



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114929877 A

(43) 申请公布日 2022.08.19

(21) 申请号 202080089393.1

(22) 申请日 2020.12.23

(30) 优先权数据

62/952,673 2019.12.23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.06.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2020/048254 2020.12.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/132379 JA 2021.07.01

(71) 申请人 田边三菱制药株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 凤桐智治 岸田宽行 武富启

D·布兰杜雅尔迪 E·奥卢

E·费伊范特 市原收

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 周莎

(51) Int.Cl.

C12N 15/40 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

C07K 14/08 (2006.01)

C12N 1/15 (2006.01)

C12N 1/19 (2006.01)

C12N 1/21 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

权利要求书3页 说明书36页

序列表87页 附图21页

(54) 发明名称

突变型RSV F蛋白及其利用

(57) 摘要

根据本发明,提供突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变为与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸,前述突变型RSV F蛋白在前述半胱氨酸间形成二硫键。另外,提供突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变为与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸。

1. 突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,所述变异为与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸,在所述半胱氨酸间形成二硫键。

2. 如权利要求1所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述突变型RSV F蛋白来源于RSV亚型A或RSV亚型B。

3. 如权利要求2所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述RSV亚型A为RSV A2株或RSV Long株。

4. 如权利要求2所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述RSV亚型B为RSV 18537株。

5. 如权利要求1~4中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列是在与序列号2具有85%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸而得的,所述突变型RSV F蛋白在所述半胱氨酸间形成二硫键,具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。

6. 如权利要求1~4中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其中,进一步地,存在于pep27区域的C末端侧的、构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸以所述弗林蛋白酶识别位点不被弗林蛋白酶识别的方式被取代。

7. 如权利要求6所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸为选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸、与135位的精氨酸相当的精氨酸、及与136位的精氨酸相当的精氨酸组成的组的氨基酸,

该氨基酸被取代成非碱性氨基酸。

8. 如权利要求6或7所述的突变型RSV F蛋白,其包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列是在与序列号3具有85%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸,并且选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸、与135位的精氨酸相当的精氨酸、及与136位的精氨酸相当的精氨酸组成的组的氨基酸被取代成非碱性氨基酸而得的,所述突变型RSV F蛋白在所述半胱氨酸间形成二硫键,具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。

9. 如权利要求7或8所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述非碱性氨基酸为天冬酰胺。

10. 如权利要求1~9中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其中,进一步地,与序列号1的氨基酸序列的189位的苏氨酸相当的苏氨酸、及/或与190位的丝氨酸相当的丝氨酸被取代成疏水性氨基酸。

11. 如权利要求10所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述疏水性氨基酸各自独立地选自由缬氨酸、异亮氨酸、及亮氨酸组成的组。

12. 如权利要求1~11中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其中,进一步地,与序列号1的氨基酸序列的42位的赖氨酸相当的赖氨酸被取代成精氨酸、及/或与384位的缬氨酸相当的缬氨酸被取代成苏氨酸。

13. 突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,所述突变为与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸。

14. 如权利要求13所述的突变型RSV F蛋白,其中,所述非酸性氨基酸选自由甲硫氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、苏氨酸、及丝氨酸组成的组。

15. 融合蛋白,其包含权利要求1~14中任一项所述的突变型RSV F蛋白、和融合于所述突变型RSV F蛋白的C末端的多聚化结构域。

16. 如权利要求15所述的融合蛋白,其中,所述多聚化结构域为折叠子结构域。

17. 如权利要求16所述的融合蛋白,其包含序列号10~13中任一者的氨基酸序列。

18. 多聚体,其是权利要求1~14中任一项所述的突变型RSV F蛋白的多聚体,是所述权利要求15~17中任一项所述的融合蛋白介由所述多聚化结构域缔合而成的。

19. 如权利要求18所述的多聚体,其中,所述多聚体为三聚体。

20. 粒子化体,其是权利要求1~14中任一项所述的突变型RSV F蛋白或权利要求15~17中任一项所述的多聚体的粒子化体,其中,所述突变型RSV F蛋白或所述融合蛋白包含粒子化结构域,所述突变型RSV F蛋白或所述多聚体介由该粒子化结构域聚集2个以上而形成粒子,所述粒子化结构域存在于突变型RSV F蛋白或多聚体的立体结构上较之表位Φ更靠近表位I的位置。

21. 如权利要求20所述的粒子化体,其中,所述粒子化体是粒子化体制备用融合蛋白介由粒子化结构域聚集2个以上而成的,所述粒子化体制备用融合蛋白在所述突变型RSV F蛋白或所述融合蛋白的C末端结合有所述粒子化结构域。

22. 如权利要求20或21所述的粒子化体,其中,所述多聚体为由权利要求16所述的融合蛋白形成的三聚体。

23. 如权利要求22所述的粒子化体,其中,所述粒子化结构域为由序列号30的氨基酸序列形成的Fc结构域,并且,其是通过该粒子化结构域与固定化于源自修饰型HBs抗原的VLP的蛋白A的Z结构域进行结合从而聚集而成的。

24. 如权利要求22所述的粒子化体,其中,所述粒子化结构域为由序列号42的氨基酸序列形成的肽。

25. 粒子化体制备用融合蛋白,其包含:权利要求1~14中任一项所述的突变型RSV F蛋白的C末端、或权利要求15~17中任一项所述的融合蛋白;和融合于其C末端的粒子化结构域。

26. 如权利要求25所述的粒子化体制备用融合蛋白,其中,所述粒子化结构域为由序列号30的氨基酸序列形成的Fc结构域。

27. 如权利要求25所述的粒子化体制备用融合蛋白,其中,所述粒子化结构域为由序列号42的氨基酸序列形成的肽。

28. 多核苷酸,其编码权利要求1~14中任一项所述的突变型RSV F蛋白、权利要求15~17中任一项所述的融合蛋白、或权利要求25~27中任一项所述的粒子化体制备用融合蛋白。

29. 表达单元,其包含权利要求28所述的多核苷酸。

30. 宿主细胞,其包含权利要求29所述的表达单元。

31. 免疫原,其包含权利要求1~14中任一项所述的突变型RSV F蛋白、权利要求15~17中任一项所述的融合蛋白、权利要求18~19中任一项所述的多聚体、或权利要求20~24中任一项所述的粒子化体。

32. 医药组合物,其包含权利要求29所述的表达单元、或权利要求31所述的免疫原。
33. RSV疫苗,其包含权利要求29所述的表达单元、或权利要求31所述的免疫原。
34. 如权利要求32所述的医药组合物或权利要求33所述的RSV疫苗,其用于人。

突变型RSV F蛋白及其利用

技术领域

[0001] 本发明涉及突变型RSV F蛋白及其利用。

背景技术

[0002] 呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染症是呈现出全球性流行的呼吸系统感染症。特别是在未满5岁的儿童中,重症化风险高,因RSV感染导致每年3千万人以上发展成下呼吸道炎症,每年3百万人以上需要住院治疗。因此,迄今为止为了开发预防RSV感染症的疫苗已做了很多努力。早在1965-66年的流行季即实施了将经福尔马林灭活的病毒作为疫苗抗原的临床试验(对象为婴儿),然而结果非但没有使感染症减少,反而因RSV感染导致的入院率增加了16倍。作为原因之一,认为灭活处理的过程中使作为病毒的表面抗原之一的F抗原变性,只诱导出RSV中和活性低的抗体,因此反而妨碍了免疫反应。此后也进行了各种努力,但是尚未开发出有效的疫苗。

[0003] 在这种情况下,注意到健康成人即使感染RSV也几乎不会重症化,进行了使用健康成人血清的研究。研究结果可知,健康成人血清具有高的病毒感染能力中和效果,并且该感染中和效果起因于抗RSV F蛋白抗体(非专利文献1)。RSV F蛋白的研究也得以推进,成熟的F蛋白具有亚稳定的融合前构象(本说明书中,有时称作“pre-F”、“pre型F蛋白”)与最稳定的融合后构象(本说明书中,有时称作“post-F”、“post型F蛋白”),已知融合前构象由于其不稳定而在通常的疫苗制剂溶液中具有在早期重折叠成融合后构象的倾向。

[0004] 另外,已明确了曾经难以稳定获取的pre-F的结构(非专利文献2),由此发现:pre型F蛋白会形成三聚体;另外,存在于pre型F蛋白的表位(表位 Φ 、I、II、III、IV、V等)之中的一些表位会因结构变化为post-F而丢失。

[0005] 在对成年人血清更详细的研究中发现,血清中所含的抗F蛋白抗体之中,病毒感染中和能力高的抗体是主要与存在于pre型F蛋白的表位 Φ 、表位V特异性结合的抗体,它们具有特异性识别pre型F蛋白但不与post-F结合的性质;上述血清中还含有也与post-F结合的抗体,但是其病毒感染中和能力低(非专利文献3)。另外,免疫尚不成熟的婴幼儿期感染时症状恶化的风险高,而其原因在于初次感染时或感染次数少的婴幼儿几乎不能诱导以表位 Φ 、V为靶标的免疫(非专利文献4)。在疫苗抗原中,重要的是效率良好地诱导病毒感染中和能力高的抗体,认为理想的疫苗抗原是能够优先诱导出具有中和能力、针对表位 Φ 、V的抗体的抗原。

[0006] 已尝试了通过在RSV F蛋白中导入人造二硫键的突变等来稳定具有表位 Φ 、V的pre型F蛋白。例如,已报道了DS-Cav1突变体(专利文献1、非专利文献5、非专利文献6)、其他突变体(专利文献2)。然而,pre型F蛋白的稳定化并不能说是充分的,目前仍在持续研究。

[0007] 现有技术文献

[0008] 专利文献

[0009] 专利文献1:国际公开第2017/172890号

[0010] 专利文献2:国际公开第2017/109629号

- [0011] 非专利文献
- [0012] 非专利文献1:
- [0013] 非专利文献1:Ngwuta J0等,Science Translational Medicine 2015;309:309ra162
- [0014] 非专利文献2:Jason S McLellan等,Science 2013;340:1113
- [0015] 非专利文献3:Morgan S.A.Gilman等,2016.Science Immunology.1(6).pii:eaaj1879
- [0016] 非专利文献4:Eileen Goodwin等,Immunity 2018;48(2):339
- [0017] 非专利文献5:Jason S.McLellan等,Science 2013;342:592
- [0018] 非专利文献6:M Gordon Joyce等,Nature structural and molecular biology 2016;23(9):811

发明内容

- [0019] 发明所要解决的课题
- [0020] 本发明的课题在于提供用于效率良好地诱导RSV感染中和能力高的抗体的技术。
- [0021] 用于解决课题的手段
- [0022] 本申请发明人发现包含特定氨基酸突变的突变型RSV F蛋白效率良好地诱导出RSV感染中和能力高的抗体,从而完成了本发明。
- [0023] 本发明如下所述。
- [0024] [1]突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变为与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸,在前述半胱氨酸间形成二硫键。
- [0025] [2]如[1]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变型RSV F蛋白来源于RSV亚型A或RSV亚型B。
- [0026] [3]如[2]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述RSV亚型A为RSV A2株或RSV Long株。
- [0027] [4]如[2]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述RSV亚型B为RSV 18537株。
- [0028] [5]如[1]~[4]中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列是在与序列号2具有85%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸而得的,前述突变型RSV F蛋白在前述半胱氨酸间形成二硫键,具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。
- [0029] [6]如[1]~[4]中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其中,进一步地,存在于pep27区域的C末端侧的、构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸以前述弗林蛋白酶识别位点不被弗林蛋白酶识别的方式被取代。
- [0030] [7]如[6]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸为选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸、与135位的精氨酸相当的精氨酸、及与136位的精氨酸相当的精氨酸组成的组的氨基酸,

[0031] 该氨基酸被取代成非碱性氨基酸。

[0032] [8]如[6]或[7]所述的突变型RSV F蛋白,其包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是在与序列号3具有85%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸,并且选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸、与135位的精氨酸相当的精氨酸、及与136位的精氨酸相当的精氨酸组成的组的氨基酸被取代成非碱性氨基酸而得的,前述突变型RSV F蛋白在前述半胱氨酸间形成二硫键,具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。

[0033] [9]如[7]或[8]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述非碱性氨基酸为天冬酰胺。

[0034] [10]如[1]~[9]中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其中,进一步地,与序列号1的氨基酸序列的189位的苏氨酸相当的苏氨酸、及/或与190位的丝氨酸相当的丝氨酸被取代成疏水性氨基酸。

[0035] [11]如[10]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述疏水性氨基酸各自独立地选自由缬氨酸、异亮氨酸、及亮氨酸组成的组。

[0036] [12]如[1]~[11]中任一项所述的突变型RSV F蛋白,其中,进一步地,与序列号1的氨基酸序列的42位的赖氨酸相当的赖氨酸被取代成精氨酸、及/或与384位的缬氨酸相当的缬氨酸被取代成苏氨酸。

[0037] [13]突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变为与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸。

[0038] [14]如[13]所述的突变型RSV F蛋白,其中,前述非酸性氨基酸选自由甲硫氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、苏氨酸、及丝氨酸组成的组。

[0039] [15]融合蛋白,其包含[1]~[14]中任一项所述的突变型RSV F蛋白、和融合于前述突变型RSV F蛋白的C末端的多聚化结构域。

[0040] [16]如[15]所述的融合蛋白,其中,前述多聚化结构域为折叠子结构域。

[0041] [17]如[16]所述的融合蛋白,其包含序列号10~13中任一者的氨基酸序列。

[0042] [18]多聚体,其是[1]~[14]中任一项所述的突变型RSV F蛋白的多聚体,是[15]~[17]中任一项所述的融合蛋白介由前述多聚化结构域缔合而成的。

[0043] [19]如[18]所述的多聚体,其中,前述多聚体为三聚体。

[0044] [20]粒子化体,其是[1]~[14]中任一项所述的突变型RSV F蛋白或[15]~[17]中任一项所述的多聚体的粒子化体,其中,前述突变型RSV F蛋白或前述融合蛋白包含粒子化结构域,前述突变型RSV F蛋白或前述多聚体介由该粒子化结构域聚集2个以上而形成粒子,前述粒子化结构域存在于突变型RSV F蛋白或多聚体的立体结构上较之表位Φ更靠近表位I的位置。

[0045] [21]如[20]所述的粒子化体,其中,前述粒子化体是粒子化体制备用融合蛋白介由粒子化结构域聚集2个以上而成的,所述粒子化体制备用融合蛋白在前述突变型RSV F蛋白或前述融合蛋白的C末端结合有前述粒子化结构域。

[0046] [22]如[20]或[21]所述的粒子化体,其中,前述多聚体为由[16]所述的融合蛋白形成的三聚体。

[0047] [23]如[22]所述的粒子化体,其中,前述粒子化结构域为由序列号30的氨基酸序

列序列形成的Fc结构域,并且,其是该粒子化结构域与固定化于源自修饰型HBs抗原的VLP的蛋白A的Z结构域进行结合从而聚集而成的。

[0048] [24]如[22]所述的粒子化体,其中,前述粒子化结构域为由序列号42的氨基酸序列形成的肽。

[0049] [25]粒子化体制备用融合蛋白,其包含:[1]~[14]中任一项所述的突变型RSV F蛋白的C末端;或[15]~[17]中任一项所述的融合蛋白;和融合于其C末端的粒子化结构域。

[0050] [26]如[25]所述的粒子化体制备用融合蛋白,其中,前述粒子化结构域为由序列号30的氨基酸序列形成的Fc结构域。

[0051] [27]如[25]所述的粒子化体制备用融合蛋白,其中,前述粒子化结构域为由序列号42的氨基酸序列形成的肽。

[0052] [28]多核苷酸,其编码[1]~[14]中任一项所述的突变型RSV F蛋白、[15]~[17]中任一项所述的融合蛋白、或[25]~[27]中任一项所述的粒子化体制备用融合蛋白。

[0053] [29]表达单元,其包含[28]所述的多核苷酸。

[0054] [30]宿主细胞,其包含[29]所述的表达单元。

[0055] [31]免疫原,其包含[1]~[14]中任一项所述的突变型RSV F蛋白、[15]~[17]中任一项所述的融合蛋白、[18]~[19]中任一项所述的多聚体或[20]~[24]中任一项所述的粒子化体。

[0056] [32]医药组合物,其包含[29]所述的表达单元或[31]所述的免疫原。

[0057] [33]RSV疫苗,其包含[29]所述的表达单元或[31]所述的免疫原。

[0058] [34]如[32]所述的医药组合物或[33]所述的RSV疫苗,其用于人。

[0059] 发明效果

[0060] 根据本发明,可提供用于效率良好地诱导RSV感染中和能力高的抗体的技术。可提供作为pre型F蛋白的稳定性较之以往显著提高的突变型RSV F蛋白。本发明的突变型RSV F蛋白特别是在人类中具有下述效果:较之被认为不甚有助于病毒中和的抗体组,优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组(以下称作优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果)。

附图说明

[0061] [图1]示出本发明的一个方式的实施例1中的表位Φ的保守性的图表。

[0062] [图2]示出本发明的一个方式的实施例2中的表位Φ的保守性的图表。

[0063] [图3]示出本发明的一个方式的实施例2中的三聚体化的图表。

[0064] [图4]示出本发明的一个方式的实施例3中的表位Φ的保守性的图表。

[0065] [图5]示出本发明的一个方式的实施例3中的三聚体化的图表。

[0066] [图6]示出本发明的一个方式的实施例3中的表达量的图表。

[0067] [图7]示出本发明的一个方式的实施例4中的表位Φ的保守性的图表。

[0068] [图8]示出本发明的一个方式的实施例4中的三聚体化的图表。

[0069] [图9]示出本发明的一个方式的实施例5中的表位Φ的保守性的图表。

[0070] [图10]示出本发明的一个方式的实施例5中的三聚体化的图表。

[0071] [图11]示出本发明的一个方式的实施例5中的表位I的识别性的图表。

[0072] [图12]示出本发明的一个方式的实施例5中的、人血清中的病毒中和抗体的吸附试验的结果的图表。

[0073] [图13]示出本发明的一个方式的实施例5中的、人血清中的病毒中和抗体的吸附试验的结果的图表。

[0074] [图14]示出本发明的一个方式的实施例5中的、以小鼠免疫诱导的抗体的验证结果的图表。

[0075] [图15]示出本发明的一个方式的实施例6中的表位 Φ 的保守性的图表。

[0076] [图16]示出本发明的一个方式的实施例6中的三聚体化的图表。

[0077] [图17]示出本发明的一个方式的实施例6中的表位I的识别性的图表。

[0078] [图18]示出本发明的一个方式的实施例6中的、以小鼠免疫诱导的抗体的验证结果的图表。

[0079] [图19]示出本发明的一个方式的实施例7中的表位 Φ 的保守性的图表。

[0080] [图20]示出本发明的一个方式的实施例7中的三聚体化的图表。

[0081] [图21]示出本发明的一个方式的实施例7中的表位I的识别性的图表。

[0082] [图22]示出本发明的一个方式的实施例7中的表位 Φ 的保守性的图表(插入接头的研究)。

[0083] [图23]示出本发明的一个方式的实施例7中的三聚体化的图表(插入接头的研究)。

[0084] [图24]示出本发明的一个方式的实施例7中的表位I的识别性的图表(插入接头的研究)。

[0085] [图25]示出本发明的一个方式的实施例7中的粒子直径的图表。

[0086] [图26]示出本发明的一个方式的实施例8中的聚丙烯酰胺凝胶电泳结果的照片(其1)。

[0087] [图27]示出本发明的一个方式的实施例8中的聚丙烯酰胺凝胶电泳结果的照片(其2)。

[0088] [图28]示出本发明的一个方式的实施例8中的表位 Φ 的保守性的图表。

[0089] [图29]示出本发明的一个方式的实施例8中的三聚体化的图表。

[0090] [图30]示出本发明的一个方式的实施例8中的表位I的识别性的图表。

[0091] [图31]示出本发明的一个方式的实施例8中的粒子直径的图表。

[0092] [图32]示出本发明的一个方式的实施例8中的、以小鼠免疫诱导的抗体的验证结果的图表。

[0093] [图33]示出本发明的一个方式的实施例9中的聚丙烯酰胺凝胶电泳结果的照片。

[0094] [图34]示出本发明的一个方式的实施例9中的表位 Φ 的保守性的图表。

[0095] [图35]示出本发明的一个方式的实施例9中的表位I的识别性的图表。

具体实施方式

[0096] 本发明的一个方式为突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变为与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸,在前

述半胱氨酸间形成二硫键。

[0097] 天然的RSV F蛋白首先以作为F0多肽(前体)表达。F0多肽在内质网易位信号被切割后,于2个位点被细胞内弗林蛋白酶样蛋白酶加工,生成F1多肽、F2多肽、及Pep27多肽。此处,Pep27多肽被切除,因此不形成成熟F蛋白的一部分。F2多肽来源于F0多肽的N末端侧部分,介由2个二硫键与F1多肽连接。F1多肽来源于F0多肽的C末端侧部分,介由跨膜结构域将成熟F蛋白固定于膜。F2-F1异源二聚体的3个原聚体作为三聚体形成成熟F蛋白,其为具有使病毒膜与靶细胞膜融合的功能的pre型F蛋白。

[0098] 本发明的突变型RSV F蛋白自N末端侧起包含F2多肽、F1多肽。该F1多肽优选使用不包含跨膜区及胞内区的多肽(以下有时称作F1多肽(胞外区))。此外,由于通过后述的突变而使弗林蛋白酶样蛋白酶识别位点之一消失,因此本发明的突变型RSV F蛋白有时在F1多肽的N末端侧包含pep27多肽。另外,也可在F2多肽的N末端侧包含信号序列,在F1多肽与F2多肽之间包含接头,以及在其C末端侧包含用于纯化等的标签等。此外,优选本发明的突变型RSV F蛋白形成三聚体。

[0099] 优选本发明的突变型RSV F蛋白来源于RSV亚型A或RSV亚型B。

[0100] 作为前述RSV亚型A,具体而言,可例示出RSV A2株、RSV Long株、RSV S2株、RSV Line 19株,其中,优选为RSV A2株或RSV Long株。

[0101] 作为前述RSV亚型B,具体而言,可例示出RSV 18537株、RSV B1株、RSV 9320株,其中,优选为RSV 18537株。

[0102] 序列号1的氨基酸序列为RSV A2株的F蛋白的F0多肽的氨基酸序列,参考此对F0多肽的各构成要素进行说明。

[0103] 序列号1中,信号序列的氨基酸序列为1位~25位的氨基酸序列。

[0104] 序列号1中,F2多肽的氨基酸序列为26位~109位的氨基酸序列。

[0105] 序列号1中,pep27区域的氨基酸序列为110位~136位的氨基酸序列。

[0106] 序列号1中,F1多肽(胞外区)的氨基酸序列为137位~513位的氨基酸序列。

[0107] 序列号1中,F1多肽(跨膜区与胞内区)的氨基酸序列为514位~574位的氨基酸序列。需要说明的是,F1多肽(跨膜区与胞内区)的氨基酸序列可以是与序列号1的514位~574位的氨基酸序列具有85%以上、90%或95%以上同一性的序列。

[0108] RSV F蛋白可包含F2多肽和F1多肽(胞外区)。包含F2多肽和F1多肽(胞外区)的RSV F蛋白可例示出序列号2的氨基酸序列,其依次包含:序列号1的26位~109位的氨基酸序列、和137位~513位的氨基酸序列。

[0109] RSV F蛋白可包含F2多肽和连接有pep27区域的F1多肽(胞外区)。依次包含F2多肽和连接有pep27区域的F1多肽(胞外区)的RSV F蛋白可例示出序列号3的氨基酸序列,其包含序列号1的26位~513位的氨基酸序列。

[0110] 需要说明的是,这些多肽可以是分开的多肽链,优选它们以二硫键连接。即,RSV F蛋白可以为这样的多肽的复合物。

[0111] (将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变)

[0112] 本发明的突变型RSV F蛋白包含:与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸的突变。通过使前述突变型RSV F蛋白具有上述氨基酸突变,除天

然生成的二硫键以外,在导入的半胱氨酸间形成新的二硫键,由此,发挥表位 Φ 的保守性(维持pre型)提高这样的效果。为了形成三聚体,特别优选与序列号1的141位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸、与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸。

[0113] 需要说明的是,本说明书中突变型RSV F蛋白的突变位置以序列号1所示的参考序列的氨基酸编号表示。

[0114] 与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸、与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸是指,无论突变型RSV F蛋白的来源如何,与序列号1的氨基酸序列中提及的141位的亮氨酸相当的亮氨酸、与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸。即,针对待导入突变的RSV F蛋白的氨基酸序列,与序列号1的氨基酸序列进行比对时,分别被定位至序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸、142位的亮氨酸、373位的亮氨酸的亮氨酸残基。

[0115] 例如,N末端侧与序列号1的氨基酸序列相比短1个氨基酸的突变型RSV F蛋白的氨基酸序列的情况下,序列号1的氨基酸序列中的141位的亮氨酸成为140位,这样的亮氨酸可称为与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸。

[0116] 需要说明的是,针对待导入突变的RSV F蛋白的氨基酸序列,与序列号1的氨基酸序列进行比对时,在与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸、与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及/或与373位的亮氨酸相当的亮氨酸的位置存在亮氨酸以外的氨基酸的情况下,将该氨基酸取代成半胱氨酸的方式也包括在本发明的突变型RSV F蛋白中。另外,除该亮氨酸以外的氨基酸为半胱氨酸的情况下,无需前述成为半胱氨酸的取代,可保持为半胱氨酸。

[0117] 本发明的一个方式为突变型RSV F蛋白,其包含由包含下述氨基酸序列的突变型F0多肽生成的F2多肽和F1多肽(胞外区),前述氨基酸序列是在序列号1的氨基酸序列中141位的亮氨酸或142位的亮氨酸、及373位的亮氨酸被取代成半胱氨酸而得的,前述突变型RSV F蛋白在前述半胱氨酸间形成二硫键。具体而言,包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是序列号2的氨基酸序列中89位的亮氨酸或90位的亮氨酸、及321位的亮氨酸被取代成半胱氨酸而得的。

[0118] 本发明的一个方式为突变型RSV F蛋白,其包含由包含下述氨基酸序列的突变型F0多肽生成的F2多肽和F1胞外区多肽,前述氨基酸序列是在与序列号1的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸被取代成半胱氨酸而得的,前述突变型RSV F蛋白在前述半胱氨酸间形成二硫键,具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。具体而言,包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是在与序列号2的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸(序列号2中为89位)或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸(序列号2中为90位)、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸(序列号2中为321位)被取代成半胱氨酸而得的。

[0119] 本说明书中,关于氨基酸序列的“百分比(%)同一性”定义如下:在为了使序列对齐、获得最大的%同一性而根据需要引入空位、并不将任何保守性取代认作序列同一性的

一部分后的、与特定参考多肽序列的氨基酸残基一致的候选序列中的氨基酸残基的百分比。出于测定%同一性目的的比对可通过本领域技术人员的技能范围内的各种方法、例如使用BLAST、BLAST-2、ALIGN、或MegaAlign (DNASTAR) 软件这样的可公开获得的计算机软件来实现。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适宜的参数,包括相对于所比较的序列的全长而言实现最大比对所需的任意算法。然而,为了此处的目的,%同一性值可通过在双序列比对中使用序列比较计算机程序BLAST而得到。氨基酸序列比较中使用BLAST的情况下,给定的氨基酸序列A与给定的氨基酸序列B的%同一性可通过以下方式计算:

[0120] 分率X/Y的100倍

[0121] 此处,X为根据序列比对程序BLAST的A及B的程序比对而具有与“相同”一致的得分的氨基酸残基的数量,Y为B的氨基酸残基总数。可以理解,氨基酸序列A的长度与氨基酸序列B的长度不同的情况下,A相对于B的%同一性与B相对于A的同一性不同。除非特别说明,此处的所有的%同一性值可使用上一段落所示的BLAST计算机程序而得到。

[0122] 与规定的氨基酸序列具有规定的同一性的氨基酸序列是在该规定的氨基酸序列中进行了取代、缺失、插入、或添加而得的。该取代优选为保守性取代。“保守性取代”是指以不实质改变蛋白质的活性的方式将氨基酸残基用其余的化学上类似的氨基酸残基进行取代。例如可举出将某一疏水性残基通过其余的疏水性残基进行取代的情况、将某一极性残基通过具有相同电荷的其余的极性残基进行取代的情况等。就可进行这样的取代的功能的上类似的氨基酸的例子,作为非极性(疏水性)氨基酸,可举出丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸等。作为极性(中性)氨基酸,可举出甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、半胱氨酸等。作为带正电荷的(碱性)氨基酸,可举出精氨酸、组氨酸、赖氨酸等。另外,作为带负电荷的(酸性)氨基酸,可举出天冬氨酸、谷氨酸等。

[0123] (60位的谷氨酸的突变)

[0124] 本发明的突变型RSV F蛋白的另一方式为突变型RSV F蛋白,其是具有突变的突变型RSV F蛋白,其中,前述突变为与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸。

[0125] 只要前述突变型RSV F蛋白可发挥表位Φ的保守性的提高、三聚体化的促进、及优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组这样的效果,则前述非酸性氨基酸没有特别限定,具体而言,可例示出中性氨基酸、碱性氨基酸、非极性(疏水性)氨基酸。更具体而言,作为中性氨基酸,可例示出甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、半胱氨酸;作为碱性氨基酸,可例示出精氨酸、组氨酸、赖氨酸;作为非极性(疏水性)氨基酸,可例示出丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸。

[0126] 前述非酸性氨基酸优选为中性氨基酸、及/或非极性(疏水性)氨基酸。

[0127] 另外,中性氨基酸之中,优选苏氨酸、丝氨酸,非极性(疏水性)氨基酸之中,优选自由甲硫氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸组成的组,因此前述非酸性氨基酸优选自由甲硫氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、苏氨酸、及丝氨酸组成的组。

[0128] 本发明的一个方式为突变型RSV F蛋白,其包含由包含下述氨基酸序列的突变型F0多肽生成的F2多肽和F1多肽(胞外区),前述氨基酸序列是序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸而得的。具体而言,包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列

是在序列号2的氨基酸序列中,35位的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸而得的。

[0129] 本发明的一个方式为突变型RSV F蛋白,其包含由包含下述氨基酸序列的突变型F0多肽生成的F2多肽和F1多肽(胞外区),前述氨基酸序列是在与序列号1的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸而得的,前述突变型RSV F蛋白具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。具体而言,包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是在与序列号2的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸(序列号2中为35位)被取代成非酸性氨基酸而得的。

[0130] 需要说明的是,60位的谷氨酸的突变可以与上述的将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变一同被导入。

[0131] (弗林蛋白酶识别位点的突变)

[0132] 对于本发明的突变型RSV F蛋白而言,进一步地,可以是存在于pep27区域的C末端侧的、构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸被取代成前述弗林蛋白酶识别位点不被弗林蛋白酶识别的氨基酸而得的突变型RSV F蛋白。通过具有这样的氨基酸取代,突变型RSV F蛋白具有F2多肽和连接有pep27区域的F1多肽(胞外区),由此发挥以保持表位Φ的保守性的状态促进三聚体化这样的效果。

[0133] pep27区域是指与序列号1的氨基酸序列的110位~136位相当的区域,在细胞内,较之其更靠N末端侧的第1识别位点和其C末端侧的第2识别位点被弗林蛋白酶切割。较之pep27区域更靠N末端侧为F2多肽,C末端侧为F1多肽,前述切割的结果是,生成F2多肽和F1多肽,它们在各自的多肽原本所具有的半胱氨酸残基间形成二硫键而成为复合物。可见,通常RSV F蛋白不包含pep27区域,但由于该突变,第2识别位点未被切割,仅存在于F2多肽的C末端侧与pep27区域之间的第1识别位点被弗林蛋白酶切割。该切割的结果是,生成包含连接pep27区域的F1多肽的多肽、和F2多肽,它们在各自的多肽原本所具有的半胱氨酸残基间形成二硫键而成为复合物。可见,本方式可以为含有包含连接pep27区域的F1多肽的多肽片段、和F2多肽的复合物。

[0134] 该取代为前述构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸之中的一个或多个氨基酸的取代即可。具体而言,构成弗林蛋白酶识别位点的氨基酸为选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸、与135位的精氨酸相当的精氨酸、及与136位的精氨酸相当的精氨酸组成的组的1个以上的氨基酸,优选该氨基酸被取代成非碱性氨基酸。

[0135] 也可以与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸、与135位的精氨酸相当的精氨酸、及与136位的精氨酸相当的精氨酸各自独立地被取代成非碱性氨基酸。

[0136] 前述非碱性氨基酸只要发挥以保持表位Φ的保守性的状态促进三聚体化这样的效果,则没有特别限定,具体而言,可例示出中性氨基酸、酸性氨基酸、非极性(疏水性)氨基酸。更具体而言,作为中性氨基酸,可例示出甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、半胱氨酸;作为酸性氨基酸,可例示出天冬氨酸、谷氨酸;作为非极性(疏水性)氨基酸,可例示出丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸。其中,优选中性氨基酸,更优选天冬酰胺。

[0137] 本发明的突变型RSV F蛋白的一个方式包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是

在序列号3的氨基酸序列中,116位的亮氨酸或117位的亮氨酸、及348位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、且选自由108位的精氨酸、110位的精氨酸、及111位的精氨酸组成的组中的氨基酸被取代成非碱性氨基酸而得的。

[0138] 本发明的突变型RSV F蛋白的一个方式包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是在与序列号3的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸(序列号3中为116位的亮氨酸)或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸(序列号3中为117位的亮氨酸)、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸(序列号3中为348位的亮氨酸)被取代成半胱氨酸、且选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸(序列号3中为108位的精氨酸)、与135位的精氨酸相当的精氨酸(序列号3中为110位的精氨酸)、及与136位的精氨酸相当的精氨酸(序列号3中为111位的精氨酸)组成的组中的氨基酸被取代成非碱性氨基酸而得的。

[0139] 本发明的突变型RSV F蛋白的另一个方式包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是在序列号3的氨基酸序列中,35位的谷氨酸被取代成非酸性氨基酸、且选自由108位的精氨酸、110位的精氨酸、及111位的精氨酸组成的组中的氨基酸被取代成非碱性氨基酸而得的。

[0140] 本发明的突变型RSV F蛋白的另一个方式包含下述氨基酸序列,前述氨基酸序列是在与序列号3的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,与序列号1的氨基酸序列的60位的谷氨酸相当的谷氨酸(序列号3中为35位的谷氨酸)被取代成非酸性氨基酸、且选自由与序列号1的氨基酸序列的133位的精氨酸相当的精氨酸(序列号3中为108位的精氨酸)、与135位的精氨酸相当的精氨酸(序列号3中为110位的精氨酸)、及与136位的精氨酸相当的精氨酸(序列号3中为111位的精氨酸)组成的组中的氨基酸被取代成非碱性氨基酸而得的。

[0141] 需要说明的是,序列号3或与序列号3具有85%以上、优选90%以上、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,前述pep27区域可以被取代成人造接头。作为前述人造接头,其序列没有特别限制,优选为6~27的氨基酸残基长度,优选为包含Gly及/或Ser的序列,更具体而言,可例示出Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser(序列号18)、(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂(序列号19)、(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₃(序列号20)。

[0142] (其他突变)

[0143] 本发明的突变型RSV F蛋白可以为下述突变型RSV F蛋白,其中,除了将上述与序列号1的氨基酸序列的141位的亮氨酸相当的亮氨酸或与142位的亮氨酸相当的亮氨酸、及与373位的亮氨酸相当的亮氨酸取代成半胱氨酸的突变(以下称作将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变)、60位的谷氨酸的突变、及/或弗林蛋白酶识别位点的突变以外,进一步地,与序列号1的氨基酸序列的189位的苏氨酸相当的氨基酸、及/或与190位的丝氨酸相当的氨基酸被取代成疏水性氨基酸。

[0144] 本方式的突变型RSV F蛋白可发挥下述效果:以保持表位Φ的保守性优异、促进三聚体化这样的效果及优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果的状态,使表达系统中表达量显著提高。

[0145] 与序列号1的氨基酸序列的189位的苏氨酸相当的氨基酸、及/或与190位的丝氨酸

相当的氨基酸可以各自独立地被取代成疏水性氨基酸。

[0146] 另外,包含该取代的突变型RSV F蛋白除了以保持表位Φ的保守性优异、促进三聚体化这样的效果及优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果的状态,使表达系统中表达量显著提高这样的效果以外,还不易被对病毒感染的中和没有或欠缺效果的抗体识别。反之,若对病毒感染的中和没有或欠缺效果的抗体被诱导,则无助于或几乎无助于病毒感染的中和的免疫细胞活化,推测反而有症状恶化的风险,根据后述的实施例可知,本方式的突变型RSV F蛋白不易被对病毒感染的中和没有或欠缺效果的抗体识别,因此其风险低于以往的疫苗。

[0147] 若举出具体例,则本方式的突变型RSV F蛋白不易被识别表位I的抗体识别。表位I诱导病毒感染的中和能力显著低的抗体,因此推测若表位I被抗体识别,则由于几乎无助于病毒感染的中和的免疫细胞的激活,反而存在症状恶化的风险,根据后述的实施例可知,不易被识别表位I的抗体识别的本方式的突变型RSV F蛋白的其风险低于以往的疫苗。

[0148] 只要前述突变型RSV F蛋白可发挥以保持表位Φ的保守性优异、促进三聚体化这样的效果及优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果的状态,使表达系统中表达量显著提高这样的效果,以及不易被对病毒感染的中和没有或欠缺效果的抗体识别这样的效果,则前述疏水性氨基酸没有特别限定,具体而言,可例示出丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸。其中,优选选自缬氨酸、异亮氨酸、及亮氨酸组成的组。

[0149] 需要说明的是,序列号1中的189位为序列号2的137位的氨基酸,序列号1的190位为序列号2的138位的氨基酸,在序列号2或与其具有85%以上、90%以上或95%以上同一性的氨基酸序列中,这些氨基酸中的一者或两者的突变可以在上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、及/或60位的谷氨酸的突变的基础上进行导入。

[0150] 另外,序列号1中的189位为序列号3的164位的氨基酸,序列号1的190位为序列号3的165位的氨基酸,在序列号3或与其具有85%以上、90%以上或95%以上同一性的氨基酸序列中,这些氨基酸中的一者或两者的突变可以在上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、60位的谷氨酸的突变、及/或弗林蛋白酶识别位点的突变的基础上进行导入。

[0151] 本发明的一个方式可以为下述突变型RSV F蛋白,其中,除了上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、60位的谷氨酸的突变、及/或弗林蛋白酶识别位点的突变以外,进一步地,与序列号1的氨基酸序列的42位的赖氨酸相当的氨基酸被取代成精氨酸、及/或、与384位的缬氨酸相当的氨基酸被取代成苏氨酸。

