

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>6</sup>

C07K 14/415

# [12] 发明专利申请公开说明书

C07K 7/08 A61K 38/02

A61K 39/36 G01N 33/53

[21] 申请号 97197087.4

[43]公开日 1999年9月1日

[11]公开号 CN 1227566A

[22]申请日 97.6.12 [21]申请号 97197087.4

[30]优先权

[32]96.6.14 [33]JP [31]153527/96

[86]国际申请 PCT/JP97/02031 97.6.12

[87]国际公布 WO97/47648 日 97.12.18

[85]进入国家阶段日期 99.2.5

[71]申请人 明治乳业株式会社

地址 日本东京都

[72]发明人 纪光助 大力一雄

[74]专利代理机构 柳沈知识产权律师事务所

代理人 张平元

权利要求书 2 页 说明书 44 页 附图页数 8 页

[54]发明名称 T 细胞表位肽

[57]摘要

用覆盖日本扁柏花粉过敏源一级结构的重叠肽对来自患日本扁柏(hinoki)花粉过敏源过敏的患者的T细胞系进行刺激从而鉴定了日本扁柏花粉过敏源的T细胞表位位点。该肽可用于春天的树木花粉病包括与日本扁柏花粉有交叉反应活性的日本扁柏花粉病的免疫治疗和诊断。

ISSN 1008-4274

# 权 利 要 求 书

1. 包含日本扁柏花粉过敏原 Cha o1 的至少一种 T 细胞表位肽并具有选自  
如图 4 所示的下列某一肽的氨基酸序列或所说氨基酸序列的一部分的  
5 肽,这些肽包括肽#1-2 (SEQ ID NO : 4), 肽#1-4 (SEQ ID NO : 6),  
肽#1-5 (SEQ ID NO : 7), 肽#1-6 (SEQ ID NO : 8), 肽#1-7 (SEQ  
ID NO : 9), 肽#1-8 (SEQ ID NO : 10), 肽#1-10 (SEQ ID NO :  
12), 肽#1-11 (SEQ ID NO : 13), 肽#1-12 (SEQ ID NO : 14), 肽  
#1-14 (SEQ ID NO : 16), 肽#1-15 (SEQ ID NO : 17), 肽#1-16 (SEQ  
10 ID NO : 18), 肽#1-19 (SEQ ID NO : 21), 肽#1-20 (SEQ ID NO :  
22), 肽#1-21 (SEQ ID NO : 23), 肽#1-22 (SEQ ID NO : 24), 肽  
#1-23 (SEQ ID NO : 25), 肽#1-24 (SEQ ID NO : 26), 肽#1-25 (SEQ  
ID NO : 27), 肽#1-26 (SEQ ID NO : 28), 肽#1-27 (SEQ ID NO :  
29), 肽#1-30 (SEQ ID NO : 32), 肽#1-31 (SEQ ID NO : 33), 肽  
15 #1-32 (SEQ ID NO : 34), 肽#1-33 (SEQ ID NO : 35), 以及肽# 1-34  
(SEQ ID NO : 36)。
2. 包含日本扁柏花粉过敏原 Cha o 2 的至少一种 T 细胞表位肽并具有选自  
如图 4 所示的下列某一肽的氨基酸序列或所说氨基酸序列的一部分的  
20 肽,这些肽包括#2-5 (SEQ ID NO : 42), 肽#2-7 (SEQ ID NO : 44),  
肽#2-8 (SEQ ID NO : 45), 肽#2-9 (SEQ ID NO : 46), 肽#2-10 (SEQ  
ID NO : 47), 肽#2-11 (SEQ ID NO : 48), 肽#2-12 (SEQ ID NO :  
49), 肽#2-13 (SEQ ID NO : 50), 肽#2-14 (SEQ ID NO : 51), 肽  
#2-15 (SEQ ID NO : 52), 肽#2-16 (SEQ ID NO : 53), 肽#2-17 (SEQ  
25 ID NO : 54), 肽#2-18 (SEQ ID NO : 55), 肽#2-19 (SEQ ID NO :  
56), 肽#2-20 (SEQ ID NO : 57), 肽#2-21 (SEQ ID NO : 58), 肽  
#2-22 (SEQ ID NO : 59), 肽#2-23 (SEQ ID NO : 60), 肽#2-24 (SEQ  
ID NO : 61), 肽#2-25 (SEQ ID NO : 62), 肽#2-26 (SEQ ID NO :  
63), 肽#2-27 (SEQ ID NO : 64), 肽#1-2 (SEQ ID NO : 65), 肽  
30 #2-30 (SEQ ID NO : 67), 肽#2-31 (SEQ ID NO : 68), 肽#2-32 (SEQ  
ID NO : 69), 肽#2-33 (SEQ ID NO : 70), 肽#2-34 (SEQ ID NO :

71), 肽#2-35 (SEQ ID NO: 72), 肽#2-36 (SEQ ID NO: 73), 肽#2-37 (SEQ ID NO: 74), 肽#2-38 (SEQ ID NO: 75), 肽#2-40 (SEQ ID NO: 77), 肽#2-41 (SEQ ID NO: 78), 肽#2-42 (SEQ ID NO: 79), 和肽#2-43 (SEQ ID NO: 80)。

5

3. 权利要求 1 或 2 中所说的肽, 其中所说的肽包含至少两个 T 细胞表位。

4. 对春天由树木花粉引起的花粉病患者的 T 细胞具有刺激和/或抑制效应并具有经取代、缺失或插入修饰的权利要求 1 或 2 中所述的氨基酸序列的肽。

10

5. 用于由春天因树木花粉引起的花粉病的基于肽的免疫治疗的组合物, 包括作为有效成分的权利要求 1 到 4 中的任一项的肽。

15 6. 将权利要求 1 到 4 中任一项的肽用于制备春天由树木花粉引起的花粉病的基于肽的免疫治疗组合物的用途。

7. 用于治疗和预防春天由树木花粉引起的花粉病的方法, 包括用权利要求 1 到 4 中任一项的肽进行给药。

20

8. 用于诊断春天由树木花粉引起的花粉病的试剂, 包括作为有效成分的权利要求 1 到 4 中的任一项的肽。

25 9. 将权利要求 1 到 4 中任一项的肽用于制备诊断春天由树木花粉引起的花粉病的试剂的用途。

10. 用于诊断春天由树木花粉引起的花粉病的方法, 包括用权利要求 1 到 4 中任一项的肽进行给药。

# 说明书

## T 细胞表位肽

### 技术领域

- 5 本发明涉及花粉过敏原的 T 细胞表位肽及以该肽为有效成分的基于肽的免疫治疗方法中的组合物。该组合物用于治疗 and/或预防春天的花粉病。

### 背景技术

日本人口中大约 10% 患有发生于春天的花粉病，例如雪松花粉病。这种情形正在增加并引起了大家的注意。

- 10 花粉病发生的时期一般相应于花粉散发的时期。在许多情况下，在雪松花粉散发的季节过后花粉病的症状仍会保持，这是由于大部分雪松花粉病患者同时也对日本扁柏花粉(Hiroki cypress pollens) 过敏，其花粉在雪松花粉散发期后即开始。因此，同时对日本扁柏花粉敏感的患者在一年的一长段时间中都患有花粉病的症状。

- 15 雪松花粉和日本扁柏花粉具有同样的抗原性(Takeshi Ide 等, Allergy Clinic 11, 174-178, 1991)。已经确定了雪松花粉和日本扁柏花粉之间 IgE 抗体的交叉反应性(Taniai M. 等, Mol. Immunol.30, 183-189, 1993)。患春天花粉病的患者其过敏原特异性 Ig E 抗体的阳性指数对雪松花粉而言是 83.5%，对日本扁柏花粉是 80.0%，二者同时则是 76.4%(Mitsuhiro Okano  
20 等, Allergy 43, 1179-1184, 1994)。此外，60% 患雪松花粉病的患者具有日本扁柏花粉特异性的 IgE 抗体(Yozo Saito, Chiryō(Therapy) 78, 1571-1576, 1996)。根据这些报道，一般认为患雪松花粉病的患者会患上日本扁柏花粉的花粉病，反之亦然。

- 25 花粉病是一种典型的由花粉过敏原(它是引起过敏的抗原因此基本上就是抗原)和特异于该过敏原的 IgE 抗体之间的抗原-抗体反应诱导的 I 型立即过敏。因此，目前所用的花粉病的预防和治疗方法其理论根据是 I 型过敏的形成机制。下面将简要描述该机制。

- 30 被机体排斥的抗原由抗原呈递细胞呈递给辅助 T 细胞。结果，B 细胞在抗体产生细胞中成熟。抗体产生细胞产生抗原特异性的 Ig E 抗体，该抗体结合到肥大细胞表面。随后被排斥的抗原结合到肥大细胞表面的 Ig E 抗体上。这种刺激使肥大细胞释放化学介质例如组胺，于是引起过敏症状。

根据上述机制，下面是三种用于预防和治疗过敏的主要方法：1) 排斥引起过敏的抗原，2) 典型地使用抗组胺剂的化学治疗，以及3)使用过敏原的脱敏作用。但是，方法1)在实践中难于操作，而且方法2)仅仅是一种症状性的治疗。方法3)看起来是解决根本问题的唯一途径，但它并非总是有效而且可能会引起严重的副作用例如过敏性休克。

由于这些原因，最近已尝试将使用过敏原的T细胞表位肽的基于肽的免疫治疗来预防和治疗过敏。T细胞表位参加引起过敏的临床症状的蛋白质过敏原的免疫反应的起始和保持。这些T细胞表位结合到抗原呈递细胞表面的II类HLA分子上刺激相关的T细胞亚群。据信这种刺激能引发辅助T细胞水平的起始反应。这种起始反应能引起T细胞的增殖，淋巴因子的分泌，局部发炎反应，增殖的免疫反应细胞向发炎部位的迁移，以及在抗体产生前B细胞级联的活化。作为这些抗体的同型的IgE抗体对过敏的发展和保持是至关重要的。另外，其产生会受到上述级联开始时辅助T细胞分泌的淋巴因子的性质影响。T细胞表位是被T细胞受体识别的基本元素和最小单位。过敏发炎可通过控制辅助T细胞的反应来治疗，使用T细胞表位肽构成了免疫抑制的重要部分。

