



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107995868 B

(45) 授权公告日 2021. 07. 13

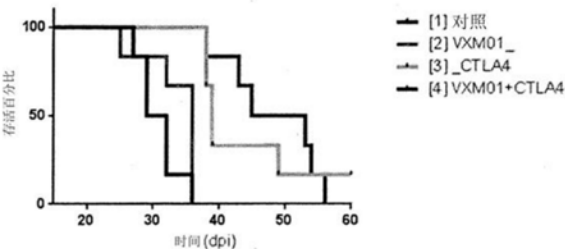
|                                                   |                                                                                      |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) 申请号 201680035593.2                           | (72) 发明人 海因茨·尤贝瑙诺                                                                    |
| (22) 申请日 2016.06.16                               | (74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司                                                             |
| (65) 同一申请的已公布的文献号<br>申请公布号 CN 107995868 A         | 11332<br>代理人 刘明海 宁涛                                                                  |
| (43) 申请公布日 2018.05.04                             | (51) Int.Cl.<br>A61K 39/00 (2006.01)<br>A61K 39/39 (2006.01)<br>A61P 35/00 (2006.01) |
| (30) 优先权数据<br>15001803.4 2015.06.18 EP            | (56) 对比文件<br>WO 2014/173542 A1, 2014.10.30<br>CN 104519908 A, 2015.04.15             |
| (85) PCT国际申请进入国家阶段日<br>2017.12.18                 | 审查员 李佳栋                                                                              |
| (86) PCT国际申请的申请数据<br>PCT/EP2016/001004 2016.06.16 |                                                                                      |
| (87) PCT国际申请的公布数据<br>W02016/202459 EN 2016.12.22  |                                                                                      |
| (73) 专利权人 万科斯蒙股份有限公司<br>地址 瑞士巴塞尔                  | 权利要求书2页 说明书19页<br>序列表26页 附图27页                                                       |

(54) 发明名称

用于联合治疗的VEGFR-2靶向DNA疫苗

(57) 摘要

本发明涉及一种用于治疗癌症的沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述治疗还包含施用至少一种另外的抗癌剂。本发明还涉及包含沙门氏菌减毒株的药物组合物,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达框的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述药物组合物还包含至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。



1. 一种用于治疗癌症的沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的真核表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述治疗还包含施用

i) 至少一种检查点抑制剂,所述检查点抑制剂选自抗PD-1、PD-L1和CTLA4的抗体,并且其中所述沙门氏菌减毒株是伤寒沙门氏菌Ty21a。

2. 根据权利要求1所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述表达盒包含CMV启动子。

3. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述VEGF受体蛋白为具有SEQ ID NO 1所示氨基酸序列的人VEGFR-2。

4. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述DNA分子含有卡那霉素抗生素抗性基因、pMB1 ori和CMV启动子。

5. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述治疗还包括施用至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含另外的DNA分子的至少一个拷贝,所述另外的DNA分子含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒。

6. 根据权利要求5所述用途的沙门氏菌减毒株,其中由所述另外的沙门氏菌减毒株编码的所述肿瘤抗原选自由以下组成的组:具有如SEQ ID NO 3所示氨基酸序列的人肾母细胞瘤蛋白(WT1);具有如SEQ ID NO 4所示氨基酸序列的人间皮素(MSLN);具有如SEQ ID NO 5所示氨基酸序列的人CEA;具有如SEQ ID NO 6所示氨基酸序列的CMV pp65;具有如SEQ ID NO 7所示氨基酸序列的CMV pp65;和具有如SEQ ID NO 8所示氨基酸序列的CMV pp65,并且其中由所述另外的沙门氏菌减毒株编码的所述肿瘤基质抗原选自由成纤维细胞活化蛋白(FAP)组成的组。

7. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述沙门氏菌减毒株与所述至少一种检查点抑制剂同时施用或在其之前施用。

8. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述治疗伴随化学疗法、放射疗法或生物疗法。

9. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述沙门氏菌减毒株口服施用。

10. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中所述癌症选自结直肠癌、胰腺癌、肺癌、卵巢癌、间皮瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、成胶质细胞瘤、胃癌、肝细胞癌、肾细胞癌、前列腺癌和宫颈癌。

11. 根据权利要求1或2所述用途的沙门氏菌减毒株,其中单一剂量的沙门氏菌减毒株包含 $10^6$ 至 $10^9$ 个菌落形成单位(CFU)。

12. 根据权利要求1或2所使用的沙门氏菌减毒株,其中,所述治疗是个体化的癌症免疫疗法,其包含评估患者所述肿瘤抗原的表达模式和/或对患者所述肿瘤抗原的免疫前应答的步骤。

13. 一种药物组合物,其包含沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的真核表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述药物组合物还包含至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含另外的DNA分子的至少一个拷贝,所述另外的DNA分子含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的真核表达盒,其中所述药物组合物还包含至少一种检查点抑制剂,所述检查点抑制剂选自抗PD-1、PD-L1和CTLA4的抗体,并且其中所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株是伤寒沙门氏

菌Ty21a。

14. 根据权利要求13所述的药物组合物,其中所述VEGF受体蛋白为具有SEQ ID NO 1所示氨基酸序列的人VEGFR-2。

15. 根据权利要求13或14所述的药物组合物,所述药物组合物用作治疗癌症的药物。

## 用于联合治疗的VEGFR-2靶向DNA疫苗

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于治疗癌症的沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述治疗还包含施用至少一种另外的抗癌剂。本发明还涉及一种药物组合物,其包含沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述药物组合物还包含至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。

### 背景技术

[0002] 肿瘤可以是免疫原性的这一发现,致使开发了许多这样的癌症免疫疗法,该癌症免疫疗法被设计成使用免疫系统来选择性地消除恶性细胞,同时保留正常组织。然而,仅接种抗肿瘤抗原的疫苗所带来的存活益处仍然不大。抗癌疫苗面临诸多挑战,其中之一是免疫抑制微环境。肿瘤脉管系统异常产生了低氧微环境,使炎性细胞趋向免疫抑制。此外,肿瘤通过分泌生长因子和细胞因子来系统地改变免疫细胞的增殖、分化和功能。

[0003] 为了治愈癌症,彻底根除癌症干细胞是至关重要的。人类肿瘤的多种免疫逃避机制仍然是癌症免疫治疗中的主要挑战。因此,迫切需要改善的癌症治疗方法,但迄今为止尚未得到满足。

[0004] WO 2014/005683公开了一种用于癌症免疫疗法,特别是用于治疗胰腺癌的沙门氏菌减毒突变株,所述沙门氏菌减毒突变株包含编码VEGF受体蛋白的重组DNA分子。

[0005] WO 2014/173542公开了一种用于癌症免疫治疗的沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含编码肾母细胞瘤蛋白(WT1)的重组DNA分子。

[0006] WO 2013/09189公开了一种用于使伤寒沙门氏菌减毒突变株生长的方法,所述伤寒沙门氏菌减毒突变株缺乏半乳糖差向异构酶活性并携带重组DNA分子。

[0007] 发明目的

[0008] 鉴于现有技术,本发明的目的在于提供新型癌症疗法。这种新型疗法将为改善癌症患者的治疗选择提供主要优势。

### 发明内容

[0009] 在一个方面,本发明涉及一种用于治疗癌症的沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述治疗还包含施用另外的抗癌剂。

[0010] 出乎意料地发现,编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株能强烈地增加以利用患者免疫系统为基础的癌症疗法的功效,所述以利用患者免疫系统为基础的癌症疗法例如,用编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的癌症疫苗进行的治疗;用工程化的T细胞进行的治疗,所述工程化的T细胞被设计成靶向肿瘤细胞;用双特异性抗体进行的治疗,所述双特异性抗体被设计成介导免疫细胞与肿瘤细胞的连接;以及用检查点抑制剂进行的治疗,所述检查点抑

制剂旨在预防肿瘤诱导的T细胞增殖的抑制。

[0011] 出乎意料地,观察到施用编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株会导致CD8<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>T细胞对肿瘤的浸润显著增加。此外,施用编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株可导致活化的CD8<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>T细胞数量增加和/或免疫抑制性淋巴细胞(如Treg细胞)数量减少。不希望受理论束缚,我们认为施用编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株能通过增强T细胞在根除肿瘤中的参与度来改善癌症免疫疗法的功效。编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株与其它抗癌剂如工程化的T细胞、检查点抑制剂、双特异性抗体和编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗的联合应用显示对肿瘤特异性T细胞应答和整体存活具有协同作用。

[0012] 在具体的实施方案中,所述治疗还包含施用至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗、至少一种检查点抑制剂、至少一种工程化的T细胞、至少一种对T细胞表面蛋白并对肿瘤抗原或肿瘤基质抗原呈现出结合特异性的双特异性抗体,或其任意组合。

[0013] 在具体的实施方案中,所述至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗选自至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。

[0014] 在具体的实施方案中,所述至少一种检查点抑制剂选自抗PD-1、PD-L1和CTLA4的抗体。

[0015] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株是肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*)菌种。

[0016] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株是伤寒沙门氏菌Ty21a。

[0017] 在具体的实施方案中,所述表达盒和所述另外的表达盒是真核表达盒,特别是包含CMV启动子。

[0018] 在具体的实施方案中,所述VEGF受体蛋白选自如下组成的组:具有如SEQ ID NO 1所示氨基酸序列的人VEGFR-2以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白。

[0019] 在具体的实施方案中,所述人VEGFR-2具有如SEQ ID NO 1所示的氨基酸序列。

[0020] 在具体的实施方案中,所述DNA分子和所述另外的DNA分子包含卡那霉素抗生素抗性基因、pMB1ori和CMV启动子。

[0021] 在具体的实施方案中,所述DNA分子和所述另外的DNA分子包含如SEQ ID NO 2所示的DNA序列。

[0022] 在具体的实施方案中,由所述另外的沙门氏菌减毒株编码的肿瘤抗原选自由以下组成的组:具有如SEQ ID NO 3所示氨基酸序列的人肾母细胞瘤蛋白(WT1),以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 4所示氨基酸序列的人间皮素(MSLN),以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 5所示氨基酸序列的人CEA,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 6所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 7所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;和具有如SEQ ID NO 8所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;并且由所述另外的沙门氏菌减毒株编码的肿瘤基质抗原选自由人成纤维细胞活化蛋白(FAP)组成的组。

[0023] 在具体的实施方案中,人肾母细胞瘤蛋白(WT1)具有如SEQ ID NO 3所示的氨基酸

序列,人膜皮素 (MSLN) 具有如SEQ ID NO 4所示的氨基酸序列,人CEA具有如SEQ ID NO 5所示的氨基酸序列,并且CMV pp65具有如SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8所示的氨基酸序列。

[0024] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株与所述的抗癌剂同时施用或在其之前施用,即,与所述的至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗、所述的至少一种检查点抑制剂、所述的至少一种工程化的T细胞和/或所述的至少一种双特异性抗体同时施用或在其之前施用。

[0025] 在具体的实施方案中,所述治疗伴随化学疗法、放射疗法或生物癌症疗法。特别是,所述沙门氏菌减毒株在化疗或放疗治疗周期或生物癌症疗法之前或期间施用。在其他具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株在化疗或放疗治疗周期或生物癌症疗法之前和期间施用。

[0026] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述的至少一种另外的沙门氏菌减毒株口服施用。

[0027] 在具体的实施方案中,所述癌症选自结直肠癌、胰腺癌、肺癌、卵巢癌、间皮瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、成胶质细胞瘤、胃癌、肝细胞癌、肾细胞癌、前列腺癌和宫颈癌。

[0028] 在具体的实施方案中,单一剂量的所述沙门氏菌减毒株和所述的至少一种另外的沙门氏菌减毒株包含约 $10^5$ 至约 $10^{11}$ ,特别是约 $10^6$ 至约 $10^{10}$ ,更特别是约 $10^6$ 至约 $10^9$ ,更特别是约 $10^6$ 至约 $10^8$ ,最特别是约 $10^6$ 至约 $10^7$ 个菌落形成单位(CFU)。

[0029] 在具体的实施方案中,所述治疗是个体化的癌症免疫疗法,其包含评估患者肿瘤抗原的表达模式和/或对患者肿瘤抗原的免疫前应答的步骤。

[0030] 在另外的方面,本发明涉及一种药物组合物,其包含沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述药物组合物还包含至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。

[0031] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述的至少一种另外的沙门氏菌减毒株是伤寒沙门氏菌Ty21a。

[0032] 在具体的实施方案中,所述表达盒和所述的另外的表达盒是真核表达盒,特别是包含CMV启动子。

[0033] 在具体的实施方案中,所述VEGF受体蛋白选自由以下组成的组:具有如SEQ ID NO 1所示氨基酸序列的人VEGFR-2,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白。

[0034] 在具体的实施方案中,所述人VEGFR-2具有如SEQ ID NO 1所示的氨基酸序列。

[0035] 在具体的实施方案中,所述药物组合物用作药物,特别是用于治疗癌症。

## 具体实施方式

[0036] 通过参考本发明的以下详细描述和其中所包括的实施例,可以更容易地理解本发明。

[0037] 在一个方面,本发明涉及一种用于治疗癌症的沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述治疗还包

含施用另外的抗癌剂。

[0038] VEGF受体蛋白是可以被配体血管内皮生长因子(VEGF)结合的内皮细胞特异性受体-酪氨酸激酶,血管内皮生长因子(VEGF)使其二聚化并且通过转磷酸作用而被激活。生长因子VEGF家族(Kd 75-760pM)包含6个家族成员,即VEGF-A(也称为VEGF)至-E和PLGF(胎盘生长因子,也称为PGF或PIGF-2)。VEGF生长因子调节血管系统的多个组分特别是血液和淋巴管的生长和分化。VEGFR有三种主要亚型,VEGFR-1(或FLT1)、VEGFR-2(或KDR,FLK1)和VEGFR-3(或FLT4)。膜结合VEGF受体具有由7个免疫球蛋白样结构域组成的细胞外部分、单个跨膜区域和含有分开的酪氨酸激酶结构域的细胞内部分。VEGFR转录物也可形成编码可溶性VEGF受体蛋白的其他剪接变体。

[0039] 根据本发明,所述减毒沙门氏菌菌株作为含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的重组DNA分子的细菌载体起作用,用于将所述重组DNA分子递送到靶细胞中。

[0040] 含有编码异源抗原,如VEGF受体蛋白-肿瘤基质抗原的DNA分子的递送载体被称为DNA疫苗。

[0041] 在本发明的背景中,术语“疫苗”是指在施用能够诱导受试者免疫应答的试剂。优选地,疫苗可以预防、改善或治疗疾病。

[0042] 本发明的减毒活沙门氏菌菌株稳定地携带编码VEGF受体蛋白的重组DNA分子。它可以用作口服递送这种重组DNA分子的载体。

[0043] 遗传免疫可能比常规疫苗接种有利。靶DNA可以在相当长的一段时间内被检测到,从而充当抗原的储库。一些质粒中的序列基序,如GpC岛,是免疫刺激性的,可以作为被LPS和其它细菌成分所产生的免疫刺激促进的佐剂。

[0044] 减毒活沙门氏菌载体在原位产生它们自己的免疫调节因子如脂多糖(LPS),这可能与其它形式的施用(例如微胶囊化)相比构成优势。此外,根据本发明的粘膜疫苗具有淋巴内作用模式,这被证明是有益的。摄入本发明的减毒疫苗后,肠道派伊尔结中的巨噬细胞和其他细胞被修饰的细菌侵入。细菌被这些吞噬细胞摄取。由于它们的减毒突变,伤寒沙门氏菌Ty21菌株细菌不能够保持在这些吞噬细胞中,而是在这个时间点死亡。重组DNA分子被释放,并随后通过特定的运输系统或通过内吞体泄露(endosomal leakage)转移到免疫吞噬细胞的胞质溶胶中。最后,重组DNA分子进入细胞核,在细胞核内转录,导致VEGF受体蛋白在吞噬细胞的胞质溶胶中大量表达。被感染的细胞经历细胞凋亡,装载VEGF受体抗原,并被肠道免疫系统摄取和加工。细菌感染的危险信号在此过程中充当强力佐剂,导致在全身和粘膜隔室水平上产生强烈的靶抗原特异性CD8<sup>+</sup>T细胞和抗体应答。免疫应答在接种后十天左右达到峰值。抗载体应答的缺乏使得随相同疫苗的多次使用而效果增强。

[0045] 在本发明的背景中,术语“减毒”是指与不具有减毒突变的亲本细菌菌株相比毒性降低的细菌菌株。优选地,减毒细菌菌株丧失了其毒力,但保留了其诱导保护性免疫的能力。减毒可以通过各种基因包括毒力、调控和代谢基因的缺失来完成。减毒细菌可以天然存在,或者可以在实验室中人工生产,例如通过使其适应新的培养基或细胞培养物,或者它们可以通过重组DNA技术生产。施用约10<sup>11</sup>CFU的本发明的沙门氏菌减毒株引起受试者优选地小于5%,更优选小于1%,最优选小于1‰的沙门氏菌病。

[0046] 在本发明的背景中,术语“包含”是指“包括但不限于”。该术语旨在是开放式的,旨在具体说明任意陈述的特征、元件、整体、步骤或组分的存在,但并不排除一种或多种其他

特征、元件、整体、步骤、组分或其组的存在或添加。因此，术语“包含”包括更限制性的术语“由.....组成”和“基本上由.....组成”。在一个实施方案中，贯穿本申请、特别是在权利要求书中使用的术语“包含”可以被术语“由...组成”代替。

[0047] 含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子合适地是重组DNA分子，即工程化的DNA构建体，优选由不同来源的DNA片段组成。DNA分子可以是线性核酸，或者优选地，是通过将编码VEGF受体蛋白的开放阅读框引入表达载体质粒而产生的环状DNA质粒。

[0048] 在本发明的背景中，术语“表达盒”是指包含至少一个开放阅读框 (ORF) 的核酸单位，所述开放阅读框在控制其表达的调节序列的控制下。优选地，表达盒可以介导靶细胞中所包括的编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原 (如VEGF受体蛋白) 的开放阅读框的转录。表达盒通常包含启动子、至少一个开放阅读框和转录终止信号。