[0152] 本方式的突变型RSV F蛋白可发挥下述效果:以保持表位Φ的保守性优异、三聚体化促进这样的效果及优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果的状态,使表达系统中表达量显著提高。

[0153] 需要说明的是,序列号1中的42位为序列号2的17位的氨基酸,序列号1的384位为序列号2的332位的氨基酸,在序列号2或与其具有90%以上同一性的氨基酸序列中,这些氨基酸中的一者或两者的突变可在上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、及/或60位的谷氨酸的突变、以及上述189位及/或190位的突变的基础上进行导入。

[0154] 另外,序列号1中的42位为序列号3的17位的氨基酸,序列号1的384位为序列号3的359位的氨基酸,在序列号3或与其具有90%以上同一性的氨基酸序列中,这些氨基酸中的

一者或两者的突变可在上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、60位的谷氨酸的突变、及/或弗林蛋白酶识别位点的突变、以及上述189位及/或190位的突变的基础上进行导入。

[0155] 对于前述突变型RSV F蛋白而言,只要不妨碍前述突变型RSV F蛋白的效果,还可以包含已知的突变。例如,还可以包含为了提高表达系统中表达量的突变。具体而言,可例示出选自与序列号1的氨基酸序列的102位的脯氨酸相当的氨基酸被取代成丙氨酸、与379位的异亮氨酸相当的氨基酸被取代成缬氨酸、及与447位的甲硫氨酸相当的氨基酸被取代成缬氨酸组成的组中的一种以上的取代。

[0156] 需要说明的是,序列号1中的102位为序列号2的77位的氨基酸,序列号1的379位为序列号2的327位的氨基酸,序列号1的447位为序列号2的395位的氨基酸,在序列号2或与其具有85%、90%或95%以上同一性的氨基酸序列中,这些氨基酸中的一者或两者的突变可在上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、及/或60位的谷氨酸的突变、以及上述189位及/或190位的突变、42位及/或384位的突变的基础上进行导入。

[0157] 另外,序列号1中的102位为序列号3的77位的氨基酸,序列号1的379位为序列号3的354位的氨基酸,序列号1的447位为序列号3的422位的氨基酸,在序列号3或与其具有85%、90%或95%以上同一性的氨基酸序列中,这些氨基酸中的一者或两者的突变可在上述将亮氨酸取代成半胱氨酸的突变、60位的谷氨酸的突变、及/或弗林蛋白酶识别位点的突变、以及上述189位及/或190位的突变、42位及/或384位的突变的基础上进行导入。

[0158] 本发明的突变型RSV F蛋白的具体方式为包含序列号6~9中任一者的氨基酸序列的突变型RSV F蛋白。具体而言,包含下述的氨基酸突变。

[0159] 序列号6(FH_50中所含的突变型RSV__F蛋白)的氨基酸序列是在序列号3中,序列号1的141位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的373位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的135位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的136位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的189位的苏氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的190位的丝氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的102位的脯氨酸被取代成丙氨酸、序列号1的379位的异亮氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的447位的甲硫氨酸被取代成缬氨酸而得的氨基酸序列。此处,实际上,序列号6的氨基酸序列被分为F2多肽的氨基酸序列、pep27添加F1多肽(胞外区)的氨基酸序列,此处表示为将它们结合而得的一个氨基酸序列。因此,计算下述的氨基酸序列的同一性的情况下,与依次结合对象蛋白的F2多肽的氨基酸序列和pep27添加F1多肽(胞外区)的氨基酸序列而得的氨基酸序列进行比较。以下同样。

[0160] 序列号7(FH_81中所含的突变型RSV__F蛋白)的氨基酸序列是在序列号3中,序列号1的141位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的373位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的135位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的136位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的189位的苏氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的190位的丝氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的60位的谷氨酸被取代成甲硫氨酸、序列号1的102位的脯氨酸被取代成丙氨酸、序列号1的379位的异亮氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的447位的甲硫氨酸被取代成缬氨酸而得的氨基酸序列。

[0161] 序列号8(FH_82中所含的突变型RSV__F蛋白)的氨基酸序列是在序列号3中,序列号1的141位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的373位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的135位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的136位的精氨酸被取代成天冬酰胺、

序列号1的189位的苏氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的190位的丝氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的42位的赖氨酸被取代成精氨酸、序列号1的384位的缬氨酸被取代成苏氨酸、序列号1的102位的脯氨酸被取代成丙氨酸、序列号1的379位的异亮氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的447位的甲硫氨酸被取代成缬氨酸而得的氨基酸序列。

[0162] 序列号9 (FH_85中所含的突变型RSV__F蛋白)的氨基酸序列是在序列号3中,序列号1的141位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的373位的亮氨酸被取代成半胱氨酸、序列号1的135位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的136位的精氨酸被取代成天冬酰胺、序列号1的189位的苏氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的190位的丝氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的60位的谷氨酸被取代成甲硫氨酸、序列号1的42位的赖氨酸被取代成精氨酸、序列号1的384位的缬氨酸被取代成苏氨酸、序列号1的102位的脯氨酸被取代成丙氨酸、序列号1的379位的异亮氨酸被取代成缬氨酸、序列号1的447位的甲硫氨酸被取代成缬氨酸而得的氨基酸序列。

[0163] 本发明的一个方式为突变型RSV F蛋白,其中,在与序列号6~9中任一者的氨基酸序列具有85%以上的同一性、优选90%以上的同一性、更优选95%以上的同一性的氨基酸序列中,各自包含上述的氨基酸的取代,前述突变型RSV F蛋白在前述半胱氨酸间形成二硫键,具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力。

[0164] 需要说明的是,与规定的氨基酸序列具有规定的同一性的氨基酸序列的定义与上述的内容相同。

[0165] (融合蛋白)

[0166] 本发明的另一方式为融合蛋白,其包含前述突变型RSV F蛋白和至少多聚化结构域。

[0167] 融合蛋白可以包含除突变型RSV F蛋白及多聚化结构域以外的多肽,除该突变型RSV F蛋白及多聚化结构域以外的多肽只要不妨碍前述突变型RSV F蛋白的效果,则没有特别限定,具体而言,可例示出凝血酶切割基序等基序、His-标签、StrepTagII等纯化用标签。

[0168] 多聚化结构域只要为突变型RSV F蛋白进行多聚化所需的多肽,则没有特别限制,可例示出用于三聚体化的折叠子结构域(Yizhi Tao等,1997.Structure 5(6):789)(Frank S等,2001.Journal of molecular biology 308(5):1081)。

[0169] 作为折叠子结构域,可例示出源自T4噬菌体的次要纤维蛋白(fibrin)的折叠子结构域。作为其氨基酸序列,可例示出序列号21的氨基酸序列。

[0170] 作为融合蛋白的例子,可举出在具有序列号6~9的氨基酸序列的、突变型RSV F蛋白的C末端连接折叠子结构域而得的融合蛋白。

[0171] 具体而言,可举出具有序列号10~13的氨基酸序列的融合蛋白。

[0172] 实际上,序列号10~13的氨基酸序列被分为F2多肽的氨基酸序列、和pep27添加F1多肽(胞外区)的C末端连接折叠子结构域而得的氨基酸序列,此处表示为将它们结合而得的一个氨基酸序列。

[0173] (多聚体)

[0174] 本发明的另一方式为前述融合蛋白的多聚体。前述多聚体是前述融合蛋白介由折叠子结构域等多聚化结构域缔合而成的。优选多聚体为前述融合蛋白的三聚体。

[0175] (多核苷酸)

[0176] 本发明的另一方式为多核苷酸,其编码前述突变型RSV F蛋白、或前述融合蛋白。

[0177] 编码前述突变型RSV F蛋白的多核苷酸可参考编码突变导入前的RSV F蛋白的多核苷酸序列(序列号74),利用标准的基因工程技术,以导入所期望的突变的多核苷酸的形式获得。

[0178] 另外,编码前述融合蛋白的多核苷酸也可使用编码前述突变型RSV F蛋白的多核苷酸、及编码除该突变型RSV F蛋白以外的多肽的多核苷酸,利用标准的基因工程技术获得。

[0179] 具体而言,作为用于使本发明的融合蛋白表达并在宿主中产生的多核苷酸序列,可例示出序列号14~17的多核苷酸序列。

[0180] 序列号14为用于使具有序列号10的氨基酸序列的融合蛋白表达并在宿主中产生的多核苷酸序列,在编码该融合蛋白的序列的5'末端侧添加有编码信号肽的序列。

[0181] 序列号15为用于使具有序列号11的氨基酸序列的融合蛋白表达并在宿主中产生的多核苷酸序列,在编码该融合蛋白的序列的5'末端侧添加有编码信号肽的序列。

[0182] 序列号16为用于使具有序列号12的氨基酸序列的融合蛋白表达并在宿主中产生的多核苷酸序列,在编码该融合蛋白的序列的5'末端侧添加有编码信号肽的序列。

[0183] 序列号17为用于使具有序列号13的氨基酸序列的融合蛋白表达并在宿主中产生的多核苷酸序列,在编码该融合蛋白的序列的5'末端侧添加有编码信号肽的序列。

[0184] 需要说明的是,只要可编码预期的氨基酸,各密码子可任意使用。例如,编码Gly的密码子有GGT、GGC、GGA、GGG这4种,可以使用其中的任一种。另外,各密码子可以进行优化,也可以不优化,优选进行了优化。

[0185] 对于编码突变型RSV F蛋白的多核苷酸而言,只要编码包含上述特定的突变、具有诱导针对RSV的pre型F蛋白的抗体的能力的突变型RSV F蛋白,则可以认为与具有这些多核苷酸序列的互补序列的多核苷酸在严格条件下进行杂交的多核苷酸。此处,严格条件例如可举出Southern杂交之后,以68℃、0.1×SSC、与0.1%SDS相当的盐浓度进行洗涤的条件。

[0186] (表达单元)

[0187] 本发明的另一方式为表达单元,其包含前述多核苷酸。

[0188] 前述表达单元只要包含使前述多核苷酸表达的机构即可,例如,可包含启动子序列、转录终止信号序列等表达所需的要素,可以为用于标准的基因工程技术的表达单元。表达单元例如可以包含在重组载体中。作为重组载体,可例示出质粒载体、病毒载体,可举出能够在原核细胞中表达的载体、能够在真核细胞中表达的载体、能够在源自哺乳动物的细胞中表达的载体。

[0189] (宿主细胞)

[0190] 本发明的另一方式为宿主细胞,其包含前述表达单元。优选为用包含前述表达单元的重组载体转化而得的宿主细胞。

[0191] 作为前述宿主细胞,只要由前述表达单元表达前述多核苷酸所表达的蛋白质,则没有特别限定,可以为用于标准的基因工程技术的宿主细胞。具体而言,可例示出大肠杆菌、枯草芽孢杆菌这样的原核细胞、真核细胞、源自哺乳动物的细胞。

[0192] 向宿主细胞导入多核苷酸可使用磷酸钙法、DEAE葡聚糖法、电穿孔法、脂质体转染法等已知的手段而进行。

[0193] 通过以适宜的条件培养宿主细胞,能够表达前述突变型RSV F蛋白或融合蛋白,产生前述突变型RSV F蛋白、融合蛋白或它们的多聚体。所产生的前述突变型RSV F蛋白、融合蛋白或它们的多聚体可利用已知的手段进行纯化。

[0194] (免疫原)

[0195] 本发明的另一方式为免疫原,其包含前述突变型RSV F蛋白、前述融合蛋白、前述多聚体、或下述粒子化体。

[0196] 即,前述突变型RSV F蛋白、前述融合蛋白、前述多聚体、或前述粒子化体可作为免疫原而使用。该免疫原只要不妨碍前述突变型RSV F蛋白的效果,可以包含前述突变型RSV F蛋白、前述融合蛋白、前述多聚体、或前述粒子化体中的任1种,可以包含任意2种,也可以包含全部。其中,优选多聚体,特别优选三聚体,还优选粒子化体,可用作免疫原。多聚体的制造如上所述,以下对粒子化体进行详细说明。需要说明的是,本发明的免疫原可以包含标准的免疫原所含的防腐剂、赋形剂等。

[0197] (粒子化体)

[0198] 本发明的另一方式为前述突变型RSV F蛋白或前述多聚体的粒子化体。

[0199] 粒子化体只要是突变型RSV F蛋白或多聚体聚集2个以上形成粒子而得的、能够效率良好地诱导中和能力高的抗体,则没有特别限制,例如,是前述突变型RSV F蛋白或前述多聚体介由粒子化结构域聚集2个以上形成粒子而得的。此处,粒子化体及粒子的形状并非一定限于球状,只要朝向一定方向聚集足矣。

[0200] 即,优选的是:进一步地使粒子化结构域与前述突变型RSV F蛋白或前述融合蛋白融合,前述突变型RSV F蛋白或前述融合蛋白的多聚体介由该粒子化结构域聚集而形成粒子。

[0201] 优选使用前述突变型RSV F蛋白或前述融合蛋白的C末端结合有粒子化结构域而得的粒子化体制备用融合蛋白,使其粒子化。粒子化体制备用融合蛋白在后文进行叙述。

[0202] 粒子化体中,优选前述粒子化结构域存在于突变型RSV F蛋白或多聚体的立体结构上较之表位 Φ 更靠近表位I的位置。即优选的是:通过粒子化结构域聚集而构成核心(core),突变型RSV F蛋白或多聚体的表位I存在于内侧,表位 Φ 暴露于外侧而得的粒子化体。

[0203] 因此,本发明的一个方式的粒子化体是突变型RSV F蛋白或多聚体介由粒子化结构域以至少RSV F蛋白的表位 Φ 暴露、至少RSV F蛋白的表位I不暴露的方式聚集2个以上而得的粒子化体。此处,“表位I不暴露的方式”是指无需表位I完全不暴露,只要为抗体、各种免疫细胞对表位I的可及性降低的程度即可。

[0204] 本发明的粒子化体的一个方式中,突变型RSV F蛋白的表位 Φ 与表位I处于该蛋白质的立体结构上的两极,通过使形成核心的粒子化结构域较之表位 Φ 更靠近表位I,可形成作为不需要的表位的表位I作为抗原被掩盖,而作为有用表位的表位 Φ 容易作为抗原发挥功能的结构。此处,不需要的表位意味着,将该突变型RSV F蛋白、其融合蛋白、它们的多聚体、或它们的粒子化体用作免疫原时,在人类中通常诱导RSV病毒感染中和能力低的抗体的表位,具体而言,可举出表位I。另一方面,有用表位意味着,将该突变型RSV F蛋白、其融合蛋白、它们的多聚体、或它们的粒子化体用作免疫原时,在人类中通常诱导RSV病毒感染中和能力高的抗体的表位,具体而言,可举出表位 Φ 、表位V。通过成为该结构,发挥通过空间

位阻效应降低抗体、各种免疫细胞对不需要的表位的可及性的效果。

[0205] 用于粒子化的粒子化结构域是使突变型RSV F蛋白或多聚体粒子化的多肽,可举出可结合于支架粒子的多肽(例:支架粒子结合肽)、可疏水聚集的多肽(例:疏水性肽链)、或具有自缔合性的多肽(例:自缔合性肽)等。

[0206] 首先,对使用了支架粒子的粒子化的方式进行说明。即,支架粒子结合突变型RSV F蛋白或多聚体而得的方式。

[0207] 作为支架粒子的材料,没有特别限制,可举出具有粒子形成能力的蛋白质、脂质双层膜、包膜、脂质体、Niosomes、病毒小体(virosome)、ferrosome、金纳米粒子、树脂、二氧化硅、高分子胶束、凝胶等。

[0208] 作为具有粒子形成能力的蛋白质的例子,可举出形成VLP(病毒样颗粒,Virus-like particle)、VP(病毒颗粒,Virus Particle)的、病毒蛋白、病毒蛋白的修饰体(例如,日本特开2004-2313号公报)。例如,可举出以丧失原本对肝细胞的感染能力的方式被修饰、进而以呈递支架分子的方式被修饰而得的B型肝炎病毒表面抗原蛋白,若该蛋白质于真核细胞中表达,则在内质网膜等膜上作为膜蛋白表达、蓄积,以VLP的形式释放。

[0209] 作为支架粒子,更具体而言,可举出源自在B型肝炎病毒表面抗原(HBs抗原)蛋白的PreS区域插入蛋白A的Fc结合结构域(Z结构域)而制作的蛋白质的VLP,例如,可使用Bionanocapsule-ZZ(Beacle公司商品目录编号:BCL-DC-002)。

[0210] 优选支架粒子的表面固定化有与作为粒子化结构域的支架粒子结合肽进行结合的分子(支架分子)。

[0211] 例如,可举出蛋白A的Fc结合结构域,可介由支架粒子结合肽使突变型RSV F蛋白或其多聚体结合。

[0212] 需要说明的是,支架分子与支架粒子结合肽的结合可以为共价结合、非共价结合中的任一种。作为共价结合的例子,可举出被统称为点击化学的手法(可例示出炔(乙炔等)-叠氮键、半胱氨酸-马来酰亚胺键、伯胺-NHS酯键)、产生电荷转移键的手法(可例示出酰肼-醛键)、利用多肽产生共价键的手法(使用SpyTag-SpyCatcher的方法等)等。作为非共价结合的例子,可举出离子相互作用、疏水键、氢键等。

[0213] 具体而言,可举出蛋白质标签与蛋白质标签结合分子的组合(可例示出生物素-抗生物素蛋白、Fc-蛋白A、GST(谷胱甘肽S转移酶,Glutathione S-transferase)-谷胱甘肽、MBP(麦芽糖结合蛋白,Maltose binding protein)-麦芽糖、His标签-镍、SBP标签-链亲和素)、抗体与抗原的组合等。

[0214] 作为支架分子与支架粒子结合肽的组合,优选为IgG1的Fc结构域(序列号30)与蛋白A的Fc结合结构域(Z结构域)的组合。可以将IgG1的Fc结构域用于支架分子,将蛋白A的Fc结合结构域用于支架粒子结合肽,也可以将IgG1的Fc结构域用于支架粒子结合肽,将蛋白A的Fc结合结构域用于支架分子。

[0215] 需要说明的是,上述支架分子或支架粒子结合肽只要可彼此共价结合或非共价结合,则可使用他们的部分片段,或者进行修饰。

[0216] 接着,作为粒子化结构域,对使用了疏水性肽链的粒子化的方式进行说明。

[0217] 该方式中,突变型RSV F蛋白或融合蛋白结合有疏水性肽链,介由该疏水性肽链,突变型RSV F蛋白或融合蛋白形成粒子。

[0218] 疏水性肽链意味着包含疏水性氨基酸,进行自组装而形成该粒子化体的、氨基酸残基数为5~50、优选为10~30的肽链。此处,作为疏水性强的氨基酸,可举出缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸等,更优选为亮氨酸或异亮氨酸。疏水性肽链中的疏水性氨基酸的比例优选为20~60%。

[0219] 疏水性肽链中,优选疏水性氨基酸出现在疏水性肽链的表面。表面的疏水性氨基酸的比例优选为10%以上,但若比率过高,则于细胞内凝集而不被分泌,因此表面的疏水性氨基酸优选为50%以下、30%以下、20%以下。另一方面,内侧的疏水性氨基酸的比率高的情况下,疏水性肽链的结构稳定,故而优选。

[0220] 除疏水性氨基酸以外的氨基酸可以是任意的,但为了提高分泌效果,特别优选包含20%以上的组氨酸。

[0221] 通过将疏水性肽链形成为由7氨基酸形成的肽的重复序列,形成螺旋结构,且容易进行上述设计,故而优选使用。例如,疏水性肽链优选为疏水性氨基酸配置于第1位、第3位、第5位的7个氨基酸形成的肽序列的重复序列。重复数例如为2~5,优选为2~3。

[0222] 作为疏水性肽链的优选例,可举出CC02、CC03、CC07、CC08(依次为序列号40、41、42、43),其中,更优选CC07(序列号42)。

[0223] 接着,作为粒子化结构域,对使用了自缔合性蛋白结构域的粒子化的方式进行说明。

[0224] 该方式中,突变型RSV F蛋白或融合蛋白结合有自缔合性蛋白结构域,介由该自缔合性蛋白结构域,突变型RSV F蛋白或融合蛋白形成粒子。

[0225] 作为具有自缔合性的蛋白质(自组装蛋白,Self-assembly protein)的例子,可举出B型肝炎病毒的核心抗原(HBcAg)、人乳头瘤病毒的衣壳蛋白(HPV L1)、E型肝炎病毒的衣壳蛋白(HEV capsid)、噬菌体Q β 包被蛋白、诺沃克病毒(诺如病毒、NoV)衣壳、细小病毒(Parvovirus)B19衣壳、苜蓿花叶病毒、Feritin、encapsulin等。具有自缔合性的蛋白质可以为具有自缔合性的部分片段,也可以为修饰体。

[0226] 使用HBcAg的情况下,优选的是:与本发明的RSV F蛋白或多聚体进行结合时,使距离用于HBcAg的自缔合的缔合面远的部位、且为自缔合后的外侧的部位与RSV F蛋白或多聚体进行结合。此外,进行了这样的结合的情况下,优选为了获得HBcAg的原本的立体结构而在 α 3结构域的螺旋与 α 4结构域的螺旋之间插入接头。接头例如为10~30氨基酸的多肽,例如,为GS接头。作为这样的HBcAg的修饰体结合有FLAG标签的序列,可举出序列号54。

[0227] <粒子化体制备用融合蛋白>

[0228] 粒子化体制备用融合蛋白为用于制作上述的粒子化体的蛋白质,其包含融合于本发明的突变型RSV F蛋白的C末端、或融合蛋白的C末端的、上述支架粒子结合肽、疏水性肽链、自缔合性蛋白结构域等粒子化结构域。

[0229] 本粒子化体制备用融合蛋白介由粒子化结构域进行聚集从而成为粒子化体。

[0230] 需要说明的是,构成本发明的多聚体的融合蛋白的C末端间的距离因与粒子化结构域结合而发生变化的情况下,可通过在粒子化结构域与该C末端(多聚化结构域)之间插入接头来减小对上述C末端间的距离的影响。接头没有特别限制,优选为5~20氨基酸的肽,更优选为5~10氨基酸的肽。序列只要不妨碍融合蛋白的疫苗效果,则没有特别限制,例如,为由甘氨酸和丝氨酸形成的GS接头。

[0231] 接头的位置只要在突变型RSV F蛋白或融合蛋白的多聚化结构域与粒子化结构域之间即可,可以在接头的前后包含标签序列。标签序列没有特别限制,优选使用蛋白质的纯化中常用的标签序列,例如,可例示出FLAG标签(序列号28)、His-标签(序列号25)、Strep-Tag II(序列号26)等。

[0232] 粒子化体制备用融合蛋白可通过下述方式获得:对于编码突变型RSV F蛋白或融合蛋白的DNA,将编码粒子化结构域的DNA、以及根据需要的编码接头、标签的DNA对齐阅读框而进行连接,并于宿主中使其表达。表达及纯化方法可以与前述突变型RSV F蛋白或融合蛋白的表达及纯化同样的方式进行。

[0233] 作为粒子化体制备用融合蛋白的具体的例子,可举出突变型RSV F蛋白结合有支架粒子结合肽的方式(它们的前体蛋白的序列:序列号31~39、及编码其的多核苷酸序列:序列号57~65)、突变型RSV F蛋白结合有疏水性肽链的方式(它们的前体蛋白的序列:序列号44~49、及编码其的多核苷酸序列:序列号66~71)、突变型RSV F蛋白结合有自缔合性蛋白结构域的方式(它们的前体蛋白的序列:序列号55~56、或编码其的多核苷酸序列:序列号72~73)。

[0234] 需要说明的是,粒子化体制备用融合蛋白可以包含FLAG标签(DYKDDDDK:序列号28)、在FLAG标签添加有3个氨基酸(GGS)而得的标签(GGSDYKDDDDK:序列号29)等标签序列。

[0235] (粒子化体制备方法)

[0236] 粒子化体可通过使用上述中得到的粒子化体制备用融合蛋白使其粒子化之后、根据需要对粒子化体进行纯化而获得。

[0237] 使用支架粒子的情况下,粒子化步骤可通过下述方式进行:将粒子化体制备用融合蛋白与支架粒子混合使其粒子化之后,去除未被粒子化的突变型RSV F蛋白或其产物,对粒子化体进行纯化。作为支架粒子,例如,可使用HBsAg VLP(Beacle公司商品目录编号:BCL-DC-002)。

[0238] 使用包含疏水性肽链的粒子化体制备用融合蛋白的情况下,粒子化步骤可通过下述方式进行:使粒子化体制备用融合蛋白介由疏水性肽链缔合而进行粒子化之后,去除未被粒子化的突变型RSV F蛋白或其产物,对粒子化体进行纯化。

[0239] 使用包含自缔合性蛋白结构域的粒子化体制备用融合蛋白的情况下,粒子化步骤可通过下述方式进行:使粒子化体制备用融合蛋白介由自缔合性蛋白结构域缔合而进行粒子化之后,去除未被粒子化的突变型RSV F蛋白或其产物,对粒子化体进行纯化。

[0240] 本发明的粒子化体中,期望每1个粒子化体结合有例如按三聚体计为2个以上、优选10个以上、更优选20个以上。

[0241] 另外,本发明的粒子化体中,期望每 1nm^2 粒子化体表面积结合有例如按三聚体计为0.0001个以上、优选0.0005个以上、更优选0.001个以上。此处,粒子化体表面积是指将粒子化体假设为以利用动态光散射法测得的理论直径作为直径的球体时的表面积。每单位粒子化体表面积的个数可通过例如用每1粒子化体的个数除以粒子化体表面积的方法而算出。

[0242] 生成粒子化体,选择对表位I的结合能力低、且对表位 Φ 的结合能力高的粒子化体,由此本领域技术人员可选择最优的每1粒子化体的个数、每 1nm^2 粒子化体表面积的个数。

[0243] 需要说明的是,本发明中,用于粒子化的RSV F蛋白或多聚体不限于本发明的突变型RSV F蛋白或多聚体,只要能够作为RSV疫苗而使用,则没有特别限制,也可使用除本发明的突变型RSV F蛋白以外的突变型RSV F蛋白、其多聚体。例如可以为国际公开第2017/172890号、国际公开第2017/109629号中记载的物质。即,本发明的粒子化技术可常规用于RSV F蛋白或其多聚体的粒子化,本发明的粒子化体包含RSV F蛋白或其多聚体的粒子化体,其是RSV F蛋白或其多聚体介由粒子化结构域聚集2个以上形成粒子而得的粒子化体,粒子化结构域、粒子化的方法可适用上述的突变型RSV F蛋白或多聚体的粒子化中进行说明的粒子化结构域、粒子化法。

[0244] (医药组合物)

[0245] 本发明的另一方式为医药组合物,其包含前述表达单元或前述免疫原作为有效成分。

[0246] 前述表达单元或前述免疫原可作为用于RS病毒感染症的预防或治疗的医药组合物。

[0247] 另外,本发明的另一方式为RSV疫苗,其包含前述表达单元或前述免疫原。这也是前述方式的医药组合物为RSV疫苗的方式。

[0248] 前述医药组合物(包含RSV疫苗,以下相同)的施予途径没有特别限定,可用非经口施予(例如,皮内、肌内、皮下、经皮、粘膜)、及经口施予中任一者的施予途径施予至哺乳动物。作为哺乳动物,可例示出人、小鼠、大鼠、兔、犬、猫、牛、猪、猴、黑猩猩等,优选人。

[0249] 前述医药组合物的剂型及其制备方法是本领域技术人员已知的,可通过将前述表达单元或前述免疫原与药学上允许的担载体等配合而制备医药组合物。

[0250] 所谓药学上允许的担载体,例如可举出固体制剂中的赋形剂、润滑剂、粘结剂及崩解剂、或液体制剂中的溶剂、助溶剂、混悬剂、等渗剂、缓冲剂及镇痛剂等。也可根据需要进一步适宜、适量地使用通常的防腐剂、抗氧化剂、着色剂、甜味剂、吸附剂、润湿剂等添加剂。

[0251] 医药组合物可以包含佐剂。作为佐剂,可例示出凝胶型、菌体型、油乳浊液型、高分子纳米粒子型、合成型、细胞因子型等。

[0252] 作为凝胶型,可例示出氢氧化铝、磷酸铝、磷酸钙等。

[0253] 作为菌体型,可例示出CpG、霍乱毒素、大肠杆菌热敏毒素、百日咳毒素、胞壁酰二肽(Muramyl dipeptide;MDP)等。

[0254] 作为油乳浊液型,可例示出弗氏不完全佐剂、MF59、SAF等。

[0255] 作为高分子纳米粒子型,可例示出免疫刺激复合物、脂质体、生物降解性微球、源自皂苷的QS-21等。

[0256] 作为合成型,可例示出非离子性嵌段共聚物、胞壁酰肽(muramyl peptide)类似物、聚磷腈(polyphosphazene)、合成多核苷酸等。

[0257] 作为细胞因子型,可例示出IFN- γ 、IL-2、IL-12等。

[0258] 用于非经口施予的剂型可例示出注射用制剂(例如,滴注剂、静脉注射剂、肌肉注射剂、皮下注射剂、皮内注射剂、脑内施予制剂、椎管内施予制剂)、外用制剂(例如,软膏剂、巴布剂、洗剂(Lotion))、栓剂吸入剂、眼用制剂、眼软膏剂、滴鼻剂、滴耳剂、脂质体剂等。

[0259] 用于经口施予的剂型可例示出固体或液体测定剂型,具体而言,片剂、包衣片剂、丸剂、细粒剂、颗粒剂、散剂、胶囊剂、糖浆剂、乳剂、悬浮剂、含片剂等。

[0260] 本发明的医药组合物优选为液体的剂型,优选注射剂。

[0261] 前述医药组合物的有效施予量可由医师以例如施予途径、疾病的种类、症状的程度、患者的年龄、性别、体重、疾病的重症度、药代动力学及毒理学特征等药理学见解、有无利用药物递送系统、以及是否作为与其他药物的组合的一部分而施予等各种因素为基础而确定。

[0262] 实施例

[0263] 以下记载了实施例,但任一实施例均不是作为限制性意义来解释的实施例。

[0264] (实施例1)

[0265] 使用了半胱氨酸的共价键(二硫键)的形成对蛋白质的结构的稳定化是有用的。现有研究中报道了RSV F蛋白(以下有时称作“F蛋白”)中将pre-F结构稳定化的各种二硫键突变(国际公开第2017/172890号、国际公开第2017/109629号),但由于将作为二级结构成员的氨基酸替换成半胱氨酸、或者在距离远的部分形成二硫键,因此得到的突变体成为与天然结构(可认为是天然型F蛋白在蛋白质表达时所呈的融合前结构)不同的结构的危险大。因此通过将不形成二级结构、且替换成半胱氨酸时的S原子间的距离小于 5\AA 的氨基酸对替换成半胱氨酸来实施结构的稳定化。距离的计算中,使用已公开的结构模型(PDB登录号:4MMS),将任意的2个氨基酸替换成半胱氨酸而产生二面角N-Ca-Cb-S在能量上稳定的构象,算出最短的S原子间的距离(表1)。其结果是,后述的抗原FH_08及FH_09中所含的突变型RSV F蛋白(本说明书中,有时称作“突变蛋白”)的突变点被列为候选。这2个候选由于突变点处的突变前的氨基酸侧链上没有具极性的官能团,因此可认为在没有因丧失天然型F蛋白中存在的极性基团间相互作用(氢键等)而导致结构变得不稳定的风险这一点上也是优异的。需要说明的是,表1中的“L141C”表示序列号1的氨基酸序列中的141位的亮氨酸突变成半胱氨酸。以下,表中使用同样的标记。需要说明的是,F_天然抗原的前体蛋白(序列号4)是在从A2株的天然型F0蛋白中去除了F1多肽的跨膜区与胞内区而得的多肽(序列号1的氨基酸编号1~513)中具有P102A、I379V及M447V的突变的多肽的C末端侧依次融合折叠子结构域(序列号21)、包含凝血酶识别序列、His标签及Strep标签II的序列(序列号22)而得的多肽。本实施例中所有突变体均是以F_天然抗原的前体蛋白为基础制作的,因此具有P102A、I379V及M447V的突变。需要说明的是,F_天然前体蛋白在表达过程中受到加工,信号肽和pep27区域脱落。

[0266] [表1]

抗原名称	突变内容	结构分析结果	
		S原子间距离 (\AA)	二级结构
[0267] F_天然	无	—	
FH_08	L141C, L373C	4.35	无
FH_09	L142C, L373C	4.72	无

[0268] 上述F_天然抗原是以哺乳类细胞为宿主表达编码F_天然抗原的前体蛋白(序列号4)的多核苷酸(序列号5)而制备的。F_天然抗原是F_天然抗原的前体蛋白(序列号4)受到表

达过程的加工之后形成四级结构而得的。可以预测,通过加工,信号肽和pep27区域脱落,剩下的F2多肽序列与F1多肽(胞外区)、折叠子结构域、包含凝血酶识别序列、His标签、Strep-Tag II的序列通过二硫键结合,进而主要基于折叠子结构域产生的结合力而形成同源三聚体。

[0269] 以下示出F天然抗原的具体的制备方法。利用标准的基因工程技术将上述多核苷酸(序列号5)插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达F_天然抗原的前体蛋白的哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0270] F_天然抗原的表达通过使用了Expi293 Expression System(Thermo Fisher Scientific公司)的哺乳类细胞分泌表达来实施。使用作为同试剂盒的基因导入试剂的Expi Fectamin 293 Reagent将经纯化的上述载体导入至Expi293细胞,进行5天左右培养,从而分泌表达编码的F_天然抗原,使用离心分离及孔径0.22 μ m的过滤器仅获取上清液成分。

[0271] F_天然抗原的纯化可通过使用了镍-琼脂糖凝胶HP(Ni Sepharose High Performance)(GE Healthcare公司)的亲和层析来实施。使Ni担载体与用结合缓冲液(20mmol/L Tris-HCl pH7.4, 500mmol/L NaCl, 20mmol/L咪唑)对上述培养上清液成分进行约3倍左右稀释而得的物质彻夜反应之后,供于洗脱缓冲液(20mmol/L Tris-HCl pH7.4, 500mmol/L NaCl, 500mmol/L咪唑)使各抗原洗脱。然后,使用超滤膜来将溶剂置换成PBS(pH7.4),作为F_天然抗原使用。

[0272] 与上述同样地准备编码抗原FH_08的前体蛋白的多核苷酸,前述FH_08的前体蛋白是在F_天然抗原的前体蛋白中导入L141C和L373C的双重突变而得的。另外,与上述同样地准备编码抗原FH_09的前体蛋白的多核苷酸,前述抗原FH_09的前体蛋白是在F_天然抗原的前体蛋白中导入L142C和L373C的双重突变而得的。用上述的方法表达、纯化这些前体蛋白,制备抗原FH_08、及FH_09。

[0273] 各抗原对各抗体的结合性使用Octet QK384(ForteBio公司)、在PBS(pH7.4)、25 $^{\circ}$ C、1000rpm的条件下进行测定。将各抗体溶液供给于用PBS(pH7.4)平衡化的蛋白A传感器芯片(ForteBio公司)180sec,从而使各抗体结合于传感器芯片,然后将供给各抗原溶液180sec时的检测值的上升量作为各抗原针对各抗体的结合信号的值。供给至传感器芯片的抗体使用了能够特异性检测表位 Φ 的D25抗体。结合信号的值通过求出与使用了能够不依赖于F抗原的构象变化而进行结合的帕利珠单抗(Palivizumab)(Synagis肌肉注射液、艾伯维)时的结合信号的值之比来进行标准化。

[0274] 通过以上操作,得到下述结果:显示包含在2处导入半胱氨酸点突变以形成二硫键的突变蛋白的抗原FH_08及FH_09与包含该突变导入前的F蛋白的F_天然抗原相比,表位 Φ 的保守性显著提高(图1)。

[0275] (实施例2)

[0276] 已报道了天然型F蛋白首先受到第1弗林蛋白酶识别位点的切割而形成单体结构,然后受到第2弗林蛋白酶识别位点的切割而使pep27区域消失,从而促进三聚体化(Anders Krarup等,2015.Nature communications 6:8143)。然而,认为在从自然中分离的病毒株间,pep27区域的序列长度及氨基酸的种类高度保守,因此其反而可能会对抗原的立体结构

形成具有不可欠缺的效果。因此,决定在第2弗林蛋白酶识别位点导入突变以抑制pep27区域的切割,并研究该突变对三聚体形成的效果。下述中制作的各抗原的前体蛋白的突变内容归纳于表2中。表2中的“FH_08+R135N,R136N”表示在抗原FH_08的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的135位的精氨酸突变成天冬酰胺、且136位的精氨酸突变成天冬酰胺。“FH_09+R135N,R136N”表示在抗原FH_09的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的135位的精氨酸突变成天冬酰胺、且136位的精氨酸突变成天冬酰胺。需要说明的是,抗原FH23~25中,将抗原FH08的前体蛋白中的pep27 (p27) 序列取代成各种GS接头。GS接头使用了GSGSGS (序列号18)、(GGGGS)₂ (序列号19)、(GGGGS)₃ (序列号20)。

[0277] [表2]

抗原名称	突变内容
FH_08	L141C, L373C
FH_09	L142C, L373C
[0278] FH_23	将FH_08的p27序列取代成GSGSGS (序列号18)
FH_24	将FH_08的p27序列被取代成(GGGGS) ₂ (序列号19)
FH_25	将FH_08的p27序列取代成(GGGGS) ₃ (序列号20)
FH_21	FH_08 + R135N, R136N
FH_22	FH_09 + R135N, R136N

[0279] 利用标准的基因工程技术将编码上述各抗原的前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各抗原的前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0280] 各抗原的表达及纯化以与实施例1同样的操作来实施。

[0281] 各抗原对各抗体的结合性与也以与实施例1同样的操作来测定,但作为供给至传感器芯片的抗体,追加能够检测pre-F的三聚体形成的AM14抗体。D25抗体及AM14抗体的结合信号的值通过求出与使用了能够不依赖于F抗原的构象变化而进行结合的Synagis抗体(艾伯维、Synagis肌肉注射液)时的结合信号的值之比来进行标准化。

[0282] 通过以上操作,得到下述结果:显示包含在第2弗林蛋白酶识别位点追加突变而得的突变蛋白的抗原FH_21、FH_24、FH_25与追加突变前的抗原FH_08相比,以保持表位Φ的保守性的状态,三聚体的形成提高。其中,与将pep27区域取代成人造接头的抗原(FH_24,FH_25)相比,更接近F_天然抗原的pep27区域的抗原FH_21的三聚体形成显著提高(图2、图3)。

[0283] (实施例3)