已知对过敏的使用T细胞表位的治疗剂包括由猫源过敏原组成的治疗组合物（日本（JP-WA）No. Hei 7-505365公开的PCT申请），由雪松花粉T细胞表位肽Cryj1组成的治疗组合物（JP-WA-Hei 8-502163），将雪松花粉T细胞表位肽Cryj1和Cryj2结合而成的多表位肽（日本专利申请号 Hei 8-80702）。据报道日本扁柏花粉主过敏原Chao1分子量为45KD或50KD。每个分子其等电点都为6.8并且由含有5%糖类的蛋白质组成（Takeshi Ide等，Nippon Kafun Gakkaishi (Journal of the Japanese Pollen Association) 34, 39, 1988）。但并不知道其基本结构从而在过敏原分子表面上还未识别T细胞表位位点。最近，本发明人成功地克隆了日本扁柏过敏原基因，并表明了Chao1之外还存在另一类型的过敏原，即Chao2。而且还确定了Chao1和Chao2的基本结构（日本专利申请号 Hei 6-335089）。

#### 本发明的公开

雪松花粉散发期与日本扁柏花粉散发期重叠是指花粉散发期的交叉。这两种花粉具有一个相同的抗原性，这使得难以把由雪松花粉引起的症状与由日本扁柏引起的症状区分开来。甚至在雪松花粉散发期过后该症状还

会继续并发展。由于该时期空气中的花粉绝大部分是日本扁柏花粉，这些症状看起来似乎是由日本扁柏花粉引起的。由于所种植的日本扁柏要多于雪松，因此雪松花粉的散发量逐年增加并且将来不久将会超过雪松花粉的散发量。因此建立一种方法用于预防和治疗对春天由树木花粉引起的基本的

5 (root) 一系列 (overall) 花粉病的过敏病是有用的，花粉病包括日本扁柏花粉病和雪松花粉病。有希望将使用 T 细胞表位肽的基于肽的免疫治疗能产生对基本的花粉病的过敏治疗。如上所述，对雪松花粉病而言已有几种这类免疫治疗的方法。然而，对日本扁柏花粉病或由春天树木的花粉，包括雪松和日本扁柏花粉引起的花粉病还没有任何报道。

10 本发明的一个目的是提供用于日本扁柏花粉病的基于肽的免疫治疗的 T 细胞表位肽。本发明的另外一个目的是提供 T 细胞表位肽用于治疗春天由树木花粉引起花粉病的患者包括与日本扁柏花粉具交叉反应性的雪松花粉病患者的基于肽的免疫治疗。

本发明人通过以覆盖了日本扁柏花粉过敏原全部一级结构的人工重叠

15 肽刺激由日本扁柏花粉病患者建立的 T 细胞系鉴定了日本扁柏花粉过敏原分子上的 T 细胞表位位点，从而解决了上述问题。

本发明由每一个权利要求中描述的发明组成，并且将在下面进行详细描述。

本发明人确定了以 SEQ ID NO: 1 表示的日本扁柏花粉过敏原主要抗原 Cha o 1 (成熟蛋白质) 的氨基酸序列 (在日本专利申请 No. Hei 6-335089 中有描述) 以及以 SEQ ID NO: 2 表示的 Cha o 2 的氨基酸序列。Cha o 1 的氨基酸序列与雪松花粉过敏原 Cry j 1 的氨基酸序列具有 80 % 的同源性，Cha o 2 的氨基酸序列与雪松花粉过敏原 Cry j 2 的氨基酸序列具有 75 % 的同源性。

25 在来自于花粉、螨类和蜂毒的过敏原中有一些氨基酸取代。将这些种类的过敏原称之为同系过敏原。例如从桦树花粉 Bet v I 中分离到了 11 个同系过敏原，并且其氨基酸序列之间的差异在 2 % 到 15 % 的范围内 (Swoboda, I. 等, J. Biol. Chem. 270: 2607-2613, 1995)。目前在 Cry j 2 中发现了其成熟蛋白质中有六个氨基酸残基取代的两个同系过敏原 (未审公开日本专利申请

30 (JP-A) No. Hei8 - 47392 及 No. 7 - 170986)。本领域的技术人员可以合乎情理地认为 Cha o 1 和 Cha o 2 中也存在着同系过敏原。本发明中这类同系

过敏原也包括 Cha o 1 和 Cha o 2 。

将雪松树这一科分成 9 个属，日本扁柏科分成七个属。据报道来自于属于雪松（杉科）科的日本柳杉、北美红杉以及水杉、曾被认为属于一个独立的科、雪松科或松科的金松（或意大利伞松， Umbrella Pine）的过敏原与来自于柏科的日本扁柏、日本花柏、侧柏、杜松及圆柏的过敏原有交叉反应性（ Takeshi Ide 等, Allergy Clinic, 11, 174-178, 1991）。从该报道看来，雪松过敏原与日本扁柏有相当广泛的交叉反应。因此，本发明的肽对日本扁柏花粉病与雪松花粉病都是普遍有效的。

为了得到本发明的 T 细胞表位肽合成了覆盖 Cha o 1 和 Cha o 2 整个一级结构的重叠肽；每一个肽含有足够数量的氨基酸残基（ 12 到 20 个残基）。本发明的肽刺激和/或抑制来源于患由春天时树木花粉引起的花粉病的患者的 T 细胞活性。也就是说，本发明的肽可以引起 T 细胞的增值或 T 细胞的反应，例如淋巴因子分泌和/或可诱导 T 细胞的无反应性（无反应）。用与 JP-A-Hei 8-47392 的描述相同的方法以 T 细胞生长作指数可以鉴定过敏原分子上的 T 细胞表位位点。尤其是从日本扁柏花粉患者的外周淋巴细胞对每个患者建立了与 Cha o 1 和 Cha o 2 产生特异反应的 T 细胞系或 T 细胞克隆。在重叠肽的每一种肽都存在的条件下培养 T 细胞系或 T 细胞克隆。在肽存在的条件下通过测定 T 细胞的增殖来识别表位位点（例如，细胞对<sup>3</sup>H]胸腺嘧啶的吸收）并计算其刺激指数。此处所用的刺激指数（ SI ）是指在用没有肽时细胞对<sup>3</sup>H] 胸腺嘧啶的放射性（ cpm ）吸收水平（对照）的值去除在有肽存在条件下细胞对<sup>3</sup>H]胸腺嘧啶放射性（ cpm ）吸收水平的值而得到的。根据所得的数据，对每个患者组都计算了每种肽的平均刺激指数。将引起 T 细胞反应和/或 T 细胞无反应的肽定义为 T 细胞刺激活性。本发明优选的 T 细胞表位肽具有 T 细胞刺激活性因此含有至少一个 T 细胞表位。 Cha o 1 的 T 细胞表位肽的实例见图 1（具体见图 2、图 3 以及 SEQ ID NO： 3 到 SEQ ID NO： 37），包括肽#1-2（ SEQ ID NO： 4），肽#1-4（ SEQ ID NO： 6），肽#1-5（ SEQ ID NO： 7），肽#1-6（ SEQ ID NO： 8），肽#1-7（ SEQ ID NO： 9），肽#1-8（ SEQ ID NO： 10），肽#1-10（ SEQ ID NO： 12），肽#1-11（ SEQ ID NO： 13），肽#1-12（ SEQ ID NO： 14），肽#1-14（ SEQ ID NO： 16），肽#1-15（ SEQ ID NO： 17），肽#1-16（ SEQ ID NO： 18），肽#1-19（ SEQ ID NO： 21），肽#1-20（ SEQ ID NO： 22），肽#1-21（ SEQ

ID NO : 23), 肽#1-22 ( SEQ ID NO : 24 ), 肽#1-23 ( SEQ ID NO : 25 ), 肽#1-24 ( SEQ ID NO : 26 ), 肽#1-25 ( SEQ ID NO : 27 ), 肽#1-26 ( SEQ ID NO : 28 ), 肽#1-27 ( SEQ ID NO : 29 ), 肽#1-30 ( SEQ ID NO : 32 ), 肽#1-31 ( SEQ ID NO : 33 ), 肽#1-32 ( SEQ ID NO : 34 ), 肽#1-33 ( SEQ ID NO : 35 ), 以及肽#1-34 ( SEQ ID NO : 36 ) (图 4)。Chao 2 的 T 细胞表位肽的实例见图 5 (具体见图 6、图 7 以及 SEQ ID NO : 38 到 SEQ ID NO : 88), 包括肽#2-5 ( SEQ ID NO : 42 ), 肽#2-7 ( SEQ ID NO : 44 ), 肽#2-8 ( SEQ ID NO : 45 ), 肽#2-9 ( SEQ ID NO : 46 ), 肽#2-10 ( SEQ ID NO : 47 ), 肽#2-11 ( SEQ ID NO : 48 ), 肽#2-12 ( SEQ ID NO : 49 ), 肽#2-13 ( SEQ ID NO : 50 ), 肽#2-14 ( SEQ ID NO : 51 ), 肽#2-15 ( SEQ ID NO : 52 ), 肽#2-16 ( SEQ ID NO : 53 ), 肽#2-17 ( SEQ ID NO : 54 ), 肽#2-18 ( SEQ ID NO : 55 ), 肽#2-19 ( SEQ ID NO : 56 ), 肽#2-20 ( SEQ ID NO : 57 ), 肽#2-21 ( SEQ ID NO : 58 ), 肽#2-22 ( SEQ ID NO : 59 ), 肽#2-23 ( SEQ ID NO : 60 ), 肽#2-24 ( SEQ ID NO : 61 ), 肽#2-25 ( SEQ ID NO : 62 ), 肽#2-26 ( SEQ ID NO : 63 ), 肽#2-27 ( SEQ ID NO : 64 ), 肽#1-2 ( SEQ ID NO : 65 ), 肽#2-30 ( SEQ ID NO : 67 ), 肽#2-31 ( SEQ ID NO : 68 ), 肽#2-32 ( SEQ ID NO : 69 ), 肽#2-33 ( SEQ ID NO : 70 ), 肽#2-34 ( SEQ ID NO : 71 ), 肽#2-35 ( SEQ ID NO : 72 ), 肽#2-36 ( SEQ ID NO : 73 ), 肽#2-37 ( SEQ ID NO : 74 ), 肽#2-38 ( SEQ ID NO : 75 ), 肽#2-40 ( SEQ ID NO : 77 ), 肽#2-41 ( SEQ ID NO : 78 ), 肽#2-42 ( SEQ ID NO : 79 ), 和肽#2-43 ( SEQ ID NO : 80 ) (图 8)。更优选地, 该 T 细胞表位的平均刺激指数为 2.0 或更多。实例包括肽#1-2 ( SEQ ID NO : 4 ), 肽#1-7 ( SEQ ID NO : 9 ), 肽#1-8 ( SEQ ID NO : 10 ), 肽#1-20 ( SEQ ID NO : 22 ), 肽#1-22 ( SEQ ID NO : 24 ), 肽#1-24 ( SEQ ID NO : 26 ), 肽#1-26 ( SEQ ID NO : 28 ), 肽#1-32 ( SEQ ID NO : 34 ), 肽#1-33 ( SEQ ID NO : 35 ), 以及肽#1-34 ( SEQ ID NO : 36 ), 如图 1 所示。以及肽#2-10 ( SEQ ID NO : 47 ), 肽#2-20 ( SEQ ID NO : 57 ), 肽#2-21 ( SEQ ID NO : 58 ), 肽#2-40 ( SEQ ID NO : 77 ), 肽#2-41 ( SEQ ID NO : 78 ), 肽#2-42 ( SEQ ID NO : 79 ), 和肽#2-43 ( SEQ ID NO : 80 ), 如图 5 所示。最优选地, 该 T 细胞表位肽的最小阳性指数为 100。其实例包括肽#1-7 ( SEQ ID NO : 9 ), 肽#1-22 ( SEQ ID NO : 24 ), 肽#1-32