[0049] 在具体的实施方案中，所述治疗还包含施用至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗、至少一种检查点抑制剂、至少一种工程化的T细胞、至少一种对T细胞表面蛋白并对肿瘤抗原或肿瘤基质抗原呈现出结合特异性的双特异性抗体或其任意组合。

[0050] 在具体的实施方案中，所述至少一种双特异性抗体呈现出对肿瘤抗原的结合特异性，所述肿瘤抗原选自CD19、EpCAM、HER2、EGFR、CEA、CD33、EphA2和MCSP。

[0051] 在具体实施方案中，所述至少一种工程化的T-细胞在其细胞表面上包含至少一种肿瘤抗原结合蛋白，其中所述肿瘤抗原选自CEA、FBP、GD2、GD3、Her2-neu、MAGE-A1、MSLN、PSCA、PSMA。

[0052] 在具体的实施方案中，所述治疗还包含施用一种另外的编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗，特别是一种另外的沙门氏菌减毒株，其包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。

[0053] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与各自编码肿瘤抗原的另外两种沙门氏菌减毒株的施用联合。

[0054] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与一种检查点抑制剂的施用联合。

[0055] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与编码肿瘤抗原的另外一种沙门氏菌减毒株和一种检查点抑制剂的施用联合。

[0056] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与一种工程化的T-细胞的施用联合。

[0057] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与一种工程化的T-细胞和一种检查点抑制剂的施用联合。

[0058] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与一种双特异性抗体的施用联合。

[0059] 在具体的实施方案中，将编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株的施用与一种双特异性抗体和一种检查点抑制剂的施用联合。

[0060] 在具体的实施方案中，所述至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗选自至少一种另外的沙门氏菌减毒株，所述另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。

[0061] 在具体的实施方案中，所述至少一种检查点抑制剂选自抗PD-1、PD-L1和CTLA4的



抗体。

[0062] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株属于肠道沙门氏菌菌种。肠道沙门氏菌的减毒衍生物是将外源抗原递送至哺乳动物免疫系统的有吸引力的载体,因为肠道沙门氏菌菌株可能通过免疫的粘膜途径(即经口或经鼻)递送,与肠胃外施用相比,提供了简单性和安全性的优点。此外,沙门氏菌菌株在全身和粘膜隔室水平上,均引起强烈的体液和细胞免疫应答。批量制备的成本低,并且活菌疫苗制剂非常稳定。减毒可以通过各种基因包括毒力、调控和代谢基因的缺失来完成。

[0063] 已显示,几种通过aro突变而减毒的鼠伤寒沙门氏菌菌株是动物模型中递送外源抗原安全有效的递送载体。

[0064] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株是伤寒沙门氏菌Ty21a。减毒活伤寒沙门氏菌Ty21a菌株是Typhoral L<sup>®</sup>的活性成分,Typhoral L<sup>®</sup>也称为Vivotif<sup>®</sup>(由Crucell在瑞士的公司Berna Biotech Ltd.制造)。它是目前唯一获得许可的抗伤寒热口服活疫苗。这种疫苗已经被广泛测试,并已被证明在患者毒性以及向第三方传播方面是安全的(Wahdan等人,J.Infectious Diseases 1982,145:292-295)。该疫苗已在40多个国家获得许可,并已用于数百万人的抗伤寒热预防性疫苗接种中,包括数千名儿童。它拥有空前的安全记录。没有可用的数据表明伤寒沙门氏菌Ty21a能够系统性地进入血液。因此,减毒活伤寒沙门氏菌Ty21a疫苗菌株能够在肠道中特异性靶向免疫系统,同时安全且耐受性良好。Typhoral L<sup>®</sup>的销售许可证编号为PL 15747/0001,日期为1996年12月16日。一个剂量的疫苗含有至少 $2 \times 10^9$ 个活伤寒沙门氏菌Ty21a菌落形成单位和至少 $5 \times 10^9$ 个失活的伤寒沙门氏菌Ty21a细胞。

[0065] 这种耐受性良好的、活体口服抗伤寒热疫苗是通过对野生型毒性细菌分离株伤寒沙门氏菌Ty2的化学诱变衍生的,并且含有galE基因功能缺失性突变,导致其不能代谢半乳糖。减毒细菌菌株也不能将硫酸盐还原成硫化物,从而将其与野生型伤寒沙门氏菌Ty2菌株区分开来。关于其血清学特性,伤寒沙门氏菌Ty21a菌株含有O9-抗原(一种细菌外膜多糖),并且缺乏O5-抗原,这相应地是鼠伤寒沙门氏菌的特征组分。该血清学特征支持将相应的测试包括在一组对批量释放的识别测试中的基本原理。

[0066] 在具体的实施方案中,所述表达盒和所述另外的表达盒是真核表达盒,特别是包含CMV启动子。在本发明的背景中,术语“真核表达盒”是指允许在真核细胞中表达开放阅读框的表达盒。已显示,诱导适当的免疫应答所需的外源抗原的量对细菌可能是有毒性的,并可能导致细胞死亡、过度减毒或外源抗原表达缺失。使用在细菌载体中不表达而仅在靶细胞中表达的真核表达盒可以克服这一毒性问题,并且所表达的蛋白通常呈现出真核糖基化模式。

[0067] 真核表达盒包含能够控制开放阅读框在真核细胞中表达的调控序列,优选为启动子和聚腺苷酸化信号。本发明沙门氏菌减毒株所包含的重组DNA分子所包括的启动子和聚腺苷酸化信号优选被选择为在待免疫的受试者的细胞内起作用。合适的启动子,特别是用于生产人类DNA疫苗的实例包括但不限于来自巨细胞病毒(CMV)的启动子,如强CMV立即早期启动子;猿猴病毒40(SV40);小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV);人类免疫缺陷病毒(HIV),如HIV长末端重复(LTR)启动子;莫洛尼病毒;爱泼斯坦巴尔病毒(EBV);以及来自劳氏肉瘤病毒

(RSV) ;由CMV早期增强子元件,鸡 $\beta$ -肌动蛋白基因的启动子、第一外显子和第一内含子,以及兔 $\beta$ 珠蛋白基因的剪接受体组成的合成CAG启动子;以及来自人类基因如人肌动蛋白、人肌球蛋白、人血红蛋白、人肌肉肌酸和人类金属硫蛋白的启动子。在一个具体的实施方案中,所述真核表达盒含有CMV启动子。在本发明的背景中,术语“CMV启动子”是指强立即早期巨细胞病毒启动子。

[0068] 合适的聚腺苷酸化信号,特别是用于生产人类DNA疫苗的实例包括但不限于牛生长激素(BGH)聚腺苷酸化位点、SV40聚腺苷酸化信号和LTR聚腺苷酸化信号。在一个具体的实施方案中,本发明沙门氏菌减毒株所包含的重组DNA分子所包括的真核表达盒包含BGH聚腺苷酸化位点。

[0069] 除了表达外源肿瘤抗原或肿瘤基质抗原基因所需的调控元件如启动子和聚腺苷酸化信号之外,重组DNA分子中还可包含其他元件。这种其他元件包括增强子。增强子可以是例如人肌动蛋白、人肌球蛋白、人血红蛋白、人肌肉肌酸的增强子和病毒增强子如来自CMV、RSV和EBV的增强子。

[0070] 调控序列和密码子通常是物种依赖的,因此为了使蛋白生产最大化,调控序列和密码子优选被选择为在待免疫的物种中有效。本领域技术人员可以生产在给定受试物种中起作用的重组DNA分子。

[0071] 在具体的实施方案中,所述VEGF受体蛋白选自由以下组成的组:具有如SEQ ID NO 1所示氨基酸序列的人VEGFR-2,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白。

[0072] VEGFR-2,也被称为含激酶插入结构域的受体(KDR),似乎介导几乎所有已知的对VEGF的细胞应答。例如,VEGF在血管生成中的作用似乎是通过该蛋白与VEGFR-2的相互作用来介导的。VEGFR-2为1356个氨基酸长,200-230kDa分子量,是VEGF以及VEGF-C和VEGF-D的高亲和力受体。通过人类内皮cDNA筛选酪氨酸激酶受体鉴定,VEGFR-2与先前发现的小鼠胎肝激酶1(F1k-1)具有85%的序列一致性。VEGFR-2通常在内皮前体细胞和造血前体细胞以及内皮细胞、新生造血干细胞和脐带基质中表达。然而,在静态成人脉管系统中,VEGFR-2mRNA似乎被下调。

[0073] VEGFR-2的细胞外结构域含有18个潜在的N-连接的糖基化位点。VEGFR-2最初被合成为150kDa的蛋白,并迅速糖基化成200kDa的中间体形式,然后以较慢的速度进一步糖基化成在细胞表面表达的成熟的230kDa蛋白。

[0074] 在这一背景下,术语“约”或“近”是在给定值或范围的80%至120%以内,或者90%至110%以内,包括95%至105%以内。

[0075] 在本发明的背景中,术语“与给定蛋白(参照蛋白)具有至少约80%序列一致性的蛋白”是指与参照蛋白的氨基酸序列和/或编码氨基酸序列的核酸可能不同的蛋白。所述蛋白可以是天然来源的,例如野生型蛋白的突变形式,例如野生型VEGF受体蛋白的突变形式,或不同物种的同源物,或工程化的蛋白,例如工程化的VEGF受体蛋白。已知密码子的使用在物种之间是不同的。因此,当在靶细胞中表达外源蛋白时,使核酸序列适应靶细胞的密码子使用可能是必要的或至少是有帮助的。用于设计和构建给定蛋白的衍生物的方法是本领域任一普通技术人员所熟知的。

[0076] 与给定的参照蛋白相比,与给定蛋白具有至少约80%序列一致性的蛋白可以含有一个或多个这样的突变,所述突变包含一个或多个氨基酸的添加、缺失和/或取代。根据本

发明的教导,所述缺失、添加和/或取代的氨基酸可以是连续的氨基酸,或者可以散布在与给定参照蛋白具有至少约80%序列一致性的蛋白的氨基酸序列的长度上。根据本发明的教导,只要与参照蛋白的氨基酸序列一致性至少约80%并且突变的蛋白是免疫原性的,则可以添加、缺失和/或取代任意数目的氨基酸。优选地,通过ELISA测量,与给定氨基酸序列的参考蛋白相比,与给定氨基酸序列的参考蛋白具有至少约80%序列一致性的蛋白的免疫原性减少了小于50%,小于40%,小于30%,小于20%,小于,小于10%,小于5%或小于1%。用于设计和构建蛋白同源物和用于测试这些同源物的免疫原性潜力的方法是本领域普通任一技术人员所熟知的。在具体的实施方案中,与参照蛋白的序列一致性为至少约80%,至少约85%,至少约90%或最特别是至少约95%。用于测定序列一致性的方法和算法,包括亲本蛋白与其衍生物(所述衍生物相对于亲本序列具有缺失、添加和/或取代)的比较,是本领域普通技术人员公知的。在DNA水平上,由于遗传密码的简并性,编码与VEGF受体蛋白具有至少约80%序列一致性的蛋白的核酸序列可能在很大程度上不同。

[0077] 在具体的实施方案中,人VEGFR-2具有如SEQ ID NO 1所示的氨基酸序列。

[0078] 在具体的实施方案中,所述DNA分子和所述另外的DNA分子包含卡那霉素抗生素抗性基因、pMB1ori和CMV启动子。在具体的实施方案中,重组DNA分子来源于市售的pVAX1<sup>TM</sup>表达质粒(Invitrogen, San Diego, California)。通过用pBR322的低拷贝pMB1复制起点取代高拷贝pUC复制起点来修饰该表达载体。进行低拷贝修饰是为了减少代谢负担并使构建体更稳定。所产生的表达载体骨架被命名为pVAX10。

[0079] 在具体的实施方案中,所述DNA分子和所述另外的DNA分子包含如SEQ ID NO 2所示的DNA序列(载体骨架pVAX10)。

[0080] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 9所示核酸序列的VEGF受体蛋白编码ORF插入到该表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.VR2-1(WO2013/091898)。表达质粒pVAX10.VR2-1示意图如图16。包含携带有表达质粒pVAX10.VR2-1的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM01(WO2013/091898)。

[0081] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 10所示核酸序列的人截短的WT1编码ORF插入到该表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.hWT1。表达质粒pVAX10.hWT1示意图如图17。包含携带有表达质粒pVAX10.hWT1的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM06(WO 2014/173542)。

[0082] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 11所示核酸序列的人MSLN编码ORF插入到该表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.hMSLN。表达质粒pVAX10.hMSLN示意图如图18。包含携带有表达质粒pVAX10.hMSLN的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM04。

[0083] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 12所示核酸序列的人CEA编码ORF插入到该表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.hCEA。表达质粒pVAX10.hCEA示意图如图19。包含携带有表达质粒pVAX10.hCEA的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM08。

[0084] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 13所示核酸序列的CMV pp65编码ORF插入到该表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.CMVpp65\_1。表达质粒pVAX10.CMVpp65\_1示意图如图20。包含携带有表达质粒pVAX10.CMVpp65\_1的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM65\_1。

[0085] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 14所示核酸序列的CMV pp65编码ORF插入到该

表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.CMVpp65\_2。表达质粒pVAX10.CMVpp65\_2示意图如图21。包含携带有表达质粒pVAX10.CMVpp65\_2的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM65\_2。

[0086] 通过NheI/XhoI将具有SEQ ID NO 15所示核酸序列的CMV pp65编码ORF插入到该表达载体骨架中,得到表达质粒pVAX10.CMVpp65\_3。表达质粒pVAX10.CMVpp65\_3示意图如图22。包含携带有表达质粒pVAX10.CMVpp65\_3的减毒沙门氏菌菌株Ty21a的DNA疫苗被命名为VXM65\_3。

[0087] 在具体的实施方案中,由所述另外的沙门氏菌减毒株编码的肿瘤抗原选自由以下组成的组:具有如SEQ ID NO 3所示氨基酸序列的人肾母细胞瘤蛋白(WT1),以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 4所示氨基酸序列的人间皮素(MSLN),以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 5所示氨基酸序列的人CEA,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 6所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 7所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;和具有如SEQ ID NO 8所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;并且由所述另外的沙门氏菌减毒株编码的肿瘤基质抗原选自由人成纤维细胞活化蛋白(FAP)组成的组。

[0088] 在具体的实施方案中,人肾母细胞瘤蛋白(WT1)具有如SEQ ID NO 3所示的氨基酸序列,人间皮素(MSLN)具有如SEQ ID NO 4所示的氨基酸序列,人CEA具有如SEQ ID NO 5所示的氨基酸序列,并且CMV pp65具有如SEQ ID NO 6或SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8所示的氨基酸序列。

[0089] 间皮素是40-kDa的细胞表面糖蛋白,存在于正常间皮细胞上,并在多种人类肿瘤,包括间皮瘤、卵巢和胰腺腺癌中过表达。间皮素基因编码71-kDa的前体蛋白,其经加工产生31-kDa的脱落蛋白,称为巨核细胞增强因子(MPF),和40-kDa的细胞结合片段间皮素。在存在白细胞介素-3的情况下,间皮素呈现出巨核细胞集落形成活性。间皮素是一种肿瘤分化抗原,其在有限的正常成人组织如间皮中以低水平存在,但在多种人类肿瘤,包括间皮瘤,卵巢和胰腺癌,宫颈、头和颈、外阴、肺和食道的鳞状细胞癌,肺腺癌,子宫内膜癌(endometrial carcinomas),双相型滑膜肉瘤,促结缔组织增生性小圆细胞瘤和胃腺癌中异常过表达。间皮素的正常生物功能是未知的。间皮素敲除小鼠的研究显示没有可检测的表型,并且雄性和雌性小鼠都产生了健康的后代。胰腺癌的研究表明间皮素通过增加细胞增殖、迁移和S期细胞群而在肿瘤发生中起作用。此外,有证据表明,间皮素是一种免疫原性蛋白。由于其表达谱、致癌功能和免疫原性,肿瘤抗原间皮素是癌症疫苗开发的有前景的候选者。

[0090] 肾母细胞瘤基因1(WT1)编码参与细胞增殖和分化的锌指转录因子。WT1蛋白在C-末端含有四个锌指基序,在N-末端含有富含脯氨酸/谷氨酰胺的DNA-结合结构域。由在两个编码外显子处的选择性剪接而产生的多个转录变异体已被很好地表征。WT1在泌尿生殖系统的发育中起着重要作用,并参与细胞增殖和分化。WT1基因作为负责儿童肾肿瘤一肾母细胞瘤的基因被分离。它在很多种恶性肿瘤中高度表达,包括几种类型的血液恶性肿瘤和各种实体瘤。相反地,WT1在成人中的正常组织表达限于生殖腺、子宫、肾、间皮和各种类型的组织中的祖细胞。WT-1对祖细胞的分化有负向影响,并促进祖细胞的增殖。此外,过表达

的WT1是免疫原性的；在癌症患者中已经观察到WT1特异性T细胞以及IgG抗WT1抗体。由于其表达谱、致癌功能和免疫原性，肿瘤抗原WT1是癌症疫苗开发的有前景的候选者。

[0091] 在具体的实施方案中，WT1被截短。在具体的实施方案中，WT1的锌指结构域被删除。在具体的实施方案中，被截短的WT1具有如SEQ ID NO 3所示的氨基酸序列。

[0092] WT1的C端的锌指结构域包含四个锌指基元。SEQ ID NO 3所示氨基酸序列的截短的WT1代表蛋白质分析数据库(UniProt)编号P19544-7的1至371位氨基酸。锌指结构域的缺失使与含转录因子的其他锌指的免疫交叉反应风险降至最低。此外，缺少锌指结构域的截短的WT1具有比全长WT1更强的免疫原性。另外，DNA结合所必需的锌指基元的缺失消除了WT1的致癌潜力，从而将致癌的风险降至最低。

[0093] 间层蛋白(tegument protein)CMV pp65是人巨细胞病毒(CMV)的主要免疫显性蛋白。CMV pp65的生物功能尚不清楚，但认为其参与细胞周期调控。CMV pp65是一种亲核蛋白，呈现出蛋白激酶活性，能够结合polo样激酶1(PLK-1)。

[0094] HCMV pp65在超过90%的胶质母细胞瘤标本中表达，但在周围正常脑组织中不表达。因此，对于新型癌症免疫疗法的开发，这一病毒蛋白是肿瘤特异性靶标的有前景的候选者。

