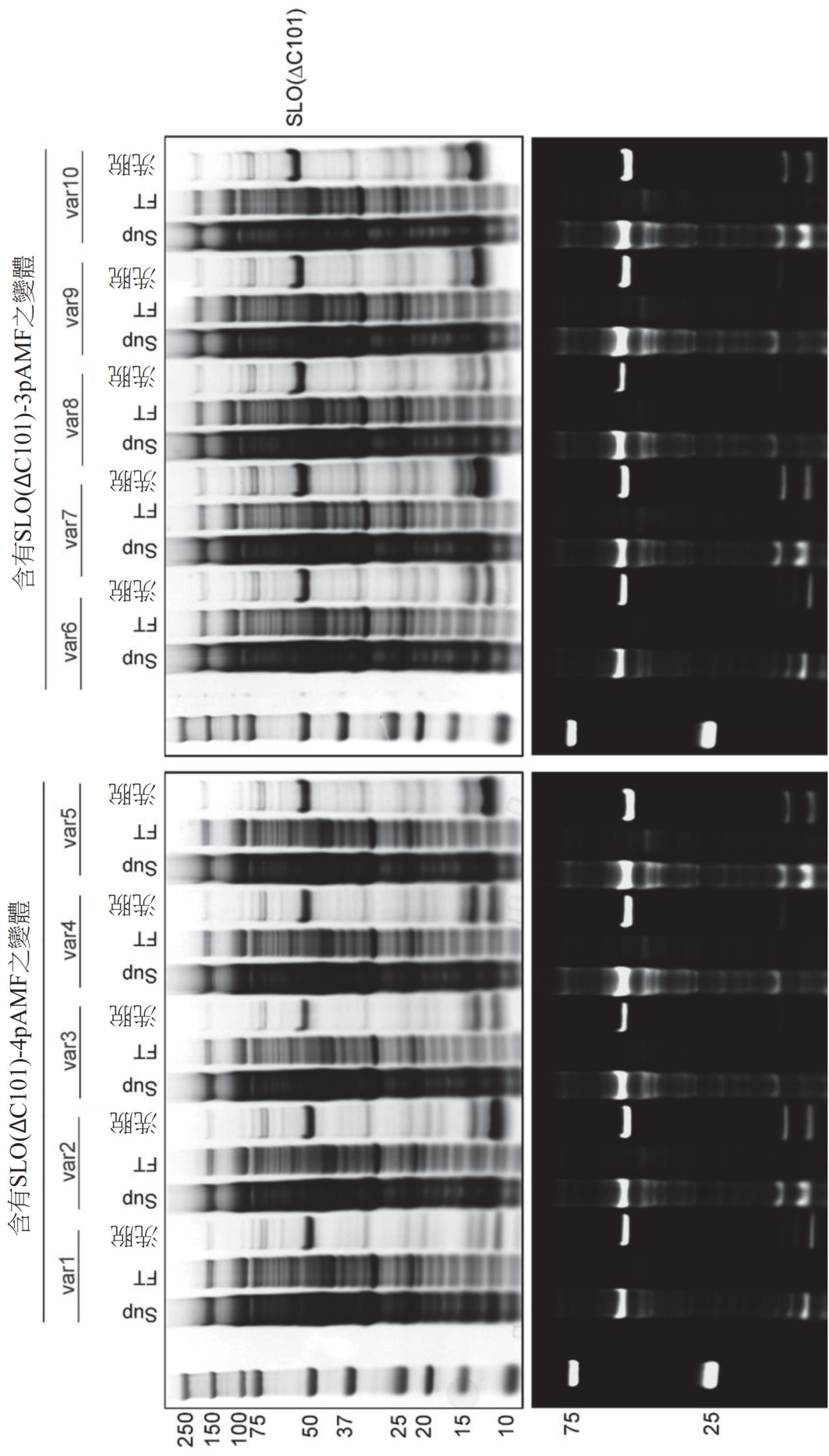


SLO(ΔC101) pAMF 納入突變體

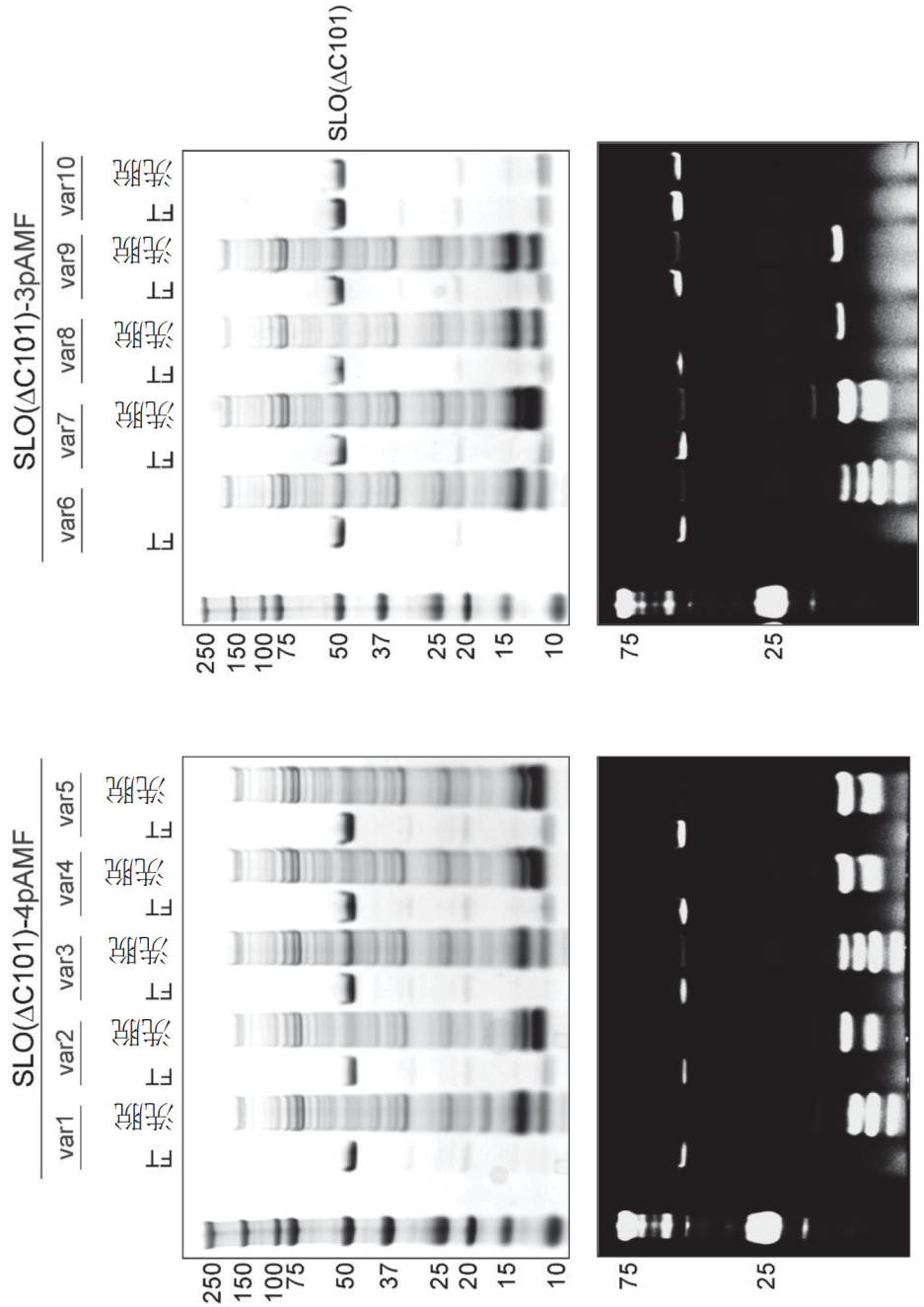


¹⁴C-白胺酸納入放射自顯影圖

【圖26】



【圖27A】

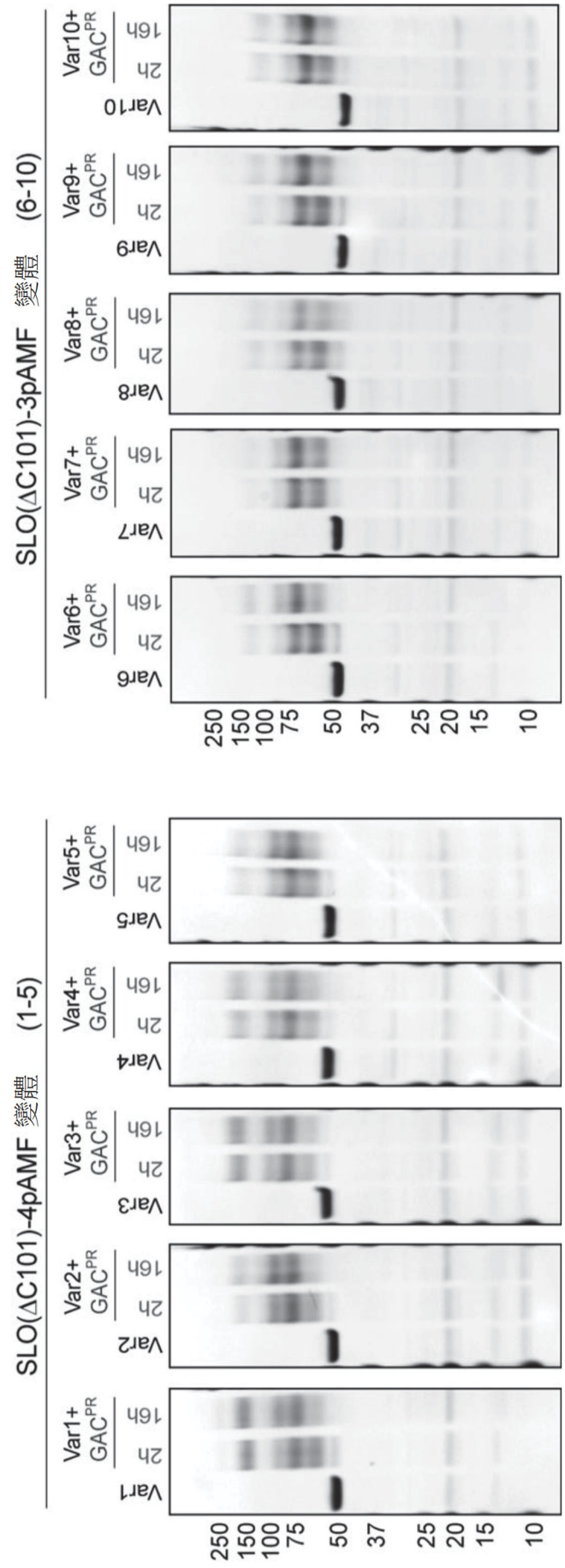


【圖27B】

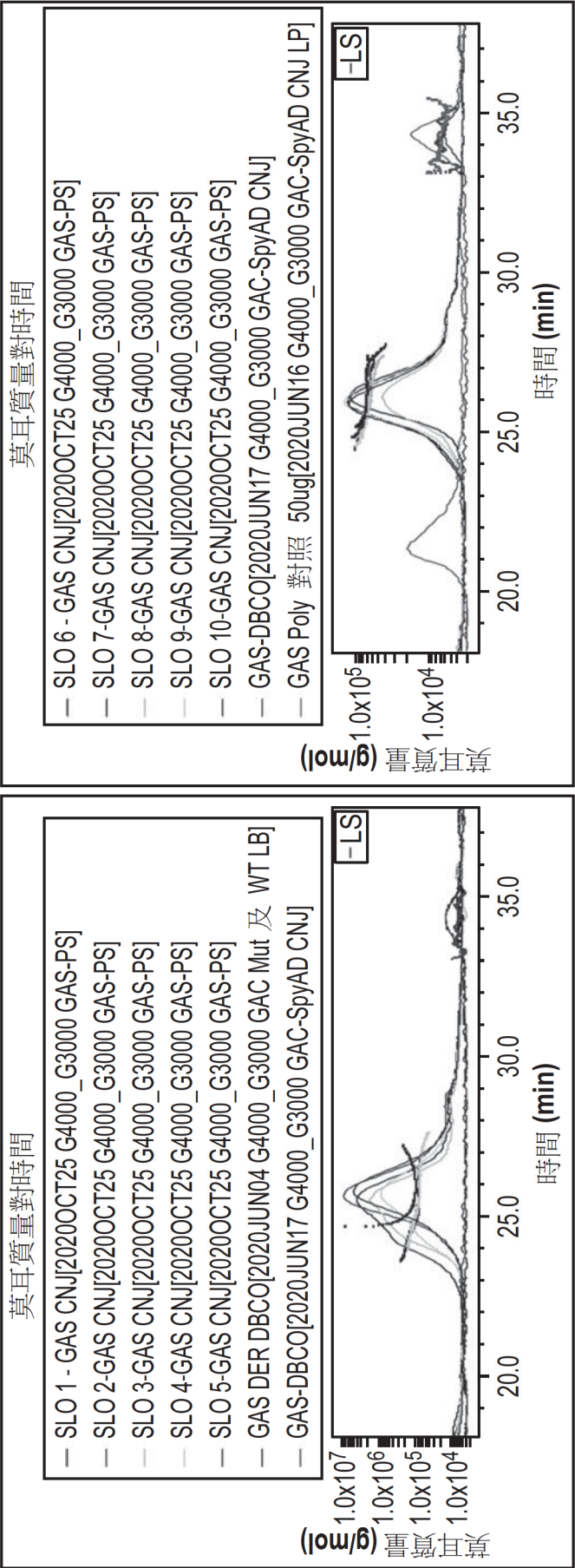
將DBCO衍生之GAC與用於結合之SLO變體在25°C下一起培育過夜

反應	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
蛋白質	60.0	48.0	80.0	48.0	40.0	17.8	20.9	48.0	21.8	30.0
PS-DBCO	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5
緩衝液 (10x PBS)	6.0	12.0	6.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0
水	11.5	17.5	-8.5	17.5	25.5	47.7	44.7	17.5	43.7	35.5
總計	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0
蛋白質原液	var1	var2	var3	var4	var5	var6	var7	var8	var9	var10
	0.8	1.0	0.6	1.0	1.2	2.7	2.3	1.0	2.2	1.6
PS-DBCO 原液	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13