(SEQ ID NO : 34), 肽#1-33 (SEQ ID NO : 35), 如图 1 所示。以及肽 #2-20 (SEQ ID NO : 57), 肽#2-40 (SEQ ID NO : 77), 肽#2-41 (SEQ ID NO : 78), 肽#2-42 (SEQ ID NO : 79), 和肽#2-43 (SEQ ID NO : 80), 如图 5 所示。此处所用的“阳性指数”是通过将某肽的平均刺激指数乘以对该肽具有 T 细胞反应的患者的出现频率 (%) 而得到的。

为了精确地识别该表位, 具有 T 细胞刺激活性因而含有至少一个 T 细胞表位的肽可通过在该肽的氨基端或羧基端缺失任何氨基酸残基来进行修饰。当两个或多个具重叠区域的肽产生 T 细胞刺激活性时, 可以制备一个含重叠肽的全部或部分的新的 T 细胞表位肽, 并以相同方法测定其 T 细胞刺激活性。

本发明的 T 细胞表位肽有可能与 T 细胞交叉反应中的 Cry j 1 或 Cry j 2 是免疫相关的。尤其是, 1) Cha o 1 的氨基酸序列与 Cry j 1 的氨基酸序列有 80 % 的同源性, Cha o 2 的氨基酸序列与 Cry j 2 的氨基酸序列有 75 % 的同源性; 2) 除两个氨基酸外 (Cha o 1 第 12 位上的丙氨酸相当于 CJI-1 上的丝氨酸, Cha o 1 第 15 位上的天冬氨酸相当于 CJI-1 上的丙氨酸), 本发明实施例 5 中 Cha o 1 的 T 细胞表位肽#1-2 的氨基酸序列 (相当于成熟型 Cha o 1 的 SEQ ID NOS:11-30 的氨基酸序列) 与 Cry j 1 的 T 细胞表位肽的 CJI-1 氨基酸序列 (相当于成熟型 Cry j 1 的 SEQ ID NOS : 11-30 的氨基酸序列) 是相同的; 以及 3) 雪松花粉与日本扁柏花粉具有相同的抗原性。由于这些原因, 本发明 T 细胞表位肽的来源不限于日本扁柏。本发明的 T 细胞表位肽不仅对日本扁柏花粉病有效, 而且对雪松花粉病也有效。在本发明的 T 细胞表位肽中, 参与识别 T 细胞受体的氨基酸残基可用已知方法确定 (例如测定因氨基酸残基取代而引起的可能的 T 细胞刺激活性的变化)。用抗原特异性地控制 T 细胞刺激活性的其它氨基酸残基来取代在与 T 细胞受体互作中具有重要作用的氨基酸残基, 这样就可以抑制过敏性发炎 (增加 T 细胞反应性, 改变淋巴因子产生形式, 无反应性等)。据报道在人过敏模型中, 当雪松花粉 Cry j 1 上 T 细胞表位肽的 T 细胞识别位点的一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代 (第 339 位的苏氨酸被取代为缬氨酸) 时, 所得类似肽与野生型肽在 T 细胞生长及 IL - 4 的产生方面是基本相同但却提高了抑制 IgE 抗体产生的 IFN- $\gamma$  的产生 (Ikagawa, S.等, J. Aller. Clin. Immunol. 97, 54-64, 1996)。还进一步表明, HLA 第二类分子的结合基元包含了 3 至 5 个由通过 1 至 2 个中间氨基

酸残基安排的氨基酸残基，当这些残基含有几种特定的氨基酸残时，该肽会结合到 HLA 第二类分子上（Matushita, S.等 J. Exp. Med. 180: 877-883, 1994）。因此，用已知的方法通过确定对与 HLA 第 II 类分子反应中有重要作用的本发明的 T 细胞表位肽的氨基酸残基，然后用其它氨基酸残基来取代所确定的氨基酸残基就可以防止过敏性发炎。而且，为增加其可溶性可以对本发明的 T 细胞表位肽进行修饰，于是也就增加了其治疗或预防效应或稳定性。这类修饰包括氨基酸残基的取代、缺失和增加。

本发明中，T 细胞表位肽优选不与 IgE 抗体结合。即使与 IgE 抗体结合，其结合程度也明显低于与天然日本扁柏花粉过敏原与该抗体的结合，所说的肽由该日本扁柏花粉诱导产生。

本发明的 T 细胞表位肽优选含有至少 7 个氨基酸残基。这些区域可通过对酶例如组织蛋白酶或胰蛋白酶的切割敏感的接头例如精氨酸-精氨酸或赖氨酸-赖氨酸连接以增加对抗原呈递细胞的加工的敏感性。由此可得到含有一个或多个 T 细胞表位的肽区域。本发明的 T 细胞表位肽可以与其它肽例如 Cry j 1 的 T 细胞表位肽（JP-A-Hei 8-502163）和/或 Cry j 2 的 T 细胞表位肽（JP - WA - Hei 8 - 47392）结合使用。

当将含有至少一个本发明的 T 细胞表位肽的肽向对日本扁柏花粉和/或对日本扁柏及雪松花粉过敏的个体给药时，该肽可控制该个体对过敏原的过敏反应。因此该肽对基于肽的免疫治疗是有效的。尤其是，本发明的 T 细胞表位肽的与雪松花粉的 T 细胞表位肽的结合可更加有效地用于由春天以雪松和日本扁柏花粉为代表的树木花粉引起花粉病的患者的基于肽的免疫治疗。

本发明的 T 细胞表位肽可用作由日本扁柏花粉过敏原或其它与日本扁柏花粉过敏原有免疫交叉反应性的树木花粉引起的花粉病的诊断工具。在这种应用上，将本发明的 T 细胞表位肽加入到收集自患者的外周淋巴细胞中，其加入量约为 0.1 微克/毫升到约 1 毫克/毫升优选约 1 到 300 微克/毫升。将混合物温育一周后，测定淋巴细胞中<sup>[3H]</sup>胸腺嘧啶的吸收并评价其在花粉病诊断中的应用。本发明的 T 细胞表位肽也可用于 T 细胞功能或 T 细胞增殖或二者的评价。当用重组 DNA 技术合成本发明的 T 细胞表位肽时，在适于宿主细胞生长的培养基上培养用含有编码该肽的序列的核酸转化的宿主细胞。该肽可用已知技术从培养上清或宿主细胞中收获。大肠杆菌、酵母或哺

乳动物细胞都可以用作这类宿主细胞。

当将本发明的 T 细胞表位肽用于花粉病患者的基于肽的免疫治疗时，该肽可与可药用的稀释物或载体一同给药。此处所指的“花粉病患者”包括与日本扁柏花粉过敏原有免疫交叉反应性的雪松花粉病患者。本发明的 T 细胞表位肽可用简单方法，例如通过注射（皮下或静脉内）、滴注、鼻内注射、口服给药、吸入或经皮给药。在注射时，单剂量的肽优选从 1 微克到约 30 毫克，更优选从约 20 微克到 10 毫克。

#### 附图简要说明

图 1 说明了日本扁柏花粉过敏原 Cha o 1 及每一肽的阳性指数。

10 图 2 说明了 Cha o 1 的重叠肽（#1-1 到 #1-28）。

图 3 说明了 Cha o 1 的重叠肽（#1-29 到 #1-35）。

图 4 说明了含 Cha o 1 的 T 细胞表位的肽。

图 5 说明了日本扁柏花粉过敏原 Cha o 2 的 T 细胞表位肽及每一肽的阳性指数。

15 图 6 说明了 Cha o 2 的重叠肽（#2-1 到 #2-27）。

图 7 说明了 Cha o 2 的重叠肽（#2-28 #2-51）。

图 8 说明了含 Cha o 2 的 T 细胞表位的肽。

#### 本发明的最佳实施方式

20 下面将对本发明的实施例进行描述，但不应将其理解为是对本发明范围的限制。

#### 实施例 1

#### 重叠肽的合成

根据日本扁柏花粉过敏原 Cha o 1（SEQ ID NO：1）及 Cha o 2（SEQ ID NO：2）的氨基酸序列。用肽合成仪（PSSM-8，Shimadzu Saisakusho Ltd.）通过 Fmoc 方法合成了含 20 个氨基酸残基（在肽 #1-35（SEQ ID NO：37）中的 14 个残基及肽 #2 - 51（SEQ ID NO：88），每个含有 10 个重叠残基）的重叠肽。对 Cha o 1 制备了 35 种重叠肽（图 1，SEQ ID NO：37），对 Cha o 2 制备了 51 种（图 5，SEQ ID NO：38 到 SEQ ID NO：88）。如此所得的肽用 ODS 柱高压液相色谱（HPLC）纯化。在上述肽中，其纯度为 90% 或更高。用 LASERMAT 2000（Finnigan MAT Ltd.）鉴定纯化肽的分子量。