[0095] CMV pp65蛋白在羧基端附近的415至438位氨基酸处和537至561位氨基酸处含有两个双核定位信号(NLS)，并且在赖氨酸-436处含有与其激酶活性相关的磷酸结合位点。436位的赖氨酸突变为天冬酰胺以及537-561位氨基酸的缺失导致无激酶活性的蛋白以及核定位显著降低。该突变蛋白的免疫原性不变。

[0096] 在具体的实施方案中，CMV pp65具有如SEQ ID NO 6所示的氨基酸序列。SEQ ID NO 6代表野生型人CMV pp65的氨基酸序列。

[0097] 在其他具体实施方案中，CMV pp65具有如SEQ ID NO 7所示的氨基酸序列。SEQ ID NO 7代表人CMV pp65的氨基酸序列，其相对于SEQ ID NO:6的野生型人CMV pp65具有K436N突变。

[0098] 在其他具体实施方案中，CMV pp65具有如SEQ ID NO 8所示的氨基酸序列。SEQ ID NO 8代表SEQ ID NO 7的CMV pp65的截短形式的氨基酸序列，其缺少第二个多出来的C-末端NLS(核定位序列)(即SEQ ID NO 7的CMV pp65的537至561位氨基酸)。

[0099] 癌胚抗原(CEA)(也称为CEACAM5和CD66e)是参与细胞粘附的高度相关的糖基磷脂酰肌醇(GPI)细胞表面锚定糖蛋白家族的成员。CEA通常在胎儿发育期间在胃肠组织中产生；蛋白表达在出生前结束。因此，CEA通常仅以非常低的水平存在于健康成年人的血液中。然而，在某些类型的癌症，特别是在结直肠癌中血清水平升高，因此其可作为肿瘤标志物。在胃癌，胰腺癌，肺癌，乳腺癌和甲状腺髓样癌以及一些非肿瘤性病况如溃疡性结肠炎，胰腺炎，肝硬化，COPD，克罗恩氏病和甲状腺功能减退症中，CEA水平也可能升高。

[0100] 在具体的实施方案中，所述沙门氏菌减毒株与所述另外的抗癌剂同时施用或在其之前施用，即，与所述至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗、所述至少一种检查点抑制剂、所述至少一种工程化的T细胞和/或所述至少一种双特异性抗体同时施用或在其之前施用。

[0101] 在本发明的背景中，术语“与...同时”意指所述编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的抗癌剂的施用在同一天，更特别是在12小时内，更特别是在2小

时内进行。

[0102] 在具体的实施方案中,所述编码VEGF受体蛋白的减毒沙门氏菌菌株和所述至少一种另外的抗癌剂的施用在连续的八周内,更特别是在连续的三周至六周内发生。本发明的所述减毒沙门氏菌菌株和所述至少一种另外的抗癌剂可以通过相同的途径或通过不同的途径施用。

[0103] 在具体的实施方案中,所述治疗伴随化学疗法、放射疗法或生物癌症疗法。为了治愈癌症,彻底根除癌症干细胞可能是必要的。为获得最大效力,联合不同的治疗方法可能是有益的。

[0104] 在本发明的背景中,术语“生物癌症疗法”是指这样的癌症疗法,所述癌症疗法包括使用源自活生物体的物质或这些物质的实验室生产形式。生物癌症疗法方法包括施用免疫刺激性细胞因子。

[0105] 可以与本发明的沙门氏菌减毒突变株联合使用的化学治疗剂可以是例如:吉西他滨,氨磷汀(乙醇),卡巴他赛,顺铂,达卡巴嗪(DTIC),放线菌素D,多烯紫杉醇,双氯乙基甲胺(mechlorethamine),链脲霉素,环磷酰胺,carrnustine(BCNU),洛莫司汀(CCNU),多柔比星(阿霉素),多柔比星脂质体(doxil),亚叶酸,吉西他滨(健择(gemzar)),道诺霉素,道诺霉素脂质体(daunoxome),丙卡巴肼,酮康唑,丝裂霉素,阿糖胞苷,依托泊苷,甲氨蝶呤,5-氟尿嘧啶(5-FU),长春碱,长春新碱,博来霉素,紫杉醇,多西他赛(泰索帝),阿地白介素,天冬酰胺酶,白消安,卡铂,克拉屈滨,喜树碱,CPT-11,10-羟基-7-乙基-喜树碱(SN38),达卡巴嗪,氟尿苷,氟达拉滨,羟基脲,异环磷酰胺,伊达比星,美司钠,干扰素 $\alpha$ ,干扰素 $\beta$ ,伊立替康,米托蒽醌,拓扑替康,亮丙瑞林,甲地孕酮,美法仑,巯嘌呤,奥沙利铂,普卡霉素,米托坦,培门冬酶(pegaspargase),喷司他汀,哌泊溴烷(pipobroman),普卡霉素,链脲霉素,他莫西芬,替尼泊苷,睾内酯,硫鸟嘌呤,噻替派,乌拉莫司汀(uracil mustard),长春瑞滨,苯丁酸氮芥及其组合。

[0106] 本发明最优选的化疗剂是卡巴他赛,卡铂,奥沙利铂,顺铂,环磷酰胺,多西他赛,吉西他滨,多柔比星,紫杉醇,伊立替康,长春新碱,长春碱,长春瑞滨,亚叶酸,5-氟尿嘧啶和博来霉素,尤其是吉西他滨。

[0107] 具体地,所述沙门氏菌减毒株在化疗或放疗治疗周期或生物癌症疗法之前或期间施用。在其他具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株在化疗或放疗治疗周期或生物癌症疗法之前和期间施用。

[0108] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株口服施用。口服施用比胃肠外施用更简单、更安全且更舒适。然而,必须要注意的是,本发明的沙门氏菌减毒株也可以通过任意其他合适的途径施用。优选地,向受试者施用治疗有效剂量,并且该剂量取决于具体应用,恶性肿瘤类型,受试者的体重、年龄、性别和健康状况,施用方式和制剂等。根据需要,施用可以是单次或多次。

[0109] 编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株和编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的至少一种另外的沙门氏菌减毒株可以以溶液、悬浮液、冻干物、肠溶包衣胶囊或任意其它合适的形式提供。所述沙门氏菌减毒株通常被配制成饮用溶液。该实施例的患者依从性有所改善。优选地,所述饮用溶液包含将胃酸至少中和至某一度的手段,即,使胃液的pH接近pH 7。优选地,所述饮用溶液是包含本发明沙门氏菌减毒株的缓冲悬浮液。在一个具体实施方案中,所

述缓冲悬浮液通过使沙门氏菌减毒株悬浮在合适的缓冲液中而获得,优选地,所述合适的缓冲液含有2.6g碳酸氢钠、1.7g L-抗坏血酸、0.2g乳糖一水合物和100ml的饮用水。

[0110] 优选地,选自至少一种检查点抑制剂、至少一种工程化的T细胞以及至少一种对T细胞表面蛋白并对肿瘤抗原或肿瘤基质抗原呈现出结合特异性的双特异性抗体的所述至少一种另外的抗癌剂以经批准的商业产品的盖伦制剂形式施用。

[0111] 在具体的实施方案中,所述癌症选自结直肠癌、胰腺癌、肺癌、卵巢癌、间皮瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、成胶质细胞瘤、胃癌、肝细胞癌、肾细胞癌、前列腺癌和宫颈癌。

[0112] 在相对低剂量的编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株下,编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株与另外的抗癌剂,例如至少一种检查点抑制剂、双特异性抗体、工程化的T细胞和编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的DNA疫苗一起使用时,出乎意料地显示出对T细胞应答和/或总体存活具有协同作用。类似地,包含编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的沙门氏菌减毒株的DNA疫苗在相对低的剂量下出乎意料地有效。施用低剂量的活细菌疫苗使排泄的风险降至最低,并由此使传播给第三方的风险降至最低。

[0113] 在具体的实施方案中,单一剂量的沙门氏菌减毒株和至少一种另外的沙门氏菌减毒株包含约 $10^5$ 至约 $10^{11}$ ,特别是约 $10^6$ 至约 $10^{10}$ ,更特别是约 $10^6$ 至约 $10^9$ ,更特别是约 $10^6$ 至约 $10^8$ ,最特别是约 $10^6$ 至约 $10^7$ 个菌落形成单位(CFU)。

[0114] 在具体的实施方案中,编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株和至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的沙门氏菌减毒株的单一剂量基本相同,其单一剂量均包含约 $10^5$ 至约 $10^{11}$ ,特别是约 $10^6$ 至约 $10^{10}$ ,更特别是约 $10^6$ 至约 $10^9$ ,更特别是约 $10^6$ 至约 $10^8$ ,最特别是约 $10^6$ 至约 $10^7$ 个菌落形成单位(CFU)。在具体的实施方案中,单一剂量的编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株比单一剂量的至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的沙门氏菌减毒株的低约10至约100倍。在其他具体实施方案中,单一剂量的编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株比单一剂量的至少一种编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的沙门氏菌减毒株高约10至约100倍。

[0115] 在这一背景下,术语“约”或“近”意指给定值或范围的3倍以内,或者2倍以内,包括1.5倍以内。

[0116] 在具体的实施方案中,所述治疗是个体化的癌症免疫疗法,其包含评估患者针对所述肿瘤抗原的表达模式和/或免疫前应答的步骤。可以在第一步骤中,例如通过靶向患者特定肿瘤和/或基质抗原模式的伴随式诊断,来评估患者的肿瘤和/或基质抗原表达模式和/或患者针对肿瘤和/或基质抗原的免疫前应答。根据患者的肿瘤和/或基质抗原表达模式,或患者针对肿瘤和/或基质抗原的免疫前应答,编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株可以与一种或多种合适的另外的伤寒沙门氏菌Ty21a联合施用,所述另外的伤寒沙门氏菌Ty21a基于包含真核表达系统的癌症疫苗。

[0117] 取决于可能发生的副作用,包括使用抗生素或抗炎剂的治疗可能是有利的。

[0118] 如果发生类似由组胺、白三烯或细胞因子介导的过敏反应的不良事件,则可使用针对发热、过敏反应、血压不稳定、支气管痉挛和呼吸困难的治疗选择。在不期望的T细胞衍生自动攻击的情况下,治疗选择来源于干细胞移植后应用的急性和慢性移植抗宿主病的标准处理方案。环孢菌素和糖皮质激素被提出作为治疗选择。

[0119] 在不太可能发生的系统性伤寒沙门氏菌Ty21a型感染的情况下,推荐使用适当的抗生素疗法,例如用包括环丙沙星或氧氟沙星的氟罗喹诺酮。胃肠道的细菌感染使用相应的药剂例如利福昔明来进行治疗。

[0120] 在另一方面,本发明涉及一种药物组合物,其包含沙门氏菌减毒株,所述沙门氏菌减毒株包含含有编码VEGF受体蛋白的表达盒的DNA分子的至少一个拷贝,其中所述药物组合物还包含至少一种另外的沙门氏菌减毒株,所述另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝。

[0121] 在具体的实施方案中,所述药物组合物包含DNA疫苗VXM01和VXM06。

[0122] 在具体的实施方案中,所述药物组合物包含DNA疫苗VXM01和VXM04。

[0123] 在具体的实施方案中,所述药物组合物包含DNA疫苗VXM01和VXM08。

[0124] 在具体的实施方案中,所述药物组合物包含DNA疫苗VXM01和VXM65。

[0125] 在具体的实施方案中,所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株包含含有编码肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的表达盒的另外的DNA分子的至少一个拷贝,所述肿瘤抗原或肿瘤基质抗原选自自由以下组成的组:具有如SEQ ID NO 3所示氨基酸序列的人肾母细胞瘤蛋白(WT1),以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 4所示氨基酸序列的人间皮素(MSLN),以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 5所示氨基酸序列的人CEA,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 6所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;具有如SEQ ID NO 7所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;和具有如SEQ ID NO 8所示氨基酸序列的CMV pp65,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白;特别地,其中人肾母细胞瘤蛋白(WT1)具有如SEQ ID NO 3所示的氨基酸序列,人间皮素(MSLN)具有如SEQ ID NO4所示的氨基酸序列,人CEA具有如SEQ ID NO 5所示的氨基酸序列,并且CMV pp65具有如SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8所示的氨基酸序列,并且其中所述肿瘤基质抗原选自成纤维细胞活化蛋白(FAP)。

[0126] 本发明的药物组合物可以是溶液、悬浮液、肠溶包衣胶囊、冻干粉末或适用于预期用途的任意其它形式。

[0127] 本发明的药物组合物可以进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0128] 在本发明的背景中,术语“赋形剂”是指与药物的活性成分一起配制的天然或合成物质。合适的赋形剂包括抗粘剂,粘合剂,包衣,崩解剂,调味剂,着色剂,润滑剂,助流剂,吸着剂,防腐剂和甜味剂。

[0129] 在本发明的背景中,术语“药学上可接受的”是指,当施用于哺乳动物(例如人)时生理上可耐受的并且通常不产生不利反应的药物组合物的分子物质和其它成分。术语“药学上可接受的”还可以意指由联邦或州政府的管理机构批准或在美国药典或其他公认的药典中列出的用于哺乳动物,更特别是用于人的。

[0130] 在具体的实施方案中,其中抗癌剂选自至少一种含有肿瘤抗原或肿瘤基质抗原的另外的沙门氏菌减毒株,本发明的药物组合物可适当地作为饮用溶液提供。该实施例的患者依从性有所改善,并且使得可以进行快速、可行且实惠的大规模疫苗接种,尤其是在贫瘠地域。

[0131] 具体地,合适的饮用溶液包含将胃酸至少中和至某一度的手段,即,使胃液的pH接



近pH 7。在一个具体实施方案中,饮用溶液是缓冲悬浮液,所述缓冲悬浮液通过使本发明的沙门氏菌减毒株悬浮在合适的缓冲液中而获得,优选地,在将胃酸至少中和至某一度的缓冲液中,优选地,在含有2.6g碳酸氢钠、1.7g L-抗坏血酸、0.2g乳糖一水合物和100ml饮用水的缓冲液中。

[0132] 在具体的实施方案中,所述沙门氏菌减毒株和所述至少一种另外的沙门氏菌减毒株是伤寒沙门氏菌Ty21a。

[0133] 在具体的实施方案中,所述表达盒和所述另外的表达盒是真核表达盒,特别是其包含CMV启动子。

[0134] 在具体的实施方案中,所述VEGF受体蛋白选自由如下组成的组:具有如SEQ ID NO 1所示氨基酸序列的人VEGFR-2,以及与其具有至少约80%序列一致性的蛋白。

[0135] 在具体的实施方案中,人VEGFR-2具有如SEQ ID NO 1所示的氨基酸序列。

[0136] 在具体的实施方案中,所述药物组合物用作药物,特别是用于治疗癌症。

[0137] 在具体的实施方案中,所述治疗包括单次或多次施用本发明的编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株或药物组合物。施用的单一剂量可以相同或不同。特别地,所述治疗包括1、2、3、4、5或6次施用本发明的编码VEGF受体蛋白的沙门氏菌减毒株或药物组合物,优选地,其中多次施用发生在3至6个连续月中。

## 附图说明

[0138] 图1:质粒pVAX10.VR2-1中所包含的VEGFR-2cDNA所编码的人VEGFR-2的氨基酸序列(对应于SEQ ID NO 1);

[0139] 图2:空表达载体pVAX10中所包含的核酸序列(不含多克隆位点部分(位于限制性位点NheI和XhoI之间)的表达载体pVAX10的序列)(SEQ ID NO 2);

[0140] 图3:质粒pVAX10.hWT1中所包含的WT-1cDNA所编码的截短的人WT-1的氨基酸序列(SEQ ID NO 3);

[0141] 图4:质粒pVAX10.hMSLN中所包含的MSLN cDNA所编码的人MSLN的氨基酸序列(SEQ ID NO 4);

[0142] 图5:质粒pVAX10.hCEA中所包含的CEA cDNA所编码的人CEA的氨基酸序列(SEQ ID NO 5);

[0143] 图6:质粒pVAX10.CMVpp65\_1中所包含的CMV pp65cDNA所编码的人CMV pp65的氨基酸序列(SEQ ID NO 6);

[0144] 图7:质粒pVAX10.CMVpp65\_2中所包含的CMV pp65cDNA所编码的人CMV pp65的氨基酸序列(SEQ ID NO 7);

[0145] 图8:质粒pVAX10.CMVpp65\_3中所包含的CMV pp65cDNA所编码的人CMV pp65的氨基酸序列(SEQ ID NO 8);

[0146] 图9:质粒pVAX10.VR2-1中所包含的,并编码SEQ ID NO 1所示的人VEGFR-2的核酸序列;

[0147] 图10:质粒pVAX10.hWT1中所包含的,并编码SEQ ID NO 3所示的人WT-1的核酸序列;

[0148] 图11:质粒pVAX10.hMSLN中所包含的,并编码SEQ ID NO 4所示的人MSLN的核酸序

列;

[0149] 图12:质粒pVAX10.hCEA中所包含的,并编码SEQ ID NO 5所示的人CEA的核酸序列;

[0150] 图13:质粒pVAX10.CMVpp65\_1中所包含的,并编码SEQ ID NO 6所示的人CMV pp65的核酸序列;

[0151] 图14:质粒pVAX10.CMVpp65\_2中所包含的,并编码SEQ ID NO 7所示的人CMV pp65的核酸序列;

[0152] 图15:质粒pVAX10.CMVpp65\_3中所包含的,并编码SEQ ID NO 8所示的人CMV pp65的核酸序列;

[0153] 图16:pVAX10.VR2-1的质粒图谱;

[0154] 图17:pVAX10.hWT1的质粒图谱;

[0155] 图18:pVAX10.hMSLN的质粒图谱;

[0156] 图19:pVAX10.hCEA的质粒图谱;

[0157] 图20:pVAX10.CMVpp65\_1的质粒图谱;

[0158] 图21:pVAX10.CMVpp65\_2的质粒图谱;

[0159] 图22:pVAX10.CMVpp65\_3的质粒图谱;

[0160] 图23:联合施用VXM01和抗CTLA4在MC38小鼠肿瘤模型中的作用-肿瘤生长;