[0284] F_天然抗原的前体蛋白的189位与190位的氨基酸为苏氨酸和丝氨酸,鉴于在侧链具有羟基这一点,为亲水性氨基酸。然而,存在于189~190位的氨基酸的立体结构上的近端的氨基酸为57位的异亮氨酸、167位的异亮氨酸、171位的亮氨酸、179位的缬氨酸、260位的亮氨酸等,它们均为疏水性氨基酸,因此认为可能会损害结构的稳定性。为此,考虑了通过使189~190位的氨基酸突变成疏水性氨基酸(缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸)来使结构稳定化、有助于提高表达量的可能性。下述中制作的各抗原的前体蛋白的突变内容归纳于表3中。表

3中的“FH_21+T189I”表示在抗原FH_21的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的189位的苏氨酸突变成异亮氨酸。“FH_21+T189V”表示在抗原FH_21的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的189位的苏氨酸突变成缬氨酸。“FH_21+T189I,S190V”表示在抗原FH_21的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的189位的苏氨酸突变成异亮氨酸、190位的丝氨酸突变成缬氨酸。“FH_21+T189L,S190V”表示在抗原FH_21的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的189位的苏氨酸突变成亮氨酸、190位的丝氨酸突变成缬氨酸。“FH_21+T189V,S190V”表示在抗原FH_21的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的189位的苏氨酸突变成缬氨酸、190位的丝氨酸突变成缬氨酸。“FH_50+K42R,V384T”表示在抗原FH_50的前体蛋白中,进一步地,序列号1的氨基酸序列中的42位的赖氨酸突变成精氨酸、384位的缬氨酸突变成苏氨酸。进一步地,提取天然的病毒分离株中发生的点突变,分别进行各个突变的研究,结果观察到基于2个点突变(K42R,V384T)提高表达量的效果,因此决定也一并导入该突变进行研究。

[0285] [表3]

抗原名称	突变内容
FH_21	L141C, L373C, R135N, R136N
FH_55	FH_21 + T189I
FH_53	FH_21 + T189V
FH_52	FH_21 + T189I, S190V
FH_51	FH_21 + T189L, S190V
FH_50	FH_21 + T189V, S190V
FH_82	FH_50 + K42R, V384T

[0287] 利用标准的基因工程技术将编码上述各抗原的前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各抗原的前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0288] 各抗原的表达及纯化以与实施例2同样的操作来实施。

[0289] 各抗原的表达量通过使用了标准的分光光度计的吸光度测定来进行测定。使用纯化后的抗原溶液的吸光度(280nm)A₂₈₀、由氨基酸一级序列信息推算的摩尔吸光系数 ϵ 和分子量M、纯化后的抗原溶液量V_p、表达培养液量V_c,算出每单位表达培养体积的表达量y($y = A_{280} \times M / \epsilon \times V_p / V_c$)。

[0290] 各抗原对D25抗体及AM14抗体的结合性以与实施例2同样的操作来测定。

[0291] 通过以上操作,得到下述结果:显示追加189~190位向疏水性氨基酸(V、I、L)的突变而得的各抗原FH_50、FH_51、FH_52、FH_53、FH_55与追加突变前的抗原FH_21相比,以保持表位 Φ 的保守性和三聚体的形成的状态,表达量显著提高。还得到下述结果:显示追加从自

然界的病毒中可能发生的天然突变中提取的2个点突变(K42R、V384T)而得的抗原FH_82以保持表位Φ的保守性和三聚体的形成的状态,表达量进一步显著提高(图4、图5、图6)。

[0292] (实施例4)

[0293] 已知F_天然的前体蛋白的60位的氨基酸为谷氨酸,属于酸性氨基酸,因此通常在溶剂为中性的条件下带负电荷。认为该氨基酸在立体结构上与同样在中性条件下带负电荷的194位的天冬氨酸邻接,可能由于负电荷的接近而使结构变得不稳定。因此决定在F_天然的前体蛋白的氨基酸序列中,实施将60位的氨基酸变更为除酸性氨基酸以外的氨基酸的突变。其中,将60位的氨基酸变更为天冬酰胺时,为了避免使60~62位的氨基酸成为通常已知的N型糖链结合基序(Asn-X-Ser/Thr),同时将62位的氨基酸由丝氨酸变更为丙氨酸。下述中制作的抗原的前体蛋白的突变内容归纳于表4。

[0294] [表4]

抗原名称	突变内容
F_天然	无
FH_124	E60R
FH_125	E60M
FH_126	E60F
FH_57	E60A
FH_58	E60H
FH_59	E60I
FH_60	E60L
FH_61	E60N, S62A
FH_62	E60Q
FH_63	E60S
FH_64	E60T
FH_65	E60V
FH_66	E60W
FH_67	E60Y

[0296] 利用标准的基因工程技术将编码上述各抗原的前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各抗原的前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0297] 各抗原的表达及纯化以与实施例2同样的操作来实施。

[0298] 各抗原对D25抗体及AM14抗体的结合性以与实施例2同样的操作来测定。

[0299] 通过以上操作,得到下述结果:显示将60位变更为M、F、L、S、T时,表位Φ的保守性和三聚体的形成提高(图7、图8)。

[0300] (实施例5)与现有产品的比较

[0301] 作为使F抗原的pre-F稳定化的技术而最多报道的突变之一,有DS-Cav1突变(S155C、S290C、S190F、V207L)(Jason S.McLellan等,2013.Science 342:592)。因此,对前述的实施例中发现的有用的抗原FH_50及抗原FH_50中进一步导入有用的突变而得的表5中记载的抗原、与导入DS-Cav1突变而得的抗原F_DS-Cav1进行比较。另外,也一并制作已知形成post-F三聚体结构的抗原 Δ FP furin_{wt}F_{ecto}(Kurt A.Swanson等,2014.Journal of Virology.88(20):11802),用于抗原的评价。将下述中制作的抗原的前体蛋白的突变内容归纳于表5。抗原FH_81~85的前体蛋白是在抗原FH_50的前体蛋白中分别导入E60M、K42R+V384T或E60M+K42R+V384T的突变而得的。

[0302] [表5]

抗原名称	突变内容
[0303] F_DS-Cav1	S155C, S290C, S190F, V207L
FH_50	L141C, L373C, R135N, R136N, T189V, S190V
FH_81	FH_50 + E60M
FH_82	FH_50 + K42R, V384T
FH_85	FH_50 + E60M, K42R, V384T

[0304] 利用标准的基因工程技术将编码上述各抗原的前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。抗原F_DS-Cav1的前体蛋白为由序列号23形成的氨基酸序列, Δ FP furin_{wt}F_{ecto}的前体蛋白为由序列号24形成的氨基酸序列。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各抗原的前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0305] 各抗原的表达及纯化以与实施例2同样的操作来实施。

[0306] 各抗原的表达量以与实施例3同样的操作来实施。

[0307] (抗体结合性试验)

[0308] 各抗原对各抗体的结合性以与实施例2同样的操作来测定,作为供给至传感器芯片的抗体,追加识别表位I的131-2A抗体。D25抗体、AM14抗体及131-2A抗体的结合信号的值通过求出与使用了能够不依赖于F抗原的构象变化而进行结合的Synagis抗体(艾伯维、Synagis肌肉注射液)时的结合信号的值之比来进行标准化。

[0309] 通过以上操作,得到下述结果:显示抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85与现有文献的抗原F_DS-Cav1相比,表位Φ的保守性和三聚体的形成变化不大,而另一方面,不太能检测到已知诱导病毒感染中和能力显著较低的抗体的表位I(图9、图10、图11)。这暗示了,虽然疫苗存在由于激活几乎无助于病毒中和的免疫细胞反而使症状恶化的风险,但新发现的突变的导入与DS-Cav1突变的导入相比,其风险较低。

[0310] (人血清中的病毒中和抗体的吸附试验)

[0311] 通过先前的操作,显示抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85可能具有抑制无助于病毒中和的免疫的诱导的效果。为了进一步详细研究该效果,使用健康成人血清,针对抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85及F_DS-Cav1,就与健康成人血清中的何种抗体结合进行了研究。

[0312] 针对3人份的健康成人血清,实施使用了磁珠Dynabeads His-Tag Isolation and Pulldown(Thermo Fisher Scientific,10103D)的抗原吸附操作。首先,将20 μ g的抗原F_DS-Cav1、FH_50、FH_81、FH_82或FH_85供给至用PBS(pH7.4)洗涤了2次的、珠液45 μ L份量的珠子并使其结合后,用牛血清白蛋白封闭。接着向用PBS(pH7.4)对各健康成人血清100 μ L进行10倍稀释而得的物质添加珠子进行孵育(4 $^{\circ}$ C、1小时、旋转)后,取出珠子,由此实施结合于抗原的抗体的去除。

[0313] 为了确认结合于Post-F的抗体(被认为病毒感染中和能力比较低的抗体)以何种程度进行了结合,实施将抗原 Δ FP furin_{wt} F_{ecto}固相化的ELISA试验。抗原结合缓冲液使用碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液(Carbonate-Bicarbonate Buffer)(Sigma-Aldrich,C3041-50CAP),样品的稀释及培养板的洗涤使用TBS(TaKaRa,T9142)。向96半孔板添加2.0pmol的抗原 Δ FP furin_{wt} F_{ecto}添加直接进行固相化,用牛血清白蛋白封闭。向健康成人血清或抗原吸附操作后的健康成人血清适当地添加缓冲液,从而制作4倍稀释系列,添加于培养板中进行孵育(室温、1小时、静置)。然后去除稀释血清,使过氧化物酶结合抗人IgG抗体(Jackson Immuno Research,709-035-149)结合,进一步用标准的过氧化物酶检测试剂显色后,用利用标准的微孔板检测仪进行的吸光度测定来求出显色的强度。测定点间进行分段线性插值从而求出血清的稀释率与吸光度的关系,将吸光度成为0.2的稀释率的倒数作为结合于Post-F的抗体的抗体效价,将吸附操作前的血清的抗体效价设为100%时的吸附操作后的血清的抗体效价的减少量的相对值作为吸附率(图12)。

[0314] 为了确认通过吸附操作以何种程度去除了具有病毒感染中和能力的抗体,实施使用了RS病毒(ATCC,VR-1540)及Vero细胞(ATCC,CCL-81)的感染评价。向健康成人血清或抗原吸附操作后的健康成人血清适当地添加PBS(pH7.4),从而制作5倍稀释系列,将RS病毒混合并进行孵育(室温、30分钟、静置)后,在96孔板的各孔中以 4×10^4 细胞量接种,添加进行了1天培养的Vero细胞,进行孵育(37 $^{\circ}$ C、湿度、2小时、静置)。然后,去除病毒液后,每1孔中添加100 μ L的下述培养基,继续进行孵育(37 $^{\circ}$ C、湿度、16小时、静置),所述培养基是在DMEM,高葡萄糖(Thermo Fisher Scientific,11965)中添加各为1%(v/v)的丙酮酸钠溶液(Nacalai,06977-34)及抗菌-抗真菌剂混合原液(Antibiotic-Antimycotic Mixed Stock Solution)(Nacalai,09366-44)而得的。接着,用多聚甲醛固定细胞,对于已用Triton X-100(Nacalai,35501-15)进行了透过处理的细胞,使用抗-RSV抗体,融合蛋白,所有A型、B型毒株,克隆133-1H,Alexa Fluor 488(Merck,MAB8262X)及Heochst33258(Dojindo,343-07961)对感染细胞及全部细胞的核进行染色,使用成像仪IN Cell Analyzer(GE Healthcare公司)对感染细胞区域中的核的数量进行计数,作为病毒感染细胞数。各血清的稀释率x与感染数y的关系通过以S形曲线($y = Y_{max} / (1 + (x/IC_{50})^C$)来对实验结果进行拟合(基于最小平方误差法适用)而求出,将IC₅₀的倒数作为病毒感染中和效价。将吸附操作前的血清的病毒感染中和效价设为100%时的吸附操作后的病毒感染中和效价的减少量的相对值作为吸附率(图13)。

[0315] 通过以上操作,显示抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85与现有文献的抗原F_DS-Cav1相比,存在于健康成人血清中的post-F识别抗体的结合性低,吸附操作中只能结合一半左右的抗体。尽管如此,还显示对于有助于病毒感染中和能力的抗体,与F_DS-Cav1同样地几乎全部进行了结合,吸附操作中剩余的抗体几乎没有病毒感染中和能力。以上的结果暗示

了,新发现的突变与DS-Cav1突变的导入相比,对病毒感染中和没有效果的抗体的结合少,作为疫苗抗原使用时,诱导无助于病毒感染防御的抗体的风险低。

[0316] (以小鼠免疫诱导的抗体的验证)

[0317] 通过先前的操作,暗示了突变蛋白具有抑制无助于病毒中和的免疫的诱导的效果。为了进一步详细研究该效果,实施通过用抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85或F_DS-Cav1对小鼠进行免疫而诱导的抗体的分析。

[0318] 小鼠免疫血清通过用各突变蛋白对BALB/cAnNCr1Crlj(Charles River Laboratories Japan, Inc.) (雌性、7周龄)进行免疫而获取。将溶解于PBS (pH7.4)的抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85或F_DS-Cav1(抗原浓度:0.80mg/mL)与氢氧化铝(InvivoGen, vac-alu-250)各自以等量充分混合,将得到的液体于饲养第0天及饲养第21天以50 μ L肌内施予至小鼠的后肢大腿部(每1组设为5只)。饲养第42天,从后大静脉获取血液,获取的血液在进行孵育(室温、约2小时、静置)后进行离心分离,回收血清,进行灭活(55 $^{\circ}$ C、30min),制成小鼠免疫血清。

[0319] 为了确认以何种程度的比例诱导了与融合后构象结合的抗体,针对各小鼠免疫血清,实施使用了磁珠Dynabeads His-Tag Isolation and Pulldown(Thermo Fisher Scientific, 10103D)的抗原吸附操作。首先,将20 μ g的 Δ FP furin_{wt} F_{ecto}供给至用PBS (pH7.4)洗涤了2次的、珠液45 μ L份量的珠子并使其结合后,用牛血清白蛋白封闭。接着向用PBS (pH7.4)对各小鼠免疫血清50 μ L进行20倍稀释而得的物质添加珠子并进行孵育(4 $^{\circ}$ C、1小时、旋转)后,取出珠子,由此实施结合于抗原的抗体的去除。

[0320] 接着,实施将抗原F_DS-Cav1固相化的ELISA试验,对抗原吸附操作导致的抗F抗原抗体的减少率进行测定。抗原结合缓冲液使用碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液(Sigma-Aldrich, C3041-50CAP),样品的稀释及培养板的洗涤使用PBS (TaKaRa, T9183)。向96半孔板添加2.0pmol的抗原F_DS-Cav1直接进行固相化,用牛血清白蛋白封闭。向小鼠免疫血清或抗原吸附操作后的小鼠免疫血清适当地添加缓冲液,从而制作5倍稀释系列,添加于培养板中进行孵育(室温、2小时)。然后去除稀释血清,使过氧化物酶结合抗小鼠抗体抗体(DaKo, P0161)结合,进一步用标准的过氧化物酶检测试剂显色后,用利用标准的微孔板检测仪进行的吸光度测定来求出显色的强度。测定点间进行分段线性插值从而求出血清的稀释率与吸光度的关系,将吸光度成为0.2的稀释率的倒数作为所检测的抗F抗原抗体的抗体效价,将吸附操作前的血清的抗体效价设为100%时的吸附操作后的血清的抗体效价的减少量的相对值作为吸附率(图14)。

[0321] 通过以上操作,显示抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85与现有文献的抗原F_DS-Cav1相比,post-F识别抗体的诱导比例少。即结果暗示了,将抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85用作疫苗抗原的情况下,诱导无助于病毒感染防御的抗体的风险低。

[0322] (实施例6)与现有产品的比较2

[0323] 实施例5中实施的抗原FH_50、FH_81、FH_82、FH_85的F蛋白部分均包含L141C及L373C的突变。该突变为实施例1中为导入二硫键而导入的突变,现有专利(国际公开第2017/109629号)中研究了向比较接近的位点导入二硫键(Mutant ID:pXCS524.L142C、N371C),还研究了加入了突变的优化抗原(Mutant ID:pXCS881.L142C、N371C、S55C、L188C、T54H、V296I、D486S、E487Q、D489S)。因此,决定对前述的实施例中发现的有用的抗原与导入

pXCS524突变或pXCS881突变而得的抗原Pf524或Pf881进行比较。将下述中制作的抗原的前体蛋白的突变内容归纳于表6。

[0324] [表6]

	抗原名称	突变内容
[0325]	Pf524	L142C, N371C
	FH_08	L141C, L373C
	Pf881	L142C, N371C, S55C, L188C, T54H, V296I, D486S, E487Q, D489S
	FH_82	L141C, L373C, R135N, R136N, T189V, S190V, K42R, V384T
	FH_85	L141C, L373C, R135N, R136N, T189V, S190V, E60M, K42R, V384T

[0326] 抗原FH_08、FH_82、及FH85分别使用实施例1、实施例3、及实施例5中记载的抗原。对于Pf524及Pf881,利用标准的基因工程技术将编码它们的前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司),通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各抗原的前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0327] 各抗原的表达及纯化以与实施例2同样的操作来实施。

[0328] 各抗原的表达量以与实施例3同样的操作来测定。

[0329] (抗体结合性试验)

[0330] 各抗原对各抗体的结合性以与实施例5同样的操作来测定,结合信号的值设为从供给各抗原溶液180sec时的检测值中减去供给PBS(pH7.4)180sec时的检测值而得的值(图15、图16、图17)。

[0331] 通过以上操作,得到下述结果:显示抗原FH_08与导入了现有专利的突变的抗原Pf524相比,表位Φ的保守性和三聚体的形成优异,另一方面,不太能检测到已知诱导病毒感染中和能力显著较低的抗体的表位I。还得到下述结果:显示经优化的抗原FH_82、FH_85与同样经优化的导入了现有专利的突变的抗原Pf881相比,表位Φ的保守性和三聚体的形成优异,另一方面,不太能检测到已知诱导病毒感染中和能力显著较低的抗体的表位I。这暗示了,上述实施例中发现的有用的二硫键的导入突变与现有专利中的二硫键的导入突变(L142C、N371C)相比,是优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的突变。

[0332] (以小鼠免疫诱导的抗体的验证)

[0333] 通过上述实验,暗示了,抗原FH_82、FH_85具有无助于病毒中和的免疫的诱导与导入了现有专利的突变的突变体Pf881相比更低的效果。为了进一步详细研究该效果,实施通过用抗原FH_82、FH_85或Pf881对小鼠进行免疫而诱导的抗体的分析。

[0334] 诱导抗体的分析以与实施例5同样的操作来实施,对基于 $\Delta FP_{\text{furin}_{\text{wt}}} F_{\text{ecto}}$ 的吸附操作而得到的抗体效价的吸附率进行测定(图18)。

[0335] 通过以上操作,显示抗原FH_82、FH_85与导入了现有专利的突变的抗原Pf881相比,post-F识别抗体的诱导比例少。即结果暗示了,将抗原FH_82、FH_85用作疫苗抗原的情况下,即使与Pf881比较,也优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组。

[0336] (实施例7)使用了支架粒子的抗原的粒子化

[0337] 可以认为,为了进一步降低诱导无助于病毒感染防御的抗体的风险,通过空间位阻效应来降低抗体、各种免疫细胞对被表位I识别抗体等post-F识别抗体识别的抗原部位的可及性是有效的。因此,认为通过以post-F识别抗体的识别位点处于内侧的方式使抗原固定于适宜的支架粒子上,可能能够得到该空间位阻效应。

[0338] 然而,认为将抗原呈递至适宜的支架粒子上时,若抗原的间隔长于一定长度而使得密度稀疏、或者在支架粒子与抗原之间导入了一定以上的长度的柔性接头,则可能无法得到前述的空间位阻效应。因此,决定使用被认为能够实现较高密度的抗原呈递的HBsAg VLP,对多种长度的GS接头进行研究。

[0339] (粒子化抗原的制备)

[0340] 作为支架粒子,使用能够结合Fc融合蛋白的Bionanocapsule-ZZ (Beacle公司、BCL-DC-002)。

[0341] 作为抗原的前体蛋白,制作将前述的F_DS-Cav1、FH_82、FH_85的前体蛋白中的包含凝血酶识别序列、His标签、Strep-Tag II的序列(序列号22)取代成Fc序列(序列号30)而得的抗原F_DS-Cav1-Fc的前体蛋白(序列号31)、FH_82-Fc的前体蛋白(序列号32)、FH_85-Fc的前体蛋白(序列号33)。此外,对于抗原F_DS-Cav1-Fc的前体蛋白、FH_85-Fc的前体蛋白,在紧接Fc序列之前插入GS接头(GGGGSGGGSGGGSGGGGS(序列号75)、GGGGSGGGGS(序列号19)或者GGGGGS(序列号27))而得的序列,是以对应的前体蛋白(序列号34~39)为基础用以下方法而制作的。

[0342] 利用标准的基因工程技术将编码上述各前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各抗原的前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0343] 各抗原的前体蛋白的表达通过使用了Expi293 Expression System(Thermo Fisher Scientific公司)的哺乳类细胞分泌表达来实施。使用作为同试剂盒的基因导入试剂的Expi Fectamin 293 Reagent将经纯化的各载体入至Expi293细胞,进行4~5天左右培养,从而分泌表达编码的各抗原,使用离心分离及孔径0.22 μ m的过滤器仅获取上清液成分。

[0344] 各抗原的纯化通过使用了蛋白A纯化柱的标准的亲和纯化法来实施。纯化后通过使用超滤膜来将溶剂置换成PBS(pH7.4)。

[0345] 制作的各抗原以每1粒子的HBsAg VLP平均为约135分子(形成三聚体则为约45分子)的比率与HBsAg VLP混合,于室温静置1小时,从而固定化于支架粒子。此时,通过进行Blue Native PAGE,确认到几乎不存在未固定化的抗原。

[0346] 将本实施例中用于评价的抗原、及该抗原固定化于支架粒子而得的粒子化体(以下有时称作“粒子化抗原”)归纳于表7。

[0347] [表7]

抗原名称	说明
F_DS-Cav1	实施例5中制作而得
F_DS-Cav1-Fc	将F_DS-Cav1的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列取代成Fc序列而得
F_DS-Cav1-4GS-Fc	在紧接F_DS-Cav1-Fc的Fc序列之前插入GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (序列号75) 而得
F_DS-Cav1-2GS-Fc	在紧接F_DS-Cav1-Fc的Fc序列之前插入GGGGSGGGGS (序列号19) 而得
F_DS-Cav1-1GS-Fc	在紧接F_DS-Cav1-Fc的Fc序列之前插入GGGGS (序列号27) 而得
F_DS-Cav1-VLP	将F_DS-Cav1-Fc固定化于HBsAg VLP而得
F_DS-Cav1-4GS-VLP	将F_DS-Cav1-4GS-Fc固定化于HBsAg VLP而得
F_DS-Cav1-2GS-VLP	将F_DS-Cav1-2GS-Fc固定化于HBsAg VLP而得
F_DS-Cav1-1GS-VLP	将F_DS-Cav1-1GS-Fc固定化于HBsAg VLP而得
[0348] FH_82	实施例5中制作而得
FH_82-Fc	将FH_82的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列取代成Fc序列而得
FH_82-VLP	将FH_82-Fc固定化于HBsAg VLP而得
FH_85	实施例5中制作而得
FH_85-Fc	将FH_85的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列取代成Fc序列而得
FH_85-4GS-Fc	在紧接FH_85-Fc的Fc序列之前插入 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (序列号75) 而得
FH_85-2GS-Fc	在紧接FH_85-Fc的Fc序列之前插入 GGGGSGGGGS (序列号19) 而得
FH_85-1GS-Fc	在紧接FH_85-Fc的Fc序列之前插入 GGGGS (序列号27) 而得
FH_85-VLP	将FH_85-Fc固定化于HBsAg VLP而得
FH_85-4GS-VLP	将FH_85-4GS-Fc固定化于HBsAg VLP而得
FH_85-2GS-VLP	将FH_85-2GS-Fc固定化于HBsAg VLP而得
FH_85-1GS-VLP	将FH_85-1GS-Fc固定化于HBsAg VLP而得

[0349] (抗体结合性试验)

[0350] 抗原或粒子化抗原F_DS-Cav1、F_DS-Cav1-VLP、FH_82、FH_82-VLP、FH_85及FH_85-VLP对各抗体的结合性以与实施例6同样的操作来测定(图19、图20、图21)。

[0351] 通过以上操作,显示不依赖于F抗原区域的pre稳定化方法(用于pre稳定化的氨基酸突变的内容)、将pre-F介由添加于其氨基酸序列的C末端的结构域而固定化于支架粒子时,以保持抗体对表位Φ的结合性的状态,三聚体的形成提高。还显示了已知诱导病毒感染中和能力显著较低的抗体的表位I的检测值减弱。以上的结果暗示了,将本粒子化抗原用作疫苗抗原时,优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组。

[0352] (插入接头的研究)

[0353] 抗原或粒子化抗原F_DS-Cav1、F_DS-Cav1-4GS-VLP、F_DS-Cav1-2GS-VLP、F_DS-Cav1-1GS-VLP、F_DS-Cav1-VLP、FH_85、FH_85-4GS-VLP、FH_85-2GS-VLP、FH_85-1GS-VLP及FH_85-VLP对各抗体的结合性以与实施例6同样的操作来测定(图22、图23、图24)。

[0354] 通过以上操作,显示实施的任何GS接头的插入均具有下述效果:以保持抗体对表位Φ的结合性的状态,提高三聚体的形成,表位I的检测值降低。其中,显示若在支架粒子与抗原之间插入过长的GS接头,则表位I检测减弱的效果会降低。具体而言,若为GGGGSGGGGS

(序列号19) 水平的长度, 则不会观察到显著的影响, 但若为更长的GGGGSGGGSGGGSGGGGS (序列号75) 的长度, 则观察到使表位I检测减弱的效果降低。

[0355] 以上的结果暗示了, 若在支架粒子与抗原之间插入一定以上的长度的柔性接头, 则通过空间位阻效应来降低对post-F识别抗体的识别位点的可及性的效果会减弱。

[0356] (抗原密度的估算)

[0357] 通过使用了Zetasizer μ V (Malvern) 的动态光散射法来估算粒子化抗原FH_85-VLP的理论直径, 结果为89.28nm (图25)。由于呈递每1粒子平均约135分子(三聚体约45分子), 因此每1nm²理论表面积的平均分子密度可计算为约0.005分子(按三聚体计约0.0018分子)。需要说明的是, 此处, 球体的表面积S使用其半径r通过以下公式而求出。

[0358] $S=4\pi r^2$

[0359] 即暗示了, 只要为通过动态光散射法而估算的理论表面积每1nm²存在最低约0.005分子以上的抗原分子的水平的密度, 即可实现目标空间位阻效应。

[0360] DS-Cav1-VLP及FH_82-VLP也为同样的结果(图25)。

[0361] (以小鼠免疫诱导的抗体的验证)

[0362] 通过上述实验, 暗示了结合于支架粒子HBsAg VLP的pre-F抗原具有抑制无助于病毒中和的免疫的诱导的效果。为了进一步详细研究该效果, 实施通过用F_DS-Cav1、F_DS-Cav1-VLP、FH_82、FH_82-VLP、FH_85或FH_85-VLP对小鼠进行免疫而诱导的抗体的分析。

[0363] 小鼠免疫血清通过用各粒子化抗原对BALB/c (雌性、5~8周龄) 进行免疫而获取。作为各粒子化抗原的溶剂组成, 使用将PBS或PBS与氢氧化铝 (InvivoGen、vac-alu-250) 各自以等量充分混合而得的液体。以约3周间隔将抗原2次肌内施予至小鼠的后肢大腿部, 在第2次的施予后的约3周后获取血液。获取的血液于室温进行孵育后, 进行离心分离, 回收血清。

[0364] 为了确认血清中以何种程度诱导结合于pre-F或者Post-F的抗体, 实施将各构象的抗原固相化的ELISA试验。

[0365] 另外, 为了算出post-F识别抗体的诱导比例, 实施抗原吸附操作及基于抗原吸附操作的抗原识别抗体的减少率的测定。方法以实施例5中示出的方法为基准。

[0366] 作为结论, 确认到通过该粒子化, 优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果。

[0367] (实施例8) 使用了疏水性肽链的抗原的粒子化

[0368] 认为即使通过不使用支架粒子的方法, 也可能实现实施例7中示出的通过空间位阻效应来降低抗体、各种免疫细胞对被post-F识别抗体识别的抗原部位的可及性的效果。因此, 本实施例中, 对使用了疏水性肽链(包含疏水性的氨基酸的多肽链)的疏水聚集引起的粒子化进行研究。

[0369] (疏水性肽链的研究)

[0370] 所使用的疏水性肽链需要具有在疫苗制剂或者生物体内的条件下进行疏水聚集的性质, 但显著降低基于细胞的抗原的分泌表达效率的序列很难用于实际使用。已知通常将富含疏水性氨基酸的多肽链融合于蛋白质的情况下, 该蛋白质在细胞中的产生效率会降低, 因此, 对适宜的疏水性多肽链进行研究。

[0371] 以将前述抗原F_DS-Cav1的前体蛋白中的包含凝血酶识别序列、His标签、Strep-

Tag II的序列(序列号22)取代成包含各种疏水性肽链(序列号40~43)及作为纯化用标签的FLAG标签的序列(序列号44~47)的前体蛋白为基础,制作抗原。将研究的疏水性肽序列归纳于表8-1。

[0372] 利用标准的基因工程技术将编码上述各前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0373] 各抗原的表达以与实施例7同样的操作来实施。

[0374] 各抗原的纯化通过使用了ANTI-FLAG M2 Affinity Gel (Sigma, A2220)的亲亲和纯化来实施。亲和纯化的洗脱使用FLAG肽,通过使用超滤膜从而进行各抗原样品中的FLAG肽的去除。溶剂使用PBS (pH7.4)。

[0375] 对于是否可分泌表达抗原,可通过在纯化后是否能够使用通常的SDS-PAGE以高纯度分离纯化目标蛋白来进行确认。另外,对于是否可粒子化,可通过在纯化后进行通常的BlueNativePAGE来确认。

[0376] [表8-1]

		使用的疏水性肽链的氨基酸序列																					
	CC02	I	A	L	A	L	E	K	I	A	L	A	L	E	K	I	A	L	A	L	E	K	(序列号41)
[0377]	CC03	I	K	L	E	L	E	K	I	K	L	E	L	E	K	I	K	L	E	L	E	K	(序列号42)
	CC07	L	H	L	H	I	E	K	L	H	L	H	I	E	K	L	H	L	H	I	E	K	(序列号43)
	CC08	L	K	L	E	I	H	H	L	K	L	E	I	H	H	L	K	L	E	I	H	H	(序列号44)

[0378] 注) **I**, **L** 为疏水性强的氨基酸

[0379] **K**, **E** 为亲水性氨基酸

[0380] 对F_DS-Cav1-CC02及F_DS-Cav1-CC03是否可分泌表达、及是否可粒子化进行了研究,结果,虽然F_DS-Cav1-CC03分泌表达,但是未发生粒子化,另一方面,可知F_DS-Cav1-CC02的分泌表达进行得并不顺利(图26)。因此,可认为所使用的疏水性肽链的最优的疏水度介于两者的疏水度之间。

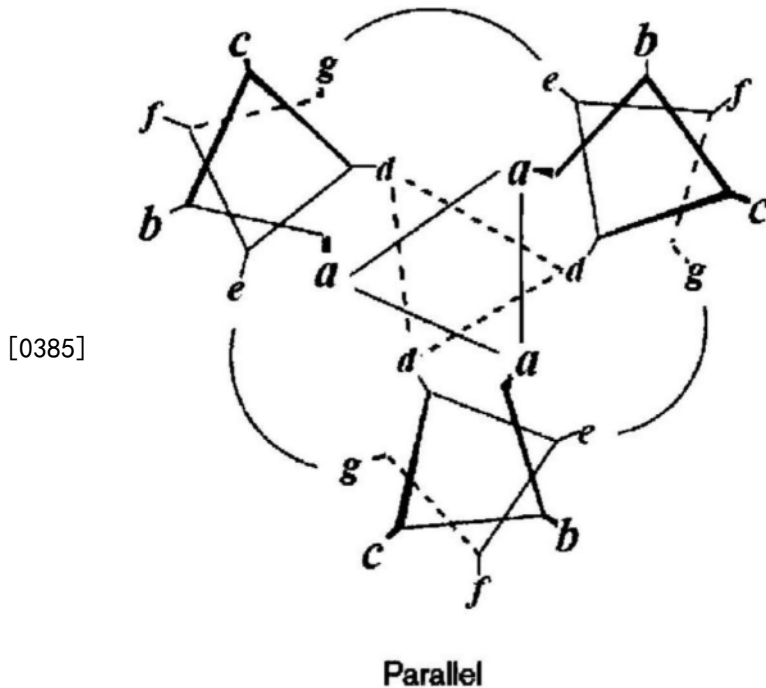
[0381] F_DS-Cav1-CC02与F_DS-Cav1-CC03的疏水性肽链在作为非亲水性氨基酸的丙氨酸被替换成作为亲水性氨基酸的赖氨酸或者谷氨酸这一点不同。因此,考虑首先将F_DS-Cav1-CC02的丙氨酸变更为具有中等程度的亲水性、pK为pH6左右的组氨酸。已知制剂时的溶剂的pH在中性附近,相对于此,细胞的分泌途径中的pH为更低的pH,因此可期待包含组氨酸的肽链在分泌表达时成为比较亲水的性质,在制剂时成为比较疏水的性质。

[0382] 另外,若假设所设计的疏水性肽链形成卷曲螺旋结构,则可预期直接连接于折叠子结构域正下方的疏水性肽链的21个的氨基酸的相位依次为defgabcdefgabcdefgabc。将亮氨酸与异亮氨酸配置于三聚体中发生疏水相互作用的a、d位的情况下,根据研究了天然蛋白的氨基酸序列的现有研究(Joel P Schneider等,1998.Folding&Design.3:R29),将异亮氨酸配置于a位、将亮氨酸配置于d位频率更高,因此考虑将F_DS-Cav1-CC02的a位与d位的亮氨酸、异亮氨酸互换。

[0383] 根据以上内容,重新设计F_DS-Cav1-CC07,研究是否可分泌表达及是否可粒子化,

结果实现了分泌表达与粒子化这两者(图27)。由于变更了组氨酸、赖氨酸、谷氨酸的位置而得的F_DS-Cav1-CC08难以分泌表达,因此暗示了这并非仅是单纯的氨基酸的组成的问题,立体结构上的配置也是重要的。

[0384] [化学式1]



[0386] (引用自Folding&Design 1998,3:R29)

[0387] (粒子化抗原的制备)

[0388] 以将前述抗原FH_82及FH_85的前体蛋白中的包含凝血酶识别序列、His标签、Strep标签II的序列(序列号22)取代成包含最优的疏水性肽链(序列号42)及由作为纯化用标签的FLAG标签的序列而得的前体蛋白(序列号48、49)为基础,制作抗原。

[0389] 利用标准的基因工程技术将编码上述前体蛋白的多核苷酸插入pcDNA3.4载体(Thermo Fisher Scientific公司)。通过碱基序列分析来确认已插入目标DNA序列,构建表达各前体蛋白的各哺乳类细胞用表达载体。利用标准的质粒载体纯化方法对用于导入至细胞的载体进行纯化。

[0390] 各抗原的表达以与疏水性肽链的研究同样的操作来实施。

[0391] 各抗原的纯化以与疏水性肽链的研究同样的操作来实施。

[0392] 将本实施例中后续评价中使用的抗原(有时称作“粒子化抗原”)归纳于表8-2。

[0393] [表8-2]

抗原名称	说明
F_DS-Cav1	实施例5中制作而得
F_DS-Cav1-CC07	将F_DS-Cav1的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列取代成包含疏水性肽链"LHLHIEKLHLHIEKLHLHIEK"(序列号42)及FLAG标签的序列而得
[0394] FH_82	实施例5中制作而得
FH_82-CC07	将FH_82的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列取代成包含疏水性肽链"LHLHIEKLHLHIEKLHLHIEK"(序列号42)及FLAG标签的序列而得
FH_85	实施例5中制作而得
FH_85-CC07	将FH_85的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列取代成包含疏水性肽链"LHLHIEKLHLHIEKLHLHIEK"(序列号42)及FLAG标签的序列而得

[0395] (抗体结合性试验)

[0396] 制作的各粒子化抗原对各抗体的结合性以与实施例6同样的操作来测定(图28、图29、图30)。

[0397] 通过以上操作,得到下述结果:显示对于不依赖于F抗原区域的pre稳定化方法(用于pre稳定化的氨基酸突变的内容)、使pre-F介由添加于其氨基酸序列的C末端的疏水性肽链聚集得到的粒子化抗原而言,以保持抗体对表位Φ的结合性的状态,三聚体的形成提高。还得到下述结果:显示已知诱导病毒感染中和能力显著较低的抗体的表位I的检测减弱。以上的结果暗示了,将本抗原用作疫苗抗原时,通过该粒子化,优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果提高。

[0398] (抗原密度的估算)

[0399] 通过使用了DynaPro Plate Reader III(Wyatt)的动态光散射法来估算抗原FH_85及粒子化抗原FH_85-CC07的理论直径,结果为13.8nm及60.0nm(图31)。对于2个粒子的分子量之比而言,通常的蛋白质中,与其理论直径之比的2~3次方成正比,因此估算FH_85-CC07的分子量为FH_85的分子量的20~80倍左右。即,认为FH85-CC07每1粒子呈递60~240分子左右(按三聚体计为20~80分子左右),每1nm²理论表面积的平均分子密度可计算为0.005~0.022分子左右(按三聚体计为0.0017~0.0073分子左右)。

[0400] FH_82-CC07中也为同样的结果(图31)。

[0401] 因此,估计使用了疏水性肽链的粒子化抗原与实施例6中示出的使用了支架粒子的粒子化抗原相比,抗原密度为同等或以上的水平。

[0402] (以小鼠免疫诱导的抗体的验证)

[0403] 通过先前的操作,暗示了结合有疏水性肽链的抗原的粒子化具有抑制无助于病毒中和的免疫的诱导的效果。为了进一步详细研究该效果,实施通过用前述抗原或者粒子化抗原F_DS-Cav1、F_DS-Cav1-CC07、FH_82-CC07或FH_85-CC07对小鼠进行免疫而诱导的抗体的分析。

[0404] 小鼠免疫血清通过用各抗原及粒子化抗原对BALB/cAnNCr1Cr1j(Charles River Laboratories Japan, Inc.) (雌性、6周龄)进行免疫而获取。将溶解于PBS(pH7.4)的抗原或粒子化抗原F_DS-Cav1、F_DS-Cav1-CC07、FH_82-CC07或FH_85-CC07(抗原浓度:0.40mg/mL)