## 实施例 2

### 大肠杆菌中重组蛋白质的表达

用 PCR 技术从质粒 DNA 中扩增了 cDNA，该质粒中已克隆了编码日本扁柏花粉过敏原的 Cha o 1 或 Cha o 2 cDNA（日本专利申请号 Hei 6-335089）。将一个限制酶识别位点附到了每个 cDNA 的末端。将该 DNA 片段插入到组氨酸标记的蛋白质表达载体 pQE9 中，并将所得的载体用于转化大肠杆菌 M15（pREP4）。用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳确证了氨苄西林抗性克隆的转化基因的表达。用 Ni-NTA 琼脂糖亲和柱纯化表达蛋白质。

## 10 实施例 3

如下建立 Cha o 1 的 T 细胞系。用 Ficoll-Paque 通过比重离心分离了用丙氨酸 STAT（Nippon DPC 公司）或 CAP - RAST（Pharmacia）患者收集到的外周淋巴细胞。在补充以 2 毫升来自于同一患者的血浆（10%）或人 AB 型血清（20%，Banpoh Tsusho Co., Ltd.）的 RPMI 1640 培养基（GIBCO, Inc.）中悬浮液淋巴细胞（ $2 \times 10^6$  个细胞）。将该悬浮液与实施例 2 中所得的 10 到 30 微克/毫升的重组 Cha o 1 或与实施例 1 中所得的重叠肽（0.01 到 1 微摩尔/升）一起在 24 孔板上温育 3 到 10 天（37 °C，CO<sub>2</sub> 恒温箱，TABAI, Inc.）。当用显微镜确证 Cha o 1 刺激所活化的 T 细胞时，将 5 单位/毫升的 IL-2（Boehringer Mannheim）加到系统中，随后温育过夜。第二天，用补充以 20 单位/毫升 IL-2，10%到 20%人 AB 型血清的新鲜 RPMI 1640 培养基替换原培养基。用同样方法每天替换培养基将温育持续 10 天。测定了该增殖 T 细胞系的特异性，并将部分的 T 细胞系冰冻冷藏。用同样方法从 20 个日本扁柏花粉病患者中也建立了有 Cha o 2 刺激的 T 细胞系。

## 实施例 4

### 25 抗原呈递细胞建立

建立了用 EB 病毒（非洲淋巴细胞瘤病毒，EBV）感染 B 淋巴细胞转化来的淋巴样干细胞系（B 细胞系）并用作抗原呈递细胞。首先，在补充有 20%失活的胎牛血清（FCS，GIBCO Inc.）的 RPMI 1640 培养基上培养产 EBV 的 B-95-8 细胞（marmoset, ATCC CRL 1612）。以 0.22 微米无菌滤纸过滤培养物上清。将过滤物冰冻保存于 -80 °C。随后，将 1 毫升的 EBV 溶液加到日本扁柏花粉病患者的淋巴细胞（ $2 \times 10^6$  个细胞）中，将混合物在 37 °C 保

持 30 分钟进行感染。将 EBV 感染的细胞洗涤两次，然后在补充有终浓度为 200 纳克/毫升的环孢菌素（Sandoz Pharmaceutical Co., Ltd.）的 20 % FCS-RPMI 1640 培养基中温育约 20 天。在以肉眼能观察到细胞团后于 20 % FCS-RPMI 培养基上在继续培养 20 天。所得细胞冰冻保存待用。

## 5 实施例 5

### T 细胞表位肽的建立

用 50 微克/毫升丝裂霉素 C（Sandoz Pharmaceutical Co., Ltd.）将实施例中所建立的 B 细胞培养系处理 30 分钟或以 X 光曝光（50g ray），然后以 RPMI 1640 培养基洗涤 4 次。将 B 细胞接种到 96 孔板（10000 个细胞/孔）后，在其中加入终浓度为 10 微克/毫升的 Cha o 1 和 Cha o 2。对照组中加入终浓度为 10 微克/毫升的溶血链球菌细胞壁抗原（SCW），终浓度为 10 微克/毫升的白色假丝酵母抗原（CA），以及终浓度为 1 微克/毫升的结核菌素抗原（PPD）。接着，将来自于已建立了其细胞系的相同患者的 T 细胞系（20000 个细胞/孔）接种到每个孔中。温育 48 小时后，在每孔中加入 0.5 微居里<sup>[3H]</sup>胸腺嘧啶并继续培养 16 小时。用细胞收集器（Berthold）在玻璃滤纸上收集细胞后，通过液闪计数器测定细胞<sup>[3H]</sup>胸腺嘧啶的吸收来确证细胞的生长反应。

当确证 T 细胞具有对 Cha o 1 和 Cha o 2 的特异性增殖后，用实施例 3 中建立的 T 细胞系通过与上述相同的方法测定了 T 细胞系对每种重叠肽（终浓度为 1 微摩尔/升）的生长反应。图 1 和图 5 中表明了 T 细胞系对重叠肽的生长反应的平均刺激指数、出现频率及如此计算所得的阳性指数。

而且，测定了 T 细胞系（N=17）对相应于氨基酸序列#2 - 11 和其中有一个氨基酸残基取代的#2-12 的修饰序列（SEQ ID NO：89 和 SEQ ID NO：90）的生长反应。这两个修饰序列的刺激活性用刺激指数表示时是 1.6 和 1.2，用出现频率表示时是 16 % 和 11 %，用阳性指数表示时是 25.6 和 13.2。如上所述，即使有一个或多个氨基酸残基的突变，本发明的 T 细胞表位肽仍然保持了其 T 细胞刺激活性，在某些情况下其活性还有增加。

### 工业实用性

本发明的肽含有 Cha o 1 或 Cha o 2 的至少一个 T 细胞表位肽，Cha o 1 和 Cha o 2 是日本扁柏花粉的主要过敏原。本发明还进一步包括一种与该肽有免疫 T 细胞交叉反应性的其它树木花粉的肽片段。这些肽在用于春



天由以雪松和日本扁柏花粉为代表的树木花粉引起的花粉病的基于肽的免疫治疗是有效的。

序列表

SEQ ID NO : 1 :

序列长度 : 354

5 序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 蛋白质

序列描述 :

10 Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg Gly Asp Ala Asn Trp Asp Gln  
5 10 15  
Asn Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala Val Gly Phe Gly Ser Ser Ala  
20 25 30  
Met Gly Gly Lys Gly Gly Ala Phe Tyr Thr Val Thr Ser Ser Asp Asp  
35 40 45  
15 Asp Pro Val Asn Pro Ala Pro Gly Thr Leu Arg Tyr Gly Ala Thr Arg  
50 55 60  
Glu Arg Ser Leu Trp Ile Ile Phe Ser Lys Asn Leu Asn Ile Lys Leu  
65 70 75 80  
Asn Met Pro Leu Tyr Ile Ala Gly Asn Lys Thr Ile Asp Gly Arg Gly  
85 90 95  
Ala Glu Val His Ile Gly Asn Gly Gly Pro Cys Leu Phe Met Arg Thr  
100 105 110  
20 Val Ser His Val Ile Leu His Gly Leu Asn Ile His Gly Cys Asn Thr  
115 120 125  
Ser Val Ser Gly Asn Val Leu Ile Ser Glu Ala Ser Gly Val Val Pro  
130 135 140  
Val His Ala Gln Asp Gly Asp Ala Ile Thr Met Arg Asn Val Thr Asp  
145 150 155 160  
25 Val Trp Ile Asp His Asn Ser Leu Ser Asp Ser Ser Asp Gly Leu Val  
165 170 175  
Asp Val Thr Leu Ala Ser Thr Gly Val Thr Ile Ser Asn Asn His Phe  
180 185 190  
Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His Ser Asp Ile Tyr Ser  
195 200 205  
30 Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe Asn Gln Phe Gly Pro  
210 215 220

Asn Ala Gly Gln Arg Met Pro Arg Ala Arg Tyr Gly Leu Ile His Val  
 225 230 235 240  
 Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Ser Ile Tyr Ala Ile Gly Gly Ser  
 245 250 255  
 Ser Asn Pro Thr Ile Leu Ser Glu Gly Asn Ser Phe Thr Ala Pro Asn  
 260 265 270  
 Asp Ser Asp Lys Lys Glu Val Thr Arg Arg Val Gly Cys Glu Ser Pro  
 275 280 285  
 Ser Thr Cys Ala Asn Trp Val Trp Arg Ser Thr Gln Asp Ser Phe Asn  
 290 295 300  
 Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Asn Glu Gly Thr Asn Ile  
 305 310 315 320  
 Tyr Asn Asn Asn Glu Ala Phe Lys Val Glu Asn Gly Ser Ala Ala Pro  
 325 330 335  
 Gln Leu Thr Lys Asn Ala Gly Val Leu Thr Cys Ile Leu Ser Lys Pro  
 340 345 350  
 Cys Ser

5

10

15

SEQ ID NO : 2 :  
 序列长度: 514  
 序列类型: 氨基酸  
 拓扑学: 线性  
 分子类型: 蛋白质  
 序列描述:

20

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

25

30







Gly Phe Tyr Ser Gly Arg Leu Ile Pro Thr Cys Lys Asn Leu Arg Pro  
 420 425 430  
 Gly Pro Ser Pro Lys Glu Phe Glu Leu Gln Gln Gln Pro Thr Thr Val  
 435 440 445  
 Met Asp Glu Asn Lys Gly Ala Cys Ala Lys Gly Asp Ser Thr Cys Ile  
 450 455 460  
 Ser Leu Ser Ser Ser Pro Pro Asn Cys Lys Asn Lys Cys Lys Gly Cys  
 465 470 475 480  
 Gln Pro Cys Lys Pro Lys Leu Ile Ile Val His Pro Asn Lys Pro Gln  
 485 490 495  
 Asp Tyr Tyr Pro Gln Lys Trp Val Cys Ser Cys His Asn Lys Ile Tyr  
 500 505 510  
 Asn Pro