[0161] 图24:联合施用VXM01和抗CTLA4在MC38小鼠肿瘤模型中的作用-存活期;

[0162] 图25:联合施用VXM01和抗CTLA4在B16小鼠肿瘤模型中的作用-存活期;

[0163] 图26:实施例3的处理方案;

[0164] 图27:在联合或不联合环磷酰胺的情况下,VXM01治疗在第30天对肿瘤大小[mm<sup>3</sup>]的影响。每一个点代表一只动物的肿瘤结果;

[0165] 图28:VEGFR-2特异性CD8<sup>+</sup>细胞在具有皮下CT26结肠肿瘤细胞的BALB/C小鼠的脾脏中的百分比;每一个点代表一个脾的结果;结果以3个混合的VEGFR2五聚体的总%的形式给出;

[0166] 图29:分别用空载体和VXM01处理的动物的肿瘤样品的抗CD3免疫组织化学染色。CD3阳性细胞呈棕色(例如见箭头);放大200倍;

[0167] 图30:与用空载体对照处理的动物相比,用VXM01或VXM01加环磷酰胺处理的动物的肿瘤样品中免疫细胞浸润和PD-L1平均诱导倍数的定量;数据来源于细胞计数绝对值/组织面积[mm<sup>2</sup>];放大200倍;

[0168] 图31:VEGFR-2特异性和CEA特异性CD8<sup>+</sup>细胞在用具有皮下CT26结肠肿瘤细胞的小鼠处理的健康小鼠的脾脏中的百分比;每一个点代表一个脾的结果;结果以3个混合的VEGFR2五聚体的总%的形式给出。

[0169] 实施例

[0170] 实施例1:MC38结肠癌抗-CTLA4联合研究:

[0171] 在研究的第0天,向四组C57/B16/6J小鼠(每组n=6)皮下施用 $5 \times 10^5$ 个MC38肿瘤细胞。

[0172] 在第-1天、第1天、第4天和第6天,通过口服管饲法(oral gavage),用 $10^8$ CFU剂量的VXM01mlow(携带编码鼠VEGFR-2的真核表达盒的鼠伤寒沙门氏菌,由德国汉诺威

Richter-Helm BioLogics公司生产)单独处理动物(n=6);或以相同的剂量、施用途和施用方案用VXM01mlow处理,并在12、14、16和18天加上鼠抗CTLA4抗体(n=6);或在12、14、16和18天单独用鼠抗CTLA4抗体处理(n=6);或不处理(n=6,对照)。

[0173] 用微量卡尺测量肿瘤生长。出于动物福利的原因,肿瘤体积达到1500mm<sup>3</sup>时,立即将动物处死。

[0174] 每天记录一次测试动物的存活情况。

[0175] 图23中示出了肿瘤生长。

[0176] 试验动物的存活情况示于图24的卡普兰-梅尔(Kaplan-Meier)图中。

[0177] 实施例2:B16-F10黑色素瘤抗-CTLA4联合研究:

[0178] 在研究的第0天,向四组C57/B16/6J小鼠(每组n=6)静脉施用 $2 \times 10^5$ 个B16-F10肿瘤细胞。

[0179] 在第-5天、第-3天、第0天和第2天,通过口服管饲法,用 $10^8$ CFU剂量的VXM01mlow(携带编码鼠VEGFR-2的真核表达盒的鼠伤寒沙门氏菌,由Richter-Helm BioLogics, Hannover, Germany生产)单独处理动物(n=6);或以相同的剂量、施用途和施用方案用VXM01mlow处理,并在8、10、12和14天加上鼠抗CTLA4抗体(n=6);或在8、10、12和14天单独用鼠抗CTLA4抗体处理(n=6);或不处理(n=6,对照)。

[0180] 每天记录一次测试动物的存活情况。

[0181] 试验动物的存活情况示于图25的卡普兰-梅尔图中。

[0182] 实施例3:VMX01疫苗在CT26小鼠肿瘤模型中的抗肿瘤活性

[0183] 该研究的目的是评估在联合或不联合环磷酰胺的情况下,VXM01在携带有皮下CT26结肠肿瘤的BALB/C小鼠中的抗肿瘤活性,并表征由于对脾和肿瘤的治疗而引发的免疫应答。

[0184] 经饲喂管,通过口服管饲法(口服(per os, PO),)施用 $10^8$ CFU/adm剂量的对照VXM0m-空(不含表达质粒的鼠伤寒沙门氏菌载体对照)和VXM01mlow(携带编码小鼠VEGFR-2的真核表达盒的鼠伤寒沙门氏菌)。无论哪一动物组,在给药前,每只动物均口服(PO)接受给药前应用缓冲液以中和胃中的酸(100μl/动物/应用)。该缓冲液通过将2.6g碳酸氢钠、1.7g L-抗坏血酸和0.2g乳糖一水合物溶解于100ml饮用水中来制备,并在应用VXM0m-空或VXM01mlow之前30分钟内应用。

[0185] 将环磷酰胺以100mg/kg/adm的剂量注射到小鼠的腹膜腔中(腹膜内, IP)。IP注射体积不超过10ml/kg,并根据小鼠的最近体重计算。

[0186] 治疗开始于第0天(D0),随机化后的一天,随机化的那一天被认为是第-1天(D-1)。根据其体重,将33只6周龄健康雌性BALB/C(BALB/CByJ)小鼠随机分为4组,每组11只动物,每只均使用Vivo manager<sup>®</sup>软件(法国库泰尔农Biosystemes)记录。为检验组间均一性,进行了统计学检验(方差分析)。

[0187] 处理方案如下:

[0188] 组1:组1动物在D1、D3、D5、D7、D14和D21,共接受6次VXM0m-空PO施用。

[0189] 组2:组2动物在D1、D3、D5、D7、D14和D21,共接受6次VXM01mlow PO施用。

[0190] 组3:组3动物在D0接受一次单次环磷酰胺IP注射,并在D1、D3、D5、D7、D14和D21,共

接受6次VXM01mlow PO施用。

[0191] 处理方案总结于表1和图26中。

| 表 1: 处理方案 |      |           |                |    |                       |
|-----------|------|-----------|----------------|----|-----------------------|
| 组         | 动物编号 | 处理        | 剂量             | 途径 | 处理方案                  |
| 1*        | 11   | 空载体       | $10^8$ CFU/adm | PO | D1、D3、D5、D7、D14 和 D21 |
| [0192] 2* | 11   | VXM01mlow | $10^8$ CFU/adm | PO | D1、D3、D5、D7、D14 和 D21 |
| 3*        | 11   | VXM01mlow | $10^8$ CFU/adm | PO | D1、D3、D5、D7、D14 和 D21 |
|           |      | 环磷酰胺      | 100 mg/kg/adm  | IP | D0                    |
| 总计        | 33   |           |                |    |                       |

[0193] \*在给药前,每只动物均口服(PO)接受给药前应用缓冲液以中和胃中的酸。

[0194] 在第8天(D8),将200 $\mu$ l RPMI 1640中的 $1 \times 10^6$ 个CT26细胞皮下注射到试验动物右侧来诱导肿瘤。

[0195] 在终止当天(D30,即肿瘤接种22天后),收集全部小鼠的肿瘤,并测量肿瘤大小。

[0196] 结果示于图27。与空载体对照相比,用VXM01单独处理或VXM01加环磷酰胺处理的动物的肿瘤大小显著降低。用环磷酰胺和VXM01疫苗处理的动物的肿瘤大小的减小最为显著。

[0197] 在终止当天,收集所有小鼠的脾脏(每组11个样品),并分别放入含有冷(2-8℃)PBS的管中。使用流式细胞术和五聚体,对VEGFR-2特异性T细胞应答进行免疫监测。

[0198] 为此目的,用PBS洗涤脾样品,随后通过使其穿过100 $\mu$ m的尼龙细胞过滤器而匀浆化。匀浆过程中,用冷的无菌PBS冲洗过滤器数次。将样品在2-8℃下1500rpm离心10分钟,弃去上清液,并将细胞沉淀重悬于2ml ACK红血细胞裂解缓冲液中(每个脾1ml缓冲液)。将细胞在裂解缓冲液中室温孵育1分钟。然后,加入PBS至40ml以终止裂解,并将细胞悬浮液用一个新的过滤器(40 $\mu$ m)过筛,并将流出液收集在新的50ml管中。在2-8℃下1500rpm离心10分钟后,弃去上清液,将沉淀重新悬浮于5ml补充有II-2的DMEM培养基中。将细胞在37℃、5% CO<sub>2</sub>下孵育过夜。

[0199] 在用五聚体染色之前,根据制造商的说明书使用Invitrogen的Live Dead (L/D) Fixable Yellow Dead Cell Stain Kit进行活/死(L/D)染色,从而通过圈出阴性群体来排除死细胞。

[0200] 根据制造商的说明使用英国牛津Proimmune公司的Pro5<sup>®</sup> Recombinant MHC Pentamers进行五聚体染色。

[0201] 使用以下KDR (VEGFR-2) 五聚体:

H-2Kd - SYQYGTMQTL      **KDR-STL**

H-2Kd - KYLSYPAPDI      **KDR-KDI**

[0202] H-2Kd - RFVPDGNRI      **KDR-RRl**

H-2Kd - TYQSIMYIV      **KDR-TIV**

H-2Kd - DFLTLEHLI      **KDR-DLI**

[0203] 五聚体染色的结果示于图28。

[0204] 与空载体对照相比,用VXM01单独处理或VXM01加环磷酰胺处理的动物的VEGFR-2特异性CD8<sup>+</sup>细胞毒性T细胞的数目显著升高。与单独使用疫苗VXM01获得的应答相比,与VXM01一起的环磷酰胺处理显著增加了KDR五聚体应答。

[0205] 通过免疫组织化学(IHC)对各组5只小鼠的肿瘤进行了分析。

[0206] 为此目的,将肿瘤在10%中性福尔马林缓冲液中固定24小时至48小时,转移至乙醇中,然后包封于石蜡中。对包封的样品进行免疫组织化学染色。结果示于图29和30。

[0207] 与空载体对照相比,用VXM01单独处理或VXM01加环磷酰胺处理的小鼠的肿瘤中,每单位组织的T细胞平均数升高。在用VXM01加环磷酰胺处理的小鼠的肿瘤样品中,CD3<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞群增加了约三倍,而在用VXM01单独处理的小鼠的肿瘤样品中增加了约两倍。与空载体对照相比,在联合和不联合环磷酰胺预处理情况下,在VXM01疫苗处理的动物中,CD4<sup>+</sup>T细胞群也增加了,在两个疫苗组中,CD4<sup>+</sup>细胞/组织面积的平均数均增加了1.7倍。

[0208] 此外,PD-1阳性免疫细胞的数量增加2.0倍和2.1倍,并且在VXM01作为单一药剂或与环磷酰胺联合处理时,肿瘤都富集了表达PD-L1的细胞,这清楚地表明VXM01处理可能会增加肿瘤对抗PD-1和抗PD-L1检查点抑制剂处理的敏感性。

[0209] 实施例4:健康C56BL/6J小鼠中的VXM01/VXM08联合研究

[0210] 该研究的目的是评估VXM01mlow和VXM08hm触发健康小鼠免疫应答的能力。

[0211] 经饲喂管,通过口服管饲法(口服,P0)施用10<sup>8</sup>CFU/adm/50μl应用剂量的对照VXM0m-空(不含表达质粒的鼠伤寒沙门氏菌载体对照)、疫苗VXM01mlow(携带编码小鼠VEGFR-2的真核表达盒的鼠伤寒沙门氏菌)和疫苗VXM08hm(携带编码人CEA的真核表达质粒的伤寒沙门氏菌)。无论哪一动物组,在给药前,每只动物均口服(P0)接受给药前应用缓冲液以中和胃中的酸(在单次疫苗施用之前,剂量为50μl/动物/应用;在VXM01和VXM08联合施用之前,剂量为100μl/动物/应用)。该缓冲液通过将2.6g碳酸氢钠、1.7g L-抗坏血酸和0.2g乳糖一水合物溶解于100ml饮用水中来制备,并在应用XM0m-空或VXM01mlow和/或VXM08hm之前30分钟内应用。

[0212] 在第0天(D0),根据其体重,将40只6-7周龄健康雌性C57BL/6J小鼠随机分为5组,每组8只动物,每只均使用Vivo manager<sup>®</sup>软件(法国库泰尔农Biosystemes)。为检验组间均一性,进行了统计学检验(方差分析)。

[0213] 处理方案如下:

[0214] 组1:组1动物在D1、D3、D5、D7、D14和D21,共接受6次VXM0m-空P0施用。

[0215] 组2:组2动物在D1、D3、D5、D7、D14和D21,共接受6次VXM01mlow P0施用。

[0216] 组3:组3动物在D2、D4、D6、D8、D15和D22,共接受6次VXM08hm P0施用。

[0217] 组4:组4动物在D2、D4、D6、D8、D15和D22,共接受6次VXM01mlow PO施用,并在D2、D4、D6、D8、D15和D22,共接受6次VXM08hm PO施用。

[0218] 组5:组5动物在D1、D3、D5、D7、D14和D21,共接受6次VXM01mlow PO施用,并在D2、D4、D6、D8、D15和D22,共接受6次VXM08hm PO施用。

[0219] 处理方案总结于表2中。

| 组      | 小鼠编号 | 处理               | 剂量 (CFU/adm) | 体积 (μl) | 途径 | 处理方案                           |
|--------|------|------------------|--------------|---------|----|--------------------------------|
| [0220] | 1    | 空载体              |              | 50      | PO | 初次: D1、D3、D5、D7<br>加强: D14、D21 |
|        | 2    | VXM01mlow        | $10^8$       | 50      | PO | 初次: D1、D3、D5、D7<br>加强: D14、D21 |
|        | 3    | VXM08hm          | $10^8$       | 50      | PO | 初次: D2、D4、D6、D8<br>加强: D15、D22 |
|        | 4    | VXM01mlow        | $10^8$       | 50      | PO | 初次: D2、D4、D6、D8<br>加强: D15和D22 |
|        |      | VXM08hm*<br>(同时) | $10^8$       | 50      | PO | 初次: D2、D4、D6、D8<br>加强: D15、D22 |
|        | 5    | VXM01mlow        | $10^8$       | 50      | PO | 初次: D1、D3、D5、D7<br>加强: D14、D21 |
|        |      | VXM08hm<br>(不同日) | $10^8$       | 50      | PO | 初次: D2、D4、D6、D8<br>加强: D15、D22 |

[0221] \*在同一天应用,VXM08在VMX01后立即施用

[0222] 在终止当天(即,D29),收集所有小鼠的脾脏(每组8个样品),并分别放入含有冷(2-8℃)PBS的管中。使用流式细胞术和五聚体,对VEGFR-2和CEA特异性T细胞应答进行免疫监测。如实施例3中所述进行五聚体分析,包括前述活/死染色。

[0223] 以下KDR (VEGFR-2) 五聚体以合并混合物的形式使用,以相同比例混合:

[0224] H-2Db-VILTNPISM KDR2

[0225] H-2Db-FSNSTNDILI KDR3

[0226] 以下CEA五聚体以合并混合物的形式使用,以相同比例混合:

[0227] H-2Db-CGIQNSVSA CEA-CSA-Penta

[0228] H-2Db-LQLSNGNRTL CEA-LTL-Penta

[0229] H-2Db-CGIQNKLSV CEA-CSV-Penta

[0230] 五聚体染色的结果示于图31。相对于对照组,用VXM01mlow、VXM01mlow/VXM08hm(同时)和VXM01mlow/VXM08hm(不同日)处理的小鼠中,VEGFR-2(KDR)特异性CD8<sup>+</sup>T细胞的平均频率分别高1.71、4.36和2.76倍。与用VXM01mlow单独处理的小鼠相比,用VXM01mlow/VXM08hm同时或不同日处理的小鼠的VEGFR-2特异性CD8<sup>+</sup>T细胞的频率更高。虽然不具有统计学显著性,但是当VXM01mlow和VXM08hm疫苗同时应用时,即同一天(相对于不同日方案),协同作用略高。