【圖28】



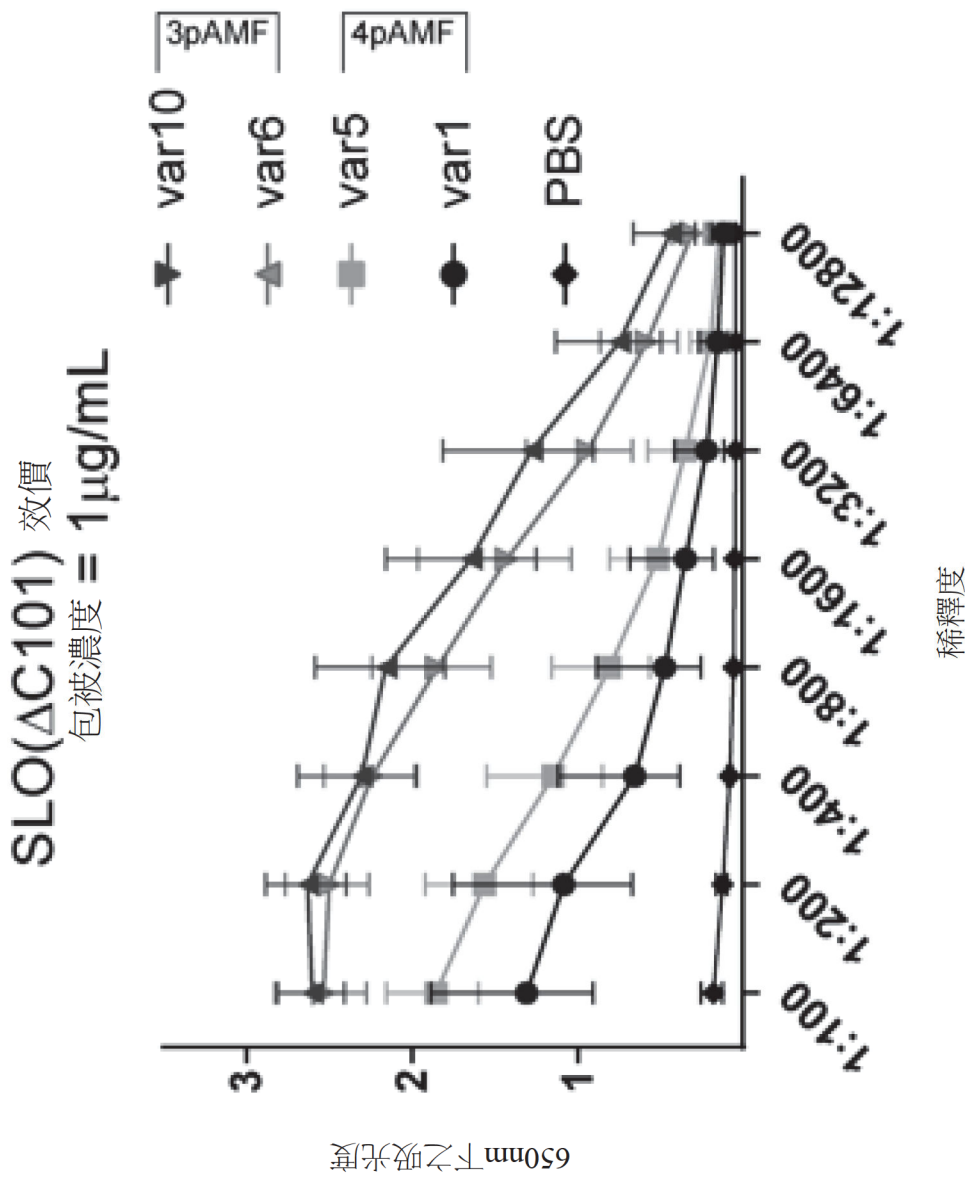
【圖29】



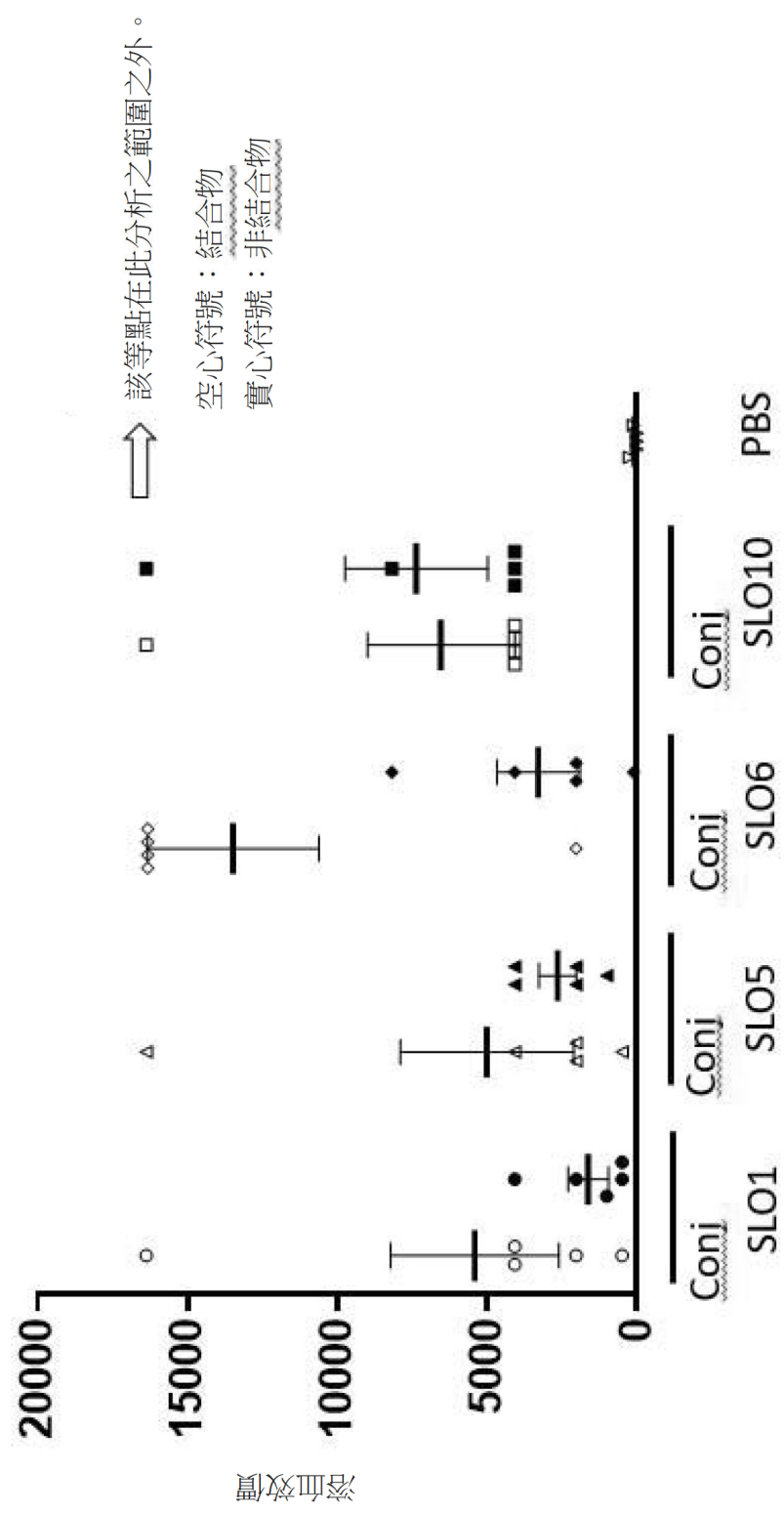
試樣編號	Mw (kDa)
SLO 1 - GAC CNJ	97.1
SLO 2 - GAC CNJ	78.5
SLO 3 - GAC CNJ	90.4
SLO 4 - GAC CNJ	79.1
SLO 5 - GAC CNJ	116
GAC DER DBCO	6.2
GAC-DBCO	6.6

試樣編號	Mw (kDa)
SLO 6 - GAC CNJ	67.4
SLO 7 - GAC CNJ	72.6
SLO 8 - GAC CNJ	62.6
SLO 9 - GAC CNJ	69.6
SLO 10 - GAC CNJ	73.3
GAC DER DBCO	6.6
GAC-Mut no Der	6.9