5

10

SEQ ID NO : 3 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

15

分子类型 : 肽

序列描述 :

Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg Gly Asp Ala Asn Trp Asp Gln  
 1 5 10 15  
 Asn Arg Met Lys  
 20

20

SEQ ID NO : 4 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

25

分子类型 : 肽

序列描述 :

Asp Ala Asn Trp Asp Gln Asn Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala Val  
 1 5 10 15  
 Gly Phe Gly Ser  
 20

30

SEQ ID NO : 5 :



序列类型：氨基酸

拓扑学：线性

分子类型：肽

序列描述：

5           Val Asn Pro Ala Pro Gly Thr Leu Arg Tyr Gly Ala Thr Arg Glu Arg  
              1                           5                           10                           15  
              Ser Leu Trp Ile  
  20

SEQ ID NO : 9 :

10           序列长度：20

序列类型：氨基酸

拓扑学：线性

分子类型：肽

序列描述：

15           Gly Ala Thr Arg Glu Arg Ser Leu Trp Ile Ile Phe Ser Lys Asn Leu  
              1                           5                           10                           15  
              Asn Ile Lys Leu  
  20

SEQ ID NO : 10 :

20           序列长度：20

序列类型：氨基酸

拓扑学：线性

分子类型：肽

序列描述：

25           Ile Phe Ser Lys Asn Leu Asn Ile Lys Leu Asn Met Pro Leu Tyr Ile  
              1                           5                           10                           15  
              Ala Gly Asn Lys  
  20

SEQ ID NO : 11 :

30           序列长度：20

序列类型：氨基酸





分子类型：肽

序列描述：

Arg Thr Val Ser His Val Ile Leu His Gly Leu Asn Ile His Gly Cys  
1 5 10 15  
5 Asn Thr Ser Val  
20

SEQ ID NO : 15 :

序列长度：20

序列类型：氨基酸

10 拓扑学：线性

分子类型：肽

序列描述：

Leu Asn Ile His Gly Cys Asn Thr Ser Val Ser Gly Asn Val Leu Ile  
1 5 10 15  
15 Ser Glu Ala Ser  
20

SEQ ID NO : 16 :

序列长度：20

序列类型：氨基酸

20 拓扑学：线性

分子类型：肽

序列描述：

Ser Gly Asn Val Leu Ile Ser Glu Ala Ser Gly Val Val Pro Val His  
1 5 10 15  
25 Ala Gln Asp Gly  
20

SEQ ID NO : 17 :

序列长度：20

序列类型：氨基酸

30 拓扑学：线性

分子类型：肽



序列描述：

Gly Val Val Pro Val His Ala Gln Asp Gly Asp Ala Ile Thr Met Arg  
1 5 10 15  
Asn Val Thr Asp  
20

5

SEQ ID NO : 18 :

序列长度：20

序列类型：氨基酸

拓扑学：线性

10

分子类型：肽

序列描述：

Asp Ala Ile Thr Met Arg Asn Val Thr Asp Val Trp Ile Asp His Asn  
1 5 10 15  
Ser Leu Ser Asp  
20

15

SEQ ID NO : 19 :

序列长度：20

序列类型：氨基酸

拓扑学：线性

20

分子类型：肽

序列描述：

Val Trp Ile Asp His Asn Ser Leu Ser Asp Ser Ser Asp Gly Leu Val  
1 5 10 15  
Asp Val Thr Leu  
20

25

SEQ ID NO : 20 :

序列长度：20

序列类型：氨基酸

拓扑学：线性

30

分子类型：肽

序列描述：



Ser Ser Asp Gly Leu Val Asp Val Thr Leu Ala Ser Thr Gly Val Thr  
1 5 10 15  
Ile Ser Asn Asn  
20

5 SEQ ID NO : 21 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Ala Ser Thr Gly Val Thr Ile Ser Asn Asn His Phe Phe Asn His His  
1 5 10 15  
Lys Val Met Leu  
20

15 SEQ ID NO : 22 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

His Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His Ser Asp Ile  
1 5 10 15  
Tyr Ser Asp Asp  
20

25 SEQ ID NO : 23 :

序列长度 : 20

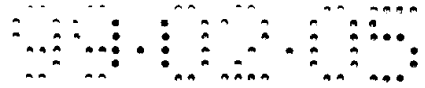
序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :





Leu Gly His Ser Asp Ile Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr  
1 5 10 15  
Val Ala Phe Asn  
20

5 SEQ ID NO : 24 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe Asn Gln Phe Gly Pro Asn Ala  
1 5 10 15  
Gly Gln Arg Met  
20

15 SEQ ID NO : 25 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Gln Phe Gly Pro Asn Ala Gly Gln Arg Met Pro Arg Ala Arg Tyr Gly  
1 5 10 15  
Leu Ile His Val  
20

25 SEQ ID NO : 26 :

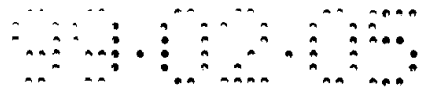
序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Pro Arg Ala Arg Tyr Gly Leu Ile His Val Ala Asn Asn Asn Tyr Asp  
 1 5 10 15  
 Pro Trp Ser Ile  
 20

5 SEQ ID NO : 27 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Ser Ile Tyr Ala Ile Gly Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Asn Pro Thr  
 20

15 SEQ ID NO : 28 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Tyr Ala Ile Gly Gly Ser Ser Asn Pro Thr Ile Leu Ser Glu Gly Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Phe Thr Ala  
 20

25 SEQ ID NO : 29 :

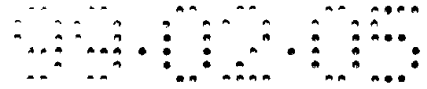
序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Ile Leu Ser Glu Gly Asn Ser Phe Thr Ala Pro Asn Asp Ser Asp Lys  
1 5 10 15  
Lys Glu Val Thr  
20

5 SEQ ID NO : 30 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Pro Asn Asp Ser Asp Lys Lys Glu Val Thr Arg Arg Val Gly Cys Glu  
1 5 10 15  
Ser Pro Ser Thr  
20

15 SEQ ID NO : 31 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Arg Arg Val Gly Cys Glu Ser Pro Ser Thr Cys Ala Asn Trp Val Trp  
1 5 10 15  
Arg Ser Thr Gln  
20

25 SEQ ID NO : 32 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Cys Ala Asn Trp Val Trp Arg Ser Thr Gln Asp Ser Phe Asn Asn Gly  
1 5 10 15  
Ala Tyr Phe Val  
20

5 SEQ ID NO : 33 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Asp Ser Phe Asn Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Asn Glu  
1 5 10 15  
Gly Thr Asn Ile  
20

15

SEQ ID NO : 34 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

20 分子类型 : 肽

序列描述 :

Ser Ser Gly Lys Asn Glu Gly Thr Asn Ile Tyr Asn Asn Asn Glu Ala  
1 5 10 15  
Phe Lys Val Glu  
20

25

SEQ ID NO : 35 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

30 分子类型 : 肽

序列描述 :



Tyr Asn Asn Asn Glu Ala Phe Lys Val Glu Asn Gly Ser Ala Ala Pro  
1 5 10 15  
Gln Leu Thr Lys  
20

- 5 SEQ ID NO : 36 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
10 序列描述 :

Asn Gly Ser Ala Ala Pro Gln Leu Thr Lys Asn Ala Gly Val Leu Thr  
1 5 10 15  
Cys Ile Leu Ser  
20

- 15 SEQ ID NO : 37 :  
序列长度 : 14  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
20 序列描述 :

Asn Ala Gly Val Leu Thr Cys Ile Leu Ser Lys Pro Cys Ser  
1 5 10

- 25 SEQ ID NO : 38 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
30 序列描述 :



Met Gly Met Lys Phe Met Ala Ala Val Ala Phe Leu Ala Leu Gln Leu  
1 5 10 15  
Ile Val Met Ala  
20

5 SEQ ID NO : 39 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Phe Leu Ala Leu Gln Leu Ile Val Met Ala Ala Ala Glu Asp Gln Ser  
1 5 10 15  
Ala Gln Ile Met  
20

15 SEQ ID NO : 40 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Ala Ala Glu Asp Gln Ser Ala Gln Ile Met Leu Asp Ser Asp Ile Glu  
1 5 10 15  
Gln Tyr Leu Arg  
20

25 SEQ ID NO : 41 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Leu Asp Ser Asp Ile Glu Gln Tyr Leu Arg Ser Asn Arg Ser Leu Lys  
1 5 10 15  
Lys Leu Val His  
20

- 5 SEQ ID NO : 42 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
10 序列描述 :

Ser Asn Arg Ser Leu Lys Lys Leu Val His Ser Arg His Asp Ala Ala  
1 5 10 15  
Thr Val Phe Asn  
20

- 15 SEQ ID NO : 43 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
20 序列描述 :

Ser Arg His Asp Ala Ala Thr Val Phe Asn Val Glu Gln Tyr Gly Ala  
1 5 10 15  
Val Gly Asp Gly  
20

- 25 SEQ ID NO : 44 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
30 序列描述 :



Val Glu Gln Tyr Gly Ala Val Gly Asp Gly Lys His Asp Ser Thr Glu  
1 5 10 15  
Ala Phe Ala Thr  
20

5 SEQ ID NO : 45 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Lys His Asp Ser Thr Glu Ala Phe Ala Thr Thr Trp Asn Ala Ala Cys  
1 5 10 15  
Lys Lys Ala Ser  
20

15 SEQ ID NO : 46 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Thr Trp Asn Ala Ala Cys Lys Lys Ala Ser Ala Val Leu Leu Val Pro  
1 5 10 15  
Ala Asn Lys Lys  
20