于饲养第0天及饲养第21天以50 μ L肌内施予至小鼠的后肢大腿部(每1组设为5只)。饲养第42天,从后大静脉获取血液,获取的血液在进行孵育(室温、约2小时、静置)后进行离心分离,回收血清,进行灭活(55 $^{\circ}$ C、30min),制成小鼠免疫血清。

[0405] 为了确认以何种程度的比例诱导了与融合后构象结合的抗体,针对各小鼠免疫血清,使用了以与实施例6同样的方法结合有 Δ FP furin_{wt} F_{ecto}的磁珠或不结合任何抗原而仅实施封闭操作的磁珠,进行抗原吸附操作。进一步,对吸附操作后的各血清,以与实施例6同样的方法,实施将F_DS-Cav1固相化的ELISA试验,算出吸附率。其中,吸附率设为:将没有抗原的吸附操作后的血清的抗体效价设为100%时的、从没有抗原的吸附操作后的血清的抗体效价中减去基于 Δ FP furin_{wt} F_{ecto}的吸附操作后的血清的抗体效价而得的值的相对值(图32)。

[0406] 通过以上操作,显示会被粒子化前的抗原F_DS-Cav1诱导一半左右的post-F识别抗体几乎不被通过疏水性肽链进行了粒子化的抗原F_DS-Cav1-CC07诱导。另外,FH_82-CC07、FH_85-CC07也同样地几乎不诱导post-F识别抗体。以上暗示了,通过该粒子化,优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果的抗体组的效果提高。

[0407] (实施例9)使用了自缔合性蛋白结构域的抗原的粒子化

[0408] 认为通过将自缔合性蛋白结构域融合于抗原的C末端侧,也可能实现实施例7、8中示出的通过空间位阻效应降低抗体、各种免疫细胞对被post-F识别抗体识别的抗原部位的可及性的效果。特别是,认为可能通过使用自缔合性蛋白结构域使抗原以正确的规则排列,从而可得到较之实施例8中示出的基于疏水聚集的粒子化而言更高的空间位阻效应。

[0409] 因此,本实施例中,对利用了B型肝炎病毒的核心抗原(HBcAg)的自缔合性的粒子化进行研究。

[0410] 其中,将前述抗原F_DS-Cav1中的包含凝血酶识别序列、His标签、Strep-Tag II的序列(序列号22)替换成包含GS接头(GGGGSGGGGSGGGGSGGGG) (序列号75)、HBcAg的自缔合结构域(序列号50)、及His标签的肽序列(序列号51)而得的抗原虽然表达,但是并未观察到自缔合(基于BlueNativePAGE的验证结果)。认为HBcAg的自缔合结构域的N末端存在于接近HBcAg彼此进行自缔合时的结合面的位置,有可能由于将大的蛋白质融合于N末端而妨碍自缔合。

[0411] 因此,为了将RSV F抗原部分配置在远离进行自缔合时的结合面的位置,决定自HBcAg进行自缔合时粒子的向外突出的部位(α 3结构域与 α 4结构域中存在的螺旋之间的部分)分割成C末端侧与N末端侧。另外,为了减小意料外的二硫键的生成风险,决定导入被认为对自缔合没有影响的2个点突变(C48S及C107A)。具体而言,以将前述抗原F_DS-Cav1及FH_85的前体蛋白中的包含凝血酶识别序列、His标签、StrepTag II的序列(序列号22)替换成依次结合有GS接头(GGGGSGGGGSGGGGSGGGG) (序列号75)、HBcAg的自缔合结构域的C末端侧(序列号52)、以及GS接头(GGGGSGGGGSGGGGSGGGG) (序列号75)、HBcAg的自缔合结构域的N末端侧(序列号53)、及FLAG标签的序列(序列号54)而得的F_DS-Cav1-HBcCN的前体蛋白(序列号55)及FH_85-HBcCN的前体蛋白(序列号56)为基础,制作抗原(有时称作“粒子化抗原”)。

[0412] 针对F_DS-Cav1-HBcCN,以与实施例8同样的操作进行表达、纯化,对是否可分泌表达及是否可粒子化进行研究,结果,实现了分泌表达与粒子化这两者(图33)。其中,由表达

量比较低,因此期望改良表达方法。因此,针对编码DS-Cav1-HBcCN或者FH_85-HBcCN的前体的多核苷酸,使用GS Xceed Expression System(Lonza公司)建立稳定表达CHO株。对建立的细胞株进行培养,分泌表达各抗原后,获取培养上清液成分。

[0413] 各粒子化抗原的纯化以与实施例8同样的操作来实施。

[0414] 为了确认各粒子化抗原对各抗体的结合性,实施分别将帕利珠单抗(Synagis肌肉注射液、艾伯维)、131-2A抗体、D25抗体固相化的ELISA试验。抗体结合缓冲液使用碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液(Sigma-Aldrich,C3041-50CAP),样品的稀释及培养板的洗涤使用TBS(TaKaRa,T9142)。向96半孔板添加10 μ g/mL的帕利珠单抗或131-2A抗体或D25抗体,直接进行固相化,用牛血清白蛋白封闭。向各抗原适当地添加缓冲液,从而制作10倍稀释系列,添加于培养板中进行孵育(室温、2小时、静置)。然后去除添加的抗原溶液,使过氧化物酶结合抗FLAG M2抗体(Sigma-Aldrich,A8592)结合,进一步用标准的过氧化物酶检测试剂显色后,用利用标准的微孔板检测仪进行的吸光度测定来求出显色的强度。测定点间进行分段线性插值从而求出抗原的稀释率与吸光度的关系,将吸光度成为0.2的稀释率的倒数作为添加的抗原针对经固相化的抗体的结合力。将用对D25抗体的结合力除以对帕利珠单抗的结合力而得的值作为表位 Φ 检测信号,将用对131-2A抗体的结合力除以对帕利珠单抗的结合力而得的值作为表位I检测信号(图34、图35)。

[0415] 通过以上操作,得到下述结果:显示使pre-F通过添加于其氨基酸序列的C末端的自缔合性蛋白结构域聚集而成的粒子化抗原与基于疏水性肽链的粒子化相比,进一步提高抗体对表位 Φ 的结合性,减弱已知诱导病毒感染中和能力显著较低的抗体的表位I的检测。以上的结果暗示了,通过该粒子化,优先诱导被认为对病毒中和具有较高效果抗体组的效果提高。

序列表

<110> 田边三菱制药株式会社

<120> 突变型 RSV F 蛋白及其利用

<130> 19084-201016

<150> US62/952673

<151> 2019-12-23

<160> 75

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 574

<212> PRT

<213> 呼吸道合胞病毒

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(25)

<223> 信号肽

[0001]

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(109)

<223> F2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (110)..(136)

<223> pep27

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (137)..(513)

<223> F1 胞外

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (514)..(574)

<223> F1 跨膜和胞内

<400> 1

Met	Glu	Leu	Leu	Ile	Leu	Lys	Ala	Asn	Ala	Ile	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr
1			5					10					15		
Ala	Val	Thr	Phe	Cys	Phe	Ala	Ser	Gly	Gln	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Phe
			20					25					30		

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Pro Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Ile Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Met Asp

[0002]

```

          435                440                445
Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
          450                455                460
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465                470                475                480
Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
          485                490                495
Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
          500                505                510
Leu His Asn Val Asn Ala Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
          515                520                525
Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
          530                535                540
Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545                550                555                560
Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
          565                570

```

```

<210> 2
<211> 461
<212> PRT
<213> 呼吸道合胞病毒

```

```

[0003] <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(84)
<223> F2

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (85)..(461)
<223> F1 胞外

```

```

<400> 2
Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
1                5                10                15
Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
          20                25                30
Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
          35                40                45
Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
          50                55                60
Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Pro Thr Asn Asn
65                70                75                80
Arg Ala Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile
          85                90                95
Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val
          100               105               110
Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser

```

	115		120		125
	Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys				
	130		135		140
	Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys				
	145		150		155
	Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn				
		165		170	175
	Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr				
		180		185	190
	Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu				
		195		200	205
	Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn				
	210		215		220
	Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile				
	225		230		235
	Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val				
		245		250	255
	Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr				
		260		265	270
	Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly				
		275		280	285
	Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu				
	290		295		300
[0004]	Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser				
	305		310		315
	Leu Thr Leu Pro Ser Glu Ile Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn				
		325		330	335
	Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser				
		340		345	350
	Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr				
		355		360	365
	Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser				
		370		375	380
	Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Met Asp Thr Val Ser Val				
	385		390		395
	Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr				
		405		410	415
	Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro				
		420		425	430
	Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn				
		435		440	445
	Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu				
	450		455		460

<210> 3

<211> 488

<212> PRT

<213> 呼吸道合胞病毒

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(84)
 <223> F2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (85)..(111)
 <223> pep27

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (112)..(488)
 <223> F1 胞外

<400> 3

[0005] Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30
 Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
 Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
 Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Pro Thr Asn Asn
 65 70 75 80
 Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe
 100 105 110
 Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 165 170 175
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys

<223> pep27

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (137)..(513)

<223> F1 胞外

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (514)..(542)

<223> 折叠子

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (543)..(562)

<223> 标签

<400> 4

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys

[0007]

tgctttgcta gcgggcaaaa cattaccgaa gagttctatc aatccacttg tagcgcggtt	120
agtaagggct atctatccgc ctttaaggact ggctggtaca ctcccgcat tacgattgag	180
ctgagtaata tcaaggagaa caaatgtaac ggcacagatg ccaaggtgaa actgattaag	240
caggagcttg acaagtacaa gaatgccgtt accgagctgc agttgctgat gcagagcaca	300
ccagcgacca ataatcgggc aagacgcgaa ctctcctcgtt ttatgaacta taccttgaat	360
aatgctaaga agacaaacgt cacactgtca aagaaacgaa aacgtaggtt cctcggcttc	420
cttctcggag taggcagtgc catcgcaagt ggagtagcag tctccaaagt gttgcaccta	480
gagggagaag tgaacaagat caaatctgca ctctgagca ccaacaaagc tgtcgtctct	540
ttatccaatg gcgtttcagt gctcacgtct aaggttctcg acctgaaaa ctacatcgac	600
aaacagctcc ttcccatcgt caacaacag agttgctcga ttctaacat cgagacagtt	660
atcgaattcc aacagaagaa caatagactt ctggagatca ctcgggagtt ttccgtaa	720
gcaggtgtga ctactccggt ctcaacctac atgctgacta attccgagtt attgtceta	780
atcaacgata tgcctataac gaatgaccag aagaaactca tgagcaacaa cgtgcagatc	840
gtaaggcagc aatcctactc catcatgtcc ataatcaagg aagaggtgct ggcgtatgta	900
gtccagttgc cactgtatgg agtगतagac accccatggt ggaagctcca tacgagcccc	960
ctgtgtacca ctaatacaaa ggaggggtct aacatatgcc ttaccggac tgatcgtggg	1020
tggtattgcg acaatgccgg ttcagtgtcg ttctttccac aagccgaac atgtaaggtg	1080
cagtcaaacc gagtgttctg tgacacaatg aatagcttga cattgccctc tgaggtgaa	1140
ctgtgcaatg tggacathtt caaccceaag tacgactgca aaatcatgac aagcaaaact	1200
gacgtgteta gctctgtcat tacctcteta ggagccattg tgagctgeta cggtaaagaca	1260
aaatgcacag cttcaacaa gaatagaggc atcatcaaga ctttctcaa tgggtgtgat	1320
tacgtgagca ataaaggtgt ggacaccggt agcgtaggca ataccctgta ttacgttaat	1380
aagcaggaag gcaaaagtct gtacgtcaaa ggggagccca tcataaactt ctacgatcct	1440
ctcgtgtttc caagcgatga gtttgatgcc tccatttcac aggtgaacga aaagatcaac	1500
cagctctctgg cttttattcg caaaagtgat gaactgtctg gaagcgggta tattcccgaa	1560
[0009] gctcctaggg atggacaage atatgtgcgc aaggatggtg aatgggtcct gctgtctacc	1620
tttctgttag ttccgagagg gagtcatcat caccaccatc actggtcaca ccctcagttt	1680
gagaaa	1686

- <210> 6
- <211> 488
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> FH_50

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1).. (84)
- <223> F2

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (85).. (111)
- <223> pep27

- <220>
- <221> MISC_FEATURE

<222> (112)..(488)

<223> F1 胞外

<400> 6

Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30
 Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
 Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
 Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
 65 70 75 80
 Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
 100 105 110
 Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 [0010] 165 170 175
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys
 275 280 285
 Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly
 290 295 300
 Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn
 305 310 315 320
 Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln
 325 330 335
 Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser
 340 345 350
 Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys
 355 360 365
 Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser

```

      370              375              380
Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser
385              390              395              400
Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr
      405              410              415
Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
      420              425              430
Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro
      435              440              445
Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp
      450              455              460
Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe
465              470              475              480
Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu
      485

```

```

<210> 7
<211> 488
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<223> FH_81

```

[0011]

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(84)
<223> F2

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (85)..(111)
<223> pep27

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (112)..(488)
<223> F1 胞外

```

```

<400> 7
Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
1              5              10              15
Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
      20              25              30
Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
      35              40              45
Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
      50              55              60
Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn

```

65	70	75	80
Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn			
	85	90	95
Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe			
	100	105	110
Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala			
	115	120	125
Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser			
	130	135	140
Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val			
	145	150	155
Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys			
	165	170	175
Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile			
	180	185	190
Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile			
	195	200	205
Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr			
	210	215	220
Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro			
	225	230	235
Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val			
	245	250	255
Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu			
	260	265	270
[0012] Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys			
	275	280	285
Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly			
	290	295	300
Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn			
	305	310	315
Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln			
	325	330	335
Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser			
	340	345	350
Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys			
	355	360	365
Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser			
	370	375	380
Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser			
	385	390	395
Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr			
	405	410	415
Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr			
	420	425	430
Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro			
	435	440	445
Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp			
	450	455	460
Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe			
	465	470	475
			480

Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu
485

<210> 8
<211> 488
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FH_82

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(84)
<223> F2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (85)..(111)
<223> pep27

[0013] <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (112)..(488)
<223> F1 胞外

<400> 8
Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
1 5 10 15
Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30
Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
65 70 75 80
Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
 100 105 110
Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
145 150 155 160
Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 165 170 175

Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys
 275 280 285
 Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly
 290 295 300
 Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn
 305 310 315 320
 Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln
 325 330 335
 Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser
 340 345 350
 Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys
 355 360 365
 [0014] Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser
 370 375 380
 Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser
 385 390 395 400
 Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr
 405 410 415
 Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
 420 425 430
 Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro
 435 440 445
 Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp
 450 455 460
 Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe
 465 470 475 480
 Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu
 485

<210> 9

<211> 488

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(84)
 <223> F2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (85)..(111)
 <223> pep27

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (112)..(488)
 <223> F1 胞外

<400> 9

Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30
 Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
 Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
 Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
 65 70 75 80
 Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
 100 105 110
 Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 165 170 175
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys

[0015]

<223> F1 胞外

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (489)..(517)

<223> 折叠子

<400> 10

Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
1 5 10 15

Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
20 25 30

Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
35 40 45

Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
50 55 60

Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
65 70 75 80

Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
85 90 95

Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
100 105 110

Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
115 120 125

Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
130 135 140

[0017]

Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
145 150 155 160

Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
165 170 175

Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
180 185 190

Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
195 200 205

Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
210 215 220

Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
225 230 235 240

Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
245 250 255

Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
260 265 270

Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys
275 280 285

Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly
290 295 300

Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn
305 310 315 320

Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln
325 330 335

Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser

```

          340          345          350
Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys
          355          360          365
Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser
          370          375          380
Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser
385          390          395          400
Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr
          405          410          415
Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
          420          425          430
Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro
          435          440          445
Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp
          450          455          460
Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe
465          470          475          480
Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala
          485          490          495
Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu
          500          505          510
Leu Ser Thr Phe Leu
          515

```

- [0018]
- <210> 11
 - <211> 517
 - <212> PRT
 - <213> 人工序列

 - <220>
 - <223> FH81-折叠子-标签

 - <220>
 - <221> MISC_FEATURE
 - <222> (1)..(84)
 - <223> F2

 - <220>
 - <221> MISC_FEATURE
 - <222> (85)..(111)
 - <223> pep27

 - <220>
 - <221> MISC_FEATURE
 - <222> (112)..(488)
 - <223> F1 胞外

 - <220>
 - <221> MISC_FEATURE

<222> (489)..(517)

<223> 折叠子

<400> 11

Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30
 Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
 Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
 Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
 65 70 75 80
 Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
 100 105 110
 Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 [0019] 165 170 175
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys
 275 280 285
 Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly
 290 295 300
 Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn
 305 310 315 320
 Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln
 325 330 335
 Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser
 340 345 350
 Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys
 355 360 365
 Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser

```

      370              375              380
Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser
385              390              395              400
Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr
      405              410              415
Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
      420              425              430
Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro
      435              440              445
Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp
      450              455              460
Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe
465              470              475              480
Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala
      485              490              495
Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu
      500              505              510
Leu Ser Thr Phe Leu
      515

```

```

<210> 12
<211> 517
<212> PRT
<213> 人工序列

```

[0020]

```

<220>
<223> FH82-折叠子-标签

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(84)
<223> F2

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (85)..(111)
<223> pep27

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (112)..(488)
<223> F1 胞外

```

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (489)..(517)
<223> 折叠子

```

```

<400> 12

```

Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30
 Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
 Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
 Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
 65 70 75 80
 Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
 100 105 110
 Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 165 170 175
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys
 275 280 285
 Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly
 290 295 300
 Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn
 305 310 315 320
 Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln
 325 330 335
 Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser
 340 345 350
 Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys
 355 360 365
 Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser
 370 375 380
 Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser
 385 390 395 400
 Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr

[0021]

```

          405          410          415
Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
          420          425          430
Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro
          435          440          445
Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp
          450          455          460
Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe
          465          470          475          480
Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala
          485          490          495
Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu
          500          505          510
Leu Ser Thr Phe Leu
          515

```

<210> 13
 <211> 517
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> FH85-折叠子-标签

[0022]

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1).. (84)
 <223> F2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (85).. (111)
 <223> pep27

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (112).. (488)
 <223> F1 胞外

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (489).. (517)
 <223> 折叠子

<400> 13
 Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
 20 25 30

Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
 35 40 45
 Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
 50 55 60
 Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
 65 70 75 80
 Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe
 100 105 110
 Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 115 120 125
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 130 135 140
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Val Val Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 165 170 175
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 180 185 190
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile
 195 200 205
 Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr
 210 215 220
 Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val
 245 250 255
 Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu
 260 265 270
 Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys
 275 280 285
 Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly
 290 295 300
 Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn
 305 310 315 320
 Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln
 325 330 335
 Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser
 340 345 350
 Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys
 355 360 365
 Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser
 370 375 380
 Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser
 385 390 395 400
 Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr
 405 410 415
 Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
 420 425 430
 Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro

[0023]

<210> 15
 <211> 1626
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> FH81-折叠子-标签 编码序列

<400> 15
 atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tcctcaccgc cgtgaccttt 60
 tgctttgcct ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaacgtg cagtgcagtg 120
 agcaaagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata cttccgtcat taccatcatg 180
 ctgtccaaca taaaagagaa taagtgaac ggcaccgatg ctaaagtga actgatcaaa 240
 caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagcttc agctcctgat gcagagcact 300
 ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac 360
 aacgcgaaga aactaacgt gactctgtcc aagaacgta agaataactt cttggggttc 420
 tgtctgggtg taggtagcgc cattgtctt ggggtggccg tcagcaaagt gcttcacctg 480
 gaaggagagg tgaacaagat caagtctgca ctgctgtcta caaacaagc agtggtgagc 540
 ctgtccaacg gagtatcgt tctggtggtc aaagtcctgg atctgaagaa ttatatcgac 600
 aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg 660
 attgagttcc aacagaagaa caataggetg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat 720
 gctggtgtca caacccagc cagcacttac atgtgacta attccgagtt gcttagcctt 780
 attaacgaca tgcctatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtgcagatt 840
 gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg 900
 [0025] gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acacctgtt ggaagttgca taccagtccc 960
 ctgtgtacga caaacaccaa ggaaggtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcggggg 1020
 tggatttgcg ataacgccgg gtctgttagt ttctttctc aagccgagac atgcaaagtc 1080
 cagagcaatc gcgtgttctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat 1140
 ctgtgcaatg tagacatctt caaccccaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact 1200
 gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcgctatcg tgtcttgcta tggcaagacc 1260
 aagtgtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctcca cggatgtgac 1320
 tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttactgtaat 1380
 aagcaggagg gcaaatctct ttactggaag ggccaaccaa tcatcaactt ctatgatccc 1440
 ctctctttc cttctgatga gtttgaccgc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat 1500
 cagctctctg cttttatacg caaaagcgat gaactcctgg gatcaggcta cattcccga 1560
 gctccaaggg acggacaagc atacgtacga aaagatggcg aatgggtact cctctcaacg 1620
 tttctg 1626

<210> 16
 <211> 1626
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> FH82-折叠子-标签 编码序列

<400> 16
 atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tcctcaccgc cgtgaccttt 60
 tgctttgcct ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaacgtg cagtgcagtg 120

agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata cttccgcat taccatcgag	180
ctgtccaaca taaaagagaa taagtgaac ggcaccgatg ctaaagtga actgatcaaa	240
caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagcttc agctcctgat gcagagcact	300
ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac	360
aacgcgaaga aaactaacgt gactctgtcc aagaaacgta agaataactt cttggggttc	420
tgtctgggtg taggtagcgc cattgtctct ggggtggccg tcagcaaagt gcttcacctg	480
gaaggagagg tgaacaagat caagctgca ctgctgtcta caaacaagc agtgggtgagc	540
ctgtccaacg gagtatccgt tctggtggtc aaagtccctg atctgaagaa ttatatcgac	600
aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg	660
attgagttcc aacagaagaa caataggctg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat	720
gctggtgtca caacccagc cagcacttac atgctgacta attccgagtt gcttagcctt	780
attaacgaca tgcctatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtgcagatt	840
gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg	900
gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acacctgtt ggaagttgca taccagtccc	960
ctgtgtacga caaacaccaa ggaaggtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcggggg	1020
tgttattgcg ataacgccg gtctgttagt ttctttctc aagccgagac atgcaaagtc	1080
cagagcaatc gcgtgttctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat	1140
ctgtgcaata ccgacatctt caacccaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact	1200
gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcgctatcg tgtcttgcta tggcaagacc	1260
aagtgtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctcaa cggatgtgac	1320
tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttacgtgaat	1380
aagcaggagg gcaaatctct ttacgtgaag ggcaaccaa tcatcaactt ctatgatccc	1440
ctcgtctttc cttctgatga gtttgacgc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat	1500
cagctctctg cttttatagc caaaagcagc gaactcctgg gatcaggcta cattcccga	1560
gctccaaggg acggacaagc atacgtacga aaagatggcg aatgggtact cctctcaacg	1620
tttctg	1626

[0026]

<210> 17

<211> 1626

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> FH85-折叠子-标签 编码序列

<400> 17

atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tcctcaccgc cgtgacctt	60
tgctttgcct ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaactg cagtgcagtg	120
agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata cttccgcat taccatcatg	180
ctgtccaaca taaaagagaa taagtgaac ggcaccgatg ctaaagtga actgatcaaa	240
caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagcttc agctcctgat gcagagcact	300
ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac	360
aacgcgaaga aaactaacgt gactctgtcc aagaaacgta agaataactt cttggggttc	420
tgtctgggtg taggtagcgc cattgtctct ggggtggccg tcagcaaagt gcttcacctg	480
gaaggagagg tgaacaagat caagctgca ctgctgtcta caaacaagc agtgggtgagc	540
ctgtccaacg gagtatccgt tctggtggtc aaagtccctg atctgaagaa ttatatcgac	600
aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg	660
attgagttcc aacagaagaa caataggctg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat	720
gctggtgtca caacccagc cagcacttac atgctgacta attccgagtt gcttagcctt	780
attaacgaca tgcctatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtgcagatt	840

```

gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg      900
gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acaccttggt ggaagttgca taccagtccc      960
ctgtgtacga caaacaccaa ggaaggtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcgggggt    1020
tggatattgcg ataacgccgg gtctgttagt ttctttcctc aagccgagac atgcaaagtc    1080
cagagcaatc gcgtgttctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat    1140
ctgtgcaata ccgacatctt caaccceaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact     1200
gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcgctatcg tgtcttgcta tggcaagacc     1260
aagtgtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctccaa cggatgtgac     1320
tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttacgtgaat     1380
aagcaggagg gcaaatctct ttacgtgaag ggcgaaccaa tcatcaactt ctatgatccc     1440
ctcgtcttct cttctgatga gtttgacgcc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat     1500
cagtctctgg cctttatacg caaaagcgat gaactcctgg gatcaggcta cattcccga     1560
gctccaaggg acggacaagc atacgtacga aaagatggcg aatgggtact cctctcaacg     1620
tttctg                                     1626

```

<210> 18
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GS 接头

[0027] <400> 18
Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GS 接头

<400> 19
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GS 接头

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 21
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 折叠子

<400> 21
 Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val
 1 5 10 15
 Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 20 25

<210> 22
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0028] <220>
 <223> 标签

<400> 22
 Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Trp Ser His Pro
 1 5 10 15
 Gln Phe Glu Lys
 20

<210> 23
 <211> 562
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> DS-Cav1

<400> 23
 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 [0029] 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro

465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Leu Val
 530 535 540
 Pro Arg Gly Ser His His His His His His Trp Ser His Pro Gln Phe
 545 550 555 560
 Glu Lys

<210> 24
 <211> 521
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> δ FP furinwt Fecto

[0030] <400> 24
 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
 130 135 140
 Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
 145 150 155 160
 Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
 165 170 175
 Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys
 180 185 190
 Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile
 195 200 205
 Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile

	210		215		220
	Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr				
	225		230		240
	Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro				
		245		250	255
	Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val				
		260		265	270
	Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu				
		275		280	285
	Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys				
		290		295	300
	Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly				
	305		310		320
	Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn				
		325		330	335
	Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln				
		340		345	350
	Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser				
		355		360	365
	Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys				
		370		375	380
	Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser				
	385		390		400
	Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser				
		405		410	415
[0031]	Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr				
		420		425	430
	Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr				
		435		440	445
	Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro				
		450		455	460
	Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp				
	465		470		480
	Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe				
		485		490	495
	Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala Gly Lys Ser				
		500		505	510
	Thr Thr Asn His His His His His His				
		515		520	

<210> 25
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> His 标签

<400> 25
 His His His His His His

	1	5
	<210>	26
	<211>	8
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	Strep-tagII
	<400>	26
		Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
	1	5
	<210>	27
	<211>	5
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	GS 接头
	<400>	27
[0032]		Gly Gly Gly Gly Ser
	1	5
	<210>	28
	<211>	8
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	FLAG 标签
	<400>	28
		Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
	1	5
	<210>	29
	<211>	11
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	GGs+标签
	<400>	29

Gly Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5 10

<210> 30
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Fc

<400> 30

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225

[0033]

<210> 31
 <211> 769
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-Fc

<400> 31

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val

[0034]

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Asp Lys
 530 535 540
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 545 550 555 560
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 565 570 575
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 580 585 590
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 595 600 605
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 610 615 620
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 625 630 635 640
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 645 650 655
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 660 665 670
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 675 680 685
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 690 695 700
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 705 710 715 720
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

[0037]

			260					265				270				
	Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
			275					280				285				
	Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
			290					295				300				
	Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
	305					310					315				320	
	Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
					325					330					335	
	Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
			340					345						350		
	Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
			355					360				365				
	Thr	Met	Asn	Ser	Cys	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Thr
	370						375					380				
	Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr
	385					390					395				400	
	Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys
					405					410					415	
	Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile
					420					425				430		
	Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp
			435					440				445				
	Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly
	450					455						460				
[0039]	Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro
	465					470						475			480	
	Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn
					485					490					495	
	Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu
					500					505				510		
	Leu	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ile	Pro	Glu	Ala	Pro	Arg	Asp	Gly	Gln	Ala	Tyr
					515					520			525			
	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Trp	Val	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Leu	Asp	Lys
	530					535						540				
	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
	545					550					555				560	
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					565					570					575	
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
					580					585					590	
	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
					595					600			605			
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
					610					615			620			
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
	625					630					635				640	
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
					645					650					655	
	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
					660					665					670	

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 675 680 685
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 690 695 700
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 705 710 715 720
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 725 730 735
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 740 745 750
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 755 760 765
 Lys

<210> 34
 <211> 789
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> F_DS-Cav1-4GS-Fc

[0040] <400> 34
 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly
 530 535 540
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 545 550 555 560
 Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 565 570 575
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 580 585 590
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 595 600 605
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

[0041]

```

        610                615                620
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
625                630                635                640
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
        645                650                655
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
        660                665                670
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
        675                680                685
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
        690                695                700
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
705                710                715                720
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
        725                730                735
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
        740                745                750
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
        755                760                765
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
        770                775                780
Leu Ser Pro Gly Lys
785

```

[0042]

<210> 35

<211> 779

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-2GS-Fc

<400> 35

```

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
I                5                10                15
Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
        20                25                30
Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
        35                40                45
Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
        50                55                60
Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65                70                75                80
Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
        85                90                95
Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
        100                105                110
Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
        115                120                125
Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val

```

	130		135		140									
	Gly Ser Ala Ile Ala Ser	Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu												
	145		150		155									160
	Glu Gly Glu Val Asn Lys	Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys												
			165		170									175
	Ala Val Val Ser Leu Ser	Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val												
			180		185									190
	Leu Asp Leu Lys Asn Tyr	Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn												
			195		200									205
	Lys Gln Ser Cys Ser Ile	Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln												
			210		215									220
	Gln Lys Asn Asn Arg Leu	Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn												
	225		230		235									240
	Ala Gly Val Thr Thr Pro	Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu												
			245		250									255
	Leu Leu Ser Leu Ile Asn	Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys												
			260		265									270
	Leu Met Ser Asn Asn Val	Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile												
			275		280									285
	Met Cys Ile Ile Lys Glu	Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro												
			290		295									300
	Leu Tyr Gly Val Ile Asp	Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro												
	305		310		315									320
	Leu Cys Thr Thr Asn Thr	Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg												
			325		330									335
[0043]	Thr Asp Arg Gly Trp Tyr	Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe												
			340		345									350
	Pro Gln Ala Glu Thr Cys	Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp												
			355		360									365
	Thr Met Asn Ser Leu Thr	Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val												
			370		375									380
	Asp Ile Phe Asn Pro Lys	Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr												
	385		390		395									400
	Asp Val Ser Ser Ser Val	Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys												
			405		410									415
	Tyr Gly Lys Thr Lys Cys	Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile												
			420		425									430
	Lys Thr Phe Ser Asn Gly	Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp												
			435		440									445
	Thr Val Ser Val Gly Asn	Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly												
			450		455									460
	Lys Ser Leu Tyr Val Lys	Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro												
	465		470		475									480
	Leu Val Phe Pro Ser Asp	Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn												
			485		490									495
	Glu Lys Ile Asn Gln Ser	Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu												
			500		505									510
	Leu Gly Ser Gly Tyr Ile	Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr												
			515		520									525
	Val Arg Lys Asp Gly Glu	Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly												
			530		535									540

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 545 550 555 560
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 565 570 575
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 580 585 590
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 595 600 605
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 610 615 620
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 625 630 635 640
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 645 650 655
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 660 665 670
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 675 680 685
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 690 695 700
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 705 710 715 720
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 725 730 735
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 740 745 750
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 755 760 765
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 770 775

[0044]

<210> 36
 <211> 774
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> F_DS-Cav1-1GS-Fc

<400> 36
 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn

[0045]

485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly
 530 535 540
 Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 565 570 575
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 580 585 590
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 595 600 605
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 610 615 620
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 625 630 635 640
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 645 650 655
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 660 665 670
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 675 680 685
 [0046] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 690 695 700
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 705 710 715 720
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 725 730 735
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 740 745 750
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 755 760 765
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 770

<210> 37

<211> 789

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-4GS-Fc

<400> 37

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe

			20					25				30				
	Tyr	Gln	Ser	Thr	Cys	Ser	Ala	Val	Ser	Arg	Gly	Tyr	Leu	Ser	Ala	Leu
			35					40				45				
	Arg	Thr	Gly	Trp	Tyr	Thr	Ser	Val	Ile	Thr	Ile	Met	Leu	Ser	Asn	Ile
	50						55					60				
	Lys	Glu	Asn	Lys	Cys	Asn	Gly	Thr	Asp	Ala	Lys	Val	Lys	Leu	Ile	Lys
	65					70					75				80	
	Gln	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Lys	Asn	Ala	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Leu	Leu
						85				90					95	
	Met	Gln	Ser	Thr	Pro	Ala	Thr	Asn	Asn	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Pro
						100				105				110		
	Arg	Phe	Met	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asn	Ala	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Thr
	115							120						125		
	Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Asn	Asn	Phe	Leu	Gly	Phe	Cys	Leu	Gly	Val
	130						135					140				
	Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu
	145					150					155					160
	Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
					165					170					175	
	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Val	Val	Lys	Val
					180					185					190	
	Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn
	195							200					205			
	Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln
	210							215					220			
[0047]	Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
	225					230					235					240
	Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
						245					250					255
	Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
						260					265					270
	Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
	275							280								285
	Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
	290							295						300		
	Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
	305					310					315					320
	Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
						325					330					335
	Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
						340					345					350
	Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
						355					360					365
	Thr	Met	Asn	Ser	Cys	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Thr
	370							375								380
	Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr
	385					390						395				400
	Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys
						405					410					415
	Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile
						420					425					430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly
 530 535 540
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 545 550 555 560
 Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 565 570 575
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 580 585 590
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 595 600 605
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 610 615 620
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 [0048] 625 630 635 640
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 645 650 655
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 660 665 670
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 675 680 685
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 690 695 700
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 705 710 715 720
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 725 730 735
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 740 745 750
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 755 760 765
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 770 775 780
 Leu Ser Pro Gly Lys
 785

<210> 38
 <211> 779
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-2GS-Fc

<400> 38

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Val Val Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp

[0049]

	355		360		365											
	Thr Met Asn Ser Cys	Thr Leu Pro Ser Glu Val	Asn Leu Cys Asn Thr													
	370		375		380											
	Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr															
	385		390		395											400
	Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys															
		405		410		415										
	Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile															
		420		425		430										
	Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp															
		435		440		445										
	Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly															
		450		455		460										
	Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro															
	465		470		475											480
	Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn															
		485		490		495										
	Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu															
		500		505		510										
	Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr															
		515		520		525										
	Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly															
		530		535		540										
	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro															
	545		550		555											560
[0050]	Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro															
		565		570		575										
	Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr															
		580		585		590										
	Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn															
		595		600		605										
	Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg															
		610		615		620										
	Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val															
	625		630		635											640
	Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser															
		645		650		655										
	Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys															
		660		665		670										
	Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp															
		675		680		685										
	Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe															
		690		695		700										
	Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu															
	705		710		715											720
	Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe															
		725		730		735										
	Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly															
		740		745		750										
	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr															
		755		760		765										

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
770 775

<210> 39
<211> 774
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FH_85-1GS-Fc

<400> 39

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15
Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30
Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45
Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile
50 55 60
Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80
Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95
[0051] Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110
Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125
Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val
130 135 140
Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175
Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Val Val Lys Val
180 185 190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270
Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285
Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 [0052] 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly
 530 535 540
 Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 565 570 575
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 580 585 590
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 595 600 605
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 610 615 620
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 625 630 635 640
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 645 650 655
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 660 665 670
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 675 680 685
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 690 695 700
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

705 710 715 720
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 725 730 735
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 740 745 750
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 755 760 765
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 770

<210> 40
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CC02

<400> 40
 Ile Ala Leu Ala Leu Glu Lys Ile Ala Leu Ala Leu Glu Lys Ile Ala
 1 5 10 15
 Leu Ala Leu Glu Lys
 20

[0053]

<210> 41
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CC03

<400> 41
 Ile Lys Leu Glu Leu Glu Lys Ile Lys Leu Glu Leu Glu Lys Ile Lys
 1 5 10 15
 Leu Glu Leu Glu Lys
 20

<210> 42
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CC07

<400> 42
 Leu His Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His Ile Glu Lys Leu His

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
180 185 190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
195 200 205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270
Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285
Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300
Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
305 310 315 320
Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
325 330 335
Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
340 345 350
Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
355 360 365
[0055] Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380
Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400
Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415
Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430
Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445
Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480
Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495
Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510
Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
515 520 525
Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ile Ala
530 535 540
Leu Ala Leu Glu Lys Ile Ala Leu Ala Leu Glu Lys Ile Ala Leu Ala
545 550 555 560
Leu Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
565 570

<210> 45
 <211> 571
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> F_DS-Cav1-CC03

 <400> 45
 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg

[0056]

325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 [0057] Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Ile Lys
 530 535 540
 Leu Glu Leu Glu Lys Ile Lys Leu Glu Leu Glu Lys Ile Lys Leu Glu
 545 550 555 560
 Leu Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 565 570

<210> 46

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-CC07

<400> 46

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

65	70	75	80
Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu			
	85	90	95
Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro			
	100	105	110
Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr			
	115	120	125
Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val			
	130	135	140
Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu			
	145	150	155
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys			
	165	170	175
Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val			
	180	185	190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn			
	195	200	205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln			
	210	215	220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn			
	225	230	235
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu			
	245	250	255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys			
	260	265	270
[0058] Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile			
	275	280	285
Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro			
	290	295	300
Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro			
	305	310	315
Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg			
	325	330	335
Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe			
	340	345	350
Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp			
	355	360	365
Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val			
	370	375	380
Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr			
	385	390	395
Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys			
	405	410	415
Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile			
	420	425	430
Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp			
	435	440	445
Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly			
	450	455	460
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro			
	465	470	475
			480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Leu His
 530 535 540
 Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His
 545 550 555 560
 Ile Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 565 570

<210> 47
 <211> 571
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> F_DS-Cav1-CC08

<400> 47

[0059] Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Leu Lys
 530 535 540
 Leu Glu Ile His His Leu Lys Leu Glu Ile His His Leu Lys Leu Glu
 545 550 555 560
 Ile His His Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 565 570

[0060]

<210> 48
 <211> 571
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> FH_82-CC07

<400> 48

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15
Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30
Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45
Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60
Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80
Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95
Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110
Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125
Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val
130 135 140
Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175
Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Val Val Lys Val
180 185 190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270
Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285
Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300
Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
305 310 315 320
Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
325 330 335
Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
340 345 350
Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
355 360 365
Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr

[0061]

```

370          375          380
Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385          390          395          400
Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
          405          410          415
Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
          420          425          430
Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
          435          440          445
Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
          450          455          460
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465          470          475          480
Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
          485          490          495
Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
          500          505          510
Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
          515          520          525
Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Leu His
          530          535          540
Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His
545          550          555          560
Ile Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
          565          570

```

[0062]

<210> 49

<211> 571

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-CC07

<400> 49

```

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1          5          10          15
Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
          20          25          30
Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
          35          40          45
Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile
          50          55          60
Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65          70          75          80
Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
          85          90          95
Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
          100          105          110
Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr

```

	115		120		125
Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val					
130			135		140
Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu					
145			150		155
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys					
	165		170		175
Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Val Val Lys Val					
	180		185		190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn					
	195		200		205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln					
210			215		220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn					
225			230		235
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu					
	245		250		255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys					
	260		265		270
Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile					
	275		280		285
Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro					
290			295		300
Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro					
305			310		315
[0063] Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg					
	325		330		335
Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe					
	340		345		350
Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp					
	355		360		365
Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr					
	370		375		380
Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr					
385			390		395
Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys					
	405		410		415
Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile					
	420		425		430
Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp					
	435		440		445
Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly					
	450		455		460
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro					
465			470		475
Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn					
	485		490		495
Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu					
	500		505		510
Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr					
	515		520		525

Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Leu His
 530 535 540
 Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His Ile Glu Lys Leu His Leu His
 545 550 555 560
 Ile Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 565 570

<210> 50
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBcAg 的自组装结构域

<400> 50
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp
 20 25 30
 Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
 35 40 45
 Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
 50 55 60
 [0064] Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala
 65 70 75 80
 Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys
 85 90 95
 Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg
 100 105 110
 Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
 115 120 125
 Pro Pro Ala Ala Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
 130 135 140
 Glu Thr Thr Val Val
 145

<210> 51
 <211> 175
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> GS+HBcAg 的自组装结构域+His

<400> 51
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser


```

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

```

<210> 52
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0065]

<220>
 <223> HBcAg 的自组装结构域的 C 末端侧

```

<400> 52
Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu
1                5                10                15
Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Ala Leu Thr Phe Gly
    20                25                30
Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg
    35                40                45
Thr Pro Pro Ala Ala Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu
    50                55                60
Pro Glu Thr Thr Val Val
65                70

```

<210> 53
 <211> 65
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBcAg 的自组装结构域的 N 末端侧

<400> 53

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

<210> 54
 <211> 186
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBcCN

[0066] <400> 54
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val
 20 25 30
 Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Ala
 35 40 45
 Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly
 50 55 60
 Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Ala Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
 65 70 75 80
 Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Gly Gly Gly Ser Gly
 85 90 95
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ala
 100 105 110
 Ser Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile
 115 120 125
 Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu
 130 135 140
 Ser Pro Glu His Ser Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile
 145 150 155 160
 Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Gly
 165 170 175
 Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 180 185

<210> 55
 <211> 728
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> F_DC-Cav1-HBcCN

<400> 55

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

[0067]

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly
 530 535 540
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 545 550 555 560
 Gly Ser Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met
 565 570 575
 Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Ala Leu Thr
 580 585 590
 Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp
 595 600 605
 Ile Arg Thr Pro Pro Ala Ala Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
 610 615 620
 Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 625 630 635 640
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Val
 645 650 655
 Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp
 660 665 670
 Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro
 675 680 685
 Glu His Ser Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys
 690 695 700
 Trp Gly Glu Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Gly Gly Ser
 705 710 715 720
 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 725

[0068]

<210> 56
 <211> 728
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-HBcCN

<400> 56

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Met Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Asn Asn Phe Leu Gly Phe Cys Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Val Val Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp

[0069]

355 360 365
 Thr Met Asn Ser Cys Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Thr
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 515 520 525
 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly
 530 535 540
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 545 550 555 560
 [0070] Gly Ser Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met
 565 570 575
 Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Ala Leu Thr
 580 585 590
 Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp
 595 600 605
 Ile Arg Thr Pro Pro Ala Ala Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
 610 615 620
 Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 625 630 635 640
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Val
 645 650 655
 Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp
 660 665 670
 Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro
 675 680 685
 Glu His Ser Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys
 690 695 700
 Trp Gly Glu Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Gly Gly Ser
 705 710 715 720
 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
 725

<210> 57

<211> 2307

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-Fc

<400> 57

atggaacttc	tcatcctgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatcactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcact	ggctggtaca	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtgcaac	ggcaccgacg	ccaaagtgaa	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgtctgt	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	cacctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gacctcagc	aagaagagaa	agaggcgttt	tcttgggttt	420
ttgctgggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtgctg	540
cttagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgcaagta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgtaaaca	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaaaca	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtcctattc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagttct	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgctcatagac	acgccctggt	ggaaactgca	caccagtcct	960
ttgtgacta	caaactactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcgcggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	tttttccac	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
[0071] cagtcaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcaactga	ctcttccttc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatcccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctccctc	ggtgctattg	tgtcctgtta	cggcaagacc	1260
aaatgtactg	cttctaaca	aaatcgcggc	attattaaga	cattcagcaa	cggatgtgac	1320
tatgtctcca	ataaaggtgt	agacacggtg	tctgtgggta	ataccctcta	ctatgtgaat	1380
aagcaggaag	gaaagtcact	ctatgtgaaa	ggagagccga	tcatcaactt	ctacgatccc	1440
ctggtgtttc	ccagtgatga	gttcgacgcc	tctatcagcc	aggtgaatga	aaagatcaac	1500
caatccctgg	ccttcatacg	gaaatcagat	gagctgttag	gctcaggcta	catacccgaa	1560
gcaccgagag	atggtcaagc	gtatgtgcgg	aaggatggag	agtggtcctt	tctgtcaact	1620
ttctggaca	aaactcacac	ttgtccgcct	tgtcccgtc	cagagctcct	tggcggaccc	1680
tccgttttcc	tgtttcctcc	gaaaccaag	gatacgctga	tgatttcacg	cacaccagaa	1740
gtgacatgtg	tggtggtaga	tgtgtcccat	gaagatccgg	aggtgaagtt	taactggtat	1800
gtcagatggtg	tggaggttca	taacgctaag	acgaaaccac	gggaggagca	gtacaattcc	1860
acctaccgtg	tagtctctgt	gctgaccgtt	ttgcatcagg	attggctgaa	tggtaaagag	1920
tataagtgca	aagtgtccaa	caaggtcttg	ccagccccta	tcgaaaagac	catcagtaaa	1980
gccaaaggac	agcctagaga	accccaggtc	tatacgetgc	cacctctctg	ggacgagctg	2040
accaagaatc	aggtgtcact	gacttgtctg	gtgaagggtc	tctaccctag	cgacattgcc	2100
gtcgaatggg	agtctaattg	gcaaccgag	aataactaca	aaaccacacc	gccgtctttg	2160
gacagcgatg	gcagtttctt	cctgtactcc	aaactgactg	tggacaaaag	ccggtggcag	2220
caaggcaatg	tgttctcatg	ctctgtcatg	cacgaagccc	tgacacaacca	ttacacccaa	2280
aagtcactga	gctgagcccc	tggaaag				2307

<210> 58

<211> 2307

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_82-Fc

<400> 58

atggaactgc	tgatacttaa	ggctaacgcg	ataactacga	tcctcaccgc	ctgaccttt	60
tgctttgcct	ctggccaaaa	cattactgag	gaattctacc	agtcaactg	cagtgcagtg	120
agccgagggt	atctgtccgc	cctgagaacc	gggtgtata	cttccgcat	taccatcgag	180
ctgtccaaca	taaaagagaa	taagtgaac	ggcaccgat	ctaaagtga	actgatcaaa	240
caggaactcg	ataaatacaa	gaatgcagtt	acagagcttc	agctcctgat	gcagagcaact	300
ccggccacca	ataatagggc	aaggagagaa	ttgccacgat	ttatgaatta	cacactcaac	360
aacgcgaaga	aaactaacgt	gactctgtcc	aagaaacgta	agaataactt	cttggggttc	420
tgcttgggtg	taggtagcgc	cattgtctct	ggggtggccg	tcagcaaagt	gcttcacctg	480
gaaggagagg	tgaacaagat	caagcttgca	ctgctgtcta	caaacaaagc	agtggtgagc	540
ctgtccaacg	gaglatccgt	tctggtggtc	aaagtcctgg	atctgaagaa	ttatategac	600
aaacaactgc	tccccattgt	gaacaagcag	agttgttcaa	tcagcaacat	agaaactgtg	660
attgagttcc	aacagaagaa	caataggetg	ctcgaatta	ccagagagtt	tagcgtcaat	720
gctgggtgca	caacccagct	cagcaactac	atgctgacta	attccgagtt	gcttagcett	780
attaacgaca	tgccatcac	caatgaccag	aagaagctga	tgagtaataa	tgtgcagatt	840
gtgcgccagc	agagttacag	cattatgagt	attatcaaag	aggaggtatt	ggcttatgtg	900
ggtcagcttc	cgctgtatgg	ggctcatcgac	acacctgtt	ggaagttgca	taccagtccc	960
ctgtgtacga	caaacaccaa	ggaaggtagt	aacatctgct	tgacacgtac	cgatcggggg	1020
tggtattgcg	ataacgccgg	gtctgttagt	ttctttcctc	aagccgagac	atgcaaagtc	1080
cagagcaatc	gcgtgttctg	tgacacgatg	aacagctgta	ctttgccatc	agaggttaat	1140
[0072] ctgtgcaata	ccgacatctt	caaccccaaa	tacgactgta	agatcatgac	cagcaagact	1200
gatgtcagct	cctccgttat	aacatcactc	ggcgctatcg	tgtcttgcta	tggcaagacc	1260
aagtgtacag	cgtccaataa	gaatcggggc	attatcaaga	cattctccaa	cggatgtgac	1320
tacgtgagca	acaaaggagt	ggacaccgtg	tcagtcggaa	atacactgta	ttacgtgaat	1380
aagcaggagg	gcaaatctct	ttacgtgaag	ggcgaaacaa	tcatcaactt	ctatgatccc	1440
ctcgtctttc	cttctgatga	gtttgacgcc	tctatttctc	aggttaacga	gaagatcaat	1500
cagctctctgg	cctttatacg	caaaagcgat	gaactcctgg	gctcaggcta	catacccgaa	1560
gcaccgagag	atggtcaage	gtatgtgcgg	aaggatggag	agtgggtcct	tctgtcaact	1620
ttcttgga	aaactcacac	ttgtccgcct	tgtcccgtc	cagagctcct	tggcggaccc	1680
tcctgtttcc	tgtttctctc	gaaacccaag	gatacgtga	tgatttcacg	cacaccgaaa	1740
gtgacatgtg	tgggtgtaga	tgtgtcccat	gaagatccgg	aggtgaagtt	taactggtat	1800
gtcagatggtg	tggaggttca	taacgctaag	acgaaaccac	gggaggagca	gtacaattcc	1860
acctaccgtg	tagtctctgt	gctgaccgtt	ttgcatcagg	attggctgaa	tggtaaagag	1920
tataagtgca	aagtgtccaa	caaggctctg	ccagccccta	tcgaaaagac	catcagtaaa	1980
gccaaaggac	agcctagaga	accccaggtc	tatacgtgct	caccctctcg	ggacgagctg	2040
accaagaatc	aggtgtcact	gacttgtctg	gtgaaggget	tctaccctag	cgacattgcc	2100
gtcgaatggg	agtctaatgg	gcaacccgag	aataactaca	aaaccacacc	gcccgtcttg	2160
gacagcgatg	gcagtttctt	cctgtactcc	aaactgactg	tggacaaaag	ccggtggcag	2220
caaggcaatg	tgttctcatg	ctctgtcatg	cacgaagccc	tgacacaacca	ttacacccaa	2280
aagtcactga	gcctgagccc	tggaaag				2307

<210> 59

<211> 2307

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-Fc

<400> 59

atggaactgc	tgataacttaa	ggctaacgcg	ataactacga	tcctcaccgc	ctgaccttt	60
tgctttgcct	ctggccaaaa	cattactgag	gaattctacc	agtcaacgtg	cagtgcagtg	120
agccgagggt	atctgtccgc	cctgagaacc	gggtggtata	cttccgtcat	taccatcatg	180
ctgtccaaca	taaaagagaa	taagtgaac	ggcaccgatg	ctaaagtga	actgatcaaa	240
caggaactcg	ataaatacaa	gaatgcagtt	acagagcttc	agctcctgat	gcagagcact	300
ccggccacca	ataatagggc	aaggagagaa	ttgccacgat	ttatgaatta	cacactcaac	360
aacgcgaaga	aaactaacgt	gactctgtcc	aagaaacgta	agaataactt	cttgggggtc	420
tgtctgggtg	taggtagcgc	cattgcttct	gggggtggccg	tcagcaaagt	gcttcacctg	480
gaaggagagg	tgaacaagat	caagtctgca	ctgctgtcta	caaacaagc	agtgggtgagc	540
ctgtccaacg	gagtatccgt	tctgggtggtc	aaagtcctgg	atctgaagaa	ttatatcgac	600
aaacaactgc	tccccattgt	gaacaagcag	agttgttcaa	tcagcaacat	agaaactgtg	660
attgagttcc	aacagaagaa	caataggctg	ctcgaaatta	ccagagagtt	tagcgtcaat	720
gctgggtgca	caacccccagt	cagcacttac	atgctgacta	attccgagtt	gcttagcctt	780
attaacgaca	tgccatcac	caatgaccag	aagaagctga	tgagtaataa	tgtgcagatt	840
gtgcgccagc	agagttacag	cattatgagt	attatcaaag	aggaggtatt	ggcttatgtg	900
gttcagcttc	cgctgtatgg	ggtcatcgac	acaccttgtt	ggaagttgca	taccagtccc	960
ctgtgtacga	caaacaccaa	ggaaggtagt	aacatctgct	tgacacgtac	cgatcgggggt	1020
tggatttgcg	ataacgccgg	gtctgttagt	ttctttctc	aagccgagac	atgcaaagtc	1080
cagagcaatc	gcgtgttctg	tgacacgatg	aacagctgta	ctttgccatc	agaggttaat	1140
ctgtgcaata	cgacatctt	caaccccaaa	tacgactgta	agatcatgac	cagcaagact	1200
[0073] gatgtcagct	cctccgttat	aacatcactc	ggcctatcg	tgtcttgcta	tggcaagacc	1260
aagtgtacag	cgccaataa	gaatcggggc	attatcaaga	cattctccaa	cggatgtgac	1320
tacgtgagca	acaaaggagt	ggacaccgtg	tcagtcggaa	atacactgta	ttacgtgaat	1380
aagcaggagg	gcaaatctct	ttacgtgaag	ggcgaaccaa	tcatacaactt	ctatgatccc	1440
ctcgtcttcc	cttctgatga	gtttgacgcc	tctatttctc	aggttaacga	gaagatcaat	1500
cagtctctgg	cctttatacg	caaaaagcgt	gaactcctgg	gctcaggcta	catacccgaa	1560
gcaccgagag	atggtaagc	gtatgtgcgg	aaggatggag	agtgggtcct	tctgtcaact	1620
ttctcggaca	aaactcacac	ttgtccgect	tgteccgctc	cagagctcct	tggcggaccc	1680
tccgttttcc	tgtttctctc	gaaacccaag	gatacgtgta	tgatttcacg	cacaccagaa	1740
gtgacatgtg	tgggtgtaga	tgtgtcccat	gaagatccgg	agggtgaagtt	taactgggtat	1800
gtcgtatggtg	tggaggttca	taacgctaag	acgaaaccac	gggaggagca	gtacaattcc	1860
acctaccgtg	tagtctctgt	gctgaccgtt	ttgcatcagg	attggctgaa	tggtaaagag	1920
tataagtgca	aagtgtccaa	caaggctctg	ccagccceta	tcgaaaagac	catcagtaaa	1980
gccaaaggac	agcctagaga	accccaggtc	tatacgtgct	cacctctctg	ggacgagctg	2040
accaagaatc	aggtgtcact	gacttgtctg	gtgaagggct	tctaccctag	cgacattgcc	2100
gtcgaatggg	agtctaattg	gcaacccgag	aataactaca	aaaccacacc	gcccgtcttg	2160
gacagcgatg	gcagtttctt	cctgtactcc	aaactgactg	tggacaaaag	ccggtggcag	2220
caaggcaatg	tgttctcatg	ctctgtcatg	cacgaagccc	tgcacaacca	ttacacccaa	2280
aagtcactga	gcctgagccc	tggaaaag				2307

<210> 60

<211> 2367

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-4GS-Fc

<400> 60

atggaacttc	tcatectgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatcactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tetaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcact	ggctggta	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtgcaac	ggcaccgacg	ccaaagtgaa	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	caccctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gaccctcagc	aagaagagaa	agaggcgttt	tcttgggttt	420
ttgtggggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaagc	agtagtctcg	540
cttagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgacagta	ttagcaatat	cgagacgggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaataa	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgtaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaaacia	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtcctatc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagtctt	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgcatagac	acgccctggt	ggaaactgca	caccagtcct	960
ttgtgacta	caaacaactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcgcggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	ttttccccc	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
cagtcgaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcactga	ctcttccttc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatcccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctccctc	ggtgctattg	tgtcctgtta	cggcaagacc	1260
aatgtactg	cttctaacia	aaatcgcggc	attattaaga	cattcagcaa	cggatgtgac	1320
tatgtctcca	ataaaggtgt	agacacgggtg	tctgtgggta	ataccctcta	ctatgtgaat	1380
aagcaggaag	gaaagtcact	ctatgtgaaa	ggagagccga	tcatcaactt	ctacgatccc	1440
ctggtgtttc	ccagtgatga	gttcgacgcc	tctatcagcc	aggtgaatga	aaagatcaac	1500
caatccctgg	ccttcatacg	gaaatcagat	gagctgttag	gctcaggcta	cataccgaa	1560
gcaccgagag	atggtcaagc	gtatgtgcgg	aaggatggag	agtgggtcct	tctgtcaact	1620
ttctggggcg	ggggtgggag	cggagggcga	ggttcagggg	gtggagggtc	aggcggagga	1680
ggcagcgaca	aaactcacac	ttgtccgctt	tgtcccgtc	cagagctcct	tggcggaccc	1740
tccgttttcc	tgtttcctcc	gaaacccaag	gatacgtgta	tgatttcacg	cacaccagaa	1800
gtgacatgtg	tggtggtaga	tgtgtcccat	gaagatccgg	aggtgaagtt	taactggtat	1860
gtcgatggtg	tggaggttca	taacgctaag	acgaaaccac	gggaggagca	gtacaattcc	1920
acctaccgtg	tagtctctgt	gctgaccgtt	ttgcatcagg	attggctgaa	tggtaaagag	1980
tataagtgea	aagtgtccaa	caaggctctg	ccagccccta	tcgaaaagac	catcagtaaa	2040
gccaaaggac	agcctagaga	accccaggtc	tatacgtctg	caccctctcg	ggacgagctg	2100
accaagaatc	aggtgtcact	gacttgtctg	gtgaagggct	tctaccctag	cgacattgcc	2160
gtcgaatggg	agtctaattg	gcaacccgag	aataactaca	aaaccacacc	gccgtcttg	2220
gacagcgatg	gcagtttctt	cctgtactcc	aaactgactg	tggacaaaag	ccggtggcag	2280
caaggcaatg	tgttctcatg	ctctgtcatg	cacgaagccc	tgcacaacca	ttacacccaa	2340
aagtcactga	gcctgagccc	tggaaag				2367

[0074]

<210> 61

<211> 2337

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-2GS-Fc

<400> 61

atggaacttc	tcatectgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatcaactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcaact	ggctgggtaca	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtcaac	ggcaccgacg	ccaaagtgaa	actgattaata	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	caccctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gaccctcagc	aagaagagaa	agaggcgitt	tcttgggttt	420
ttgtggggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtgctg	540
cttagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgcagta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgtaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaacaa	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtctattc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagttct	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgctcatagac	acgcctgtt	ggaaactgca	caccagtcct	960
ttgtgcacta	caaacactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcggggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	tttttccac	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
cagtcgaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcaactg	ctcttcttc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctcctc	ggtgctatg	tgtcctgta	cggcaagacc	1260
[0075] aatgtactg	cttctaacaa	aaatcgcggc	attattaaga	cattcagcaa	cggatgtgac	1320
tatgtctcca	ataaagggtg	agacacggtg	tctgtgggta	atacccteta	ctatgtgaat	1380
aagcaggaag	gaaagtcact	ctatgtgaaa	ggagagccga	tcatcaactt	ctacgatccc	1440
ctgggttttc	ccagtgatga	gttcgacgcc	tctatcagcc	aggtgaatga	aaagatcaac	1500
caatccctgg	ccttcatacg	gaaatcagat	gagctgttag	gctcaggcta	cataccgaa	1560
gcaccgagag	atggtcaagc	gtatgtcgg	aaggatggag	agtgggtcct	tctgtcaact	1620
ttcttggggg	gtggagggtc	aggcggagga	ggcagcgaca	aaactcacac	ttgtccgct	1680
tgtcccgcctc	cagagctcct	tggcggacce	tccgttttcc	tgttctctcc	gaaacceaaag	1740
gatacgtgta	tgatttcaeg	cacaccagaa	gtgacatgtg	tggtggtaga	tgtgtcccat	1800
gaagatccgg	aggtgaagtt	taactggtat	gtcgtatggtg	tggaggttca	taacgctaag	1860
acgaaaccac	gggaggagca	gtacaattcc	acctaccgtg	tagtctctgt	gctgaccgtt	1920
ttgcatcagg	attggctgaa	tggtaaagag	tataagtga	aagtgtcaa	caaggctctg	1980
ccagccccta	tcgaaaagac	catcagtaaa	gccaaaggac	agcctagaga	accccaggtc	2040
tatacgtctg	cacctctctg	ggacgagctg	accaagaatc	aggtgtcact	gacttgtctg	2100
gtgaagggct	tctaccctag	cgacattgcc	gtcgaatggg	agtctaattg	gcaaccgag	2160
aataactaca	aaaccacacc	gcccgtcttg	gacagcgatg	gcagtttctt	cctgtactcc	2220
aaactgactg	tggacaaaag	ccggtggcag	caaggcaatg	tgttctcatg	ctctgtcatg	2280
cacgaagccc	tgcacaacca	ttacacccaa	aagtcaactg	gcctgagccc	tggaaag	2337

<210> 62

<211> 2322

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-IGS-Fc

<400> 62

atggaacttc	tcatectgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcact	ggctggtaga	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtcaac	ggcaccgacg	ccaaagtcaa	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	cacctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gacctcagc	aagaagagaa	agaggcgttt	tcttgggitt	420
ttgtggggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtctcg	540
cttagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacategat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgacgta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgtaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaaacaa	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtcctattc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagttct	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgctcatagac	acgcctgtt	ggaaactgca	caccagtctc	960
ttgtgcaacta	caaacactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcgcggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	tttttcccac	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
cagtcgaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcaactga	ctcttctctc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatcccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctcctc	ggtgctattg	tgtcctgtta	cggcaagacc	1260
aaatgtactg	cttctaacaa	aaatcgcggc	attattaaga	cattcagcaa	cggatgtgac	1320
[0076] tatgtctcca	ataaaggtgt	agacacggtg	tctgtgggta	atacctctca	ctatgtgaat	1380
aagcaggaag	gaaagtcact	ctatgtgaaa	ggagagccga	tcatacaact	ctacgatccc	1440
ctggtgtttc	ccagtgatga	gttcgacgcc	tctatcagcc	aggtgaatga	aaagatcaac	1500
caatccctgg	ccttcatacg	gaaatcagat	gagctgttag	gctcaggcta	catacccgaa	1560
gcaccgagag	atggtcaagc	gtatgtgcgg	aaggatggag	agtgggtcct	tctgtcaact	1620
ttcttgggcg	gaggaggcag	cgacaaaact	cacactgtc	cgcttgtcc	cgctccagag	1680
ctccttggcg	gacctccgt	tttctgttt	cctccgaaac	ccaaggatac	gctgatgatt	1740
tcacgcacac	cagaagtgac	atgtgtggtg	gtagatgtgt	cccatgaaga	tccggaggtg	1800
aagttaact	ggtatgtcga	tggtgtggag	gttcataacg	ctaagacgaa	accacgggag	1860
gagcagtaca	attccaccta	ccgtgtagtc	tctgtgctga	ccgttttgca	tcaggattgg	1920
ctgaatggta	aagagtataa	gtgcaaagtg	tccaacaagg	ctctgccagc	ccctatcgaa	1980
aagaccatca	gtaaagccaa	aggacagcct	agagaacccc	aggtctatac	gctgccacc	2040
tctcgggacg	agctgaccaa	gaatcaggtg	tactgactt	gtctggtgaa	ggcttctac	2100
cctagcgaca	ttgccgtcga	atgggagtct	aatgggcaac	ccgagaataa	ctacaaaacc	2160
acaccgcccg	tcttggacag	cgatggcagt	ttcttctgt	actccaaact	gactgtggac	2220
aaaagccggt	ggcagcaagg	caatgtgttc	tcatgctctg	tcatgcacga	agccctgcac	2280
aaccattaca	cccaaaagtc	actgagcctg	agccctggaa	ag		2322

<210> 63

<211> 2367

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-4GS-Fc

<400> 63							
	atggaactgc	tgatacttaa	ggctaacgcg	ataactacga	tcctcaccgc	cgtgaccttt	60
	tgctttgcct	ctggccaaaa	cattactgag	gaattctacc	agtcaacgtg	cagtgacgtg	120
	agccgagggg	atctgtccgc	cctgagaacc	gggtgggata	cttccgtcat	taccatcatg	180
	ctgtccaaca	taaaagagaa	taagtgaac	ggcaccgatg	ctaaagtga	actgatcaaa	240
	caggaactcg	ataaatacaa	gaatgcagtt	acagagcttc	agctcctgat	gcagagcact	300
	ccggccacca	ataatagggc	aaggagagaa	ttgccacgat	ttatgaatta	cacactcaac	360
	aacgcgaaga	aaactaacgt	gactctgtcc	aagaacgta	agaataactt	cttggggttc	420
	tgtctgggtg	taggtagcgc	cattgtctct	gggtggccg	tcagcaaagt	gcttcacctg	480
	gaaggagagg	tgaacaagat	caagtctgca	ctgtctgcta	caaacaaagc	agtggtgagc	540
	ctgtccaacg	gagtatccgt	tctggtggtc	aaagtcctgg	atctgaagaa	ttatatcgac	600
	aaacaactgc	tccccattgt	gaacaagcag	agttgttcaa	tcagcaacat	agaaactgtg	660
	attgagttcc	aacagaagaa	caataggctg	ctcgaatta	ccagagagtt	tagcgtcaat	720
	gctgggtgca	caaccccagt	cagcacttac	atgtgacta	attccgagtt	gcttagcctt	780
	attaacgaca	tgcctatcac	caatgaccag	aagaagctga	tgagtaataa	tgtgcagatt	840
	gtgcgccagc	agagttacag	cattatgagt	attatcaaag	aggaggtatt	ggcttatgtg	900
	gttcagcttc	cgctgtatgg	ggtcatcgac	acaccttgtt	ggaagttgca	taccagtccc	960
	ctgtgtacga	caaacaccaa	ggaaggtagt	aacatctgct	tgacacgtac	cgatcggggg	1020
	tggtattgcg	ataacgccgg	gtctgttagt	ttctttctc	aagccgagac	atgcaaagtc	1080
	cagagcaate	gcgtgtcttg	tgacacgatg	aacagctgta	ctttgccatc	agaggttaat	1140
	ctgtgcaata	ccgacatctt	caaccccaaa	tacgactgta	agatcatgac	cagcaagact	1200
	gatgtcagct	cctccgttat	aacatcactc	ggcgcctatg	tgtcttgcta	tggcaagacc	1260
	aaggtacag	cgccaataa	gaatcggggc	attatcaaga	cattctccaa	cggatgtgac	1320
	tacgtgagca	acaaaggagt	ggacaccgtg	tcagtcggaa	atacactgta	ttacgtgaat	1380
[0077]	aagcaggagg	gcaaatctct	ttacgtgaag	ggcgaaccaa	tcatacaact	ctatgatccc	1440
	ctcgtctttc	cttctgatga	gtttgacgcc	tctatttctc	aggttaacga	gaagatcaat	1500
	cagtctctgg	ccctttatac	caaaagcgat	gaactcctgg	gctcaggcta	cataccgaa	1560
	gcaccgagag	atggtcaagc	gtatgtgcgg	aaggatggag	agtgggtcct	tctgtcaact	1620
	ttcttgggcg	gggggtgggag	cggaggcgga	ggttcagggg	gtggagggtc	aggcggagga	1680
	ggcagcgaca	aaactcacac	ttgtccgcct	tgtcccgtc	cagagctcct	tggcggaccc	1740
	tccgttttcc	tgtttctctc	gaaacccaag	gatacgtgta	tgatttcacg	cacaccagaa	1800
	gtgacatgtg	tgggtgtaga	tgtgtcccat	gaagatccgg	agggtgaagt	taactggtat	1860
	gtcgatgggt	tggaggttca	taacgctaag	acgaaaccac	gggaggagca	gtacaattcc	1920
	acctaccgtg	tagtctctgt	gctgaccgtt	ttgcatcagg	attggctgaa	tggtaaagag	1980
	tataagtgca	aagtgtccaa	caaggctctg	ccagccccta	tcgaaaagac	catcagtaaa	2040
	gccaaaggac	agcctagaga	accccaggtc	tatacgtgce	caccctctcg	ggacgagctg	2100
	accaagaate	agggtgctact	gacttgtctg	gtgaagggtc	tctaccctag	cgacattgcc	2160
	gtcgaatggg	agtctaatgg	gcaacccgag	aataactaca	aaaccacacc	gcccgtcttg	2220
	gacagcgatg	gcagtttctt	cctgtactcc	aaactgactg	tggacaaaag	ccggtggcag	2280
	caaggcaatg	tgttctcatg	ctctgtcatg	cacgaagccc	tgcacaacca	ttacacccaa	2340
	aagtcaactga	gcctgagccc	tggaaag				2367

<210> 64

<211> 2337

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-2GS-Fc

<400> 64	
atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tcctcaccgc cgtgaccttt	60
tgctttgcct ctggccaaaa cattaactgag gaattctacc agtcaacgtg cagtgcagtg	120
agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata cttccgtcat taccatcatg	180
ctgtccaaca taaaagagaa taagtcaac ggcaccgatg ctaaagtgaa actgatcaaa	240
caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagcttc agctcctgat gcagagcact	300
ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac	360
aacgcgaaga aactaacgt gactctgtcc aagaaacgta agaataactt cttggggttc	420
tgtctgggtg taggtagcgc cattgttctt ggggtggccg tcagcaaagt gcttcacctg	480
gaaggagagg tgaacaagat caagtctgca ctgctgtcta caaacaagc agtgggtgagc	540
ctgtccaacg gagtatccgt tctggtggtc aaagtcttgg atctgaagaa ttatatcgac	600
aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg	660
attgagttcc aacagaagaa caataggctg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat	720
gctggtgtca caacccagt cagcacttac atgctgacta attccgagtt gcttagcctt	780
attaacgaca tcctatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtgcagatt	840
gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg	900
gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acaccttgtt ggaagttgca taccagtecc	960
ctgtgtacga caaacaccaa ggaaggtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcggggt	1020
tggtattgcg ataacgccgg gtctgttagt ttctttcctc aagccgagac atgcaaagtc	1080
cagagcaatc gcgtgttctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat	1140
ctgtgcaata ccgacatctt caacccaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact	1200
gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcctatcgc tgtcttgcta tggcaagacc	1260
aaggtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctccaa cggatgtgac	1320
tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttacgtgaat	1380
[0078] aagcaggagg gcaaatectt ttacgtgaag ggcgaaccaa tcatcaactt ctatgatecc	1440
ctcgtctttc cttctgatga gtttgacgcc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat	1500
cagtctctgg cctttatacg caaaaagcgt gaactcctgg gctcaggcta cataccgaa	1560
gcaccgagag atggtcaagc gtatgtgcgg aaggatggag agtgggtcct tctgtcaact	1620
ttcctggggg gtggagggtc aggcggagga ggcagcgaca aaactcacac ttgtccgct	1680
tgtcccgtc cagagctcct tggcggacce tccgttttcc tgtttcctcc gaaacccaag	1740
gatacgtgta tgatttcacg cacaccagaa gtgacatgtg tgggtgtaga tgtgtcccat	1800
gaagatccgg aggtgaagtt taactggtat gtcgatgggt tggaggttca taacgctaag	1860
acgaaaccac gggaggagca gtacaattcc acctaccgtg tagtctctgt gctgaccgtt	1920
ttgcatcagg attggctgaa tggtaaagag tataagtgca aagtgtccaa caaggctctg	1980
ccagccccta tcgaaaagac catcagtaaa gccaaaggac agcctagaga accccaggtc	2040
tatacgtgac caccctctcg ggacgagctg accaagaatc aggtgtcact gacttgtctg	2100
gtgaagggtc tctaccctag cgacattgcc gtcgaatggg agtctaattg gcaaccgag	2160
aataactaca aaaccacacc gcccgtcttg gacagcgatg gcagtttctt cctgtactcc	2220
aaactgactg tggacaaaag ccggtggcag caaggcaatg tgttctcatg ctctgtcatg	2280
cacgaagccc tgcacaacca ttacacccaa aagtcactga gcctgagccc tggaaag	2337
<210> 65	
<211> 2322	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> FH_85-IGS-Fc	

<400> 65

atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tectcaccgc cgtgaccttt 60
 tgctttgcct ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaacgtg cagtgcagtg 120
 agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtggata ctcccgatc taccatcatg 180
 ctgtccaaca taaaagagaa taagtgaac ggcaccgatg ctaaagtga actgatcaaa 240
 caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagcttc agctcctgat gcagagcact 300
 ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac 360
 aacgcgaaga aactaacgt gactctgtcc aagaaacgta agaataactt cttggggttc 420
 tgtctgggtg taggtagcgc cattgtctct ggggtggccg tcagcaaagt gettcacctg 480
 gaaggagagg tgaacaagat caagtctgca ctgtctgcta caaacaagc agtggtgagc 540
 ctgtccaacg gagtatccgt tctgggtggtc aaagtcctgg atctgaagaa ttatatgcac 600
 aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg 660
 attgagttcc aacagaagaa caataggctg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat 720
 gctgggtgca caacccagc cagcacttac atgtgacta attccgagtt gcttagcett 780
 attaacgaca tgcctatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtgcagatt 840
 gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg 900
 gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acaccttggt ggaagttgca taccagtccc 960
 ctgtgtacga caaacaccaa ggaaggtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcgggggt 1020
 tggatttgcg ataacgccgg gctctgttagt ttctttctc aagccgagac atgcaaagtc 1080
 cagagcaatc gcgtgtctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat 1140
 ctgtgcaata ccgacatctt caaccccaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact 1200
 gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcgctatcg tgtcttgcta tggcaagacc 1260
 aagtgtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctcca cggatgtgac 1320
 [0079] tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttacgtgaat 1380
 aagcaggagg gcaaatctct ttacgtgaag ggcaaccaa tcatcaactt ctatgatccc 1440
 ctctctttc ctctctgatga gtttgacgcc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat 1500
 cagtctctgg cctttatac caaaagcgat gaactcctgg gctcaggcta cataccgaa 1560
 gcaccgagag atggtcaagc gtatgtgcgg aaggatggag agtgggtcct tctgtcaact 1620
 ttctggggcg gaggaggcag cgacaaaact cacacttgte cgccttgtec cgtccagag 1680
 ctcttggeg gaccctcgt tttctgttt cctccgaaac ccaaggatac gctgatgatt 1740
 tcacgcacac cagaagtgac atgtgtggtg gtagatgtgt cccatgaaga tccggaggtg 1800
 aagtttaact ggtatgtcga tgggtgggag gttcataacg ctaagacgaa accacgggag 1860
 gagcagtaca attccaccta ccgtgtatgc tctgtgctga ccgttttgca tcaggattgg 1920
 ctgaatggta aagagtataa gtgcaaagt tccaacaagg ctctgccagc ccctatcgaa 1980
 aagaccatca gtaaagccaa aggacagcct agagaacccc aggtctatac gctgccacc 2040
 tctcgggacg agctgaccaa gaatcaggtg tcaactgactt gtctgggtgaa gggcttctac 2100
 cctagcgaca ttgccgtcga atgggagtct aatgggcaac ccgagaataa ctacaaaacc 2160
 acaccgcccg tcttgacag cgatggcagt ttcttctgt actccaaact gactgtggac 2220
 aaaagccggt ggcagcaagg caatgtgttc tcatgtctg tcatgcacga agccctgcac 2280
 aaccattaca ccaaaaagtc actgagcctg agccctggaa ag 2322

<210> 66

<211> 1713

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-CC02

<400> 66						
atggaacttc	tcatcctgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatcactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcaact	ggctgggtaca	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtgcac	ggcaccgacg	ccaaagtga	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	caccctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gaccctcagc	aagaagagaa	agaggcgitt	tcttgggttt	420
ttgtggggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtgcg	540
cctagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgcaagta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgttaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaaacaa	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtcctattc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagttct	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgtcatagac	acgcctgtt	ggaaactgca	caccagtcct	960
ttgtgacta	caaactactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcgcggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	tttttccac	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
cagtcgaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcaactga	ctcttccttc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatcccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctccctc	ggtgctattg	tgtcctgtta	cggcaagacc	1260
aaatgtactg	cttctaacaa	aaatcgcggc	attattaaga	cattcagcaa	cggatgtgac	1320
tatgtctcca	ataaaggtgt	agacacggtg	tctgtgggta	ataccctcta	ctatgtgaat	1380
aagcaggaag	gaaagtcact	ctatgtgaaa	ggagagccga	tcatcaactt	ctacgatccc	1440
[0080] ctggtgtttc	ccagtgatga	gttcgacgcc	tctatcagcc	aggtgaatga	aaagatcaac	1500
caatccctgg	ccttcatacg	gaaatcagat	gagctgttag	ggtctggcta	catccctgaa	1560
gcaccagag	atggtcaggc	ctatgtgagg	aaagatggcg	aatgggtcct	getgtccacc	1620
ttctgatag	cgttggccct	ggagaaaatc	gcccttgca	tggagaagat	tgcctcggcc	1680
ttggagaagg	actacaagga	cgatgacgac	aaa			1713

<210> 67

<211> 1713

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DS-Cav1-CC03

<400> 67

atggaacttc	tcatcctgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatcactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcaact	ggctgggtaca	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtgcac	ggcaccgacg	ccaaagtga	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	caccctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gaccctcagc	aagaagagaa	agaggcgitt	tcttgggttt	420
ttgtggggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtgcg	540
cctagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600

aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgacgta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgttaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaaacaa	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtcctattc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagttct	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgatcatagac	acgcctgtt	ggaaactgca	caccagtctc	960
ttgtgacta	caaacactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcgcggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	tttttccac	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
cagtcgaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcactga	ctcttccttc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatcccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctccctc	ggtgctattg	tgtcctgtta	cggcaagacc	1260
aaatgtactg	cttctaacaa	aaatcgcggc	attattaaga	cattcagcaa	cggatgtgac	1320
tatgtctcca	ataaaggtgt	agacacggtg	tctgtgggta	ataccctcta	ctatgtgaat	1380
aagcaggaag	gaaagtcact	ctatgtgaaa	ggagagccga	tcatcaactt	ctacgatccc	1440
ctgggttttc	ccagtgatga	gttcgacgcc	tctatcagcc	aggtgaatga	aaagatcaac	1500
caatccctgg	ccttcatacg	gaaatcagat	gagctgttag	gatctggcta	cattcccgaa	1560
gctcctagag	atggccaggc	ctatgtgagg	aaagatgggg	agtgggtgtt	gctgagcacc	1620
ttctcatca	aactggagct	ggagaagatt	aagctggaac	tggagaaaat	caagctcgaa	1680
cttgagaagg	actacaagga	cgatgacgac	aaa			1713