【圖30】

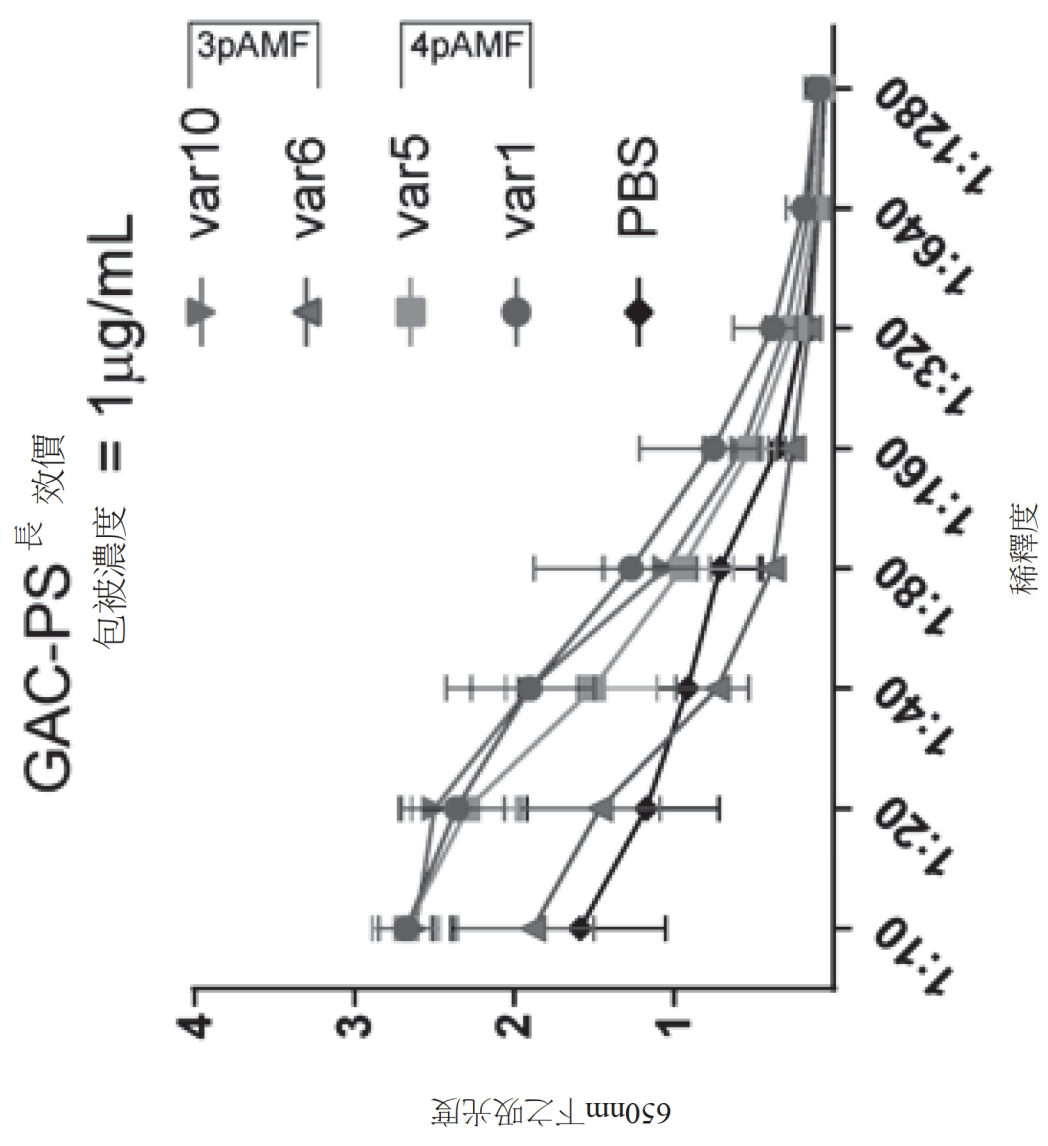


【圖31A】

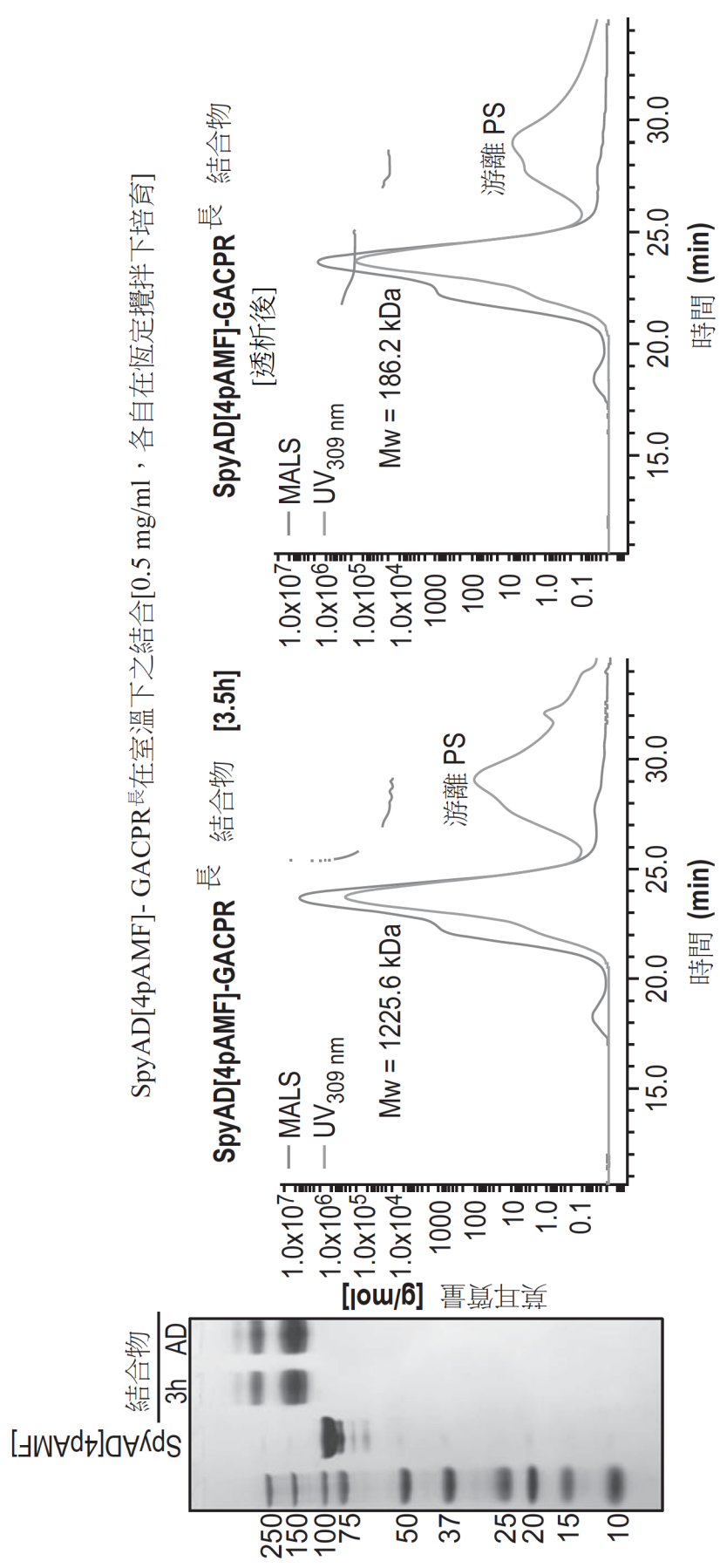


每一效價記錄為溶血達到100% RBC溶解(H₂O)對照之一半之點。