25 SEQ ID NO : 47 :

序列长度 : 20

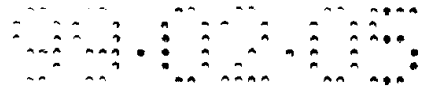
序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :





Ala Val Leu Leu Val Pro Ala Asn Lys Lys Phe Phe Val Asn Asn Leu  
1 5 10 15  
Val Phe Arg Gly  
20

- 5 SEQ ID NO : 48 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
10 序列描述 :

Phe Phe Val Asn Asn Leu Val Phe Arg Gly Pro Cys Gln Pro His Leu  
1 5 10 15  
Ser Phe Lys Val  
20

- 15 SEQ ID NO : 49 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
20 序列描述 :

Pro Cys Gln Pro His Leu Ser Phe Lys Val Asp Gly Thr Ile Val Ala  
1 5 10 15  
Gln Pro Asp Pro  
20

- 25 SEQ ID NO : 50 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
30 序列描述 :



Asp Gly Thr Ile Val Ala Gln Pro Asp Pro Ala Arg Trp Lys Asn Ser  
1 5 10 15  
Lys Ile Trp Leu  
20

5 SEQ ID NO : 51 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Ala Arg Trp Lys Asn Ser Lys Ile Trp Leu Gln Phe Ala Gln Leu Thr  
1 5 10 15  
Asp Phe Asn Leu  
20

15 SEQ ID NO : 52 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Gln Phe Ala Gln Leu Thr Asp Phe Asn Leu Met Gly Thr Gly Val Ile  
1 5 10 15  
Asp Gly Gln Gly  
20

25 SEQ ID NO : 53 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Met Gly Thr Gly Val Ile Asp Gly Gln Gly Gln Gln Trp Trp Ala Gly  
1 5 10 15  
Gln Cys Lys Val  
20

5 SEQ ID NO : 54 :

序列长度: 20

序列类型: 氨基酸

拓扑学: 线性

分子类型: 肽

10 序列描述:

Gln Gln Trp Trp Ala Gly Gln Cys Lys Val Val Asn Gly Arg Thr Val  
1 5 10 15  
Cys Asn Asp Arg  
20

15 SEQ ID NO : 55 :

序列长度: 20

序列类型: 氨基酸

拓扑学: 线性

分子类型: 肽

20 序列描述:

Val Asn Gly Arg Thr Val Cys Asn Asp Arg Asn Arg Pro Thr Ala Ile  
1 5 10 15  
Lys Ile Asp Tyr  
20

25 SEQ ID NO : 56 :

序列长度: 20

序列类型: 氨基酸

拓扑学: 线性

分子类型: 肽

30 序列描述:



Asn Arg Pro Thr Ala Ile Lys Ile Asp Tyr Ser Lys Ser Val Thr Val  
1 5 10 15  
Lys Glu Leu Thr  
20

5 EQ ID NO : 57 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Ser Lys Ser Val Thr Val Lys Glu Leu Thr Leu Met Asn Ser Pro Glu  
1 5 10 15  
Phe His Leu Val  
20

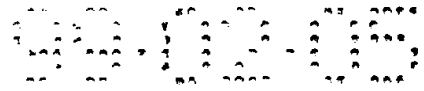
15 SEQ ID NO : 58 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Leu Met Asn Ser Pro Glu Phe His Leu Val Phe Gly Glu Cys Glu Gly  
1 5 10 15  
Val Lys Ile Gln  
20

25 SEQ ID NO : 59 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Phe Gly Glu Cys Glu Gly Val Lys Ile Gln Gly Leu Lys Ile Lys Ala  
1 5 10 15  
Pro Arg Asp Ser  
20

5 SEQ ID NO : 60 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Gly Leu Lys Ile Lys Ala Pro Arg Asp Ser Pro Asn Thr Asp Gly Ile  
1 5 10 15  
Asp Ile Phe Ala  
20

15 SEQ ID NO : 61 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Pro Asn Thr Asp Gly Ile Asp Ile Phe Ala Ser Lys Arg Phe His Ile  
1 5 10 15  
Glu Lys Cys Val  
20

25 SEQ ID NO : 62 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Ser Lys Arg Phe His Ile Glu Lys Cys Val Ile Gly Thr Gly Asp Asp  
1 5 10 15  
Cys Ile Ala Ile  
20

5 SEQ ID NO : 63 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Ile Gly Thr Gly Asp Asp Cys Ile Ala Ile Gly Thr Gly Ser Ser Asn  
1 5 10 15  
Ile Thr Ile Lys  
20

15 SEQ ID NO : 64 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Gly Thr Gly Ser Ser Asn Ile Thr Ile Lys Asp Leu Ile Cys Gly Pro  
1 5 10 15  
Gly His Gly Ile  
20

25 SEQ ID NO : 65 :

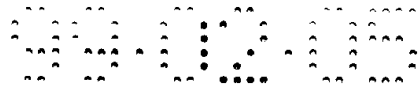
序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Asp Leu Ile Cys Gly Pro Gly His Gly Ile Ser Ile Gly Ser Leu Gly  
1 5 10 15  
Arg Asp Asn Ser  
20

- 5 SEQ ID NO : 66 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽
- 10 序列描述 :

Ser Ile Gly Ser Leu Gly Arg Asp Asn Ser Arg Ala Glu Val Ser His  
1 5 10 15  
Val His Val Asn  
20

- 15 SEQ ID NO : 67 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽
- 20 序列描述 :

Arg Ala Glu Val Ser His Val His Val Asn Arg Ala Lys Phe Ile Asp  
1 5 10 15  
Thr Gln Asn Gly  
20

- 25 SEQ ID NO : 68 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽
- 30 序列描述 :







Val Glu Met Ile Asn Ser Glu Asn Pro Ile Leu Ile Asn Gln Phe Tyr  
1 5 10 15  
Cys Thr Ser Ala  
20

- 5 SEQ ID NO : 72 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
10 序列描述 :

Leu Ile Asn Gln Phe Tyr Cys Thr Ser Ala Ser Ala Cys Gln Asn Gln  
1 5 10 15  
Arg Ser Ala Val  
20

- 15 SEQ ID NO : 73 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
20 序列描述 :

Ser Ala Cys Gln Asn Gln Arg Ser Ala Val Gln Ile Gln Gly Val Thr  
1 5 10 15  
Tyr Lys Asn Ile  
20

- 25 SEQ ID NO : 74 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽  
30 序列描述 :



Gln Ile Gln Gly Val Thr Tyr Lys Asn Ile His Gly Thr Ser Ala Thr

1 5 10 15

Ala Ala Ala Ile

20

5 SEQ ID NO : 75 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

His Gly Thr Ser Ala Thr Ala Ala Ala Ile Gln Leu Met Cys Ser Asp

1 5 10 15

Ser Val Pro Cys

20

15 SEQ ID NO : 76 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Gln Leu Met Cys Ser Asp Ser Val Pro Cys Thr Gly Ile Gln Leu Ser

1 5 10 15

Asn Val Ser Leu

20

25 SEQ ID NO : 77 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Thr Gly Ile Gln Leu Ser Asn Val Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys  
1 5 10 15  
Pro Ala Ser Cys  
20

5 SEQ ID NO : 78 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Lys Leu Thr Ser Gly Lys Pro Ala Ser Cys Val Asp Lys Asn Ala Arg  
1 5 10 15  
Gly Phe Tyr Ser  
20

15 SEQ ID NO : 79 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Val Asp Lys Asn Ala Arg Gly Phe Tyr Ser Gly Arg Leu Ile Pro Thr  
1 5 10 15  
Cys Lys Asn Leu  
20

25 SEQ ID NO : 80 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Gly Arg Leu Ile Pro Thr Cys Lys Asn Leu Arg Pro Gly Pro Ser Pro  
1 5 10 15  
Lys Glu Phe Glu  
20

- 5 SEQ ID NO : 81 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽
- 10 序列描述 :

Arg Pro Gly Pro Ser Pro Lys Glu Phe Glu Leu Gln Gln Gln Pro Thr  
1 5 10 15  
Thr Val Met Asp  
20

- 15 SEQ ID NO : 82 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽
- 20 序列描述 :

Leu Gln Gln Gln Pro Thr Thr Val Met Asp Glu Asn Lys Gly Ala Cys  
1 5 10 15  
Ala Lys Gly Asp  
20

- 25 SEQ ID NO : 83 :  
序列长度 : 20  
序列类型 : 氨基酸  
拓扑学 : 线性  
分子类型 : 肽
- 30 序列描述 :



Glu Asn Lys Gly Ala Cys Ala Lys Gly Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu  
1 5 10 15  
Ser Ser Ser Pro  
20

5 SEQ ID NO : 84 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Ser Thr Cys Ile Ser Leu Ser Ser Ser Pro Pro Asn Cys Lys Asn Lys  
1 5 10 15  
Cys Lys Gly Cys  
20

15 SEQ ID NO : 85 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Pro Asn Cys Lys Asn Lys Cys Lys Gly Cys Gln Pro Cys Lys Pro Lys  
1 5 10 15  
Leu Ile Ile Val  
20

25 SEQ ID NO : 86 :

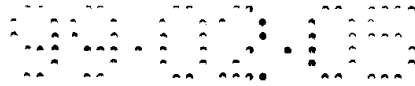
序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Gln Pro Cys Lys Pro Lys Leu Ile Ile Val His Pro Asn Lys Pro Gln

1 5 10 15

Asp Tyr Tyr Pro

20

5 SEQ ID NO : 87 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

His Pro Asn Lys Pro Gln Asp Tyr Tyr Pro Gln Lys Trp Val Cys Ser

1 5 10 15

Cys His Asn Lys

20

15 SEQ ID NO : 88 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

20 序列描述 :

Gln Lys Trp Val Cys Ser Cys His Asn Lys Ile Tyr Asn Pro

1 5 10

25 SEQ ID NO : 89 :

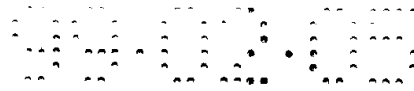
序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

30 序列描述 :