<210> 68

<211> 1713

<212> DNA

<213> 人工序列

[0081]

<220>

<223> F_DS-Cav1-CC07

<400> 68

atggaacttc	tcatcctgaa	agccaatgcc	attacgacca	tcttgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tatcactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgact	ggctgtgaca	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtgcaac	ggcaccgacg	ccaaagtga	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	caccctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gaccctcagc	aagaagagaa	agagcgcttt	tcttgggttt	420
ttgtgaggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtgtcg	540
cttagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgacgta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgttaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaaacaa	tgtgcagata	840
gtcaggcaac	agtcctattc	cattatgtgc	atcatcaagg	aagaagttct	ggcctatgtc	900
gtccaacttc	ccttatatgg	cgatcatagac	acgcctgtt	ggaaactgca	caccagtctc	960
ttgtgacta	caaacactaa	ggaggggtct	aacatctgtc	tgactaggac	agatcgcggg	1020
tggtattgcg	acaatgctgg	ctcagtgagc	tttttccac	aagccgaaac	atgcaaagtc	1080
cagtcgaatc	gggtgttttg	tgacacaatg	aactcactga	ctcttccttc	cgaagtgaac	1140
ttgtgcaatg	tcgatatctt	caatcccaaa	tatgactgca	agatcatgac	aagtaagacc	1200
gatgtcagca	gtagcgtcat	tacctccctc	ggtgctattg	tgtcctgtta	cggcaagacc	1260

aaatgtactg cttctaacia aaatcgcggc attattaaga cattcagcaa cggatgtgac 1320
 tatgtctcca ataaaggtgt agacacggtg tctgtgggta atacccteta ctatgtgaat 1380
 aagcaggaag gaaagtcact ctatgtgaaa ggagagccga tcatcaactt ctacgatccc 1440
 ctgggtgttc ccagtgatga gttcgacgcc tctatcagcc aggtgaatga aaagatcaac 1500
 caatccctgg ccttcatacg gaaatcagat gagctgttag gttccgggta catacccgaa 1560
 gtccttagag atggacaggc ctatgtgagg aaagatggcg aatgggtctt actgagcacc 1620
 ttcttgctcc atctgcacat tgagaagcta cacctccata tcgagaaact gcattctcac 1680
 atcgagaagg actacaagga cgatgacgac aaa 1713

- <210> 69
- <211> 1713
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> F_DS-Cav1-CC08

[0082]

<400> 69
 atggaacttc tcatcctgaa agccaatgcc attacgacca ttctgacagc cgtaaccttt 60
 tgctttgcaa gtggtcagaa tactactgag gaattctacc agagtacctg tagcgcagtt 120
 tctaaggggt acttgtctgc gcttcgcaact ggctgtgaca cctcggttat taccattgag 180
 ctgtccaaca tcaaagagaa caagtcaaac ggcaccgacg ccaaagtga actgattaaa 240
 caggagctcg acaaatataaa aaatgctgtg acagagttgc agttgctcat gcagtctacc 300
 cctgctacga acaaccgagc aaggcgagaa ctaccaagat tcatgaacta caccctgaat 360
 aatgcgaaaa agactaacgt gaccctcagc aagaagagaa agaggcgttt tcttgggttt 420
 ttgtggggag ttgggagcgc tatagccagc ggagttgctg tgtgtaaggt attgcaccta 480
 gaaggggagg tgaataagat caagagtgcc ctgctgtcca caaacaagc agtagtgtcg 540
 cttagcaatg gggtgtccgt tctgacctc aaggttctag atctcaaaaa ctacatcgat 600
 aagcagcttc tgccaatcct caacaagcag tcttgcagta ttagcaatat cgagacggtg 660
 atagagtttc aacagaagaa caatcgtctg ctcgaaatta cacgggagtt tagcgtcaac 720
 gcaggagtga ctactcctgt aagcacctac atgttaacaa actccgagct gctatctctg 780
 atcaatgaca tgccaattac aaacgaccag aaaaagttaa tgtcaacaa tgtgcagata 840
 gtcaggcaac agtcttatc cattatgtgc atcatcaagg aagaagtctt ggccatgtc 900
 gtccaacttc ctttatatgg cgctatagac acgcctgtt ggaaactgca caccagtctt 960
 ttgtgcacta caaacactaa ggaggggtct aacatctgtc tgactaggac agatcgcggg 1020
 tggatttgcg acaatgctgg ctacgtgagc tttttccac aagccgaaac atgcaaagtc 1080
 cagtogaatc ggggtgtttg tgacacaatg aactcactga ctcttcttc cgaagtgaac 1140
 ttgtgcaatg tcgatatctt caatcccaaa tatgactgca agatcatgac aagtaagacc 1200
 gatgtcagca gtacgtctat tacctccctc ggtgctattg tgcctgtta cggcaagacc 1260
 aaatgtactg cttctaacia aaatcgcggc attattaaga cattcagcaa cggatgtgac 1320
 tatgtctcca ataaaggtgt agacacggtg tctgtgggta atacccteta ctatgtgaat 1380
 aagcaggaag gaaagtcact ctatgtgaaa ggagagccga tcatcaactt ctacgatccc 1440
 ctgggtgttc ccagtgatga gttcgacgcc tctatcagcc aggtgaatga aaagatcaac 1500
 caatccctgg ccttcatacg gaaatcagat gagctgttag gaagcggcta cattcccgaa 1560
 gtccttagag atggtcaggc ctatgtgagg aaagatggcg aatgggtctt actgtccacc 1620
 ttctttctca agttggagat ccaccatctg aagctagaga tccatcacct caaactggag 1680
 atacacatg actacaagga cgatgacgac aaa 1713

- <210> 70

<211> 1713
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> FH_82-CC07

<400> 70

```

atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tcctcaccgc cgtgaccttt      60
tgctttgcct ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaacgtg cagtgcagtg      120
agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata ctcccgcat taccatcgag      180
ctgtccaaca taaaagagaa taagtgaac ggcaccgatg ctaaagtga actgatcaaa      240
caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagcttc agctcctgat gcagagcact      300
ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac      360
aacgcgaaga aaactaacgt gactctgtcc aagaaacgta agaataactt cttggggttc      420
tgtctgggtg taggtagcgc cattgtctct ggggtggccg tcagcaaagt gcttcacctg      480
gaaggagagg tgaacaagat caagtctgca ctgctgtcta caaacaagc agtggtgagc      540
ctgtccaacg gagtatccgt tctggtggtc aaagtctgg atctgaagaa ttatategac      600
aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg      660
attgagttcc aacagaagaa caataggctg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat      720
gctggtgtca caaccccagt cagcacttac atgctgacta attccgagtt gcttagcctt      780
attaacgaca tgcctatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtcagatt      840
gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg      900
gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acacctgtt ggaagttgca taccagtccc      960
ctgtgtacga caaacaccaa ggaagtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcggggg      1020
[0083]  tggatttgcg ataacgccg gtctgttagt ttctttctc aagccgagac atgcaaagtc      1080
cagagcaatc gcgtgttctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat      1140
ctgtgcaata ccgacatctt caaccccaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact      1200
gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcgctatcg tgtcttgcta tggcaagacc      1260
aagtgtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctcaa cggatgtgac      1320
tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttacgtgaat      1380
aagcaggagg gcaaatctct ttacgtgaag ggcgaaccaa tcatcaactt ctatgatccc      1440
ctcgtcttct ctctgatga gtttgacgcc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat      1500
cagctctctg cctttatacg caaaagcgat gaactcctgg gatcaggcta cattccccgaa      1560
gctccaaggg acggacaagc atacgtacga aaagatggcg aatgggtctt actgagcacc      1620
ttcttgctcc atctgacat tgagaagcta cacctccata tcgagaaact gcatcttcac      1680
atcgagaagg actacaagga cgatgacgac aaa                                1713
    
```

<210> 71
 <211> 1713
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> FH_85-CC07

<400> 71

```

atggaactgc tgatacttaa ggctaacgcg ataactacga tcctcaccgc cgtgaccttt      60
tgctttgcct ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaacgtg cagtgcagtg      120
agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata ctcccgcat taccatcatg      180
    
```

ctgtccaaca	taaaagagaa	taagtgaac	ggcaccgatg	ctaaagtga	actgatcaaa	240
caggaactcg	ataaatacaa	gaatgcagtt	acagagcttc	agtcctgat	gcagagcact	300
ccggccacca	ataatagggc	aaggagagaa	ttgccacgat	ttatgaatta	cacactcaac	360
aacgcgaaga	aaactaacgt	gactctgtcc	aagaaacgta	agaataactt	cttggggttc	420
tgtctgggtg	taggtagcgc	cattgtctct	ggggtggccg	tcagcaaagt	gcttcacctg	480
gaaggagagg	tgaacaagat	caagctgca	ctgctgtcta	caaacaaagc	agtgggtgagc	540
ctgtccaacg	gagtatccgt	tctggtggtc	aaagtctctg	atctgaagaa	ttatatcgac	600
aaacaactgc	tccccattgt	gaacaagcag	agttgttcaa	tcagcaacat	agaaactgtg	660
attgagttcc	aacagaagaa	caataggctg	ctcgaaatta	ccagagagtt	tagcgtcaat	720
gctggtgtca	caaccccgct	cagcacttac	atgctgacta	attccgagtt	gcttagcctt	780
attaacgaca	tgcctatcac	caatgaccag	aagaagctga	tgagtaataa	tgtcgagatt	840
gtgcgccagc	agagttacag	cattatgagt	attatcaaag	aggaggtatt	ggcttatgtg	900
gttcagcttc	cgctgtatgg	ggtcctcgac	acacctgtt	ggaagttgca	taccagtccc	960
ctgtgtacga	caaacaccaa	ggaaggtagt	aacatctgct	tgacacgtac	cgatcggggt	1020
tggtattgcg	ataacgccgg	gtctgttagt	ttctttcctc	aagccgagac	atgcaaagtc	1080
cagagcaatc	gcgtgttctg	tgacacgatg	aacagctgta	ctttgccatc	agaggttaat	1140
ctgtgcaata	ccgacatctt	caaccccaaa	tacgactgta	agatcatgac	cagcaagact	1200
gatgtcagct	cctccgttat	aacatcactc	ggcgctatcg	tgtcttgcta	tggcaagacc	1260
aagtgtacag	cgtccaataa	gaatcggggc	attatcaaga	cattctccaa	cggatgtgac	1320
tacgtgagca	acaaaggagt	ggacaccgtg	tcagtcggaa	atacactgta	ttacgtgaat	1380
aagcaggagg	gcaaatctct	ttacgtgaag	ggcgaaccaa	tcatcaactt	ctatgatccc	1440
ctcgtctttc	cttctgatga	gtttgacgcc	tctatctctc	aggttaacga	gaagatcaat	1500
cagtctctgg	cctttatacg	caaaagcgat	gaactcctgg	gatcaggcta	cattcccga	1560
gctccaaggg	acggacaagc	atacgtacga	aaagatggcg	aatgggtctt	actgagcacc	1620
ttctgtctcc	atctgcacat	tgagaagcta	cacctccata	tcgagaaact	gcactctcac	1680
[0084] atcgaagaag	actacaagga	cgatgacgac	aaa			1713

<210> 72

<211> 2184

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> F_DC-Cav1-HBcCN

<400> 72

atggaacttc	tcactctgaa	agccaatgcc	attacgacca	ttctgacagc	cgtaaccttt	60
tgctttgcaa	gtggtcagaa	tactactgag	gaattctacc	agagtacctg	tagcgcagtt	120
tctaaggggt	acttgtctgc	gcttcgcact	ggctgtgaca	cctcggttat	taccattgag	180
ctgtccaaca	tcaaagagaa	caagtgaac	ggcaccgacg	caaagtga	actgattaaa	240
caggagctcg	acaaatacaa	aaatgctgtg	acagagttgc	agttgctcat	gcagtctacc	300
cctgctacga	acaaccgagc	aaggcgagaa	ctaccaagat	tcatgaacta	caccctgaat	360
aatgcgaaaa	agactaacgt	gaccctcagc	aagaagagaa	agaggcgttt	tcttgggttt	420
ttgtctgggag	ttgggagcgc	tatagccagc	ggagttgctg	tgtgtaaggt	attgcaccta	480
gaaggggagg	tgaataagat	caagagtgcc	ctgctgtcca	caaacaaagc	agtagtgtcg	540
cttagcaatg	gggtgtccgt	tctgaccttc	aaggttctag	atctcaaaaa	ctacatcgat	600
aagcagcttc	tgccaatcct	caacaagcag	tcttgagta	ttagcaatat	cgagacggtg	660
atagagtttc	aacagaagaa	caatcgtctg	ctcgaaatta	cacgggagtt	tagcgtcaac	720
gcaggagtga	ctactcctgt	aagcacctac	atgtaacaa	actccgagct	gctatctctg	780
atcaatgaca	tgccaattac	aaacgaccag	aaaaagttaa	tgtcaacaa	tgtcgagata	840

```

gtcaggcaac agtcctatc cattatgtgc atcatcaagg aagaagttct ggcctatgtc 900
gtccaacttc ctttatatgg cgtcatagac acgccctgtt ggaaactgca caccagtccct 960
ttgtgacta caaacactaa ggaggggtct aacatctgtc tgactaggac agatcgcggg 1020
tggtattgcg acaatgctgg ctcagtgagc tttttccac aagccgaaac atgcaaagtc 1080
cagtcgaatc ggggtttttg tgacacaatg aactcaactga ctcttccttc cgaagtgaac 1140
ttgtgcaatg tcgatatctt caatcccaaa tatgactgca agatcatgac aagtaagacc 1200
gatgtcagca gtagcgtcat tacctccctc ggtgctattg tgcctgtta cggcaagacc 1260
aaatgtactg cttctaacaa aaatcgcggc attattaaga cattcagcaa cggatgtgac 1320
tatgtctcca ataaaggtgt agacacggtg tctgtgggta ataccctcta ctatgtgaat 1380
aagcaggaag gaaagtcact ctatgtgaaa ggagagccga tcatcaactt ctacgatccc 1440
ctggtgtttc ccagtgatga gttcgcgcc tctatcagcc aggtgaatga aaagatcaac 1500
caatccctgg ccttcatacg gaaatcagat gagctgttag gctcaggcta cataccgaa 1560
gcaccgagag atggtcaagc gtatgtgagg aaggatggag agtgggtcct tctgtcaact 1620
ttctgggagc ggggtgggag cggagcgcca ggttcagggg gtggagggtc aggcgaggga 1680
ggcagcgctt ccaggaggtt agtggctctc tacgtcaacg tgaacatggg ccttaagatc 1740
cgtcagttgc tgtggttcca catttcgcc ctaaccttg gcagagagac tgtgctggag 1800
tacctggtgt catttggcgt gtggattcgc actcctccag cagcaagacc cccaatgcg 1860
cctatcctgt ccacgttacc agagaccacc gttgttgggg gaggtggtc tggagggggc 1920
ggatctggcg gaggtggcag tggggcggtt ggaagtggcg ctagcgtcga gttgctcagc 1980
ttcttcctc cggacttctt tccgtccatc aggatctgc tggacacagc cagtgtctc 2040
tategggaag cactggaatc tcccgaacac agctctcctc accatacagc ccttcgacaa 2100
gccatactct gctggggcga actgatgaat ctcgccacat gggtagggtc aggggggagc 2160
gactacaagg acgatgacga caaa 2184

```

[0085]

<210> 73
<211> 2184
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> FH_85-HBcCN

<400> 73

```

atggaactgc tgatacttaa ggctaaccgc ataactacga tctcaccgc cgtgacctt 60
tgctttgect ctggccaaaa cattactgag gaattctacc agtcaactg cagtgcagtg 120
agccgagggt atctgtccgc cctgagaacc ggggtgtata ctccgctcat taccatcatg 180
ctgtccaaca taaaagagaa taagtcaac ggcaccgat ctaaagtga actgatcaaa 240
caggaactcg ataaatacaa gaatgcagtt acagagctc agctcctgat gcagagcact 300
ccggccacca ataatagggc aaggagagaa ttgccacgat ttatgaatta cacactcaac 360
aacgcgaaga aaactaacgt gactctgtcc aagaaacgta agaataactt cttggggttc 420
tgtctgggtg taggtagcgc cattgttctt ggggtggccg tcagcaaagt gcttcaactg 480
gaaggagagg tgaacaagat caagtctgca ctgctgtcta caaacaagc agtgggtgagc 540
ctgtccaacg gagtatccgt tctggtggtc aaagtctgag atctgaagaa ttatatcgac 600
aaacaactgc tccccattgt gaacaagcag agttgttcaa tcagcaacat agaaactgtg 660
attgagttcc aacagaagaa caataggctg ctcgaaatta ccagagagtt tagcgtcaat 720
gctggtgtca caacccagc cagcacttac atgctgacta atccgagtt gcttagcctt 780
attaacgaca tgccatcac caatgaccag aagaagctga tgagtaataa tgtgcagatt 840
gtgcgccagc agagttacag cattatgagt attatcaaag aggaggtatt ggcttatgtg 900
gttcagcttc cgctgtatgg ggtcatcgac acacctgtt ggaagttgca taccagtccc 960
ctgtgtacga caaacaccaa ggaaggtagt aacatctgct tgacacgtac cgatcggggt 1020

```

```

tggtattgcg ataacgccgg gtctgttagt ttctttcctc aagccgagac atgcaaagtc 1080
cagagcaatc gcggtttctg tgacacgatg aacagctgta ctttgccatc agaggttaat 1140
ctgtgcaata cggacatctt caaccccaaa tacgactgta agatcatgac cagcaagact 1200
gatgtcagct cctccgttat aacatcactc ggcgctatcg tgtcttgcta tggcaagacc 1260
aagtgtacag cgtccaataa gaatcggggc attatcaaga cattctccaa cggatgtgac 1320
tacgtgagca acaaaggagt ggacaccgtg tcagtcggaa atacactgta ttacgtgaat 1380
aagcaggagg gcaaatctct ttacgtgaag ggcaaccaa tcatcaactt ctatgatccc 1440
ctcgtctttc cttctgatga gtttgacgcc tctatttctc aggttaacga gaagatcaat 1500
cagtcctctg cttttatcac caaaagcgat gaactcctgg gatcaggcta cattcccga 1560
gctccaaggg acggacaagc gtatgtcggg aaggatggag agtgggtcct tctgtcaact 1620
ttctggggcg ggggtgggag cggagcggga ggttcagggg gtggagggtc agcgggagga 1680
ggcagcgctt ccaggagatt agtggctctc tacgtcaacg tgaacatggg ccttaagatc 1740
cgtcagttgc tgtggttcca catttccgcc ctaaccttg gcagagagac tgtgtggag 1800
tacctgggtg catttggcgt gtggattcgc actcctccag cagcaagacc cccaaatgcg 1860
cctatcctgt ccacgttacc agagaccacc gttgttgggg gaggtggttc tggagggggc 1920
ggatctggcg gagtggcag tggggcggtt ggaagtggcg ctacgctcga gttgctcagc 1980
ttccttcctt cggacttctt tccgtccatc agggatctgc tggacacagc cagtgtctc 2040
tatcgggaag cactggaatc tcccgaacac agctctcctc accatacagc ccttcgacaa 2100
gccatactct gctggggcga actgatgaat ctcgccacat gggtagggtc aggggggagc 2160
gactacaagg acgatgacga caaa 2184

```

- <210> 74
- <211> 1722
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> RSV_F

[0086]

```

<400> 74
atggagtgc taatcctcaa agcaaatgca attaccacaa tcctcactgc agtcacattt 60
tgttttgctt ctggtcaaaa catcactgaa gaatthtate aatcaacatg cagtgcagtt 120
agcaaaggct atcttagtgc tctgagaact ggttggtata ccagtgttat aactatagaa 180
ttaagtaata tcaaggaaaa taagtgaat ggaacagatg ctaaggtaaa attgataaaa 240
caagaattag ataaatataa aaatgctgta acagaattgc agttgctcat gcaaagcaca 300
ccaccaacaa acaatcgagc cagaagagaa ctaccaaggt ttatgaatta tacactcaac 360
aatgccaaaa aaaccaatgt aacattaagc aagaaaagga aaagaagatt tcttggtttt 420
ttgttaggtg ttggatctgc aatcgccagt ggcggttctg tatctaaggt cctgcacctc 480
gaaggggaag tgaacaagat caaaagtgtc ctactatcca caacaaggc tgtagtgcgc 540
ttatcaaatg gagttagtgt ctttaaccagc aaagtgttag acctcaaaaa ctatatagat 600
aaacaattgt tacctattgt gaacaagcaa agctgcagca tatcaaatat agaaactgtg 660
atagagtcc aacaaaagaa caacagacta ctagagatta ccagggaatt tagtgtaaat 720
gcaggtgtaa ctacacctgt aagcacttac atgttaacta atagtgaatt attgtcatta 780
atcaatgata tgcctataac aaatgatcag aaaaagttaa tgtccaacaa tgttcaata 840
gttagacagc aaagtactc tatcatgtcc ataataaaag aggaagtctt agcatatgta 900
gtacaattac cactatattg tgttatagat acaccctgtt ggaaactaca cacatcccct 960
ctatgtacaa ccaacacaaa agaagggtcc aacatctgtt taacaagaac tgacagagga 1020
tggtactgtg acaatgcagg atcagtatct ttcttcccac aagctgaaac atgtaaagtt 1080
caatcaaatc gagtattht gacacaaatg aacagtttaa cattaccaag tgaataaat 1140
ctctgcaatg ttgacatatt caaccccaaa tatgattgta aaattatgac ttcaaaaaca 1200

```

```

gatgtaagca gctccgttat cacatctcta ggagccattg tgatcatgcta tggcaaaact 1260
aaatgtacag catccaataa aaatcgtgga atcataaaga cattttctaa cgggtgcat 1320
tatgtatcaa ataaaggat ggacactgtg tctgtaggta acacattata ttatgtaa 1380
aagcaagaag gtaaaagtct ctatgtaaaa ggtgaaccaa taataaattt ctatgacca 1440
ttagtattcc cctctgatga atttgatgca tcaatatctc aagtcaacga gaagattaac 1500
cagagcctag catttattcg taaatccgat gaattattac ataatgtaa tgctggtaaa 1560
tccaccacaa atatcatgat aactactata attatagtga ttatagtaat attgttatca 1620
ttaattgctg ttggactgct cttatactgt aaggccagaa gcacaccagt cacactaagc 1680
aaagatcaac tgagtggat aaataatatt gcatttagta ac 1722
    
```

[0087]

```

<210> 75
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GS 接头

<400> 75
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1          5          10          15
Gly Gly Gly Ser
                20
    
```