[0231] 相对于对照组,用VXM08mlow、VXM01mlow/VXM08hm(同时)和VXM01mlow/VXM08hm(不同日)处理的小鼠中,CEA特异性CD8<sup>+</sup>T细胞的平均频率分别高1.29、2.23和1.95倍。与用VXM08mlow单独处理的小鼠相比,用VXM01mlow/VXM08hm同时或不同日处理的小鼠的CEA特异性CD8<sup>+</sup>T细胞的频率更高。虽然不具有统计学显著性,但是当VXM01mlow和VXM08hm疫苗同时应用时,即同一天(相对于不同日方案),协同作用略高。

|        |                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [0001] | 序列表                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0002] | <110> VAXIMM AG             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0003] | <120> 用于联合治疗的VEGFR-2靶向DNA疫苗 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0004] | <130> 111632P885PC          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0005] | <160> 15                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0006] | <170> PatentIn version 3.5  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0007] | <210> 1                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0008] | <211> 1356                  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0009] | <212> PRT                   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0010] | <213> 人                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0011] | <400> 1                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0012] | Met                         | Gln | Ser | Lys | Val | Leu | Leu | Ala | Val | Ala | Leu | Trp | Leu | Cys | Val | Glu |
| [0013] | 1                           |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| [0014] | Thr                         | Arg | Ala | Ala | Ser | Val | Gly | Leu | Pro | Ser | Val | Ser | Leu | Asp | Leu | Pro |
| [0015] |                             |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| [0016] | Arg                         | Leu | Ser | Ile | Gln | Lys | Asp | Ile | Leu | Thr | Ile | Lys | Ala | Asn | Thr | Thr |
| [0017] |                             |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| [0018] | Leu                         | Gln | Ile | Thr | Cys | Arg | Gly | Gln | Arg | Asp | Leu | Asp | Trp | Leu | Trp | Pro |
| [0019] |                             | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| [0020] | Asn                         | Asn | Gln | Ser | Gly | Ser | Glu | Gln | Arg | Val | Glu | Val | Thr | Glu | Cys | Ser |
| [0021] | 65                          |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| [0022] | Asp                         | Gly | Leu | Phe | Cys | Lys | Thr | Leu | Thr | Ile | Pro | Lys | Val | Ile | Gly | Asn |
| [0023] |                             |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| [0024] | Asp                         | Thr | Gly | Ala | Tyr | Lys | Cys | Phe | Tyr | Arg | Glu | Thr | Asp | Leu | Ala | Ser |
| [0025] |                             |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| [0026] | Val                         | Ile | Tyr | Val | Tyr | Val | Gln | Asp | Tyr | Arg | Ser | Pro | Phe | Ile | Ala | Ser |
| [0027] |                             |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| [0028] | Val                         | Ser | Asp | Gln | His | Gly | Val | Val | Tyr | Ile | Thr | Glu | Asn | Lys | Asn | Lys |
| [0029] |                             | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| [0030] | Thr                         | Val | Val | Ile | Pro | Cys | Leu | Gly | Ser | Ile | Ser | Asn | Leu | Asn | Val | Ser |
| [0031] | 145                         |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |
| [0032] | Leu                         | Cys | Ala | Arg | Tyr | Pro | Glu | Lys | Arg | Phe | Val | Pro | Asp | Gly | Asn | Arg |
| [0033] |                             |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| [0034] | Ile                         | Ser | Trp | Asp | Ser | Lys | Lys | Gly | Phe | Thr | Ile | Pro | Ser | Tyr | Met | Ile |
| [0035] |                             |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| [0036] | Ser                         | Tyr | Ala | Gly | Met | Val | Phe | Cys | Glu | Ala | Lys | Ile | Asn | Asp | Glu | Ser |
| [0037] |                             |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| [0038] | Tyr                         | Gln | Ser | Ile | Met | Tyr | Ile | Val | Val | Val | Val | Gly | Tyr | Arg | Ile | Tyr |

|        |                                                                 |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [0039] | 210                                                             | 215 | 220 |
| [0040] | Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu |     |     |
| [0041] | 225                                                             | 230 | 235 |
| [0042] | Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile |     | 240 |
| [0043] | 245                                                             | 250 | 255 |
| [0044] | Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu |     |     |
| [0045] | 260                                                             | 265 | 270 |
| [0046] | Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe |     |     |
| [0047] | 275                                                             | 280 | 285 |
| [0048] | Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu |     |     |
| [0049] | 290                                                             | 295 | 300 |
| [0050] | Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr |     |     |
| [0051] | 305                                                             | 310 | 315 |
| [0052] | Phe Val Arg Val His Glu Lys Pro Phe Val Ala Phe Gly Ser Gly Met |     |     |
| [0053] | 325                                                             | 330 | 335 |
| [0054] | Glu Ser Leu Val Glu Ala Thr Val Gly Glu Arg Val Arg Ile Pro Ala |     |     |
| [0055] | 340                                                             | 345 | 350 |
| [0056] | Lys Tyr Leu Gly Tyr Pro Pro Pro Glu Ile Lys Trp Tyr Lys Asn Gly |     |     |
| [0057] | 355                                                             | 360 | 365 |
| [0058] | Ile Pro Leu Glu Ser Asn His Thr Ile Lys Ala Gly His Val Leu Thr |     |     |
| [0059] | 370                                                             | 375 | 380 |
| [0060] | Ile Met Glu Val Ser Glu Arg Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Val Ile Leu |     |     |
| [0061] | 385                                                             | 390 | 395 |
| [0062] | Thr Asn Pro Ile Ser Lys Glu Lys Gln Ser His Val Val Ser Leu Val |     |     |
| [0063] | 405                                                             | 410 | 415 |
| [0064] | Val Tyr Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ser Leu Ile Ser Pro Val |     |     |
| [0065] | 420                                                             | 425 | 430 |
| [0066] | Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Thr Gln Thr Leu Thr Cys Thr Val Tyr |     |     |
| [0067] | 435                                                             | 440 | 445 |
| [0068] | Ala Ile Pro Pro Pro His His Ile His Trp Tyr Trp Gln Leu Glu Glu |     |     |
| [0069] | 450                                                             | 455 | 460 |
| [0070] | Glu Cys Ala Asn Glu Pro Ser Gln Ala Val Ser Val Thr Asn Pro Tyr |     |     |
| [0071] | 465                                                             | 470 | 475 |
| [0072] | Pro Cys Glu Glu Trp Arg Ser Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys |     |     |
| [0073] | 485                                                             | 490 | 495 |
| [0074] | Ile Glu Val Asn Lys Asn Gln Phe Ala Leu Ile Glu Gly Lys Asn Lys |     |     |
| [0075] | 500                                                             | 505 | 510 |
| [0076] | Thr Val Ser Thr Leu Val Ile Gln Ala Ala Asn Val Ser Ala Leu Tyr |     |     |
| [0077] | 515                                                             | 520 | 525 |



|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [0078] | Lys Cys Glu Ala Val Asn Lys Val Gly Arg Gly Glu Arg Val Ile Ser |
| [0079] | 530 535 540                                                     |
| [0080] | Phe His Val Thr Arg Gly Pro Glu Ile Thr Leu Gln Pro Asp Met Gln |
| [0081] | 545 550 555 560                                                 |
| [0082] | Pro Thr Glu Gln Glu Ser Val Ser Leu Trp Cys Thr Ala Asp Arg Ser |
| [0083] | 565 570 575                                                     |
| [0084] | Thr Phe Glu Asn Leu Thr Trp Tyr Lys Leu Gly Pro Gln Pro Leu Pro |
| [0085] | 580 585 590                                                     |
| [0086] | Ile His Val Gly Glu Leu Pro Thr Pro Val Cys Lys Asn Leu Asp Thr |
| [0087] | 595 600 605                                                     |
| [0088] | Leu Trp Lys Leu Asn Ala Thr Met Phe Ser Asn Ser Thr Asn Asp Ile |
| [0089] | 610 615 620                                                     |
| [0090] | Leu Ile Met Glu Leu Lys Asn Ala Ser Leu Gln Asp Gln Gly Asp Tyr |
| [0091] | 625 630 635 640                                                 |
| [0092] | Val Cys Leu Ala Gln Asp Arg Lys Thr Lys Lys Arg His Cys Val Val |
| [0093] | 645 650 655                                                     |
| [0094] | Arg Gln Leu Thr Val Leu Glu Arg Val Ala Pro Thr Ile Thr Gly Asn |
| [0095] | 660 665 670                                                     |
| [0096] | Leu Glu Asn Gln Thr Thr Ser Ile Gly Glu Ser Ile Glu Val Ser Cys |
| [0097] | 675 680 685                                                     |
| [0098] | Thr Ala Ser Gly Asn Pro Pro Pro Gln Ile Met Trp Phe Lys Asp Asn |
| [0099] | 690 695 700                                                     |
| [0100] | Glu Thr Leu Val Glu Asp Ser Gly Ile Val Leu Lys Asp Gly Asn Arg |
| [0101] | 705 710 715 720                                                 |
| [0102] | Asn Leu Thr Ile Arg Arg Val Arg Lys Glu Asp Glu Gly Leu Tyr Thr |
| [0103] | 725 730 735                                                     |
| [0104] | Cys Gln Ala Cys Ser Val Leu Gly Cys Ala Lys Val Glu Ala Phe Phe |
| [0105] | 740 745 750                                                     |
| [0106] | Ile Ile Glu Gly Ala Gln Glu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Ile Ile Leu |
| [0107] | 755 760 765                                                     |
| [0108] | Val Gly Thr Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val Ile |
| [0109] | 770 775 780                                                     |
| [0110] | Ile Leu Arg Thr Val Lys Arg Ala Asn Gly Gly Glu Leu Lys Thr Gly |
| [0111] | 785 790 795 800                                                 |
| [0112] | Tyr Leu Ser Ile Val Met Asp Pro Asp Glu Leu Pro Leu Asp Glu His |
| [0113] | 805 810 815                                                     |
| [0114] | Cys Glu Arg Leu Pro Tyr Asp Ala Ser Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp |
| [0115] | 820 825 830                                                     |
| [0116] | Arg Leu Lys Leu Gly Lys Pro Leu Gly Arg Gly Ala Phe Gly Gln Val |

|        |                                                                 |      |      |
|--------|-----------------------------------------------------------------|------|------|
| [0117] | 835                                                             | 840  | 845  |
| [0118] | Ile Glu Ala Asp Ala Phe Gly Ile Asp Lys Thr Ala Thr Cys Arg Thr |      |      |
| [0119] | 850                                                             | 855  | 860  |
| [0120] | Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Gly Ala Thr His Ser Glu His Arg |      |      |
| [0121] | 865                                                             | 870  | 875  |
| [0122] | Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly His His Leu |      |      |
| [0123] | 885                                                             | 890  | 895  |
| [0124] | Asn Val Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gly Gly Pro Leu |      |      |
| [0125] | 900                                                             | 905  | 910  |
| [0126] | Met Val Ile Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu |      |      |
| [0127] | 915                                                             | 920  | 925  |
| [0128] | Arg Ser Lys Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Thr Lys Gly Ala Arg |      |      |
| [0129] | 930                                                             | 935  | 940  |
| [0130] | Phe Arg Gln Gly Lys Asp Tyr Val Gly Ala Ile Pro Val Asp Leu Lys |      |      |
| [0131] | 945                                                             | 950  | 955  |
| [0132] | Arg Arg Leu Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly |      |      |
| [0133] | 965                                                             | 970  | 975  |
| [0134] | Phe Val Glu Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Pro |      |      |
| [0135] | 980                                                             | 985  | 990  |
| [0136] | Glu Asp Leu Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr |      |      |
| [0137] | 995                                                             | 1000 | 1005 |
| [0138] | Ser Phe Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys     |      |      |
| [0139] | 1010                                                            | 1015 | 1020 |
| [0140] | Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu     |      |      |
| [0141] | 1025                                                            | 1030 | 1035 |
| [0142] | Lys Asn Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile     |      |      |
| [0143] | 1040                                                            | 1045 | 1050 |
| [0144] | Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro     |      |      |
| [0145] | 1055                                                            | 1060 | 1065 |
| [0146] | Leu Lys Trp Met Ala Pro Glu Thr Ile Phe Asp Arg Val Tyr Thr     |      |      |
| [0147] | 1070                                                            | 1075 | 1080 |
| [0148] | Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile     |      |      |
| [0149] | 1085                                                            | 1090 | 1095 |
| [0150] | Phe Ser Leu Gly Ala Ser Pro Tyr Pro Gly Val Lys Ile Asp Glu     |      |      |
| [0151] | 1100                                                            | 1105 | 1110 |
| [0152] | Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys Glu Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro     |      |      |
| [0153] | 1115                                                            | 1120 | 1125 |
| [0154] | Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met Tyr Gln Thr Met Leu Asp Cys Trp     |      |      |
| [0155] | 1130                                                            | 1135 | 1140 |

|        |                                                                       |      |      |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|------|------|
| [0156] | His Gly Glu Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Ser Glu Leu Val Glu           |      |      |
| [0157] | 1145                                                                  | 1150 | 1155 |
| [0158] | His Leu Gly Asn Leu Leu Gln Ala Asn Ala Gln Gln Asp Gly Lys           |      |      |
| [0159] | 1160                                                                  | 1165 | 1170 |
| [0160] | Asp Tyr Ile Val Leu Pro Ile Ser Glu Thr Leu Ser Met Glu Glu           |      |      |
| [0161] | 1175                                                                  | 1180 | 1185 |
| [0162] | Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro Thr Ser Pro Val Ser Cys Met Glu           |      |      |
| [0163] | 1190                                                                  | 1195 | 1200 |
| [0164] | Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro Lys Phe His Tyr Asp Asn Thr Ala           |      |      |
| [0165] | 1205                                                                  | 1210 | 1215 |
| [0166] | Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Gln Asn Ser Lys Arg Lys Ser Arg Pro           |      |      |
| [0167] | 1220                                                                  | 1225 | 1230 |
| [0168] | Val Ser Val Lys Thr Phe Glu Asp Ile Pro Leu Glu Glu Pro Glu           |      |      |
| [0169] | 1235                                                                  | 1240 | 1245 |
| [0170] | Val Lys Val Ile Pro Asp Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val           |      |      |
| [0171] | 1250                                                                  | 1255 | 1260 |
| [0172] | Leu Ala Ser Glu Glu Leu Lys Thr Leu Glu Asp Arg Thr Lys Leu           |      |      |
| [0173] | 1265                                                                  | 1270 | 1275 |
| [0174] | Ser Pro Ser Phe Gly Gly Met Val Pro Ser Lys Ser Arg Glu Ser           |      |      |
| [0175] | 1280                                                                  | 1285 | 1290 |
| [0176] | Val Ala Ser Glu Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly           |      |      |
| [0177] | 1295                                                                  | 1300 | 1305 |
| [0178] | Tyr His Ser Asp Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu           |      |      |
| [0179] | 1310                                                                  | 1315 | 1320 |
| [0180] | Ala Glu Leu Leu Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser           |      |      |
| [0181] | 1325                                                                  | 1330 | 1335 |
| [0182] | Thr Ala Gln Ile Leu Gln Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser           |      |      |
| [0183] | 1340                                                                  | 1345 | 1350 |
| [0184] | Pro Pro Val                                                           |      |      |
| [0185] | 1355                                                                  |      |      |
| [0186] | <210> 2                                                               |      |      |
| [0187] | <211> 3500                                                            |      |      |
| [0188] | <212> DNA                                                             |      |      |
| [0189] | <213> 人工序列                                                            |      |      |
| [0190] | <220>                                                                 |      |      |
| [0191] | <223> 表达质粒                                                            |      |      |
| [0192] | <400> 2                                                               |      |      |
| [0193] | tgggcttttg ctggcctttt gctcacatgt tcttgactct tcgcgatgta cgggccagat 60  |      |      |
| [0194] | atacgcgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag 120 |      |      |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [0195] | ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaattggc ccgcctggct | 180  |
| [0196] | gaccgccc aa cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc | 240  |
| [0197] | caatagggac tttccattga cgtcaatggg tggactatit acggtaaact gccacttg    | 300  |
| [0198] | cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgccccctat tgacgtcaat gacggtaa    | 360  |
| [0199] | ggccccgctg gcattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttcctact tggcagtaca  | 420  |
| [0200] | tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc  | 480  |
| [0201] | gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccatgac gtcaatggga   | 540  |
| [0202] | gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  | 600  |
| [0203] | tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggtcta tataagcaga gctctctggc  | 660  |
| [0204] | taactagaga acccactgct tactggctta tcgaaattaa tacgactcac tatagggaga  | 720  |
| [0205] | cccaagctgg ctagcctcga gtctagaggg cccgtttaaa cccgtgac agcctcgact    | 780  |
| [0206] | gtgccttcta gttgccagcc atctgttgtt tgccccctcc cctgccttc cttgacctg    | 840  |
| [0207] | gaaggtgcca ctcccactgt cctttcctaa taaaatgagg aaattgcac gcattgtctg   | 900  |
| [0208] | agtaggtgtc attctattct ggggggtggg gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg  | 960  |
| [0209] | gaagacaata gcaggcatgc tggggatgcg gtgggctcta tggcttctac tgggcggtt   | 1020 |
| [0210] | tatggacagc aagcgaaccg gaattgccag ctggggcgcc ctctggttaag gttgggaagc | 1080 |
| [0211] | cctgcaaagt aaactggatg gctttctcgc cgccaaggat ctgatggcg aggggatcaa   | 1140 |
| [0212] | gctctgatca agagacagga tgaggatcgt ttcgatgat tgaacaagat ggattgcacg   | 1200 |
| [0213] | caggttctcc ggccgcttg gtggagaggc tattcggcta tgactgggca caacagacaa   | 1260 |
| [0214] | tcggctgctc tgatgccgcc gtgttccggc tgcagcgca gggcgcccg gttctttttg    | 1320 |
| [0215] | tcaagaccga cctgtccgtt gccctgaatg aactgcaaga cgaggcagcg cggctatcgt  | 1380 |
| [0216] | ggctggccac gacgggcgtt ccttgcgcag ctgtgctcga cgttgtcact gaagcgggaa  | 1440 |
| [0217] | gggactggct gctattgggc gaagtgccgg ggcaggatct cctgtcatct caccttgctc  | 1500 |
| [0218] | ctgccgagaa agtatccatc atggctgatg caatgcggcg gctgcatac cttgatccg    | 1560 |
| [0219] | ctacctgcc attcgaccac caagcgaac atcgcatcga gcgagcacgt actcggatg     | 1620 |
| [0220] | aagccggtct tgcgatcag gatgatctgg acgaagagca tcaggggctc gcgccagccg   | 1680 |
| [0221] | aactgttcgc caggctcaag gcgagcatgc ccgacggcga ggatctcgtc gtgacctatg  | 1740 |
| [0222] | gcgatgcctg cttgccgaat atcatggtgg aaaatggccg cttttctgga ttcatcgact  | 1800 |
| [0223] | gtggccggct ggtgtggcg gaccgctatc aggacatagc gttggctacc cgtgatattg   | 1860 |
| [0224] | ctgaagagct tggcggcgaa tgggctgacc gcttctcgt gctttacgg atcgccgctc    | 1920 |
| [0225] | ccgattcgca gcgcacgcc ttctatcgcc ttcttgacga gttcttctga attattaacg   | 1980 |
| [0226] | cttacaattt cctgatgcgg tttttctcc ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca   | 2040 |
| [0227] | tacaggtggc acttttcggg gaaatgtgcg cggaaccct atttgtttat ttttctaa     | 2100 |
| [0228] | acattcaaat atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga taaatgcttc aataatagca  | 2160 |
| [0229] | cgtgctaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg aagatcctt ttgataatct   | 2220 |
| [0230] | catgacaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc cccatcagtg   | 2280 |
| [0231] | accaaacagg aaaaaaccgc ccttaacatg gcccgcttta tcagaagcca gacattaacg  | 2340 |
| [0232] | cttctggaga aactcaacga gctggacgcg gatgaacagg cagacatctg tgaatcgctt  | 2400 |
| [0233] | cacgaccag ctgatgagct ttaccgcagc tgcctcgcgc gtttcggtga tgacggtgaa   | 2460 |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [0234] | aacctctgac acatgcagct cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgccggg  | 2520 |
| [0235] | agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg cgcagccatg  | 2580 |
| [0236] | accagtcac gtagcgatag cggagtgtat actggcttaa ctatgcggca tcagagcaga   | 2640 |
| [0237] | ttgtactgag agtgcaccat atgcggtgtg aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat  | 2700 |
| [0238] | accgcatcag gcgctcttcc gcttctctgc tctactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc | 2760 |
| [0239] | tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cggtaatagc gttatccaca gaatcagggg  | 2820 |
| [0240] | ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg  | 2880 |
| [0241] | ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac   | 2940 |
| [0242] | gctcaagtca gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg  | 3000 |
| [0243] | gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct  | 3060 |
| [0244] | ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg  | 3120 |
| [0245] | tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct  | 3180 |
| [0246] | gcgccttate cggtaaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac | 3240 |
| [0247] | tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta ttaggcgggt gctacagagt  | 3300 |
| [0248] | tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggt atctgcgctc  | 3360 |
| [0249] | tgctgaagcc agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca  | 3420 |
| [0250] | ccgctggtag cggtggtttt ttgttttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaggat   | 3480 |
| [0251] | ctcaagaaga tcctttgatc                                              | 3500 |
| [0252] | <210> 3                                                            |      |
| [0253] | <211> 371                                                          |      |
| [0254] | <212> PRT                                                          |      |
| [0255] | <213> 人                                                            |      |
| [0256] | <400> 3                                                            |      |
| [0257] | Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro    |      |
| [0258] | 1 5 10 15                                                          |      |
| [0259] | Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala Ala    |      |
| [0260] | 20 25 30                                                           |      |
| [0261] | Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr    |      |
| [0262] | 35 40 45                                                           |      |
| [0263] | Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro Pro Pro Pro        |      |
| [0264] | 50 55 60                                                           |      |
| [0265] | Pro Pro Pro Pro His Ser Phe Ile Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly    |      |
| [0266] | 65 70 75 80                                                        |      |
| [0267] | Ala Glu Pro His Glu Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe    |      |
| [0268] | 85 90 95                                                           |      |
| [0269] | Ser Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr Gly Pro Phe    |      |
| [0270] | 100 105 110                                                        |      |
| [0271] | Gly Pro Pro Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe    |      |
| [0272] | 115 120 125                                                        |      |