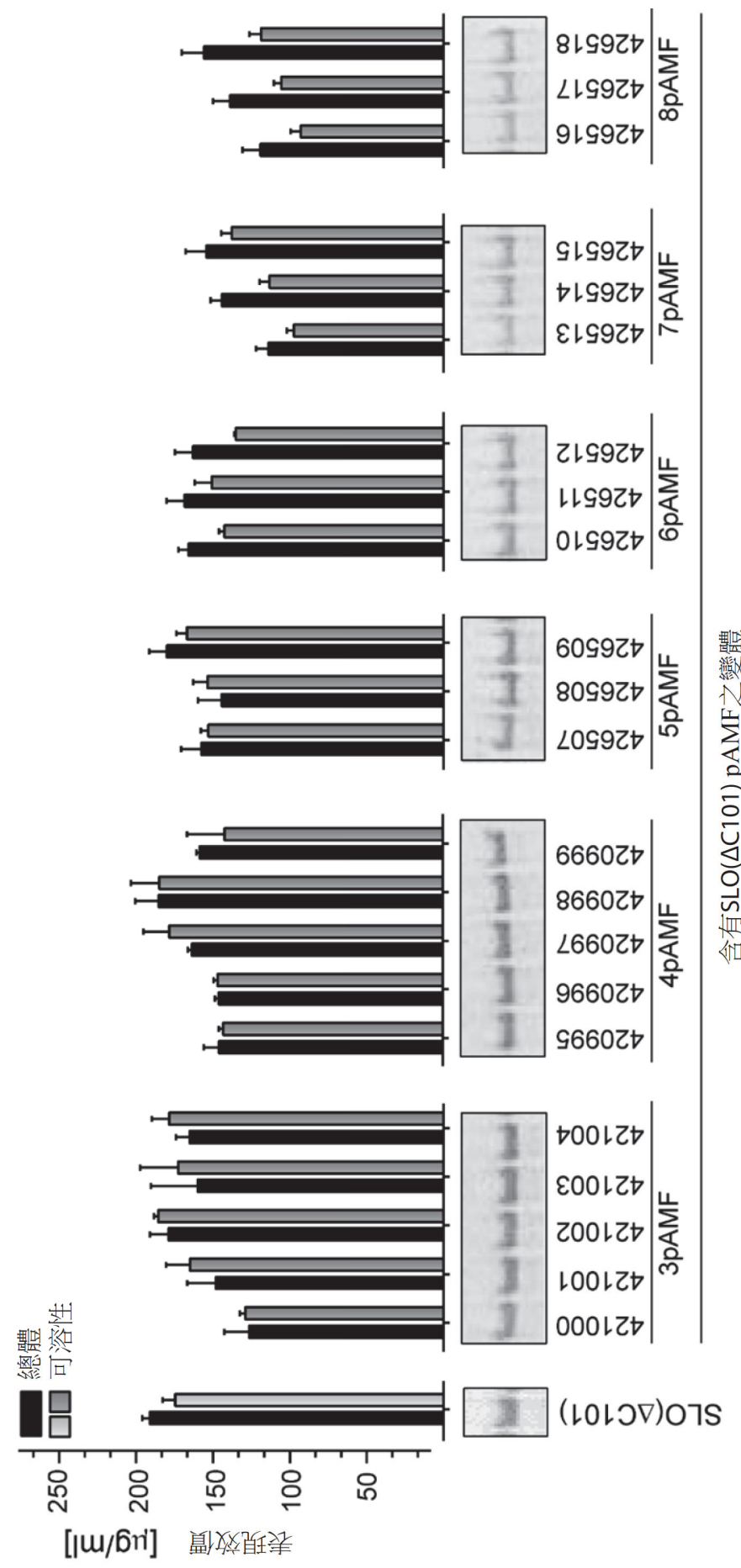
【圖31B】



【圖31C】

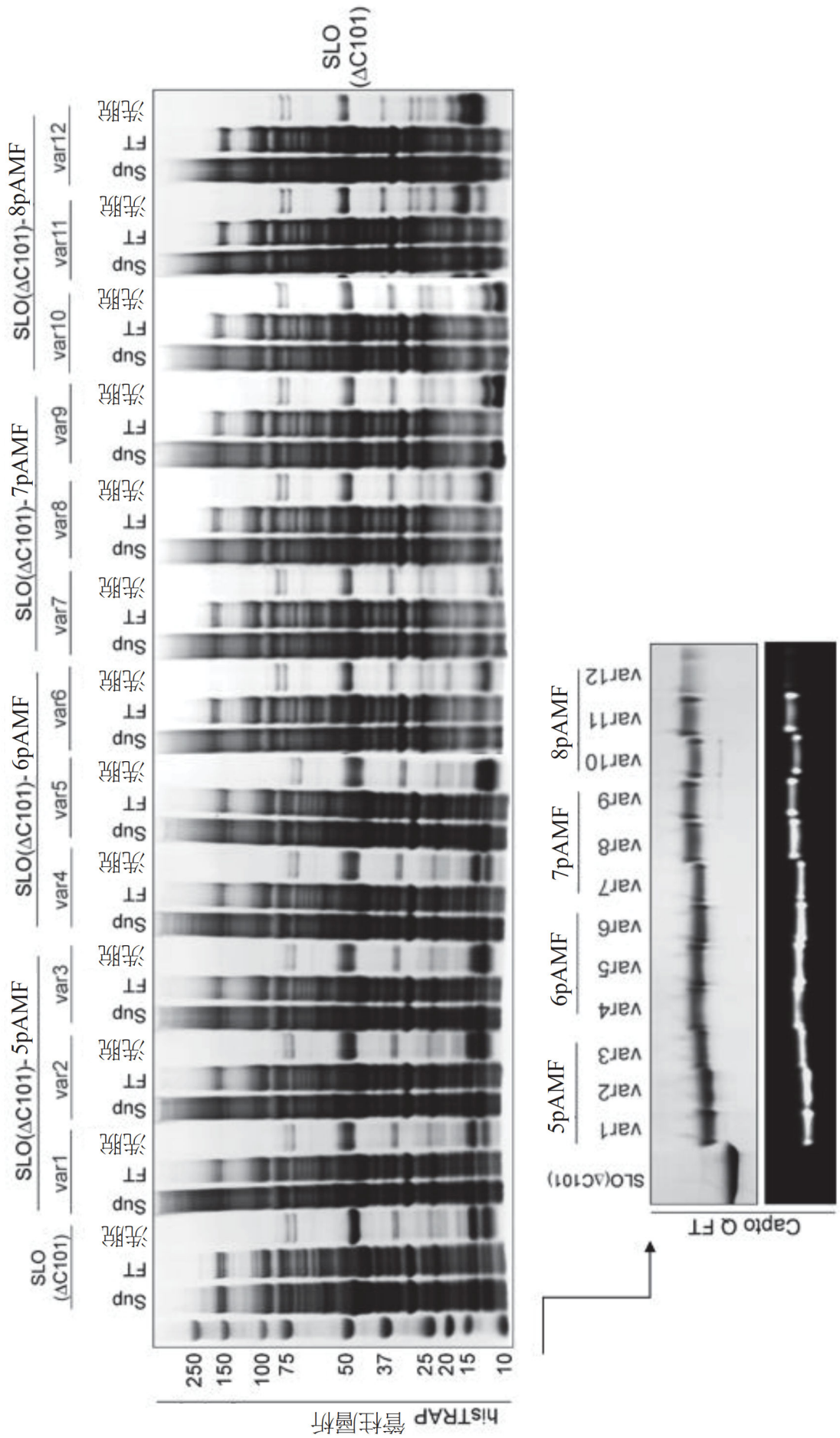


【圖32】

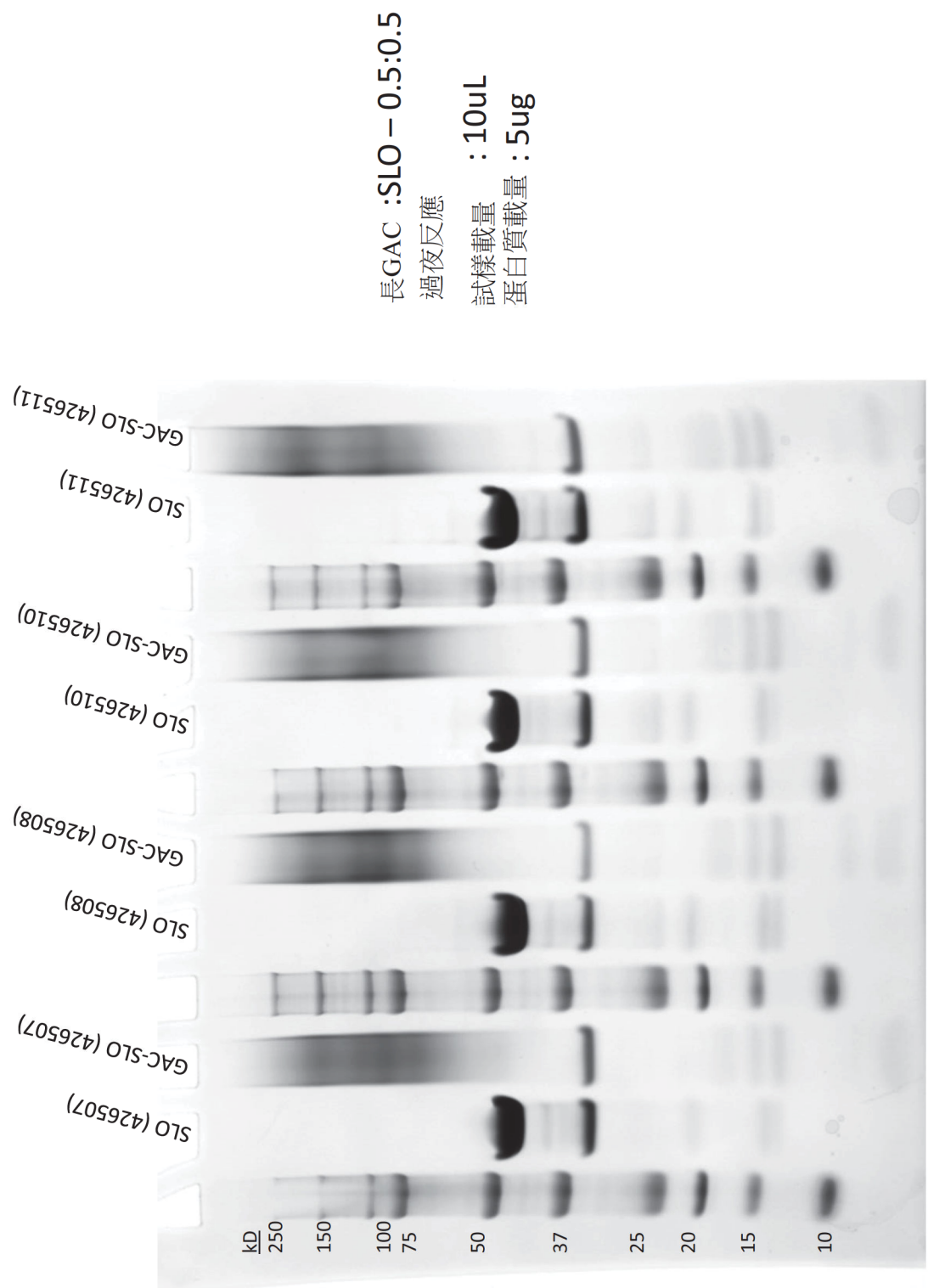


含有SLO(ΔC101) pAMF之變體