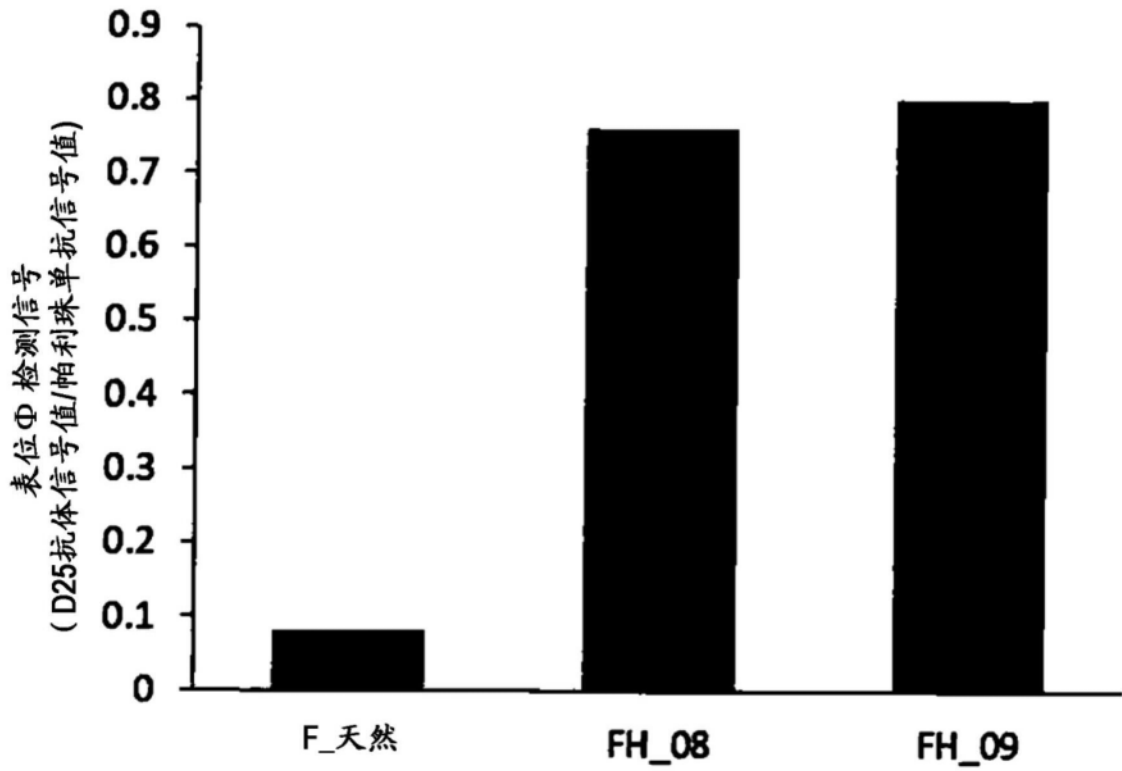


图1

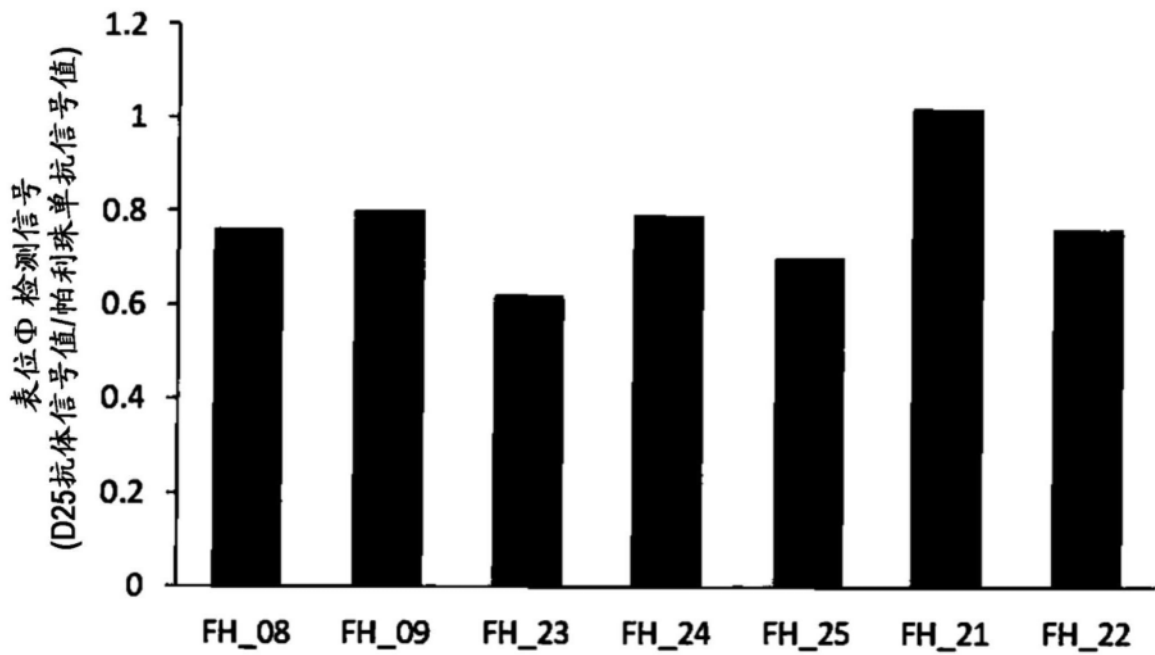


图2

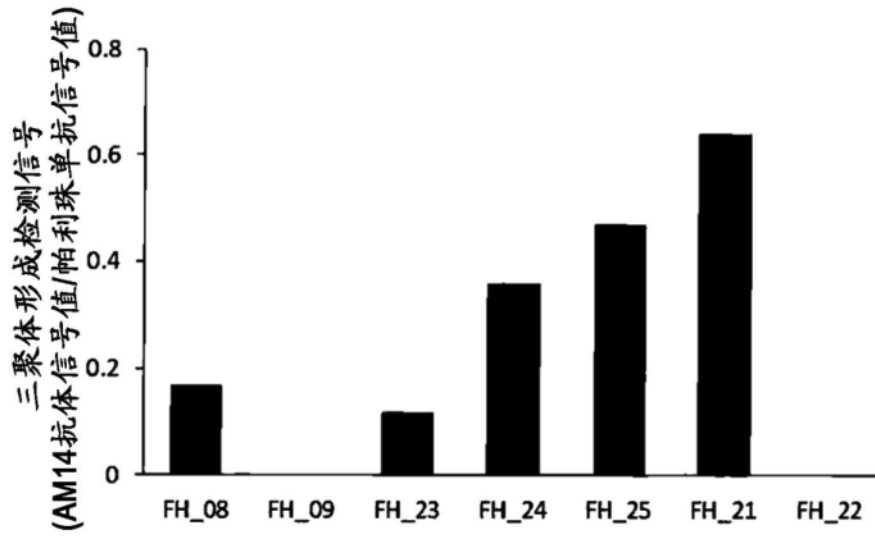


图3

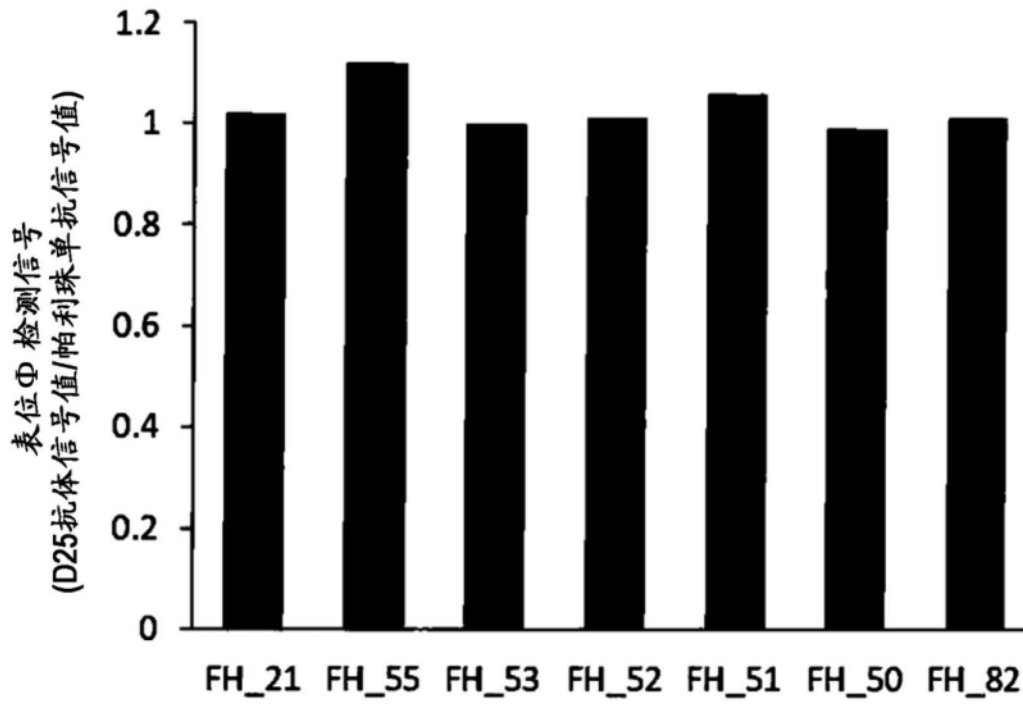


图4

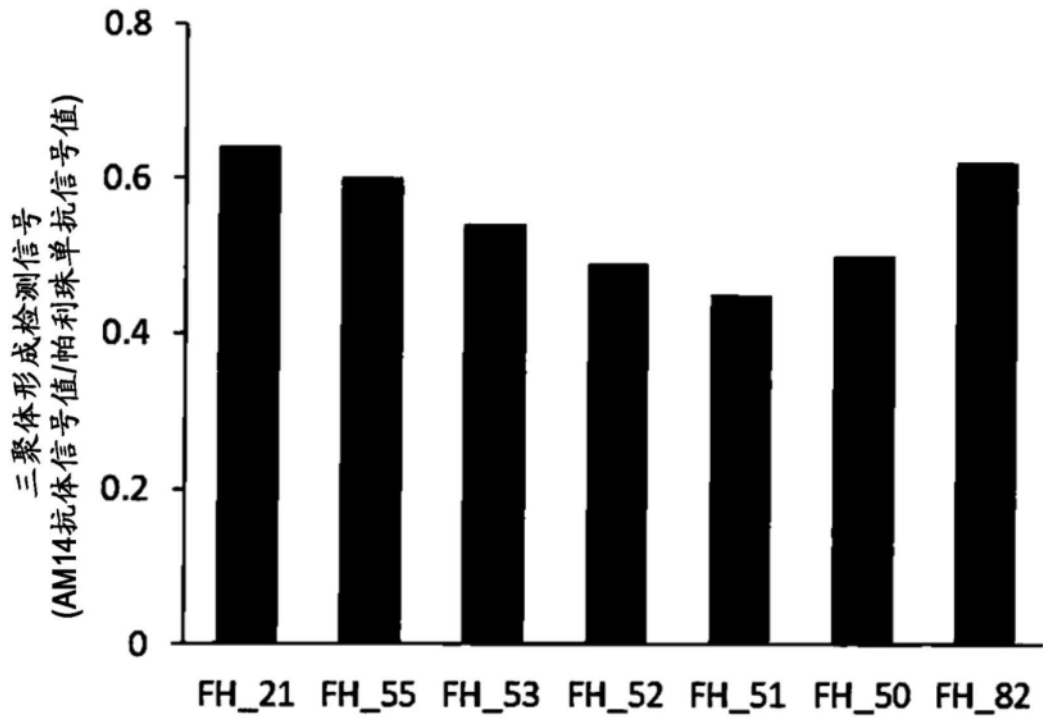


图5

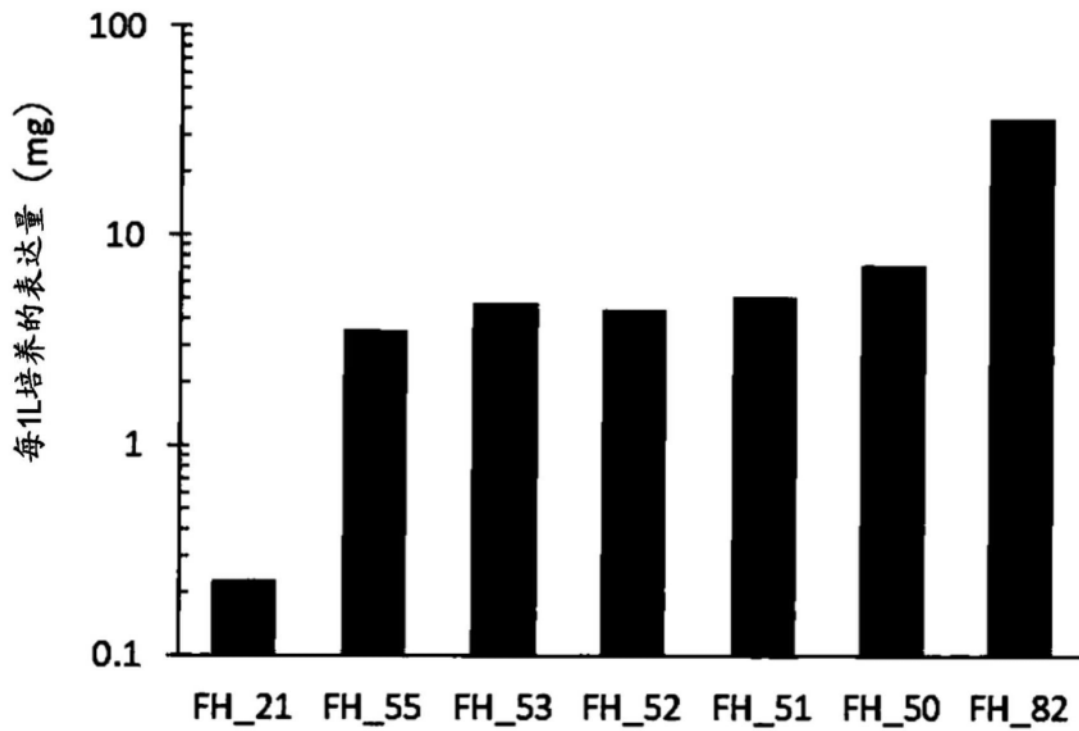


图6

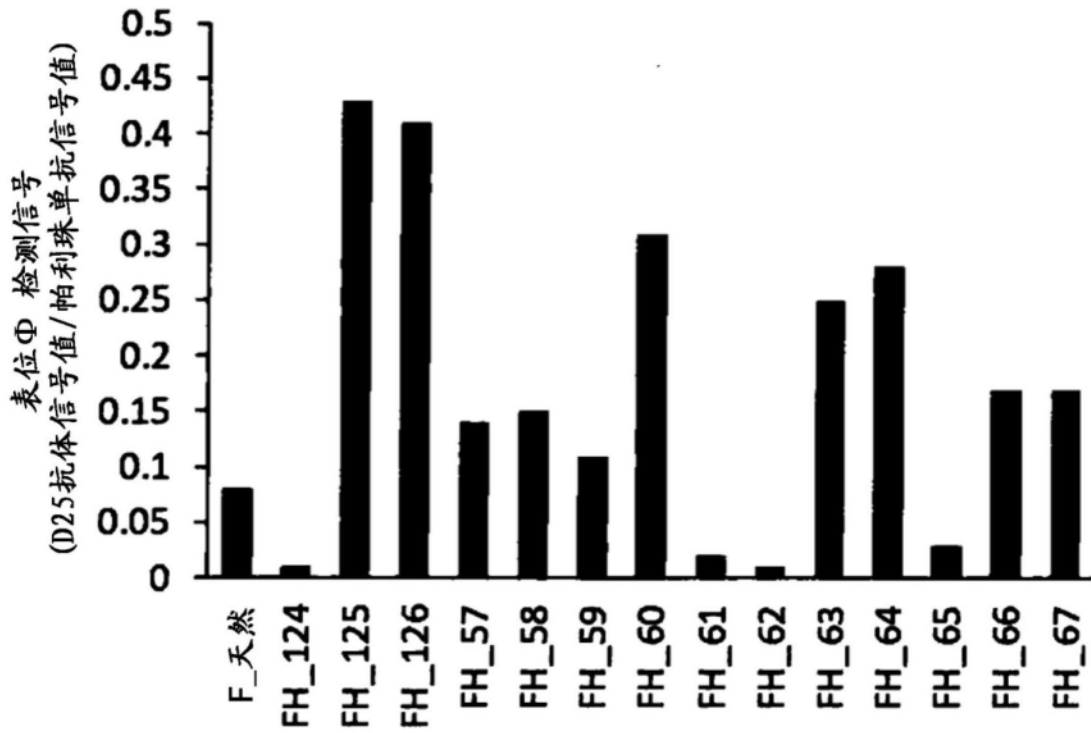


图7

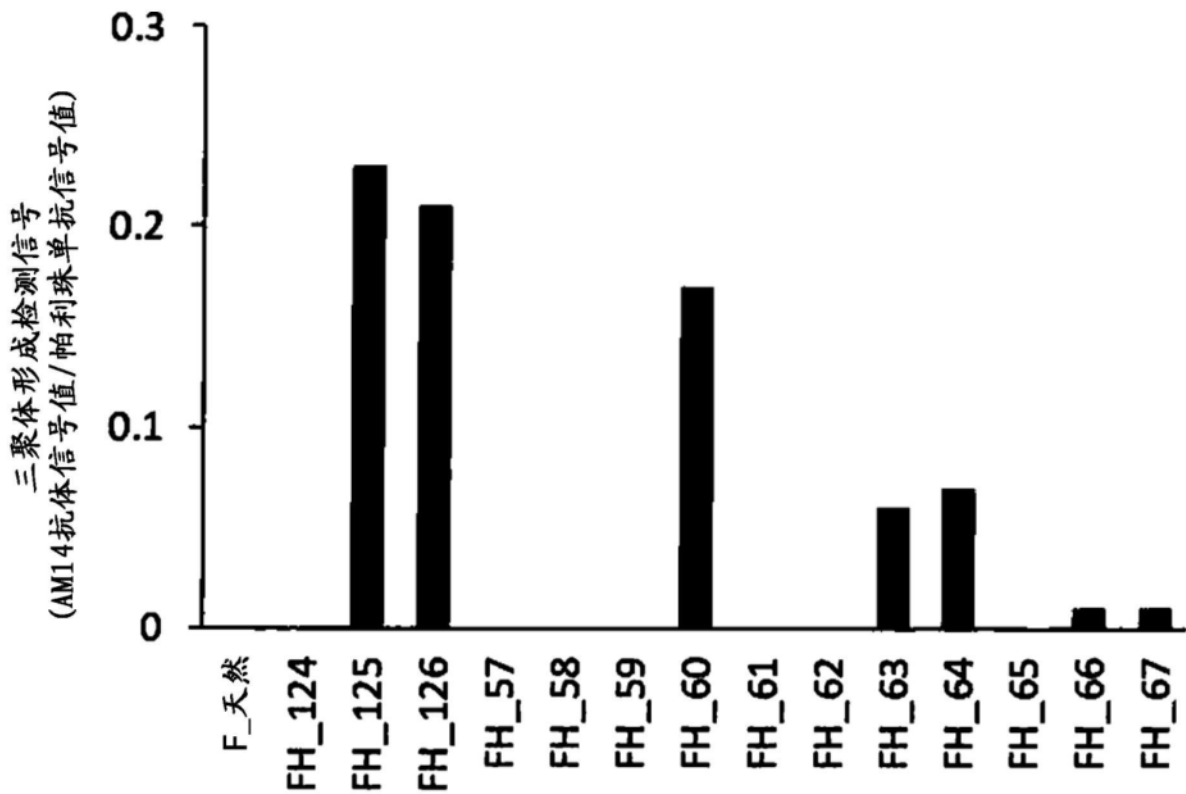


图8

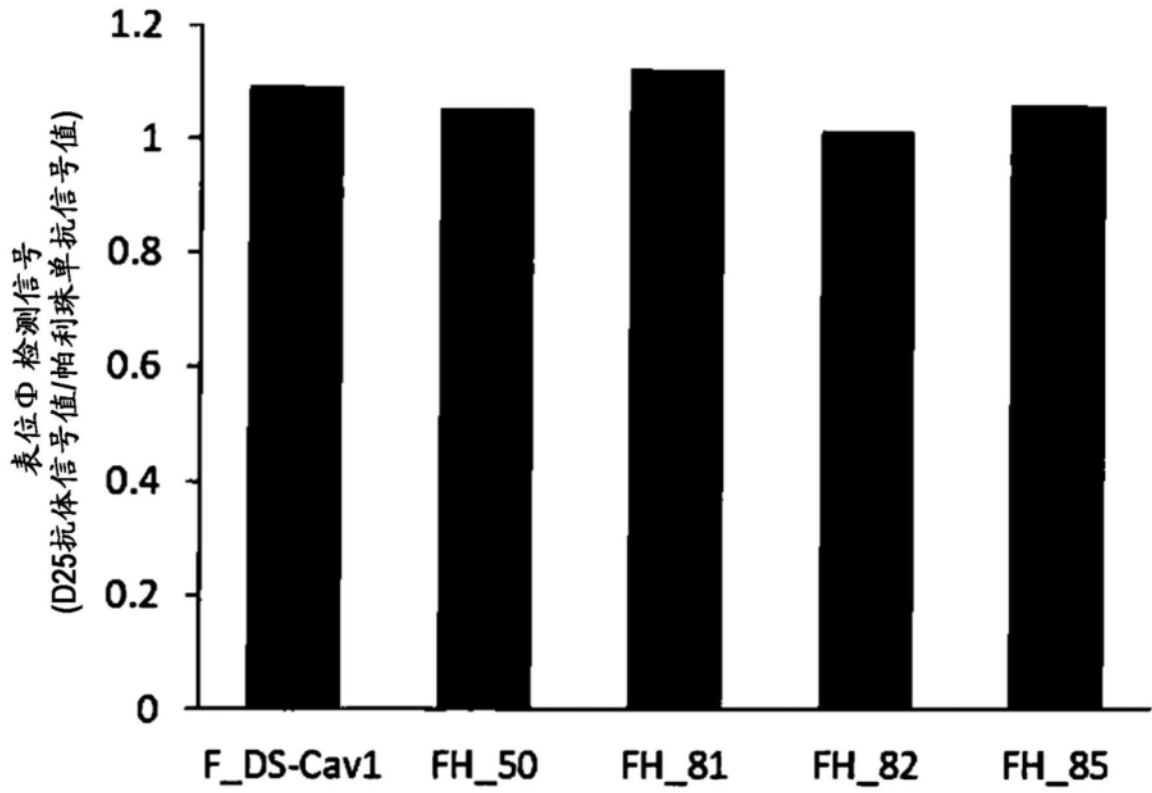


图9

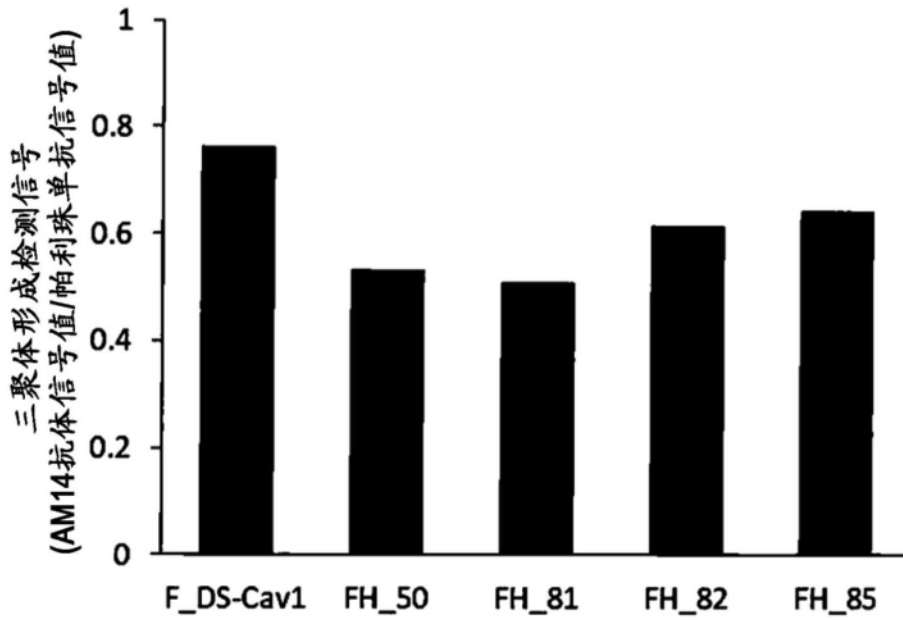


图10

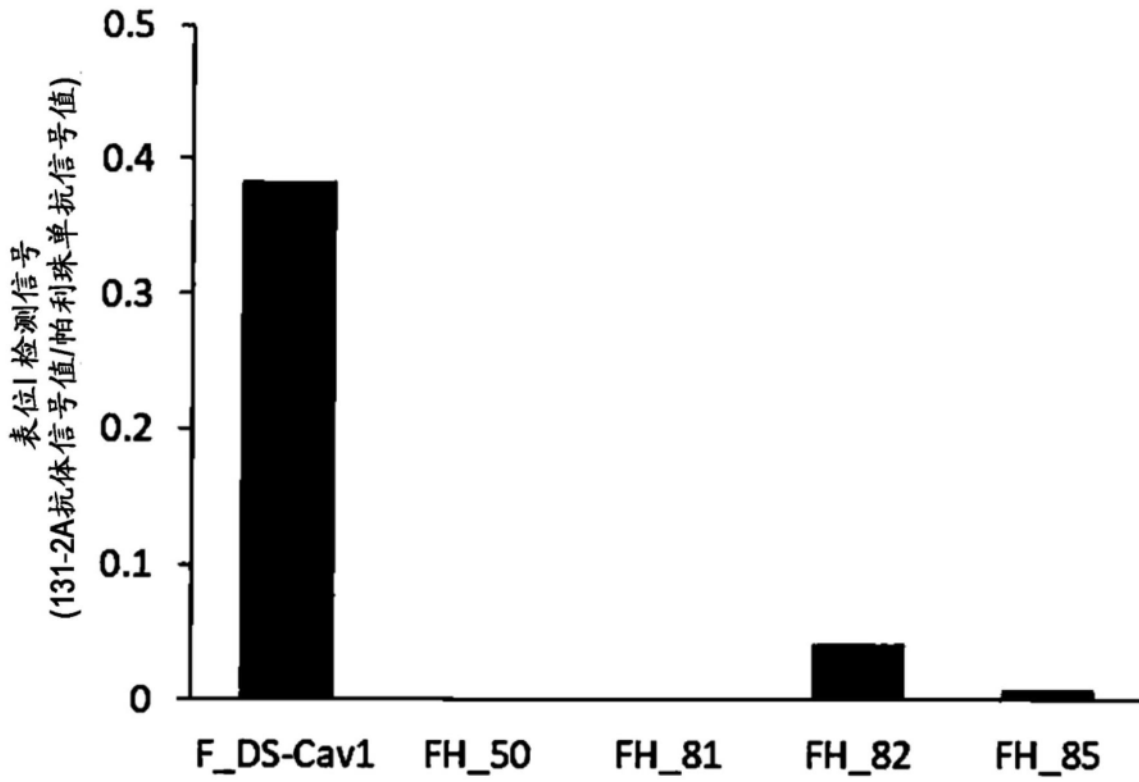


图11

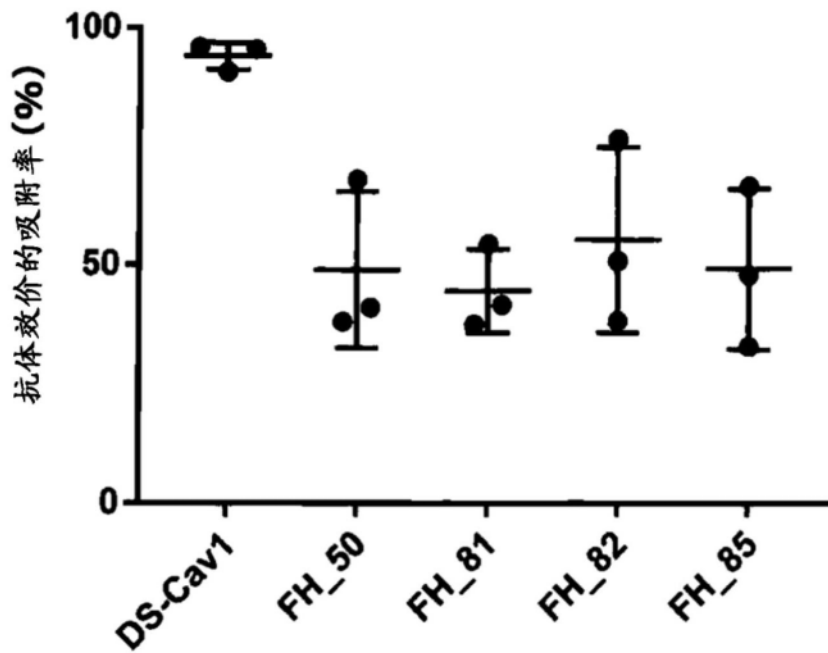


图12

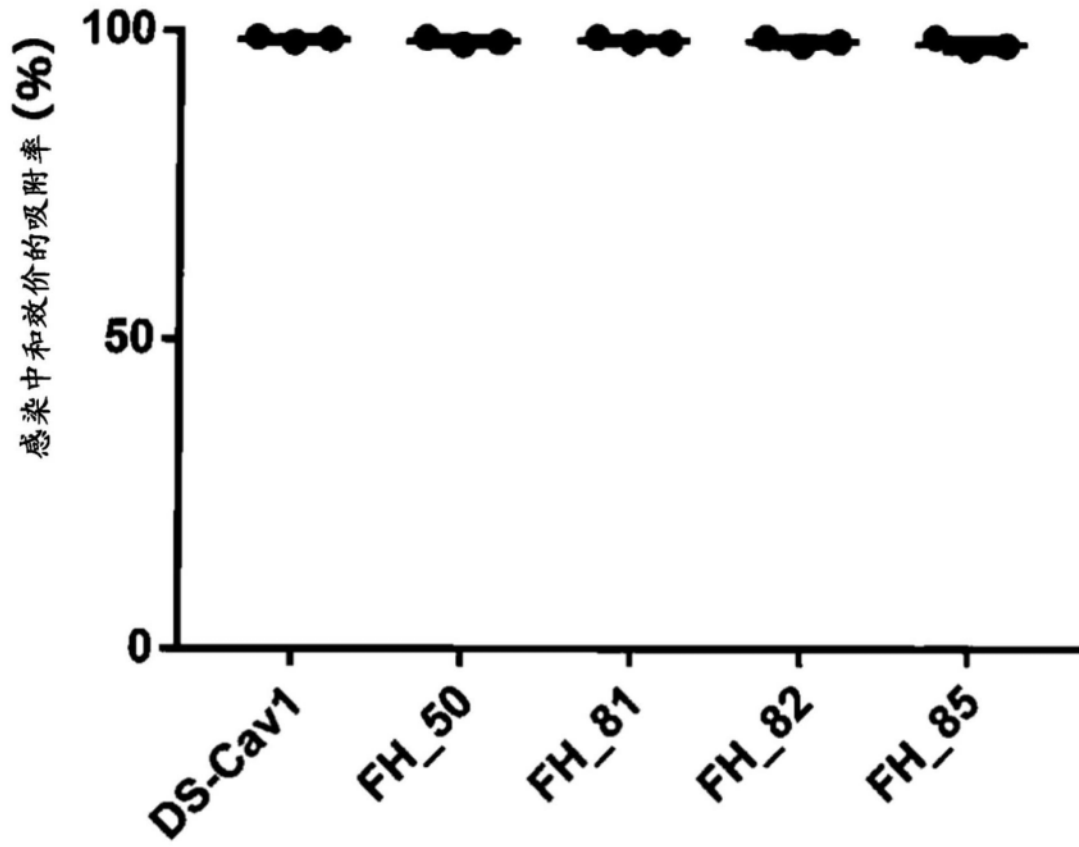


图13

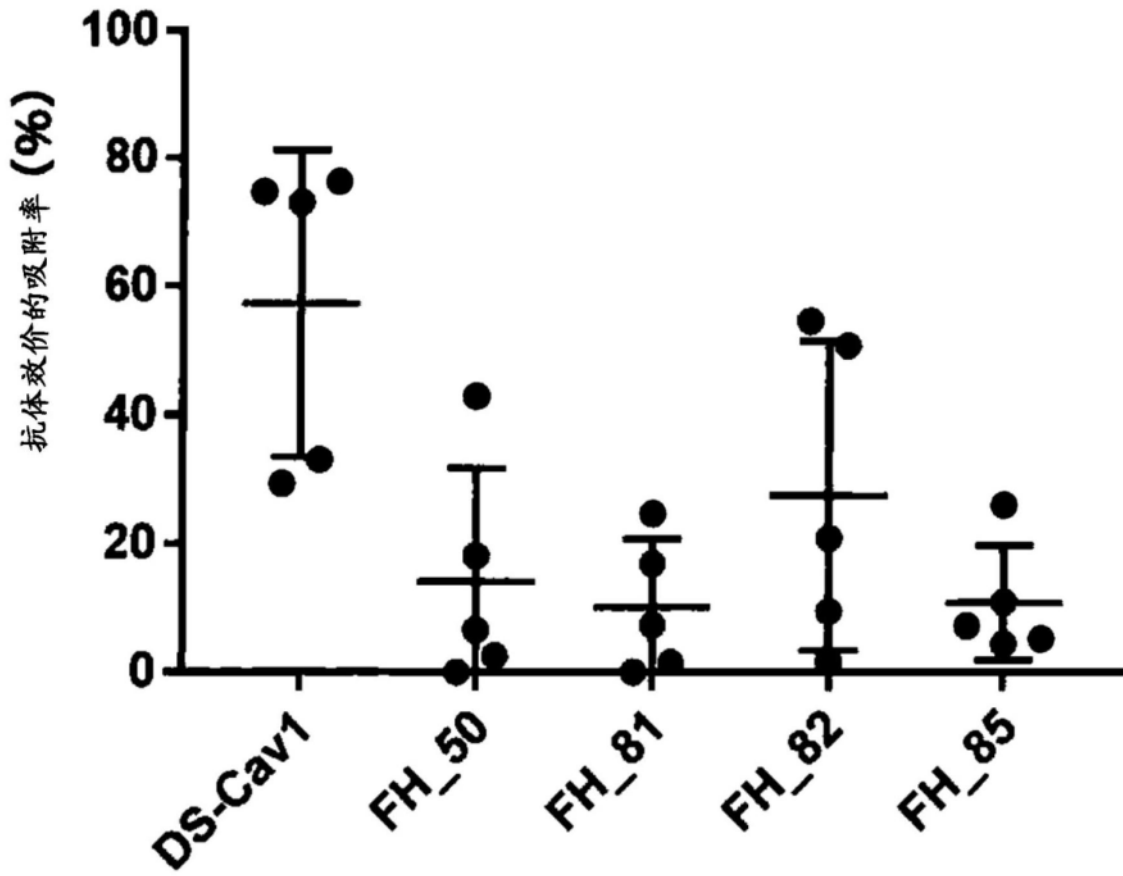


图14

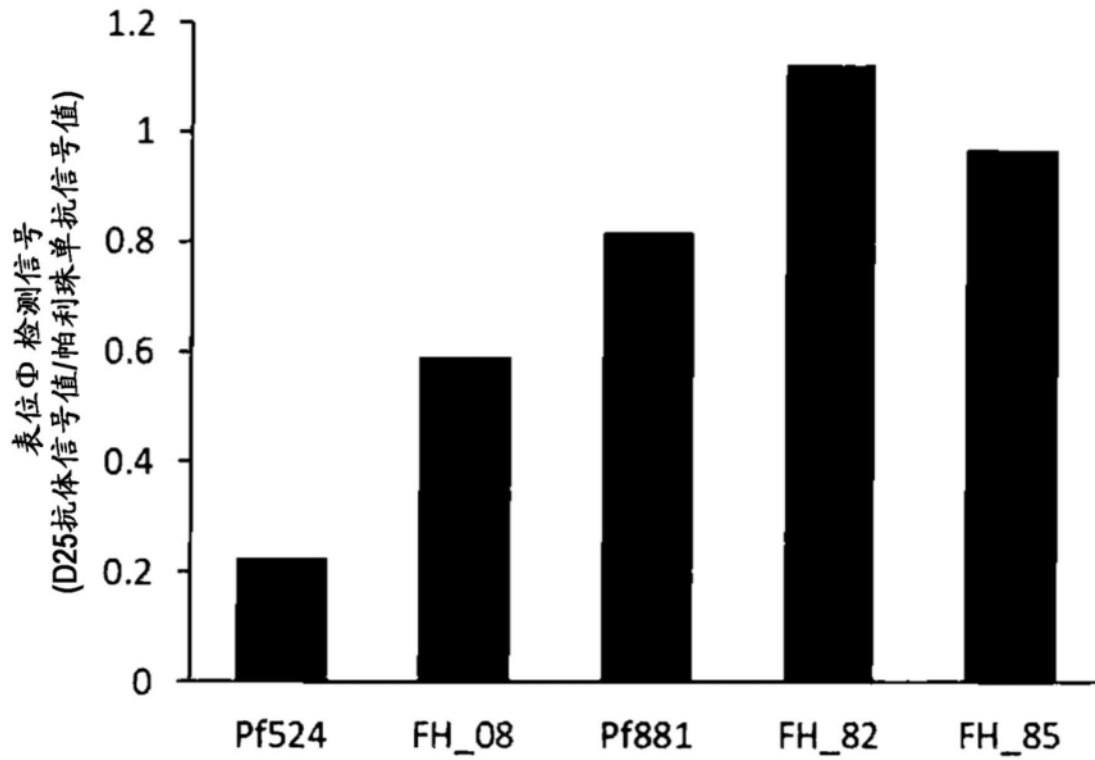


图15

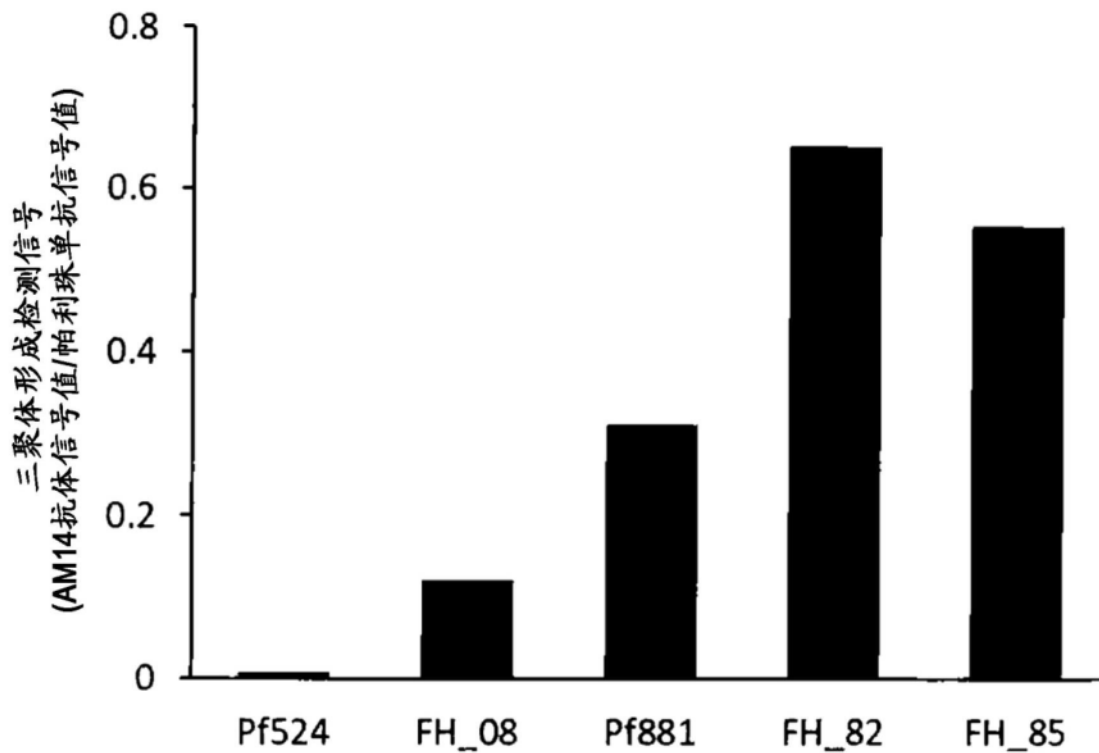


图16

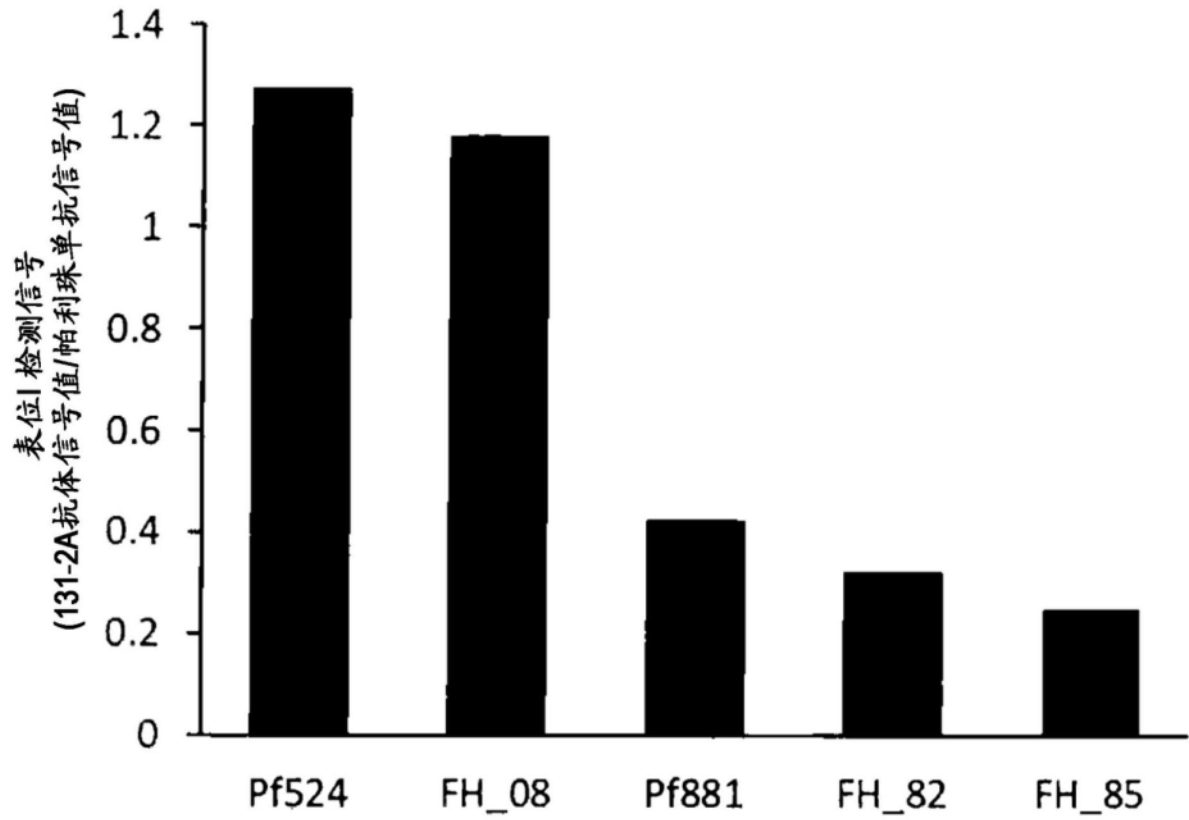


图17

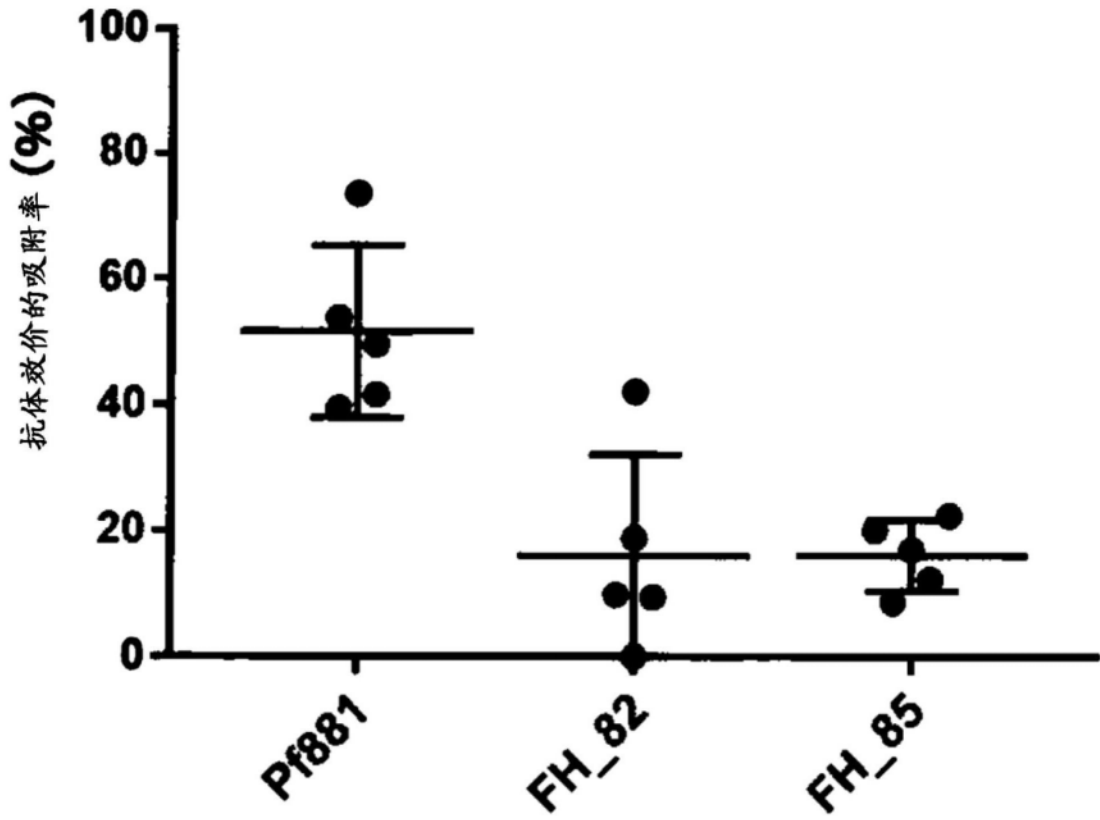