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [0273] | Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys Leu Glu Ser Gln Pro Ala Ile |
| [0274] | 130 135 140                                                     |
| [0275] | Arg Asn Gln Gly Tyr Ser Thr Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr |
| [0276] | 145 150 155 160                                                 |
| [0277] | Gly His Thr Pro Ser His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His Ser Phe |
| [0278] | 165 170 175                                                     |
| [0279] | Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln |
| [0280] | 180 185 190                                                     |
| [0281] | Tyr Ser Val Pro Pro Pro Val Tyr Gly Cys His Thr Pro Thr Asp Ser |
| [0282] | 195 200 205                                                     |
| [0283] | Cys Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser Ser Asp |
| [0284] | 210 215 220                                                     |
| [0285] | Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln |
| [0286] | 225 230 235 240                                                 |
| [0287] | Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser |
| [0288] | 245 250 255                                                     |
| [0289] | Ser Val Lys Trp Thr Glu Gly Gln Ser Asn His Ser Thr Gly Tyr Glu |
| [0290] | 260 265 270                                                     |
| [0291] | Ser Asp Asn His Thr Thr Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg Ile |
| [0292] | 275 280 285                                                     |
| [0293] | His Thr His Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro |
| [0294] | 290 295 300                                                     |
| [0295] | Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys |
| [0296] | 305 310 315 320                                                 |
| [0297] | Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys |
| [0298] | 325 330 335                                                     |
| [0299] | Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His Thr Gly Glu Lys Pro |
| [0300] | 340 345 350                                                     |
| [0301] | Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp |
| [0302] | 355 360 365                                                     |
| [0303] | Gln Leu Lys                                                     |
| [0304] | 370                                                             |
| [0305] | <210> 4                                                         |
| [0306] | <211> 630                                                       |
| [0307] | <212> PRT                                                       |
| [0308] | <213> 人                                                         |
| [0309] | <400> 4                                                         |
| [0310] | Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro |
| [0311] | 1 5 10 15                                                       |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [0312] | Ala | Leu | Gly | Ser | Leu | Leu | Phe | Leu | Leu | Phe | Ser | Leu | Gly | Trp | Val | Gln |
| [0313] |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |
| [0314] | Pro | Ser | Arg | Thr | Leu | Ala | Gly | Glu | Thr | Gly | Gln | Glu | Ala | Ala | Pro | Leu |
| [0315] |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |
| [0316] | Asp | Gly | Val | Leu | Ala | Asn | Pro | Pro | Asn | Ile | Ser | Ser | Leu | Ser | Pro | Arg |
| [0317] |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| [0318] | Gln | Leu | Leu | Gly | Phe | Pro | Cys | Ala | Glu | Val | Ser | Gly | Leu | Ser | Thr | Glu |
| [0319] | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| [0320] | Arg | Val | Arg | Glu | Leu | Ala | Val | Ala | Leu | Ala | Gln | Lys | Asn | Val | Lys | Leu |
| [0321] |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| [0322] | Ser | Thr | Glu | Gln | Leu | Arg | Cys | Leu | Ala | His | Arg | Leu | Ser | Glu | Pro | Pro |
| [0323] |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| [0324] | Glu | Asp | Leu | Asp | Ala | Leu | Pro | Leu | Asp | Leu | Leu | Leu | Phe | Leu | Asn | Pro |
| [0325] |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| [0326] | Asp | Ala | Phe | Ser | Gly | Pro | Gln | Ala | Cys | Thr | Arg | Phe | Phe | Ser | Arg | Ile |
| [0327] |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |
| [0328] | Thr | Lys | Ala | Asn | Val | Asp | Leu | Leu | Pro | Arg | Gly | Ala | Pro | Glu | Arg | Gln |
| [0329] | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     |     | 160 |
| [0330] | Arg | Leu | Leu | Pro | Ala | Ala | Leu | Ala | Cys | Trp | Gly | Val | Arg | Gly | Ser | Leu |
| [0331] |     |     |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |
| [0332] | Leu | Ser | Glu | Ala | Asp | Val | Arg | Ala | Leu | Gly | Gly | Leu | Ala | Cys | Asp | Leu |
| [0333] |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| [0334] | Pro | Gly | Arg | Phe | Val | Ala | Glu | Ser | Ala | Glu | Val | Leu | Leu | Pro | Arg | Leu |
| [0335] |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| [0336] | Val | Ser | Cys | Pro | Gly | Pro | Leu | Asp | Gln | Asp | Gln | Gln | Glu | Ala | Ala | Arg |
| [0337] |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |
| [0338] | Ala | Ala | Leu | Gln | Gly | Gly | Gly | Pro | Pro | Tyr | Gly | Pro | Pro | Ser | Thr | Trp |
| [0339] | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     |     |     | 240 |
| [0340] | Ser | Val | Ser | Thr | Met | Asp | Ala | Leu | Arg | Gly | Leu | Leu | Pro | Val | Leu | Gly |
| [0341] |     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |
| [0342] | Gln | Pro | Ile | Ile | Arg | Ser | Ile | Pro | Gln | Gly | Ile | Val | Ala | Ala | Trp | Arg |
| [0343] |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| [0344] | Gln | Arg | Ser | Ser | Arg | Asp | Pro | Ser | Trp | Arg | Gln | Pro | Glu | Arg | Thr | Ile |
| [0345] |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| [0346] | Leu | Arg | Pro | Arg | Phe | Arg | Arg | Glu | Val | Glu | Lys | Thr | Ala | Cys | Pro | Ser |
| [0347] |     | 290 |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| [0348] | Gly | Lys | Lys | Ala | Arg | Glu | Ile | Asp | Glu | Ser | Leu | Ile | Phe | Tyr | Lys | Lys |
| [0349] | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     | 315 |     |     |     |     |     | 320 |
| [0350] | Trp | Glu | Leu | Glu | Ala | Cys | Val | Asp | Ala | Ala | Leu | Leu | Ala | Thr | Gln | Met |

|        |                                                                 |     |     |     |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| [0351] |                                                                 | 325 |     | 330 |     | 335 |
| [0352] | Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu |     |     |     |     |     |
| [0353] |                                                                 | 340 |     | 345 |     | 350 |
| [0354] | Lys His Lys Leu Asp Glu Leu Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val |     |     |     |     |     |
| [0355] |                                                                 | 355 |     | 360 |     | 365 |
| [0356] | Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile |     |     |     |     |     |
| [0357] |                                                                 | 370 |     | 375 |     | 380 |
| [0358] | Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu |     |     |     |     |     |
| [0359] | 385                                                             |     | 390 |     | 395 | 400 |
| [0360] | Val Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Ala Pro Arg Arg Pro Leu |     |     |     |     |     |
| [0361] |                                                                 | 405 |     | 410 |     | 415 |
| [0362] | Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln |     |     |     |     |     |
| [0363] |                                                                 | 420 |     | 425 |     | 430 |
| [0364] | Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr |     |     |     |     |     |
| [0365] |                                                                 | 435 |     | 440 |     | 445 |
| [0366] | Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser |     |     |     |     |     |
| [0367] |                                                                 | 450 |     | 455 |     | 460 |
| [0368] | Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln |     |     |     |     |     |
| [0369] | 465                                                             |     | 470 |     | 475 | 480 |
| [0370] | Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn |     |     |     |     |     |
| [0371] |                                                                 | 485 |     | 490 |     | 495 |
| [0372] | Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro |     |     |     |     |     |
| [0373] |                                                                 | 500 |     | 505 |     | 510 |
| [0374] | Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu |     |     |     |     |     |
| [0375] |                                                                 | 515 |     | 520 |     | 525 |
| [0376] | Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val |     |     |     |     |     |
| [0377] |                                                                 | 530 |     | 535 |     | 540 |
| [0378] | Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala |     |     |     |     |     |
| [0379] | 545                                                             |     | 550 |     | 555 | 560 |
| [0380] | Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln |     |     |     |     |     |
| [0381] |                                                                 | 565 |     | 570 |     | 575 |
| [0382] | Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn |     |     |     |     |     |
| [0383] |                                                                 | 580 |     | 585 |     | 590 |
| [0384] | Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser Met Gln Glu Ala Leu Ser Gly Thr |     |     |     |     |     |
| [0385] |                                                                 | 595 |     | 600 |     | 605 |
| [0386] | Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro Val Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu |     |     |     |     |     |
| [0387] |                                                                 | 610 |     | 615 |     | 620 |
| [0388] | Leu Ala Ser Thr Leu Ala                                         |     |     |     |     |     |
| [0389] | 625                                                             |     | 630 |     |     |     |



|        |           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| [0390] | <210> 5   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| [0391] | <211> 702 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| [0392] | <212> PRT |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| [0393] | <213> 人   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| [0394] | <400> 5   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| [0395] | Met       | Glu | Ser | Pro | Ser | Ala | Pro | Pro | His | Arg | Trp | Cys | Ile | Pro | Trp | Gln |  |
| [0396] | 1         |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
| [0397] | Arg       | Leu | Leu | Leu | Thr | Ala | Ser | Leu | Leu | Thr | Phe | Trp | Asn | Pro | Pro | Thr |  |
| [0398] |           |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| [0399] | Thr       | Ala | Lys | Leu | Thr | Ile | Glu | Ser | Thr | Pro | Phe | Asn | Val | Ala | Glu | Gly |  |
| [0400] |           |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| [0401] | Lys       | Glu | Val | Leu | Leu | Leu | Val | His | Asn | Leu | Pro | Gln | His | Leu | Phe | Gly |  |
| [0402] |           | 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
| [0403] | Tyr       | Ser | Trp | Tyr | Lys | Gly | Glu | Arg | Val | Asp | Gly | Asn | Arg | Gln | Ile | Ile |  |
| [0404] | 65        |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| [0405] | Gly       | Tyr | Val | Ile | Gly | Thr | Gln | Gln | Ala | Thr | Pro | Gly | Pro | Ala | Tyr | Ser |  |
| [0406] |           |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |  |
| [0407] | Gly       | Arg | Glu | Ile | Ile | Tyr | Pro | Asn | Ala | Ser | Leu | Leu | Ile | Gln | Asn | Ile |  |
| [0408] |           |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
| [0409] | Ile       | Gln | Asn | Asp | Thr | Gly | Phe | Tyr | Thr | Leu | His | Val | Ile | Lys | Ser | Asp |  |
| [0410] |           |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| [0411] | Leu       | Val | Asn | Glu | Glu | Ala | Thr | Gly | Gln | Phe | Arg | Val | Tyr | Pro | Glu | Leu |  |
| [0412] |           | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| [0413] | Pro       | Lys | Pro | Ser | Ile | Ser | Ser | Asn | Asn | Ser | Lys | Pro | Val | Glu | Asp | Lys |  |
| [0414] | 145       |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
| [0415] | Asp       | Ala | Val | Ala | Phe | Thr | Cys | Glu | Pro | Glu | Thr | Gln | Asp | Ala | Thr | Tyr |  |
| [0416] |           |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| [0417] | Leu       | Trp | Trp | Val | Asn | Asn | Gln | Ser | Leu | Pro | Val | Ser | Pro | Arg | Leu | Gln |  |
| [0418] |           |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| [0419] | Leu       | Ser | Asn | Gly | Asn | Arg | Thr | Leu | Thr | Leu | Phe | Asn | Val | Thr | Arg | Asn |  |
| [0420] |           |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| [0421] | Asp       | Thr | Ala | Ser | Tyr | Lys | Cys | Glu | Thr | Gln | Asn | Pro | Val | Ser | Ala | Arg |  |
| [0422] |           | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| [0423] | Arg       | Ser | Asp | Ser | Val | Ile | Leu | Asn | Val | Leu | Tyr | Gly | Pro | Asp | Ala | Pro |  |
| [0424] | 225       |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| [0425] | Thr       | Ile | Ser | Pro | Leu | Asn | Thr | Ser | Tyr | Arg | Ser | Gly | Glu | Asn | Leu | Asn |  |
| [0426] |           |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| [0427] | Leu       | Ser | Cys | His | Ala | Ala | Ser | Asn | Pro | Pro | Ala | Gln | Tyr | Ser | Trp | Phe |  |
| [0428] |           |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [0429] | Val | Asn | Gly | Thr | Phe | Gln | Gln | Ser | Thr | Gln | Glu | Leu | Phe | Ile | Pro | Asn |
| [0430] |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| [0431] | Ile | Thr | Val | Asn | Asn | Ser | Gly | Ser | Tyr | Thr | Cys | Gln | Ala | His | Asn | Ser |
| [0432] |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |
| [0433] | Asp | Thr | Gly | Leu | Asn | Arg | Thr | Thr | Val | Thr | Thr | Ile | Thr | Val | Tyr | Ala |
| [0434] | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| [0435] | Glu | Pro | Pro | Lys | Pro | Phe | Ile | Thr | Ser | Asn | Asn | Ser | Asn | Pro | Val | Glu |
| [0436] |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| [0437] | Asp | Glu | Asp | Ala | Val | Ala | Leu | Thr | Cys | Glu | Pro | Glu | Ile | Gln | Asn | Thr |
| [0438] |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| [0439] | Thr | Tyr | Leu | Trp | Trp | Val | Asn | Asn | Gln | Ser | Leu | Pro | Val | Ser | Pro | Arg |
| [0440] |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| [0441] | Leu | Gln | Leu | Ser | Asn | Asp | Asn | Arg | Thr | Leu | Thr | Leu | Leu | Ser | Val | Thr |
| [0442] |     |     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |
| [0443] | Arg | Asn | Asp | Val | Gly | Pro | Tyr | Glu | Cys | Gly | Ile | Gln | Asn | Lys | Leu | Ser |
| [0444] | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| [0445] | Val | Asp | His | Ser | Asp | Pro | Val | Ile | Leu | Asn | Val | Leu | Tyr | Gly | Pro | Asp |
| [0446] |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| [0447] | Asp | Pro | Thr | Ile | Ser | Pro | Ser | Tyr | Thr | Tyr | Tyr | Arg | Pro | Gly | Val | Asn |
| [0448] |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| [0449] | Leu | Ser | Leu | Ser | Cys | His | Ala | Ala | Ser | Asn | Pro | Pro | Ala | Gln | Tyr | Ser |
| [0450] |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| [0451] | Trp | Leu | Ile | Asp | Gly | Asn | Ile | Gln | Gln | His | Thr | Gln | Glu | Leu | Phe | Ile |
| [0452] |     |     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |
| [0453] | Ser | Asn | Ile | Thr | Glu | Lys | Asn | Ser | Gly | Leu | Tyr | Thr | Cys | Gln | Ala | Asn |
| [0454] | 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| [0455] | Asn | Ser | Ala | Ser | Gly | His | Ser | Arg | Thr | Thr | Val | Lys | Thr | Ile | Thr | Val |
| [0456] |     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| [0457] | Ser | Ala | Glu | Leu | Pro | Lys | Pro | Ser | Ile | Ser | Ser | Asn | Asn | Ser | Lys | Pro |
| [0458] |     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     | 510 |     |     |     |
| [0459] | Val | Glu | Asp | Lys | Asp | Ala | Val | Ala | Phe | Thr | Cys | Glu | Pro | Glu | Ala | Gln |
| [0460] |     |     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     | 525 |     |     |     |
| [0461] | Asn | Thr | Thr | Tyr | Leu | Trp | Trp | Val | Asn | Gly | Gln | Ser | Leu | Pro | Val | Ser |
| [0462] |     |     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |
| [0463] | Pro | Arg | Leu | Gln | Leu | Ser | Asn | Gly | Asn | Arg | Thr | Leu | Thr | Leu | Phe | Asn |
| [0464] | 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| [0465] | Val | Thr | Arg | Asn | Asp | Ala | Arg | Ala | Tyr | Val | Cys | Gly | Ile | Gln | Asn | Ser |
| [0466] |     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |
| [0467] | Val | Ser | Ala | Asn | Arg | Ser | Asp | Pro | Val | Thr | Leu | Asp | Val | Leu | Tyr | Gly |