【圖33A】



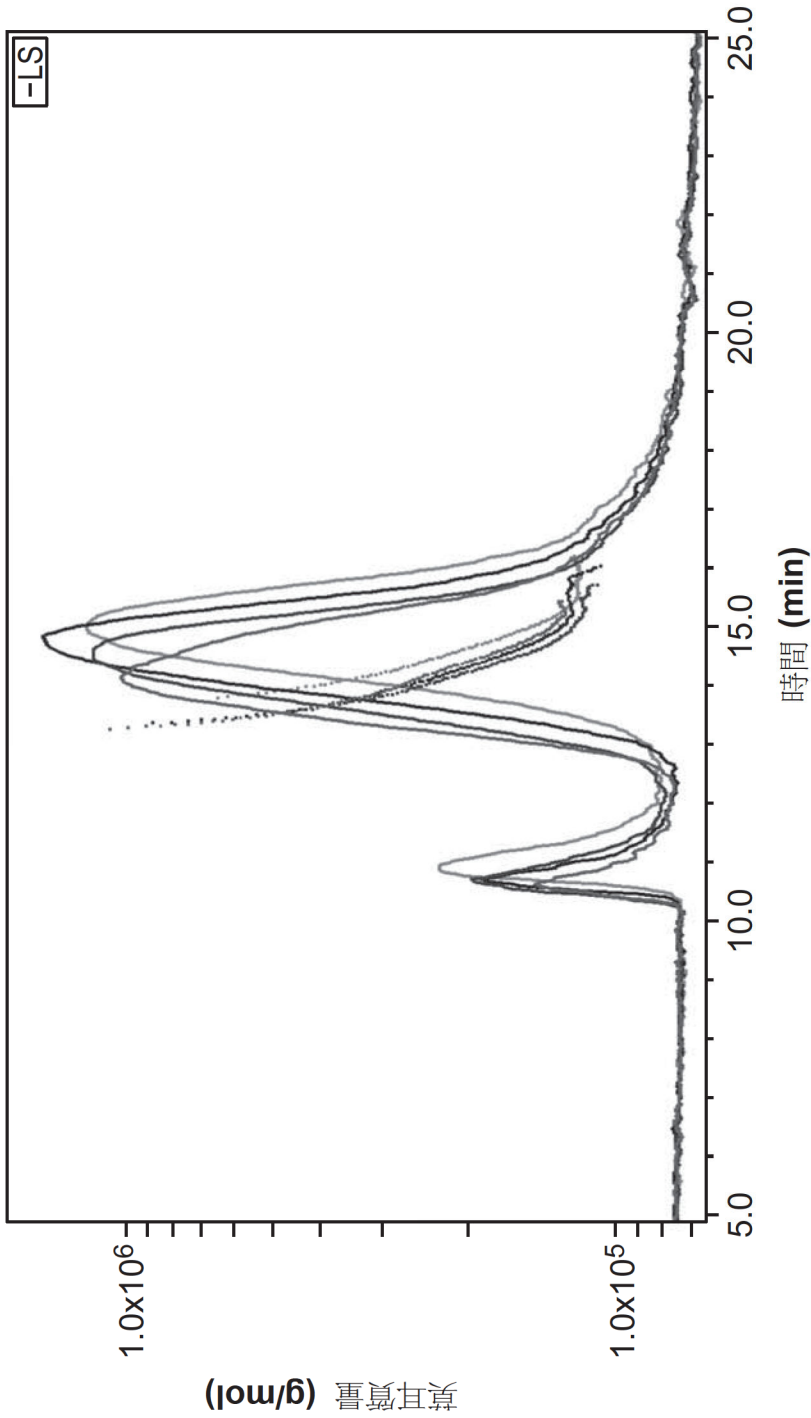
【圖33B】



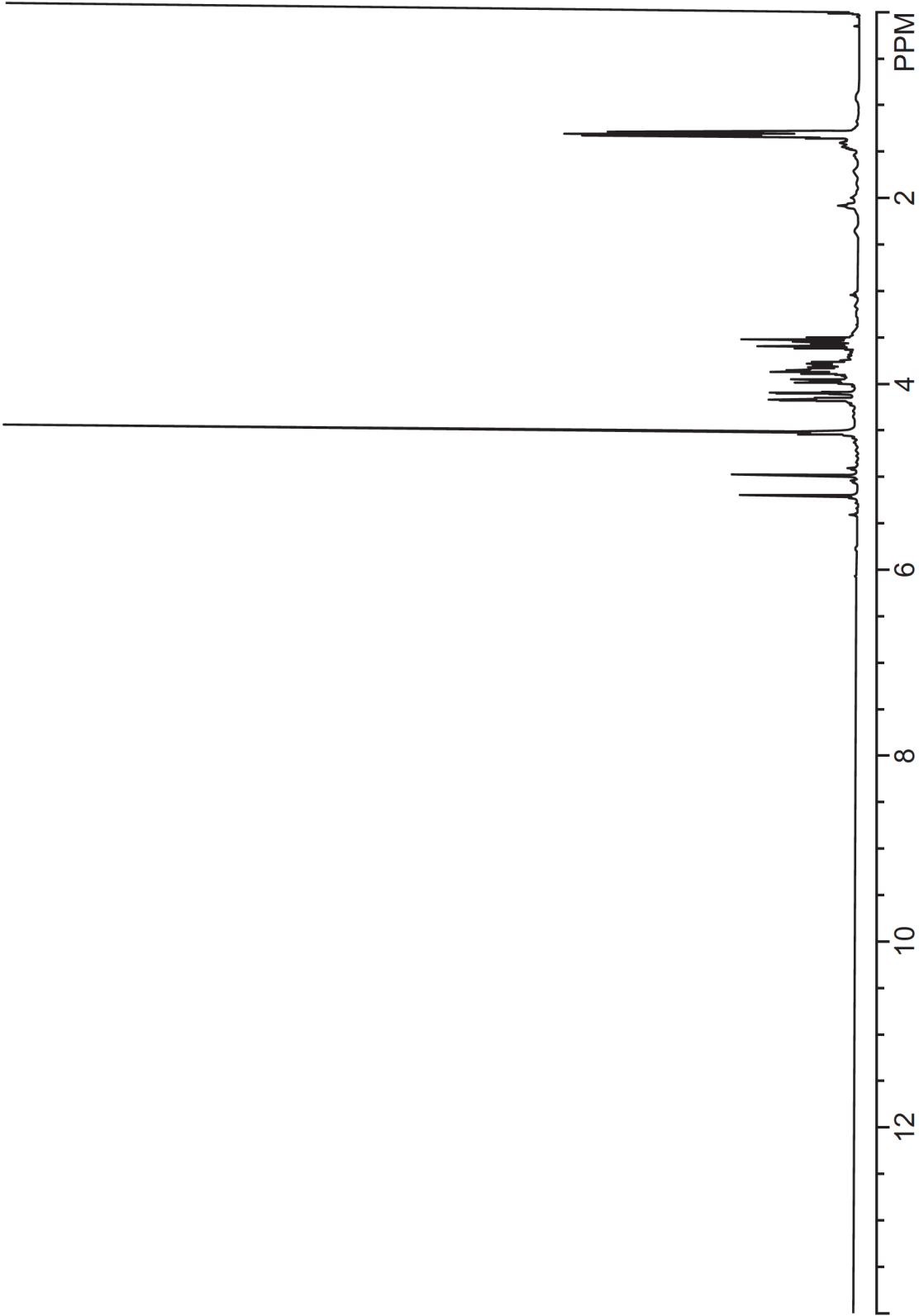
【圖34】

莫耳質量對時間

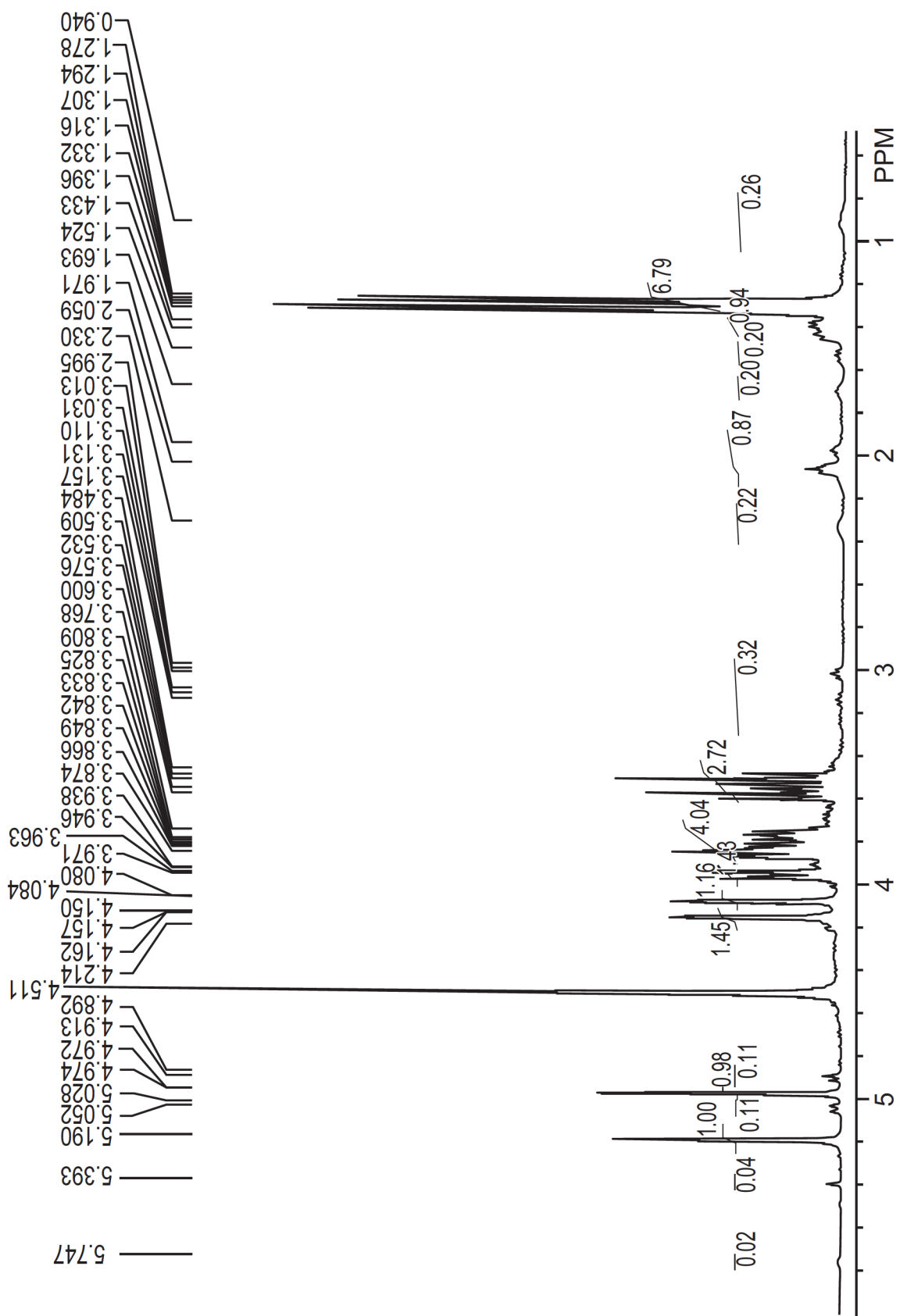
— 426507[2021JAN22 GAC-SPY CNJ] — 426508[2021JAN22 GAC-SLO CNJ] — 426510[2021JAN22 GAC-SLO CNJ]
— 426511[2021JAN22 GAC-SLO CNJ]