Phe Phe Val Asn Asn Leu Val Phe Arg Gly Pro Cys Gln Pro His Leu  
1 5 10 15  
Pro Phe Lys Val  
20

5 SEQ ID NO : 90 :

序列长度 : 20

序列类型 : 氨基酸

拓扑学 : 线性

分子类型 : 肽

10 序列描述 :

Pro Cys Gln Pro His Leu Pro Phe Lys Val Asp Gly Thr Ile Val Ala  
1 5 10 15  
Gln Pro Asp Pro  
20

# 说 明 书 附 图

阳性指数  
(平均刺激指数x出现频率(%))

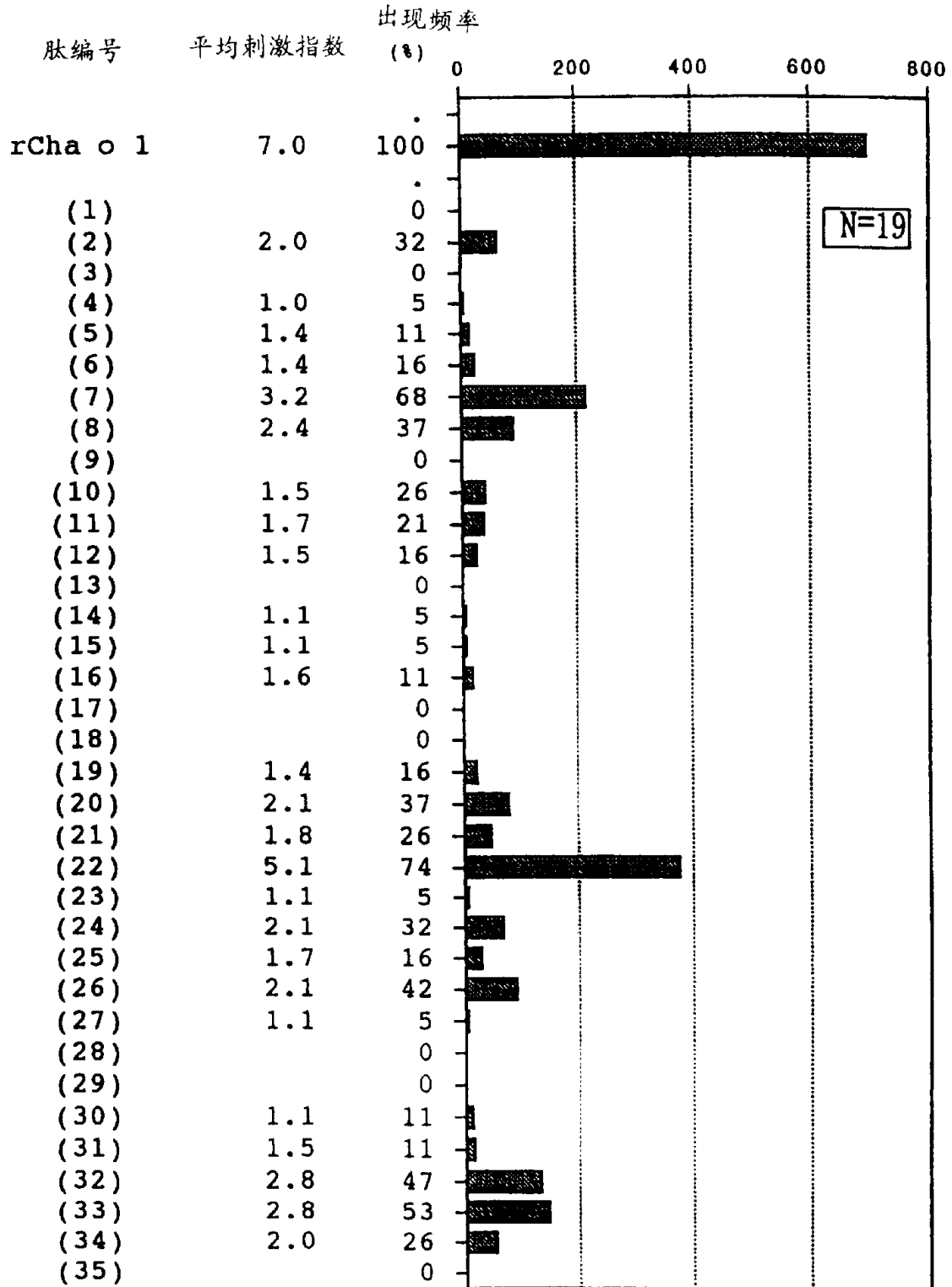


图 1



#1-1(1-20). D N P I D S C W R G D A N W D Q N R M K  
 #1-2(11-30). D A N W D Q N R M K L A D C A V G F G S  
 #1-3(21-40). L A D C A V G F G S S A M G G K G G A F  
 #1-4(31-50). S A M G G K G G A F Y T V T S S D D D P  
 #1-5(41-60). Y T V T S S D D D P V N P A P G T L R Y  
 #1-6(51-70). V N P A P G T L R Y G A T R E R S L W I  
 #1-7(61-80). G A T R E R S L W I I F S K N L N I K L  
 #1-8(71-90). I F S K N L N I K L N M P L Y I A G N K  
 #1-9(81-100). N M P L Y I A G N K T I D G R G A E V H  
 #1-10(91-110). T I D G R G A E V H I G N G G P C L F M  
 #1-11(101-120). I G N G G P C L F M R T V S H V I L H G  
 #1-12(111-130). R T V S H V I L H G L N I H G C N T S V  
 #1-13(121-140). L N I H G C N T S V S G N V L I S E A S  
 #1-14(131-150). S G N V L I S E A S G V V P V H A Q D G  
 #1-15(141-160). G V V P V H A Q D G D A I T M R N V T D  
 #1-16(151-170). D A I T M R N V T D V W I D H N S L S D  
 #1-17(161-180). V W I D H N S L S D S S D G L V D V T L  
 #1-18(171-190). S S D G L V D V T L A S T G V T I S N N  
 #1-19(181-200). A S T G Y T I S N N H F F N H H K V M L  
 #1-20(191-210). H F F N H H K V M L L G H S D I Y S D D  
 #1-21(201-220). L G H S D I Y S D D K S M K V T V A F N  
 #1-22(211-230). K S M K V T V A F N Q F G P N A G Q R M  
 #1-23(221-240). Q F G P N A G Q R M P R A R Y G L I H V  
 #1-24(231-250). P R A R Y G L I H V A N N N Y D P W S I  
 #1-25(241-260). A N N N Y D P W S I Y A I G G S S N P T  
 #1-26(251-270). Y A I G G S S N P T I L S E G N S F T A  
 #1-27(261-280). I L S E G N S F T A P N D S D K K E V T  
 #1-28(271-290). P N D S D K K E V T R R V G C E S P S T

图 2

#1-29(281-300). R R V G C E S P S T C A N W V W R S T Q  
#1-30(291-310). C A N W V W R S T Q D S F N N G A Y F V  
#1-31(301-320). D S F N N G A Y F V S S G K N E G T N I  
#1-32(311-330). S S G K N E G T N I Y N N N E A F K V E  
#1-33(321-340). Y N N N E A F K V E N G S A A P Q L T K  
#1-34(331-350). N G S A A P Q L T K N A G V L T C I L S  
#1-35(341-354). N A G V L T C I L S K P C S

图 3

#1-2(11-30). D A N W D Q N R M K L A D C A V G F G S  
 #1-4(31-50). S A M G G K G G A F Y T V T S S D D D P  
 #1-5(41-60). Y T V T S S D D D P V N P A P G T L R Y  
 #1-6(51-70). V N P A P G T L R Y G A T R E R S L W I  
 #1-7(61-80). G A T R E R S L W I I F S K N L N I K L  
 #1-8(71-90). I F S K N L N I K L N M P L Y I A G N K  
 #1-10(91-110). T I D G R G A E V H I G N G G P C L F M  
 #1-11(101-120). I G N G G P C L F M R T V S H V I L H G  
 #1-12(111-130). R T V S H V I L H G L N I H G C N T S V  
 #1-14(131-150). S G N V L I S E A S G V V P V H A Q D G  
 #1-15(141-160). G V V P V H A Q D G D A I T M R N V T D  
 #1-16(151-170). D A I T M R N V T D V W I D H N S L S D  
 #1-19(181-200). A S T G V T I S N N H F F N H H K V M L  
 #1-20(191-210). H F F N H H K V M L L G H S D I Y S D D  
 #1-21(201-220). L G H S D I Y S D D K S M K V T V A F N  
 #1-22(211-230). K S M K V T V A F N Q F G P N A G Q R M  
 #1-23(221-240). Q F G P N A G Q R M P R A R Y G L I H V  
 #1-24(231-250). P R A R Y G L I H V A N N N Y D P W S I  
 #1-25(241-260). A N N N Y D P W S I Y A I G G S S N P T  
 #1-26(251-270). Y A I G G S S N P T I L S E G N S F T A  
 #1-27(261-280). I L S E G N S F T A P N D S D K K E V T  
 #1-30(291-310). C A N W V W R S T Q D S F N N G A Y F V  
 #1-31(301-320). D S F N N G A Y F V S S G K N E G T N I  
 #1-32(311-330). S S G K N E G T N I Y N N N E A F K V E  
 #1-33(321-340). Y N N N E A F K V E N G S A A P Q L T K  
 #1-34(331-350). N G S A A P Q L T K N A G V L T C I L S