|        |                                                                 |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [0468] | 580                                                             | 585 | 590 |
| [0469] | Pro Asp Thr Pro Ile Ile Ser Pro Pro Asp Ser Ser Tyr Leu Ser Gly |     |     |
| [0470] | 595                                                             | 600 | 605 |
| [0471] | Ala Asn Leu Asn Leu Ser Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln |     |     |
| [0472] | 610                                                             | 615 | 620 |
| [0473] | Tyr Ser Trp Arg Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu |     |     |
| [0474] | 625                                                             | 630 | 635 |
| [0475] | Phe Ile Ala Lys Ile Thr Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe |     |     |
| [0476] | 645                                                             | 650 | 655 |
| [0477] | Val Ser Asn Leu Ala Thr Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Ser Ile |     |     |
| [0478] | 660                                                             | 665 | 670 |
| [0479] | Thr Val Ser Ala Ser Gly Thr Ser Pro Gly Leu Ser Ala Gly Ala Thr |     |     |
| [0480] | 675                                                             | 680 | 685 |
| [0481] | Val Gly Ile Met Ile Gly Val Leu Val Gly Val Ala Leu Ile         |     |     |
| [0482] | 690                                                             | 695 | 700 |
| [0483] | <210> 6                                                         |     |     |
| [0484] | <211> 561                                                       |     |     |
| [0485] | <212> PRT                                                       |     |     |
| [0486] | <213> CMV                                                       |     |     |
| [0487] | <400> 6                                                         |     |     |
| [0488] | Met Glu Ser Arg Gly Arg Arg Cys Pro Glu Met Ile Ser Val Leu Gly |     |     |
| [0489] | 1                                                               | 5   | 10  |
| [0490] | Pro Ile Ser Gly His Val Leu Lys Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp Thr |     |     |
| [0491] | 20                                                              | 25  | 30  |
| [0492] | Pro Val Leu Pro His Glu Thr Arg Leu Leu Gln Thr Gly Ile His Val |     |     |
| [0493] | 35                                                              | 40  | 45  |
| [0494] | Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro Asp |     |     |
| [0495] | 50                                                              | 55  | 60  |
| [0496] | Ser Thr Pro Cys His Arg Gly Asp Asn Gln Leu Gln Val Gln His Thr |     |     |
| [0497] | 65                                                              | 70  | 75  |
| [0498] | Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val Glu Asn Val Ser Val Asn Val His Asn |     |     |
| [0499] | 85                                                              | 90  | 95  |
| [0500] | Pro Thr Gly Arg Ser Ile Cys Pro Ser Gln Glu Pro Met Ser Ile Tyr |     |     |
| [0501] | 100                                                             | 105 | 110 |
| [0502] | Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val |     |     |
| [0503] | 115                                                             | 120 | 125 |
| [0504] | His His Tyr Pro Ser Ala Ala Glu Arg Lys His Arg His Leu Pro Val |     |     |
| [0505] | 130                                                             | 135 | 140 |
| [0506] | Ala Asp Ala Val Ile His Ala Ser Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala Arg |     |     |

|        |                                                                 |     |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0507] | 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| [0508] | Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp Lys |     |     |     |
| [0509] |                                                                 | 165 | 170 | 175 |
| [0510] | Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys Asp |     |     |     |
| [0511] |                                                                 | 180 | 185 | 190 |
| [0512] | Val Ala Leu Arg His Val Val Cys Ala His Glu Leu Val Cys Ser Met |     |     |     |
| [0513] |                                                                 | 195 | 200 | 205 |
| [0514] | Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr Val |     |     |     |
| [0515] |                                                                 | 210 | 215 | 220 |
| [0516] | Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys Leu |     |     |     |
| [0517] | 225                                                             | 230 | 235 | 240 |
| [0518] | Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met |     |     |     |
| [0519] |                                                                 | 245 | 250 | 255 |
| [0520] | Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe |     |     |     |
| [0521] |                                                                 | 260 | 265 | 270 |
| [0522] | Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser |     |     |     |
| [0523] |                                                                 | 275 | 280 | 285 |
| [0524] | His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu |     |     |     |
| [0525] |                                                                 | 290 | 295 | 300 |
| [0526] | Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu |     |     |     |
| [0527] | 305                                                             | 310 | 315 | 320 |
| [0528] | Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr |     |     |     |
| [0529] |                                                                 | 325 | 330 | 335 |
| [0530] | Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp |     |     |     |
| [0531] |                                                                 | 340 | 345 | 350 |
| [0532] | Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr |     |     |     |
| [0533] |                                                                 | 355 | 360 | 365 |
| [0534] | Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr |     |     |     |
| [0535] |                                                                 | 370 | 375 | 380 |
| [0536] | Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp |     |     |     |
| [0537] | 385                                                             | 390 | 395 | 400 |
| [0538] | Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg Lys |     |     |     |
| [0539] |                                                                 | 405 | 410 | 415 |
| [0540] | Thr Pro Arg Val Thr Gly Gly Gly Ala Met Ala Gly Ala Ser Thr Ser |     |     |     |
| [0541] |                                                                 | 420 | 425 | 430 |
| [0542] | Ala Gly Arg Lys Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ala |     |     |     |
| [0543] |                                                                 | 435 | 440 | 445 |
| [0544] | Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro |     |     |     |
| [0545] |                                                                 | 450 | 455 | 460 |

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [0546] | Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala |
| [0547] | 465 470 475 480                                                 |
| [0548] | Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn Leu |
| [0549] | 485 490 495                                                     |
| [0550] | Val Pro Met Val Ala Thr Val Gln Gly Gln Asn Leu Lys Tyr Gln Glu |
| [0551] | 500 505 510                                                     |
| [0552] | Phe Phe Trp Asp Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu |
| [0553] | 515 520 525                                                     |
| [0554] | Gly Val Trp Gln Pro Ala Ala Gln Pro Lys Arg Arg Arg His Arg Gln |
| [0555] | 530 535 540                                                     |
| [0556] | Asp Ala Leu Pro Gly Pro Cys Ile Ala Ser Thr Pro Lys Lys His Arg |
| [0557] | 545 550 555 560                                                 |
| [0558] | Gly                                                             |
| [0559] | <210> 7                                                         |
| [0560] | <211> 561                                                       |
| [0561] | <212> PRT                                                       |
| [0562] | <213> 人工序列                                                      |
| [0563] | <220>                                                           |
| [0564] | <223> 突变的CMV pp65                                               |
| [0565] | <400> 7                                                         |
| [0566] | Met Glu Ser Arg Gly Arg Arg Cys Pro Glu Met Ile Ser Val Leu Gly |
| [0567] | 1 5 10 15                                                       |
| [0568] | Pro Ile Ser Gly His Val Leu Lys Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp Thr |
| [0569] | 20 25 30                                                        |
| [0570] | Pro Val Leu Pro His Glu Thr Arg Leu Leu Gln Thr Gly Ile His Val |
| [0571] | 35 40 45                                                        |
| [0572] | Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro Asp |
| [0573] | 50 55 60                                                        |
| [0574] | Ser Thr Pro Cys His Arg Gly Asp Asn Gln Leu Gln Val Gln His Thr |
| [0575] | 65 70 75 80                                                     |
| [0576] | Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val Glu Asn Val Ser Val Asn Val His Asn |
| [0577] | 85 90 95                                                        |
| [0578] | Pro Thr Gly Arg Ser Ile Cys Pro Ser Gln Glu Pro Met Ser Ile Tyr |
| [0579] | 100 105 110                                                     |
| [0580] | Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val |
| [0581] | 115 120 125                                                     |
| [0582] | His His Tyr Pro Ser Ala Ala Glu Arg Lys His Arg His Leu Pro Val |
| [0583] | 130 135 140                                                     |
| [0584] | Ala Asp Ala Val Ile His Ala Ser Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala Arg |

|        |                                                                 |     |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0585] | 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| [0586] | Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp Lys |     |     |     |
| [0587] | 165                                                             | 170 | 175 |     |
| [0588] | Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys Asp |     |     |     |
| [0589] | 180                                                             | 185 | 190 |     |
| [0590] | Val Ala Leu Arg His Val Val Cys Ala His Glu Leu Val Cys Ser Met |     |     |     |
| [0591] | 195                                                             | 200 | 205 |     |
| [0592] | Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr Val |     |     |     |
| [0593] | 210                                                             | 215 | 220 |     |
| [0594] | Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys Leu |     |     |     |
| [0595] | 225                                                             | 230 | 235 | 240 |
| [0596] | Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met |     |     |     |
| [0597] | 245                                                             | 250 | 255 |     |
| [0598] | Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe |     |     |     |
| [0599] | 260                                                             | 265 | 270 |     |
| [0600] | Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser |     |     |     |
| [0601] | 275                                                             | 280 | 285 |     |
| [0602] | His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu |     |     |     |
| [0603] | 290                                                             | 295 | 300 |     |
| [0604] | Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu |     |     |     |
| [0605] | 305                                                             | 310 | 315 | 320 |
| [0606] | Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr |     |     |     |
| [0607] | 325                                                             | 330 | 335 |     |
| [0608] | Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp |     |     |     |
| [0609] | 340                                                             | 345 | 350 |     |
| [0610] | Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr |     |     |     |
| [0611] | 355                                                             | 360 | 365 |     |
| [0612] | Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr |     |     |     |
| [0613] | 370                                                             | 375 | 380 |     |
| [0614] | Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp |     |     |     |
| [0615] | 385                                                             | 390 | 395 | 400 |
| [0616] | Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg Lys |     |     |     |
| [0617] | 405                                                             | 410 | 415 |     |
| [0618] | Thr Pro Arg Val Thr Gly Gly Gly Ala Met Ala Gly Ala Ser Thr Ser |     |     |     |
| [0619] | 420                                                             | 425 | 430 |     |
| [0620] | Ala Gly Arg Asn Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ala |     |     |     |
| [0621] | 435                                                             | 440 | 445 |     |
| [0622] | Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro |     |     |     |
| [0623] | 450                                                             | 455 | 460 |     |

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [0624] | Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala |
| [0625] | 465 470 475 480                                                 |
| [0626] | Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn Leu |
| [0627] | 485 490 495                                                     |
| [0628] | Val Pro Met Val Ala Thr Val Gln Gly Gln Asn Leu Lys Tyr Gln Glu |
| [0629] | 500 505 510                                                     |
| [0630] | Phe Phe Trp Asp Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu |
| [0631] | 515 520 525                                                     |
| [0632] | Gly Val Trp Gln Pro Ala Ala Gln Pro Lys Arg Arg Arg His Arg Gln |
| [0633] | 530 535 540                                                     |
| [0634] | Asp Ala Leu Pro Gly Pro Cys Ile Ala Ser Thr Pro Lys Lys His Arg |
| [0635] | 545 550 555 560                                                 |
| [0636] | Gly                                                             |
| [0637] | <210> 8                                                         |
| [0638] | <211> 536                                                       |
| [0639] | <212> PRT                                                       |
| [0640] | <213> 人工序列                                                      |
| [0641] | <220>                                                           |
| [0642] | <223> 突变的CMV pp65                                               |
| [0643] | <400> 8                                                         |
| [0644] | Met Glu Ser Arg Gly Arg Arg Cys Pro Glu Met Ile Ser Val Leu Gly |
| [0645] | 1 5 10 15                                                       |
| [0646] | Pro Ile Ser Gly His Val Leu Lys Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp Thr |
| [0647] | 20 25 30                                                        |
| [0648] | Pro Val Leu Pro His Glu Thr Arg Leu Leu Gln Thr Gly Ile His Val |
| [0649] | 35 40 45                                                        |
| [0650] | Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro Asp |
| [0651] | 50 55 60                                                        |
| [0652] | Ser Thr Pro Cys His Arg Gly Asp Asn Gln Leu Gln Val Gln His Thr |
| [0653] | 65 70 75 80                                                     |
| [0654] | Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val Glu Asn Val Ser Val Asn Val His Asn |
| [0655] | 85 90 95                                                        |
| [0656] | Pro Thr Gly Arg Ser Ile Cys Pro Ser Gln Glu Pro Met Ser Ile Tyr |
| [0657] | 100 105 110                                                     |
| [0658] | Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val |
| [0659] | 115 120 125                                                     |
| [0660] | His His Tyr Pro Ser Ala Ala Glu Arg Lys His Arg His Leu Pro Val |
| [0661] | 130 135 140                                                     |
| [0662] | Ala Asp Ala Val Ile His Ala Ser Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala Arg |

|        |                                                                 |     |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0663] | 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| [0664] | Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp Lys |     |     |     |
| [0665] |                                                                 | 165 | 170 | 175 |
| [0666] | Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys Asp |     |     |     |
| [0667] |                                                                 | 180 | 185 | 190 |
| [0668] | Val Ala Leu Arg His Val Val Cys Ala His Glu Leu Val Cys Ser Met |     |     |     |
| [0669] |                                                                 | 195 | 200 | 205 |
| [0670] | Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr Val |     |     |     |
| [0671] |                                                                 | 210 | 215 | 220 |
| [0672] | Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys Leu |     |     |     |
| [0673] |                                                                 | 225 | 230 | 235 |
| [0674] | Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met |     |     |     |
| [0675] |                                                                 | 245 | 250 | 255 |
| [0676] | Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe |     |     |     |
| [0677] |                                                                 | 260 | 265 | 270 |
| [0678] | Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser |     |     |     |
| [0679] |                                                                 | 275 | 280 | 285 |
| [0680] | His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu |     |     |     |
| [0681] |                                                                 | 290 | 295 | 300 |
| [0682] | Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu |     |     |     |
| [0683] |                                                                 | 305 | 310 | 315 |
| [0684] | Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr |     |     |     |
| [0685] |                                                                 | 325 | 330 | 335 |
| [0686] | Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp |     |     |     |
| [0687] |                                                                 | 340 | 345 | 350 |
| [0688] | Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr |     |     |     |
| [0689] |                                                                 | 355 | 360 | 365 |
| [0690] | Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr |     |     |     |
| [0691] |                                                                 | 370 | 375 | 380 |
| [0692] | Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp |     |     |     |
| [0693] |                                                                 | 385 | 390 | 395 |
| [0694] | Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg Lys |     |     |     |
| [0695] |                                                                 | 405 | 410 | 415 |
| [0696] | Thr Pro Arg Val Thr Gly Gly Gly Ala Met Ala Gly Ala Ser Thr Ser |     |     |     |
| [0697] |                                                                 | 420 | 425 | 430 |
| [0698] | Ala Gly Arg Asn Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ala |     |     |     |
| [0699] |                                                                 | 435 | 440 | 445 |
| [0700] | Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro |     |     |     |
| [0701] |                                                                 | 450 | 455 | 460 |