图18

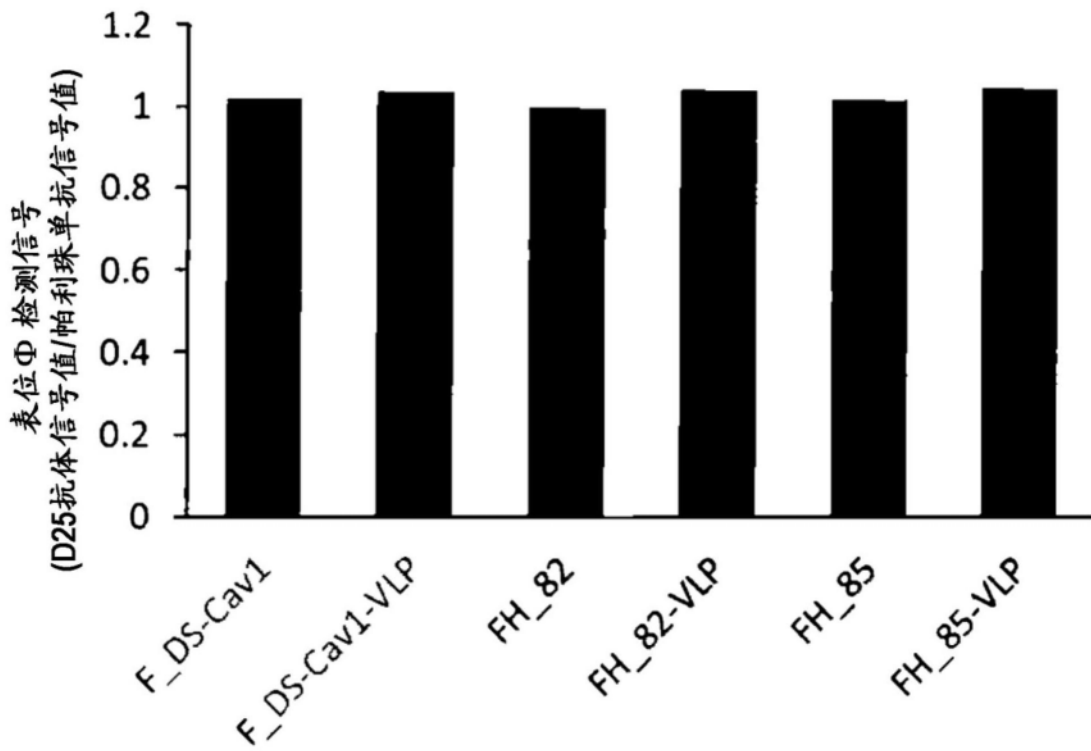


图19

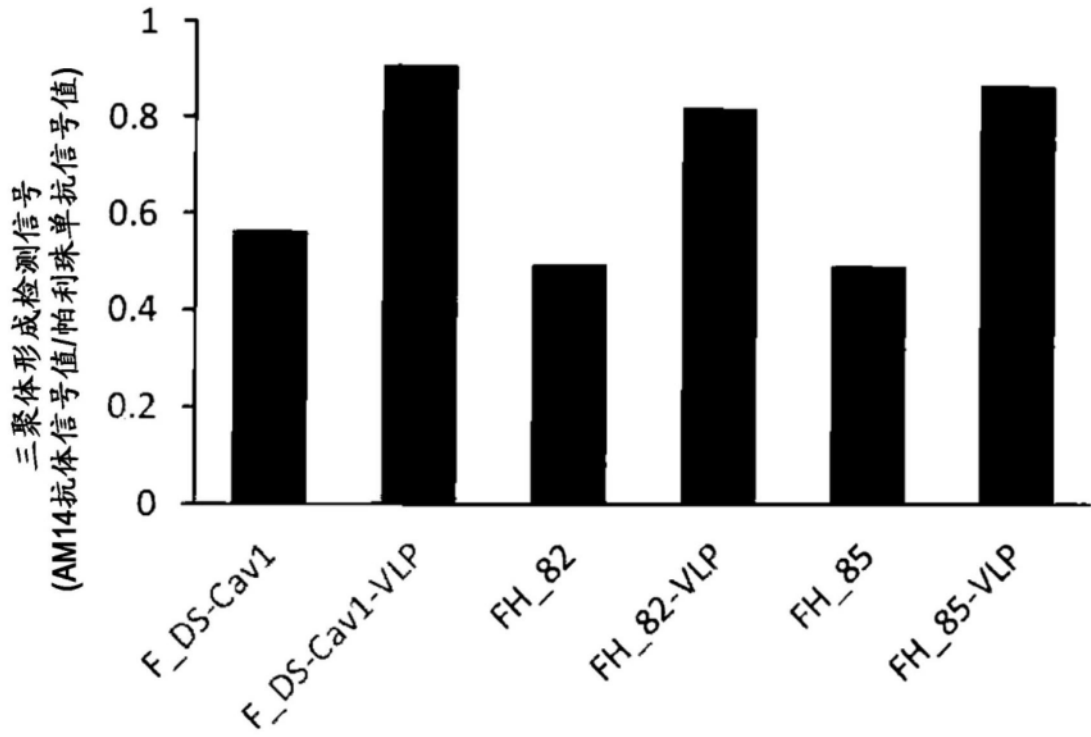


图20

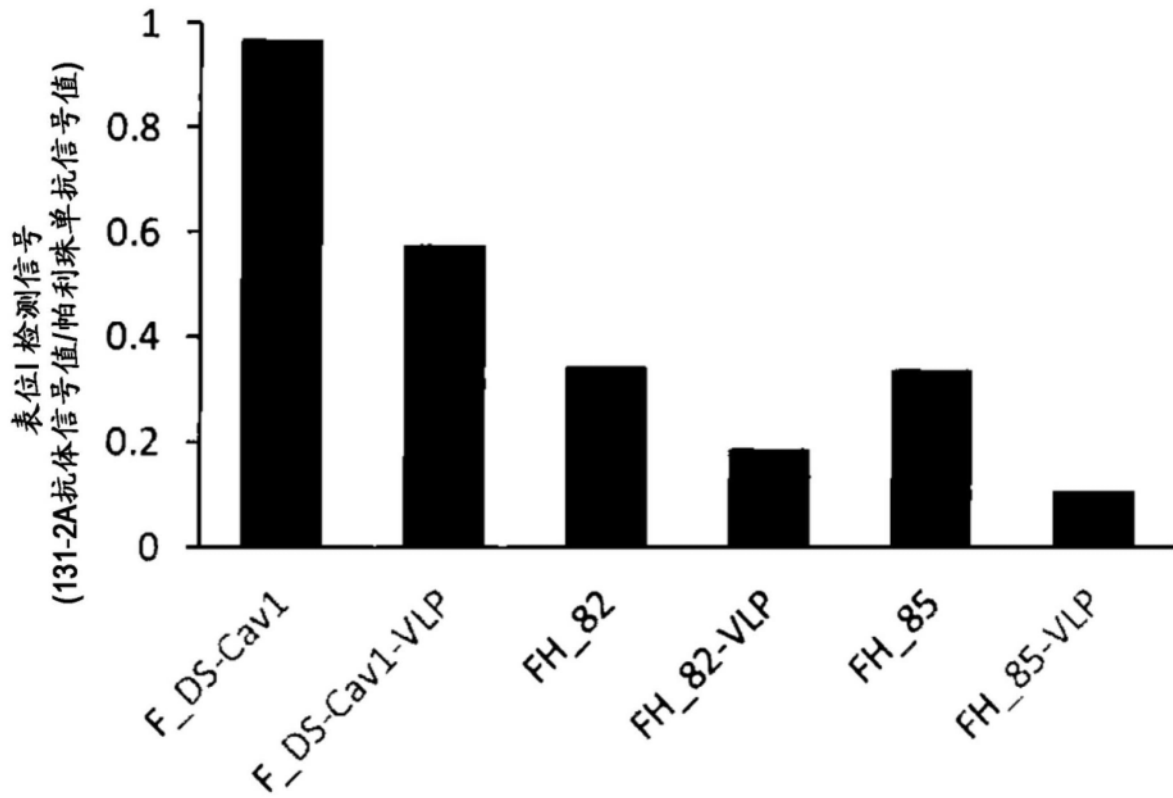


图21

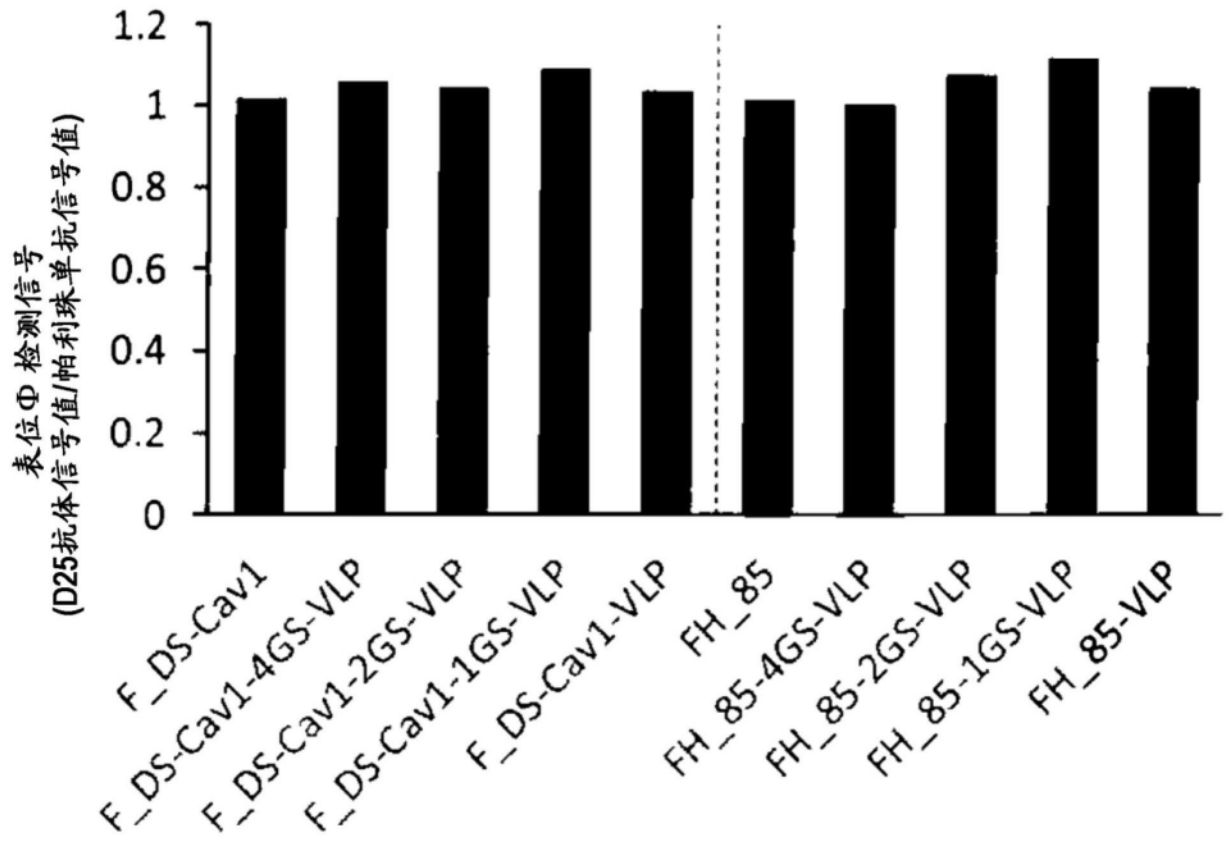


图22

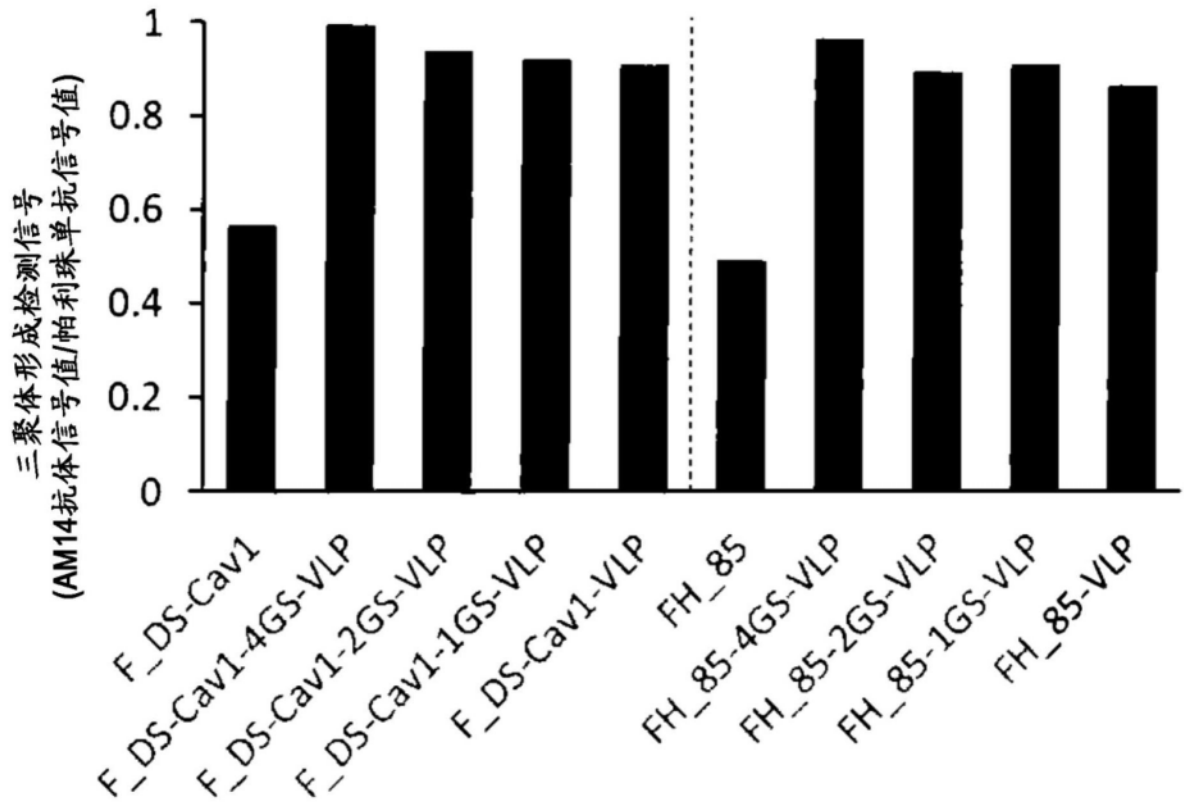


图23

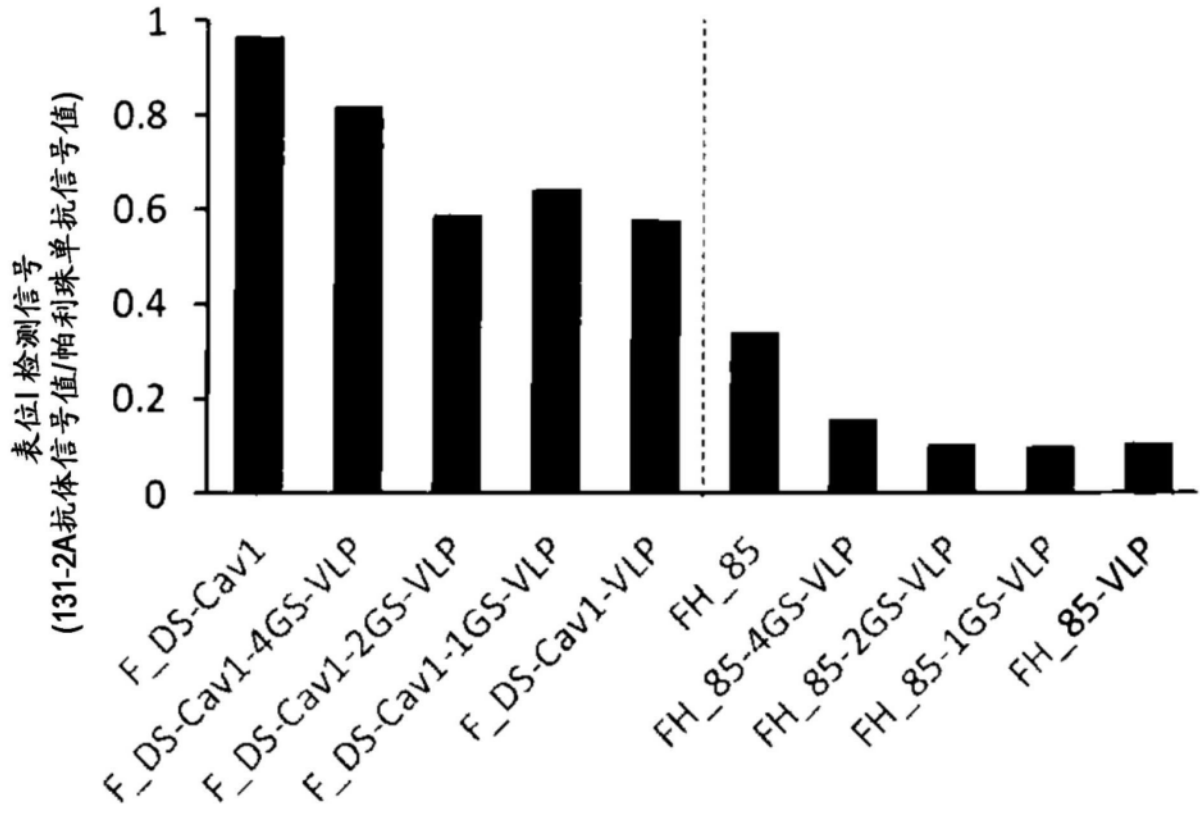


图24

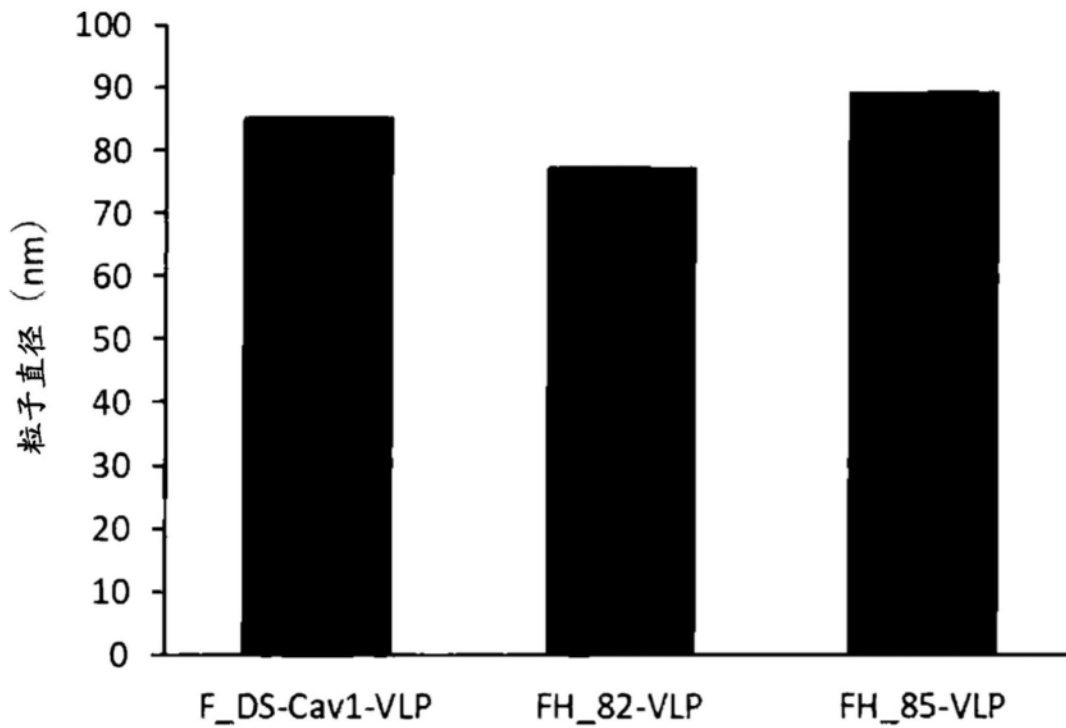


图25

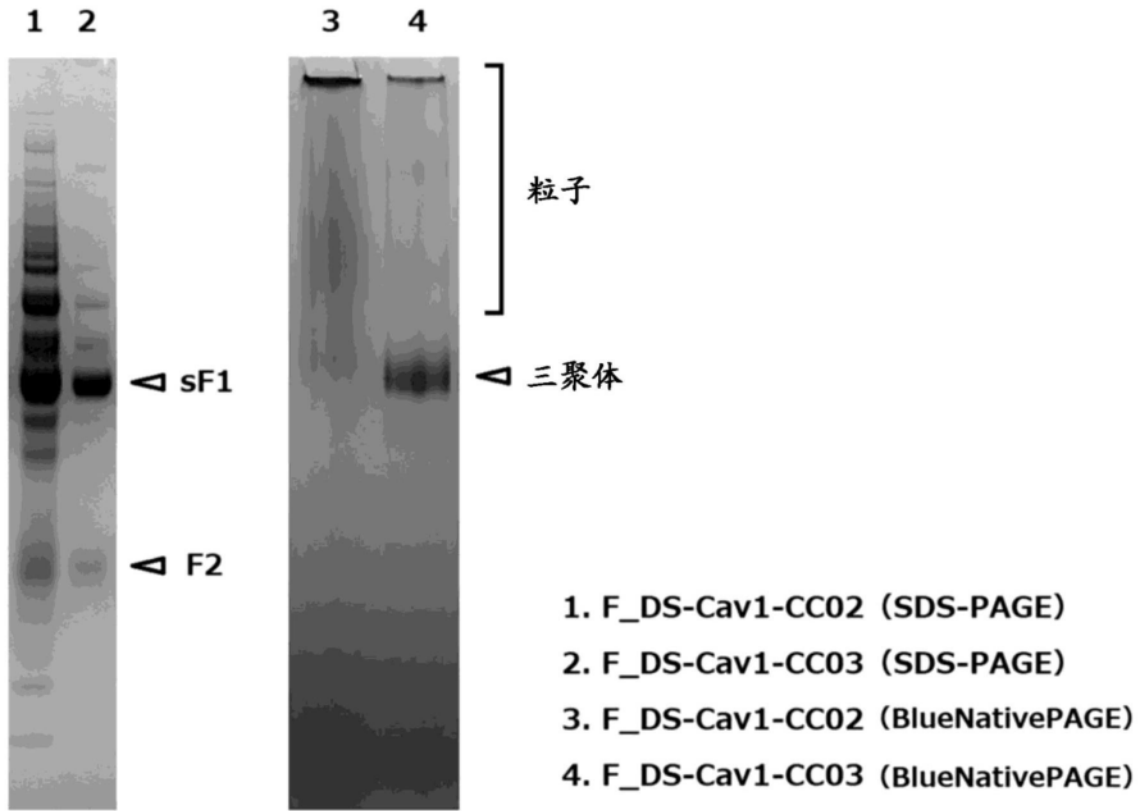


图26

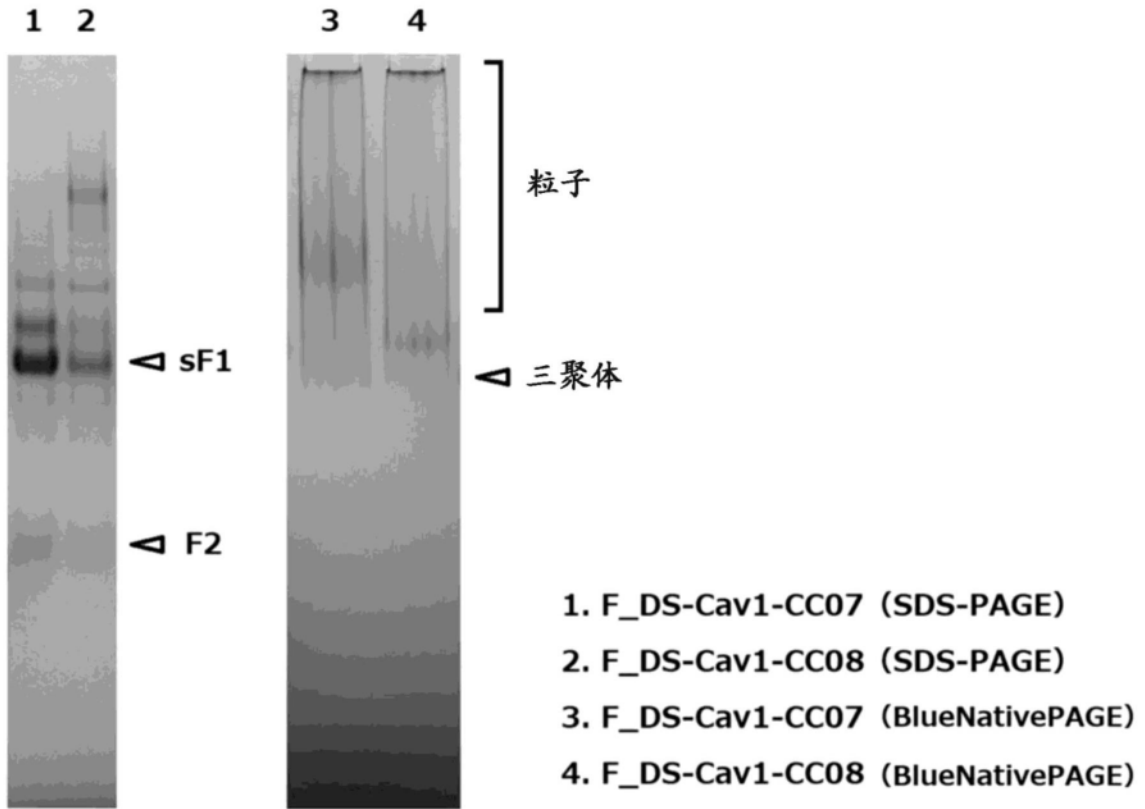


图27

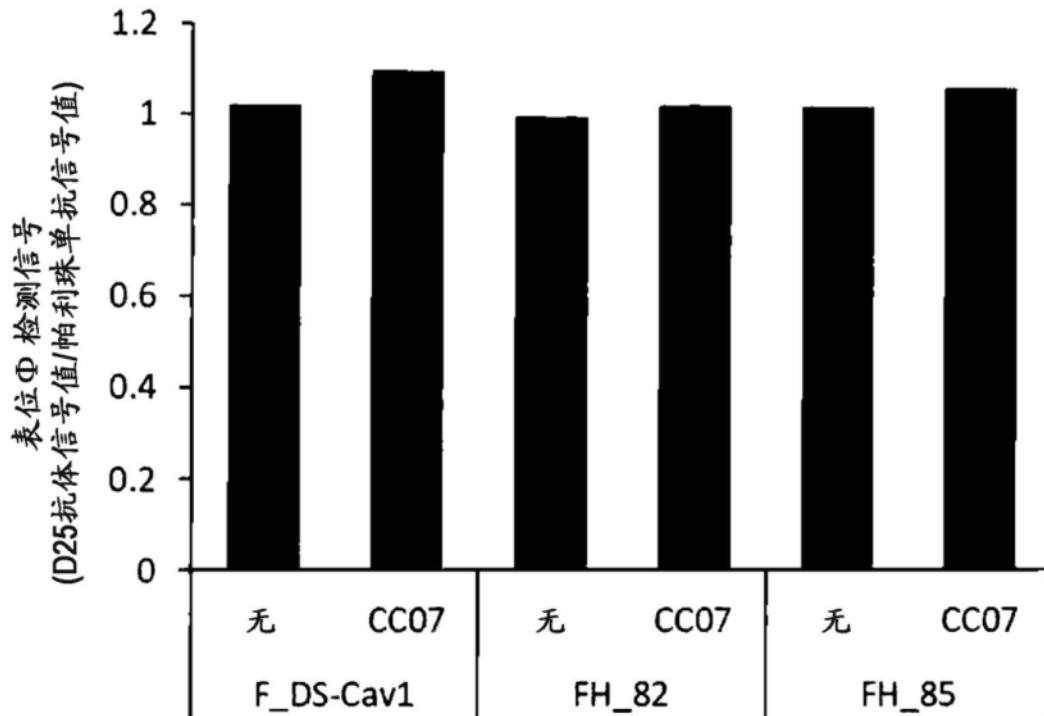


图28

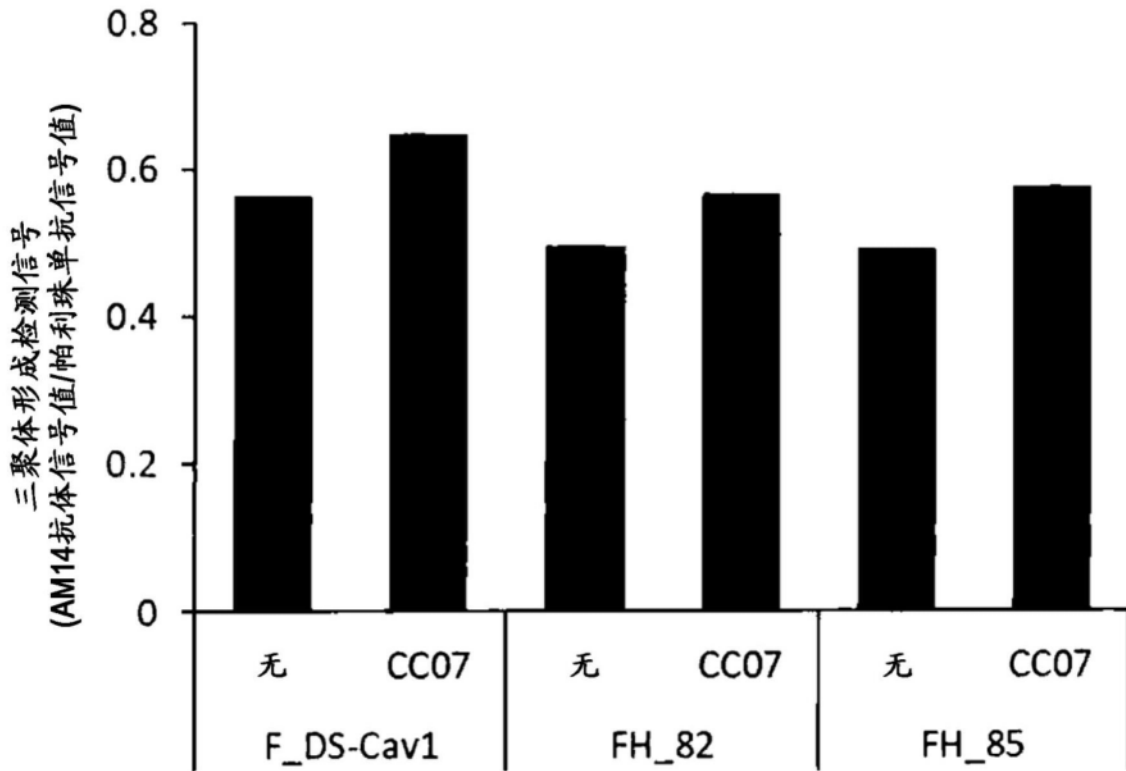


图29

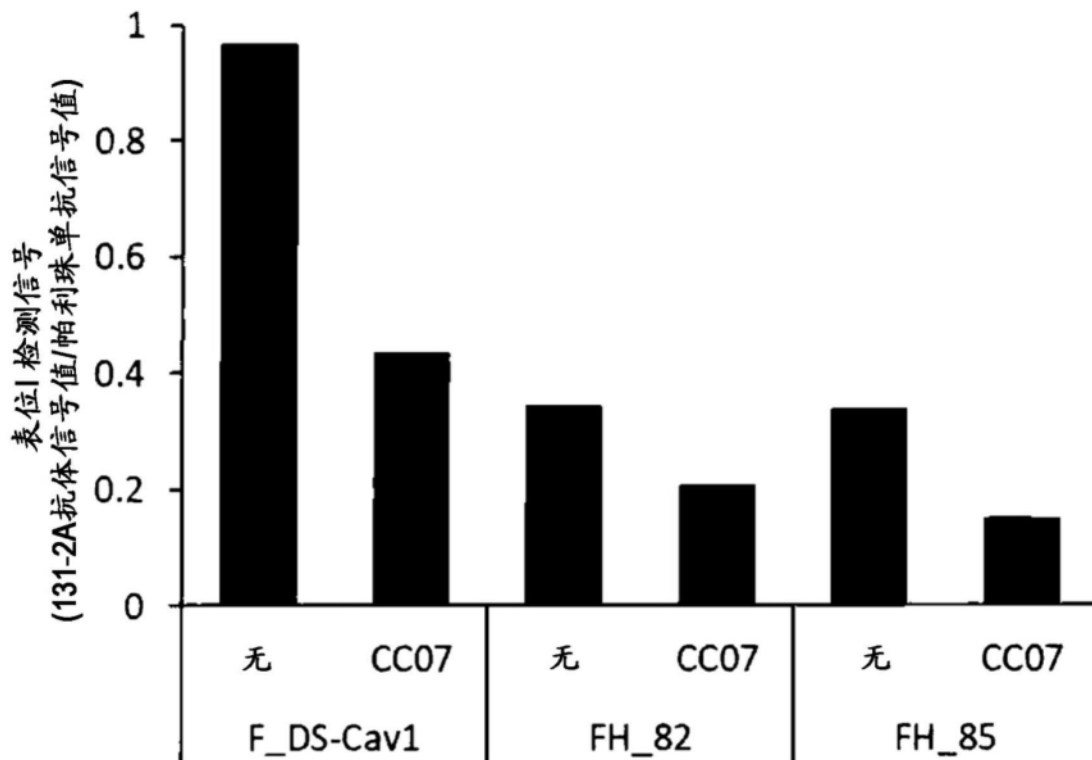


图30

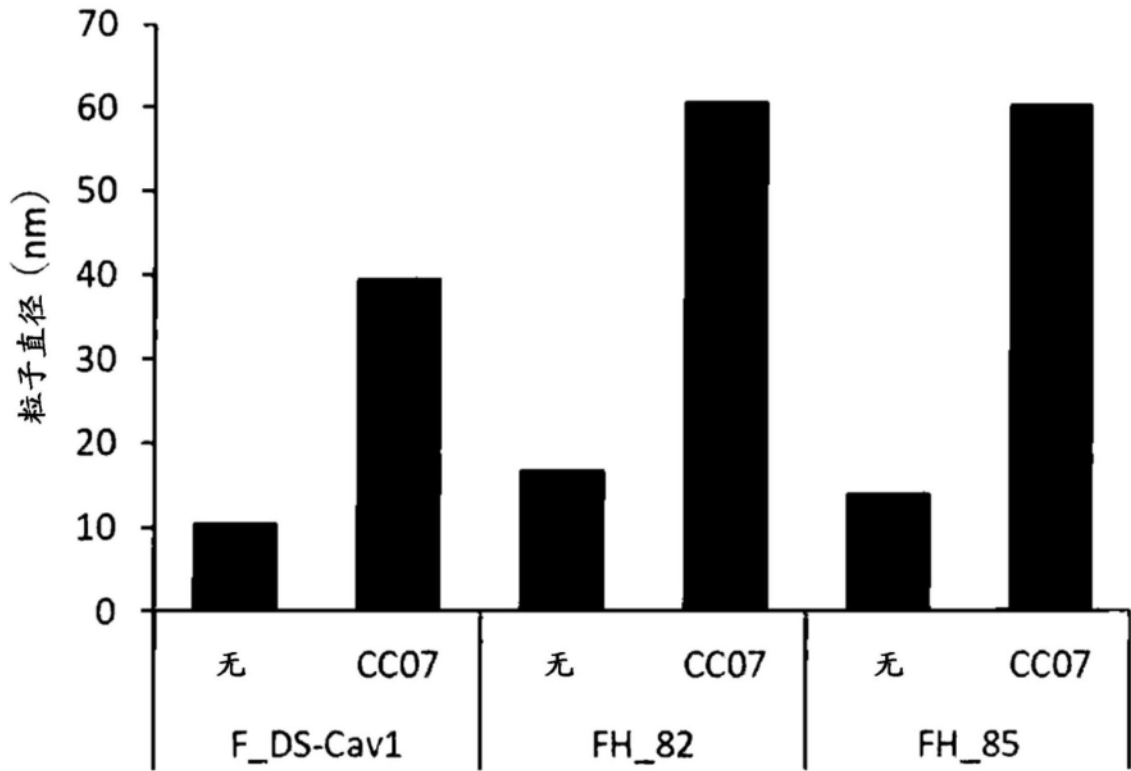


图31

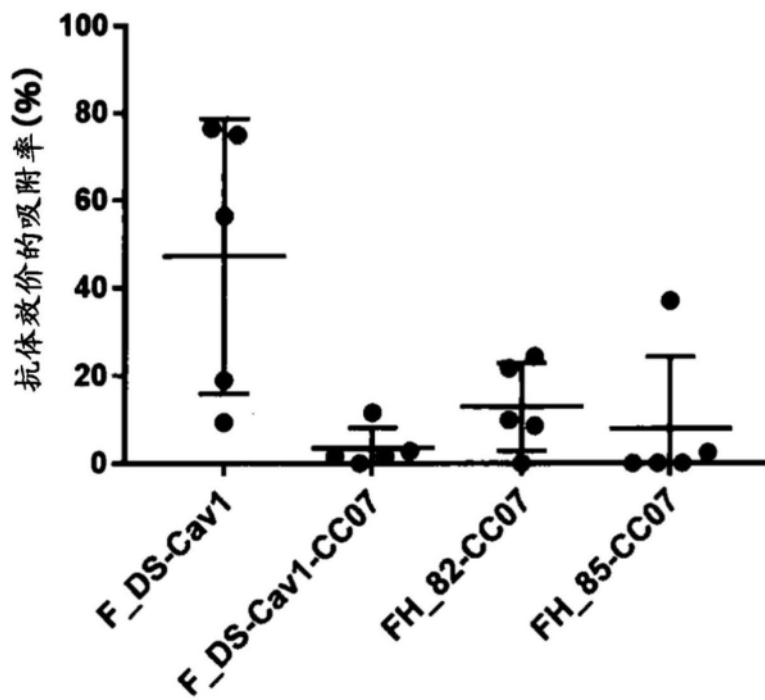


图32

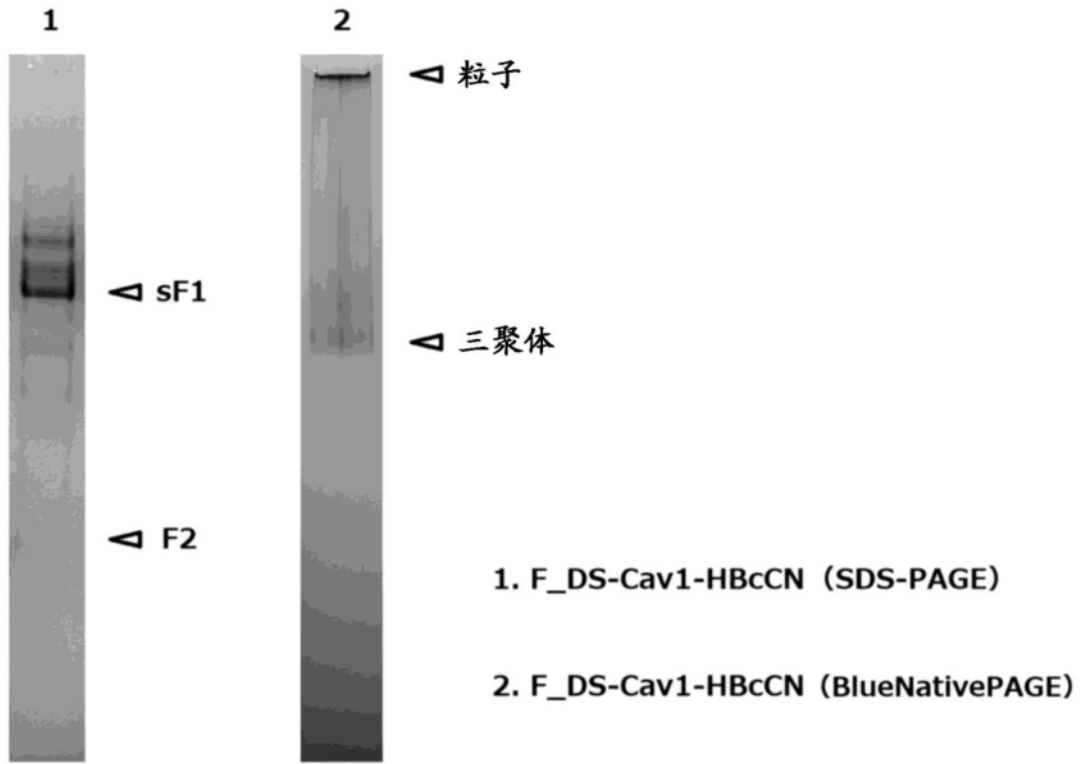


图33

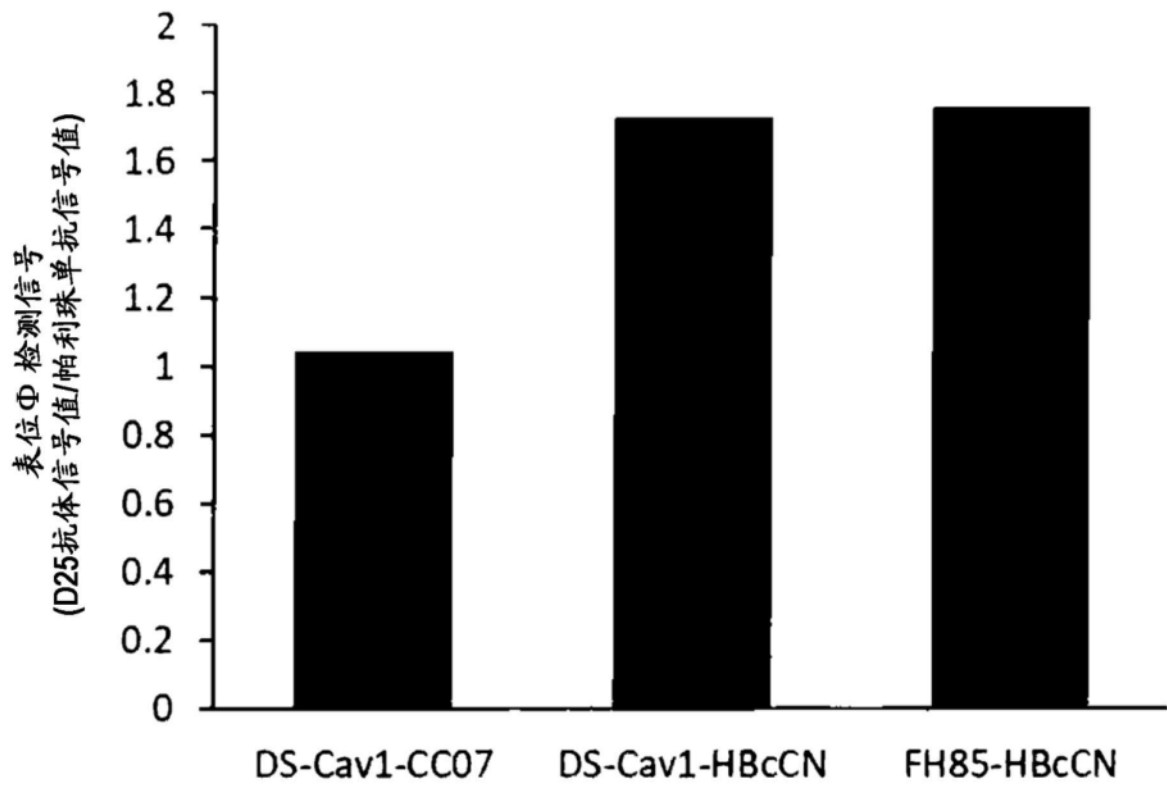


图34

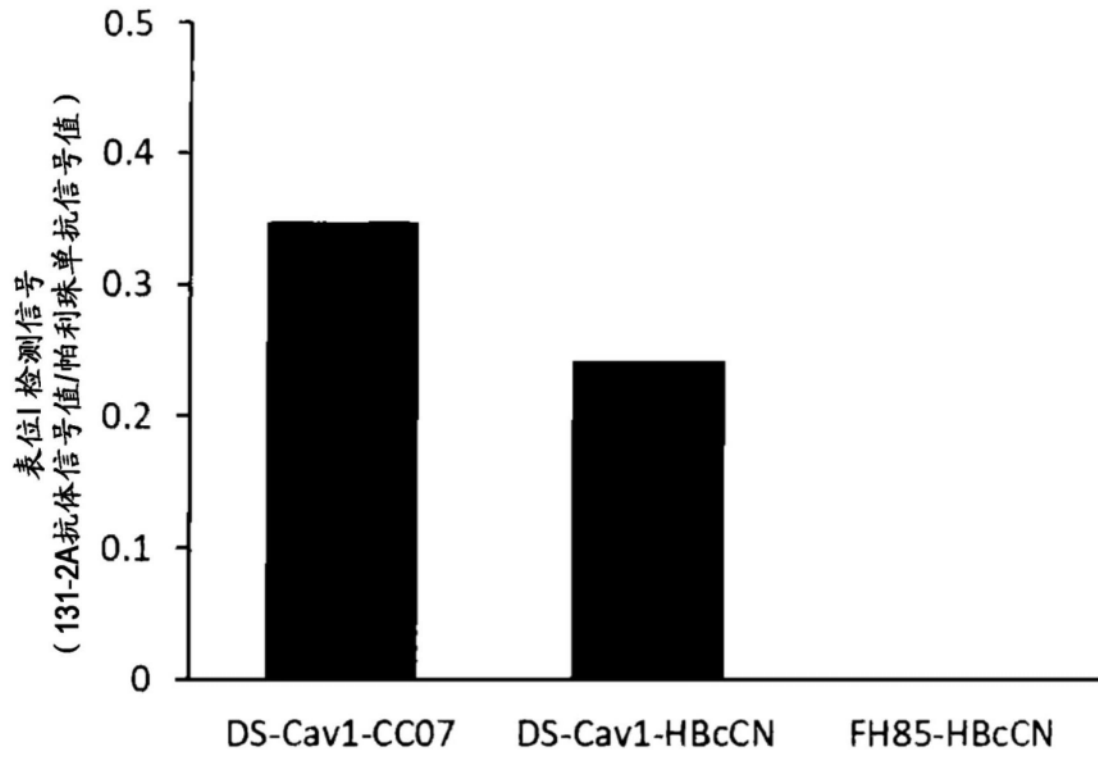


图35