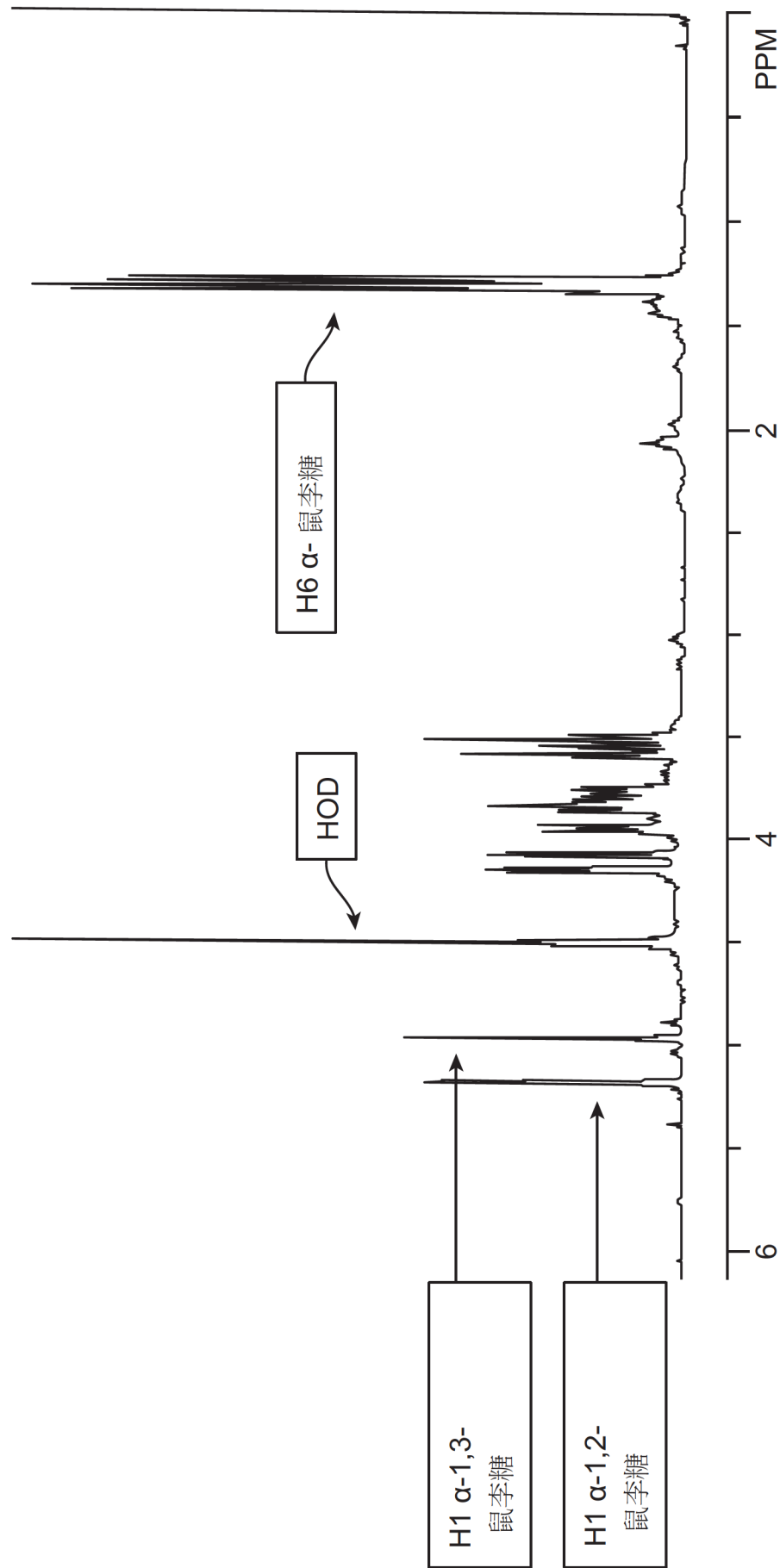
【圖35】



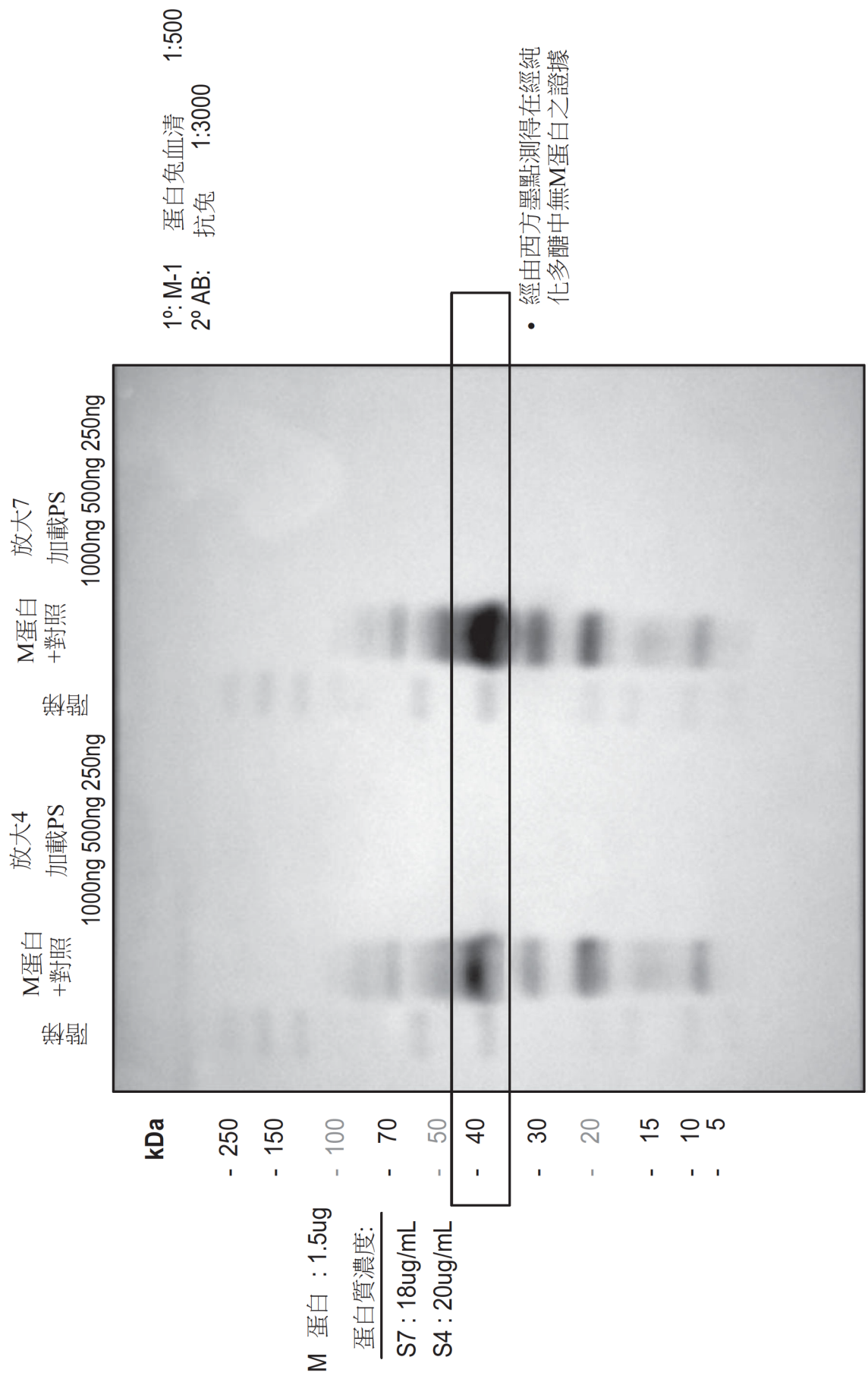
【圖36A】



【圖36B】



【圖36C】



【圖37】