图 4

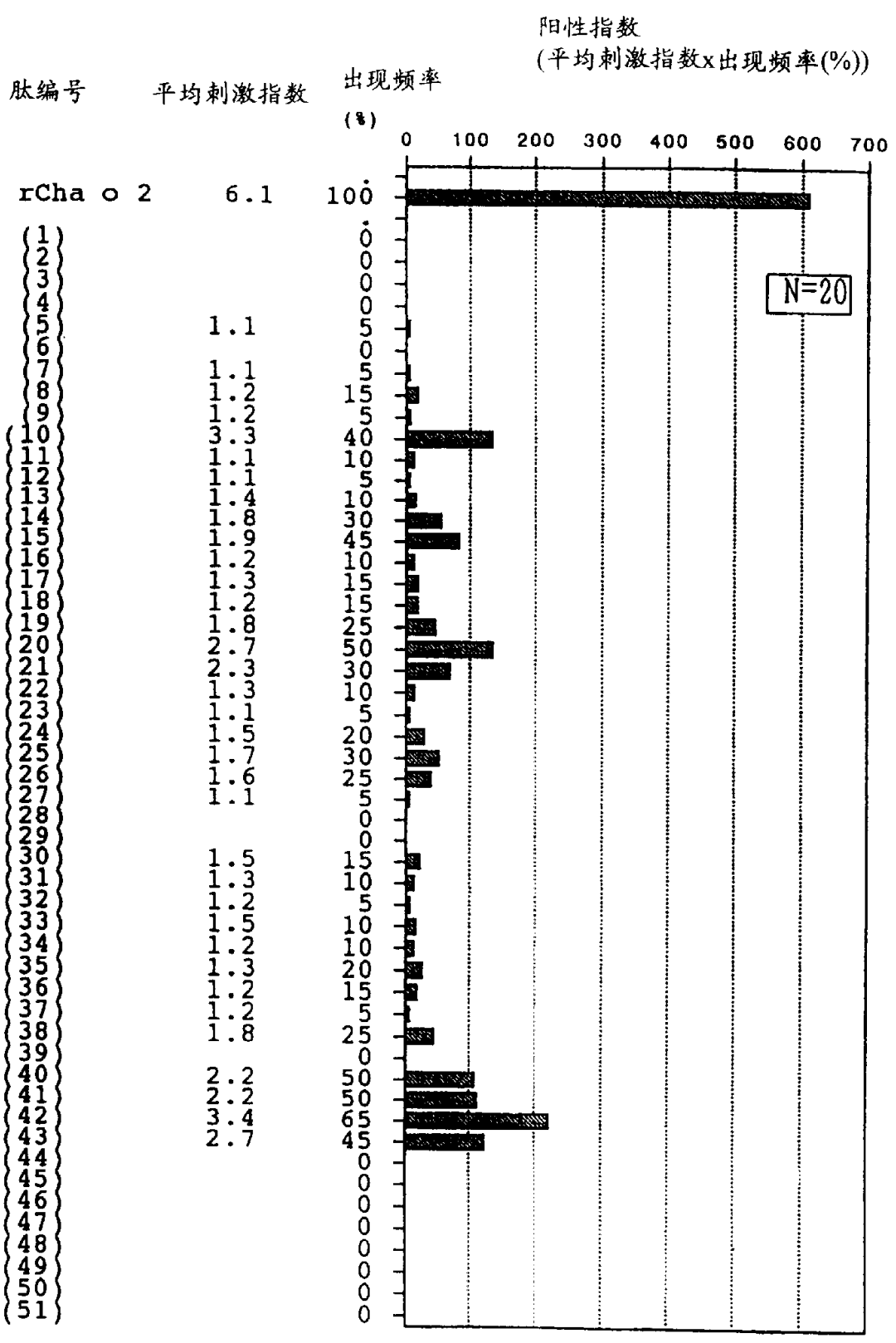


图 5

#2-1( 1-20).	M G M K F M A A V A F L A L Q L I V M A
#2-2(11-30).	F L A L Q L I V M A A A E D Q S A Q I M
#2-3(21-40).	A A E D Q S A Q I M L D S D I E Q Y L R
#2-4(31-50).	L D S D I E Q Y L R S N R S L K K L V H
#2-5(41-60).	S N R S L K K L V H S R H D A A T V F N
#2-6(51-70).	S R H D A A T V F N V E Q Y G A V G D G
#2-7(61-80).	V E Q Y G A V G D G K H D S T E A F A T
#2-8(71-90).	K H D S T E A F A T T W N A A C K K A S
#2-9(81-100).	T W N A A C K K A S A V L L V P A N K K
#2-10(91-110).	A V L L V P A N K K F F V N N L V F R G
#2-11(101-120).	F F V N N L V F R G P C Q P H L S F K V
#2-12(111-130).	P C Q P H L S F K V D G T I V A Q P D P
#2-13(121-140).	D G T I V A Q P D P A R W K N S K I W L
#2-14(131-150).	A R W K N S K I W L Q F A Q L T D F N L
#2-15(141-160).	Q F A Q L T D F N L M G T G V I D G Q G
#2-16(151-170).	M G T G V I D G Q G Q Q W W A G Q C K V
#2-17(161-180).	Q Q W W A G Q C K V V N G R T V C N D R
#2-18(171-190).	V N G R T V C N D R N R P T A I K I D Y
#2-19(181-200).	N R P T A I K I D Y S K S V T V K E L T
#2-20(191-210).	S K S V T V K E L T L M N S P E F H L V
#2-21(201-220).	L M N S P E F H L V F G E C E G V K I Q
#2-22(211-230).	F G E C E G V K I Q G L K I K A P R D S
#2-23(221-240).	G L K I K A P R D S P N T D G I D I F A
#2-24(231-250).	P N T D G I D I F A S K R F H I E K C V
#2-25(241-260).	S K R F H I E K C V I G T G D D C I A I
#2-26(251-270).	I G T G D D C I A I G T G S S N I T I K
#2-27(261-280).	G T G S S N I T I K D L I C G P G H G I

图 6

#2-28(271-290). D L I C G P G H G I S I G S L G R D N S  
 #2-29(281-300). S I G S L G R D N S R A E V S H V H V N  
 #2-30(291-310). R A E V S H V H V N R A K F I D T Q N G  
 #2-31(301-320). R A K F I D T Q N G L R I K T W Q G G S  
 #2-32(311-330). L R I K T W Q G G S G L A S Y I T Y E N  
 #2-33(321-340). G L A S Y I T Y E N V E M I N S E N P I  
 #2-34(331-350). V E M I N S E N P I L I N Q F Y C T S A  
 #2-35(341-360). L I N Q F Y C T S A S A C Q N Q R S A V  
 #2-36(351-370). S A C Q N Q R S A V Q I Q G V T Y K N I  
 #2-37(361-380). Q I Q G V T Y K N I H G T S A T A A A I  
 #2-38(371-390). H G T S A T A A A I Q L M C S D S V P C  
 #2-39(381-400). Q L M C S D S V P C T G I Q L S N V S L  
 #2-40(391-410). T G I Q L S N V S L K L T S G K P A S C  
 #2-41(401-420). K L T S G K P A S C V D K N A R G F Y S  
 #2-42(411-430). V D K N A R G F Y S G R L I P T C K N L  
 #2-43(421-440). G R L I P T C K N L R P G P S P K E F E  
 #2-44(431-450). R P G P S P K E F E L Q Q Q P T T V M D  
 #2-45(441-460). L Q Q Q P T T V M D E N K G A C A K G D  
 #2-46(451-470). E N K G A C A K G D S T C I S L S S S P  
 #2-47(461-480). S T C I S L S S S P P N C K N K C K G C  
 #2-48(471-490). P N C K N K C K G C Q P C K P K L I I V  
 #2-49(481-500). Q P C K P K L I I V H P N K P Q D Y Y P  
 #2-50(491-510). H P N K P Q D Y Y P Q K W V C S C H N K  
 #2-51(501-514). Q K W V C S C H N K I Y N P

图 7

#2-5(41-60).    S N R S L K K L V H S R H D A A T V F N  
 #2-7(61-80).    V E Q Y Q A V Q D G K H D S T E A F A T  
 #2-8(71-90).    K H D S T E A F A T T W N A A C K K A S  
 #2-9(81-100).   T W N A A C K K A S A V L L V P A N K K  
 #2-10(91-110).  A V L L V P A N K K F F V N N L V F R G  
 #2-11(101-120). F F V N N L V F R G P C Q P H L S F K V  
 #2-12(111-130). P C Q P H L S F K V D G T I V A Q P D P  
 #2-13(121-140). D G T I V A Q P D P A R W K N S K I W L  
 #2-14(131-150). A R W K N S K I W L Q F A Q L T D F N L  
 #2-15(141-160). Q F A Q L T D F N L M G T G V I D G Q G  
 #2-16(151-170). M G T G V I D G Q G Q Q W W A G Q C K V  
 #2-17(161-180). Q Q W W A G Q C K V V N G R T V C N D R  
 #2-18(171-190). V N G R T V C N D R N R P T A I K I D Y  
 #2-19(181-200). N R P T A I K I D Y S K S V T V K E L T  
 #2-20(191-210). S K S V T V K E L T L M N S P E F H L V  
 #2-21(201-220). L M N S P E F H L V F G E C E G V K I Q  
 #2-22(211-230). F G E C E G V K I Q G L K I K A P R D S  
 #2-23(221-240). G L K I K A P R D S P N T D G I D I F A  
 #2-24(231-250). P N T D G I D I F A S K R F H I E K C V  
 #2-25(241-260). S K R F H I E K C V I G T G D D C I A I  
 #2-26(251-270). I G T G D D C I A I G T G S S N I T I K  
 #2-27(261-280). G T G S S N I T I K D L I C G P G H G I  
 #2-30(291-310). R A E V S H V H V N R A K F I D T Q N G  
 #2-31(301-320). R A K F I D T Q N G L R I K T W Q G G S  
 #2-32(311-330). L R I K T W Q G G S G L A S Y I T Y E N  
 #2-33(321-340). G L A S Y I T Y E N V E M I N S E N P I  
 #2-34(331-350). V E M I N S E N P I L I N Q F Y C T S A  
 #2-35(341-360). L I N Q F Y C T S A S A C Q N Q R S A V  
 #2-36(351-370). S A C Q N Q R S A V Q I Q G V T Y K N I  
 #2-37(361-380). Q I Q G V T Y K N I H G T S A T A A A I  
 #2-38(371-390). H G T S A T A A A I Q L M C S D S V P C  
 #2-40(391-410). T G I Q L S N V S L K L T S G K P A S C  
 #2-41(401-420). K L T S G K P A S C V D K N A R G F Y S  
 #2-42(411-430). V D K N A R G F Y S G R L I P T C K N L  
 #2-43(421-440). G R L I P T C K N L R P G P S P K E F E