|        |                                                                   |             |
|--------|-------------------------------------------------------------------|-------------|
| [0702] | Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala   |             |
| [0703] | 465                                                               | 470 475 480 |
| [0704] | Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn Leu   |             |
| [0705] | 485                                                               | 490 495     |
| [0706] | Val Pro Met Val Ala Thr Val Gln Gly Gln Asn Leu Lys Tyr Gln Glu   |             |
| [0707] | 500                                                               | 505 510     |
| [0708] | Phe Phe Trp Asp Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu   |             |
| [0709] | 515                                                               | 520 525     |
| [0710] | Gly Val Trp Gln Pro Ala Ala Gln                                   |             |
| [0711] | 530                                                               | 535         |
| [0712] | <210> 9                                                           |             |
| [0713] | <211> 4071                                                        |             |
| [0714] | <212> DNA                                                         |             |
| [0715] | <213> 人                                                           |             |
| [0716] | <400> 9                                                           |             |
| [0717] | atgcagagca aggtgctgct ggccgtcgcc ctgtggctct gcgtggagac cggggccgcc | 60          |
| [0718] | tctgtgggtt tgcctagtgt ttctcttgat ctgccaggc tcagcataca aaaagacata  | 120         |
| [0719] | cttacaatta aggctaatac aactcttcaa attacttgca ggggacagag ggacttggac | 180         |
| [0720] | tggttttggc ccaataatca gagtggcagt gagcaaagg tggaggtgac tgagtgcagc  | 240         |
| [0721] | gatggcctct tctgtaagac actcacaatt ccaaaagtga tcggaaatga cactggagcc | 300         |
| [0722] | tacaagtgct tctaccggga aactgacttg gcctcggtca tttatgtcta tgttcaagat | 360         |
| [0723] | tacagatctc catttattgc ttctgttagt gaccaacatg gagtcgtgta cattactgag | 420         |
| [0724] | aacaaaaaca aaactgtggt gattccatgt ctcggtcca tttcaaatct caacgtgtca  | 480         |
| [0725] | ctttgtgcaa gatacccaga aaagagattt gttcctgatg gtaacagaat ttcctgggac | 540         |
| [0726] | agcaagaagg gctttactat tcccagctac atgatcagct atgctggcat ggtcttctgt | 600         |
| [0727] | gaagcaaaaa ttaatgatga aagttaccag tctattatgt acatagttgt cgttgtaggg | 660         |
| [0728] | tataggattt atgatgtggt tctgagtccg tctcatggaa ttgaactatc tgttgagaa  | 720         |
| [0729] | aagcttgtct taaattgtac agcaagaact gaactaaatg tggggattga cttcaactgg | 780         |
| [0730] | gaataccett cttcgaagca tcagcataag aaacttgtaa accgagacct aaaaaccag  | 840         |
| [0731] | tctgggagtg agatgaagaa atttttgagc accttaacta tagatggtgt aaccggagt  | 900         |
| [0732] | gaccaaggat tgtacacctg tgcagcatcc agtgggctga tgaccaagaa gaacagcaca | 960         |
| [0733] | tttgtcagg tccatgaaaa accttttgtt gcttttgaa gtggcatgga atctctggtg   | 1020        |
| [0734] | gaagccacgg tgggggagcg tgtcagaatc cctgcgaagt accttggtta cccaccccca | 1080        |
| [0735] | gaaataaaat ggtataaaaa tggaataccc cttgagtcca atcacacaat taaagcgggg | 1140        |
| [0736] | catgtactga cgattatgga agtgagtga agagacacag gaaattacac tgtcatectt  | 1200        |
| [0737] | accaatccca tttcaaagga gaagcagagc catgtggtct ctctggttgt gtatgtccca | 1260        |
| [0738] | ccccagattg gtgagaaatc tctaattctt cctgtggatt cctaccagta cggcaccact | 1320        |
| [0739] | caaacgtga catgtacggt ctatgccatt cctccccgc atcacatcca ctggtatttg   | 1380        |
| [0740] | cagttggagg aagagtgcgc caacgagccc agccaagctg tctcagtgc aaaccatac   | 1440        |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [0741] | ccttgtgaag aatggagaag tgtggaggac ttccaggag gaaataaaat tgaagttaat   | 1500 |
| [0742] | aaaaatcaat ttgctctaata tgaagggaaa aacaaaactg taagtaccct tgttatccaa | 1560 |
| [0743] | gcggcaaatg tgtcagcttt gtacaaatgt gaagcggta acaaagtcgg gagaggagag   | 1620 |
| [0744] | agggtgatct cttccacgt gaccaggggt cctgaaatta ctttgcaacc tgacatgcag   | 1680 |
| [0745] | cccactgagc aggagagcgt gtctttgtgg tgcactgcag acagatctac gtttgagaac  | 1740 |
| [0746] | ctcacatggt acaagcttgg ccacagcct ctgccaatcc atgtgggaga gttgccca     | 1800 |
| [0747] | cctgtttgca agaacttggga tactctttgg aaattgaatg ccaccatggt ctctaatagc | 1860 |
| [0748] | acaaatgaca ttttgatcat ggagcttaag aatgcaccc tgcaggacca aggagactat   | 1920 |
| [0749] | gtctgccttg ctcaagacag gaagaccaag aaaagacatt gcgtggtcag gcagctcaca  | 1980 |
| [0750] | gtcctagagc gtgtggcacc cacgatcaca ggaaacctgg agaatcagac gacaagtatt  | 2040 |
| [0751] | ggggaaagca tcgaagtctc atgcacggca tctgggaatc cccctccaca gatcatgttg  | 2100 |
| [0752] | tttaaagata atgagaccct tgtagaagac tcaggcattg tattgaagga tgggaaccgg  | 2160 |
| [0753] | aacctcacta tccgcagagt gaggaaggag gacgaaggcc tctacacctg ccaggcatgc  | 2220 |
| [0754] | agtgttcttg gctgtgcaaa agtggaggca tttttcataa tagaagggtc ccaggaaaag  | 2280 |
| [0755] | acgaacttgg aaatcattat tctagtaggc acggcggta ttgccatggt cttctggcta   | 2340 |
| [0756] | cttctgtgca tcacctacg gaccgttaag cgggccaatg gaggggaact gaagacaggc   | 2400 |
| [0757] | tacttgtcca tcgtcatgga tccagatgaa ctcccattgg atgaacattg tgaacgactg  | 2460 |
| [0758] | ccttatgatg ccagcaaatg ggaattcccc agagaccggc tgaagctagg taagcctctt  | 2520 |
| [0759] | ggccgtggtg cctttggcca agtgattgaa gcagatgcct ttggaattga caagacagca  | 2580 |
| [0760] | acttgcagga cagtagcagt caaatgttg aaagaaggag caacacacag tgagcatcga   | 2640 |
| [0761] | gctctcatgt ctgaactcaa gatcctcatt catattggtc accatctcaa tgttggtcaac | 2700 |
| [0762] | cttctaggtg cctgtaccaa gccaggagg ccactcatgg tgattgtgga attctgcaaa   | 2760 |
| [0763] | tttggaacc tgtccactta cctgaggagc aagagaaatg aatttgtccc ctacaagacc   | 2820 |
| [0764] | aaaggggcac gattccgtca agggaaagac tacgttggag caatccctgt ggatctgaaa  | 2880 |
| [0765] | cggcgcttgg acagcatcac cagtagccag agctcagcca gctctggatt tgtggaggag  | 2940 |
| [0766] | aagtccctca gtgatgtaga agaagaggaa gtcctgaag atctgtataa ggacttcctg   | 3000 |
| [0767] | accttggagc atctcatctg ttacagcttc caagtggcta agggcatgga gttcttggca  | 3060 |
| [0768] | tcgcgaaagt gtatccacag ggacctggcg gcacgaaata tcctcttata ggagaagaac  | 3120 |
| [0769] | gtggttaaaa tctgtgactt tggcttggcc cgggatattt ataaagatcc agattatgtc  | 3180 |
| [0770] | agaaaaggag atgctgcct ccctttgaaa tggatggccc cagaaacaat ttttgacaga   | 3240 |
| [0771] | gtgtacacaa tccagagtga cgtctggtct tttggtgtt tgctgtggga aatattttcc   | 3300 |
| [0772] | ttaggtgctt ctccatatcc tggggtaaag attgatgaag aattttgtag gcgattgaaa  | 3360 |
| [0773] | gaaggaacta gaatgagggc ccctgattat actacaccag aaatgtacca gaccatgctg  | 3420 |
| [0774] | gactgctggc acggggagcc cagtcagaga ccacgtttt cagagtgggt ggaacatttg   | 3480 |
| [0775] | ggaaatctct tgcaagctaa tgctcagcag gatggcaaag actacattgt tcttccgata  | 3540 |
| [0776] | tcagagactt tgagcatgga agaggattct ggactctctc tgccctacct accctgttcc  | 3600 |
| [0777] | tgtatggagg aggaggaagt atgtgacccc aaattccatt atgacaacac agcaggaatc  | 3660 |
| [0778] | agtcagtatc tgcagaacag taagcgaag agccggcctg tgagtgtaaa aacatttgaa   | 3720 |
| [0779] | gatatcccg tagaagaacc agaagtaaaa gtaatccag atgacaacca gacggacagt    | 3780 |

|        |                                                                     |      |
|--------|---------------------------------------------------------------------|------|
| [0780] | ggtatggttc ttgcctcaga agagctgaaa actttggaag acagaaccaa attatctcca   | 3840 |
| [0781] | tcttttgggtg gaatgggtgcc cagcaaaagc agggagtctg tggcatctga aggctcaaac | 3900 |
| [0782] | cagacaagcg gctaccagtc cggatatcac tccgatgaca cagacaccac cgtgtactcc   | 3960 |
| [0783] | agtgaggaag cagaactttt aaagctgata gagattggag tgcaaaccgg tagcacagcc   | 4020 |
| [0784] | cagattctcc agcctgactc ggggaccaca ctgagctctc ctcctgttta a            | 4071 |
| [0785] | <210> 10                                                            |      |
| [0786] | <211> 1116                                                          |      |
| [0787] | <212> DNA                                                           |      |
| [0788] | <213> 人                                                             |      |
| [0789] | <400> 10                                                            |      |
| [0790] | atggacttcc tcttgctgca ggaccgggct tccacgtgtg tcccggagcc ggcgtctcag   | 60   |
| [0791] | cacacgtcc gctccgggcc tgggtgecta cagcagccag agcagcaggg agtccgggac    | 120  |
| [0792] | ccgggcggca tctgggcca gttaggcgcc gccgaggcca gcgctgaacg tctccagggc    | 180  |
| [0793] | cggaggagcc gcggggcgtc cgggtctgag ccgcagcaaa tgggctccga cgtgcgggac   | 240  |
| [0794] | ctgaacgcgc tgctgcccgc cgtcccttcc ctgggtggcg gcggcggtg tgccctgcct    | 300  |
| [0795] | gtgagcggcg cggcgcagtg ggcgcgggtg ctggactttg cggcccggg cgcttcggct    | 360  |
| [0796] | tacgggtcgt tgggcggccc cgcgcggcca ccggctccgc cgccaccccc gccgcggccg   | 420  |
| [0797] | cctcactcct tcatcaaaca ggagccgagc tggggcggcg cggagccgca cgaggagcag   | 480  |
| [0798] | tgcttagcgc ccttactgt ccacttttcc ggccagttca ctggcacagc cggagcctgt    | 540  |
| [0799] | cgctacgggc ccttcggtec tcctccgcc agccaggcgt catccggcca ggccaggatg    | 600  |
| [0800] | tttctaacg gcgctacct gccagctgc ctggagagcc agcccgtat tcgcaatcag       | 660  |
| [0801] | ggttacagca cggtcacctt cgacgggacg ccagctacg gtcacacgcc ctgcaccat     | 720  |
| [0802] | gcggcgcagt tcccaacca ctcatcaag catgaggatc ccatgggcca gcagggctcg     | 780  |
| [0803] | ctgggtgagc agcagtactc ggtgccgcc ccggtctatg gctgccacac cccaccgac     | 840  |
| [0804] | agctgcaccg gcagccaggc tttgctgtg aggacgccct acagcagtga caatttatac    | 900  |
| [0805] | caaatgacat ccagcttga atgcatgacc tggaatcaga tgaacttagg agccacctta    | 960  |
| [0806] | aaggagttg ctgctgggag ctccagctca gtgaaatgga cagaaggga gagcaaccac     | 1020 |
| [0807] | agcacagggt acgagagcga taaccacaca acgcccattc tctgcggagc ccaatacaga   | 1080 |
| [0808] | atacacagc acggtgtctt cagaggcatt cagtga                              | 1116 |
| [0809] | <210> 11                                                            |      |
| [0810] | <211> 1893                                                          |      |
| [0811] | <212> DNA                                                           |      |
| [0812] | <213> 人                                                             |      |
| [0813] | <400> 11                                                            |      |
| [0814] | atggccttgc caacggctcg acccctgttg gggctctgtg ggacccccgc cctcggcagc   | 60   |
| [0815] | ctctgttcc tgctcttcag cctcggatgg gtgcagccct ccaggacctt ggctggagag    | 120  |
| [0816] | acagggcagg aggtgcgcc cctggacgga gtctggcca acccacctaa catttcagc      | 180  |
| [0817] | ctctccctc gccaaactct tggcttcccg tgtgcggagg tgtccggcct gagcacggag    | 240  |
| [0818] | cgtgtccggg agctggctgt ggccttggca cagaagaatg tcaagctctc aacagagcag   | 300  |

|        |            |            |             |             |             |             |      |
|--------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| [0819] | ctgcgctgtc | tggtcaccg  | gctctctgag  | ccccccgagg  | acctggacgc  | cctcccattg  | 360  |
| [0820] | gacctgctgc | tattcctcaa | cccagatgcg  | ttctcggggc  | cccaggcctg  | cacccgtttc  | 420  |
| [0821] | ttctcccgcg | tcacgaaggc | caatgtggac  | ctgctcccga  | ggggggctcc  | cgagcgacag  | 480  |
| [0822] | cggctgctgc | ctgcggctct | ggcctgctgg  | ggtgtgcggg  | ggtctctgct  | gagcgaggct  | 540  |
| [0823] | gatgtgcggg | ctctgggagg | cctggcttgc  | gacctgcctg  | ggcgctttgt  | ggccgagtcg  | 600  |
| [0824] | gccgaagtgc | tgctaccccc | gctgggtgagc | tgccccgggac | ccctggacca  | ggaccaacag  | 660  |
| [0825] | gaggcagcca | gggcggctct | gcagggcggg  | ggacccccct  | acggcccccc  | gtcgacatgg  | 720  |
| [0826] | tctgtctcca | cgatggacgc | tctgcggggc  | ctgctgcccc  | tgctgggcca  | gccccatcatc | 780  |
| [0827] | cgcagcatcc | cgcagggcat | cgtggccgcg  | tgccggcaac  | gctcctctcg  | ggacccatcc  | 840  |
| [0828] | tggcggcagc | ctgaacggac | catcctccgg  | ccgcggttcc  | ggcgggaagt  | ggagaagaca  | 900  |
| [0829] | gcctgtcctt | caggcaagaa | ggccccgcgag | atagacgaga  | gcctcatctt  | ctacaagaag  | 960  |
| [0830] | tgggagctgg | aagcctgcgt | ggatgcccgc  | ctgctggcca  | cccagatgga  | ccgcgtgaac  | 1020 |
| [0831] | gccatccctt | tcacctacga | gcagctggac  | gtcctaaagc  | ataaactgga  | tgagctctac  | 1080 |
| [0832] | ccacaaggtt | accccagatc | tgtgatccag  | cacctgggct  | acctcttctt  | caagatgagc  | 1140 |
| [0833] | cctgaggaca | ttcgcaagtg | gaatgtgacg  | tccttgagga  | ccctgaaggc  | tttgcttgaa  | 1200 |
| [0834] | gtcaacaaag | ggcacgaaat | gagtcctcag  | gctcctcggc  | ggccccctcc  | acaggtggcc  | 1260 |
| [0835] | acctgatcgc | accgctttgt | gaagggaagg  | ggccagctag  | acaaagacac  | cctagacacc  | 1320 |
| [0836] | ctgaccgcct | tctaccctgg | gtacctgtgc  | tcctcagcc   | ccgaggagct  | gagctccgtg  | 1380 |
| [0837] | ccccccagca | gcactctggg | ggtcaggccc  | caggacctgg  | acacgtgtga  | cccaaggcag  | 1440 |
| [0838] | ctggacgtcc | tctatcccaa | ggccccgcctt | gctttccaga  | acatgaacgg  | gtccgaatac  | 1500 |
| [0839] | ttcgtgaaga | tccagtcctt | cctgggtggg  | gccccacagg  | aggatttgaa  | ggcgctcagt  | 1560 |
| [0840] | cagcagaatg | tgagcatgga | cttggccacg  | ttcatgaagc  | tgccggacgga | tgcggtgctg  | 1620 |
| [0841] | ccgttgactg | tggtctgagg | gcagaaactt  | ctgggacccc  | acgtggaggg  | cctgaaggcg  | 1680 |
| [0842] | gaggagcggc | accgcccggg | gcgggactgg  | atcctacggc  | agcggcagga  | cgacctggac  | 1740 |
| [0843] | acgctggggc | tggggctaca | gggcggcatc  | cccaacggct  | acctggctct  | agacctcagc  | 1800 |
| [0844] | atgcaagagg | ccctctcggg | gacgccctgc  | ctcctaggac  | ctggacctgt  | tctcaccgtc  | 1860 |
| [0845] | ctggcactgc | tcctagcctc | caccctggcc  | tga         |             |             | 1893 |
| [0846] | <210>      | 12         |             |             |             |             |      |
| [0847] | <211>      | 2109       |             |             |             |             |      |
| [0848] | <212>      | DNA        |             |             |             |             |      |
| [0849] | <213>      | 人          |             |             |             |             |      |
| [0850] | <400>      | 12         |             |             |             |             |      |
| [0851] | atggagtctc | cctcgcccc  | tccccacaga  | tggtgcatcc  | cctggcagag  | gctcctgctc  | 60   |
| [0852] | acagcctcac | ttctaacctt | ctggaacccg  | cccaccactg  | ccaagctcac  | tattgaatcc  | 120  |
| [0853] | acgccgttca | atgtcgcaga | ggggaaggag  | gtgctttctac | ttgtccacaa  | tctgccccag  | 180  |
| [0854] | catctttttg | gctacagctg | gtacaaaggt  | gaaagagtgg  | atggcaaccc  | tcaaattata  | 240  |
| [0855] | ggatatgtaa | taggaactca | acaagctacc  | ccagggcccg  | catacagtgg  | tcgagagata  | 300  |
| [0856] | atatacccca | atgcatecct | gctgatccag  | aacatcatcc  | agaatgacac  | aggattctac  | 360  |
| [0857] | accctacacg | tcataaagtc | agatcttgtg  | aatgaagaag  | caactggcca  | gttccgggta  | 420  |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [0858] | tacccggagc tgcccaagcc ctccatctcc agcaacaact ccaaaccgt ggaggacaag   | 480  |
| [0859] | gatgctgtgg ccttcacctg tgaacctgag actcaggacg caacctacct gtggtgggta  | 540  |
| [0860] | aacaatcaga gcctcccggc cagtcccagg ctgcagctgt ccaatggcaa caggaccctc  | 600  |
| [0861] | actctattca atgtcacaag aaatgacaca gcaagctaca aatgtgaaac ccagaacca   | 660  |
| [0862] | gtgagtgccg ggcgcagtga ttcatctatc ctgaatgtcc tctatggccc ggatgcccc   | 720  |
| [0863] | accatttccc ctctaaacac atcttacaga tcaggggaaa atctgaacct ctcctgccac  | 780  |
| [0864] | gcagcctcta acccacctgc acagtactct tggtttgtca atgggacttt ccagcaatcc  | 840  |
| [0865] | accaagagc tctttatccc caacatcact gtgaataata gtggatccta tacgtgcca    | 900  |
| [0866] | gcccataact cagacactgg cctcaatagg accacagtca cgacgatcac agtctatgca  | 960  |
| [0867] | gagccacca aacccttcat caccagcaac aactccaacc ccgtggagga tgaggatgct   | 1020 |
| [0868] | gtagccttaa cctgtgaacc tgagattcag aacacaacct acctgtgggtg ggtaaataat | 1080 |
| [0869] | cagagcctcc cggtcagtcc caggctgcag ctgtccaatg acaacaggac cctcactcta  | 1140 |
| [0870] | ctcagtgtca caaggaatga ttagtagacc tatgagtgtg gaatccagaa caaattaagt  | 1200 |
| [0871] | gttgaccaca gcgaccagc catcctgaat gtctctatg gccagacga cccaccatt      | 1260 |
| [0872] | tccccctcat acacctatta ccgtccagg gtgaacctca gcctctctg ccatgcagcc    | 1320 |
| [0873] | tctaaccac ctgcacagta ttcttggtg attgatggga acatccagca acacacaca     | 1380 |
| [0874] | gagctcttta tctccaacat cactgagaag aacagcggac tctataacct ccaggccaat  | 1440 |
| [0875] | aactcagcca gtggccacag caggactaca gtcaagacaa tcacagtctc tgcggagctg  | 1500 |
| [0876] | cccaagccct ccatctccag caacaactcc aaaccctgg aggacaagga tgctgtggcc   | 1560 |
| [0877] | ttcacctgtg aacctgaggc tcagaacaca acctacctgt ggtgggtaaa tggtcagagc  | 1620 |
| [0878] | ctcccagtca gtcccaggct gcagctgtcc aatggcaaca ggaccctcac tctattcaat  | 1680 |
| [0879] | gtcacaagaa atgacgcaag agcctatgta tgtggaatcc agaactcagt gagtgcaa    | 1740 |
| [0880] | cgcagtgacc cagtcacctt ggatgtctc tatgggccg acacccccat catttcccc     | 1800 |
| [0881] | ccagactcgt cttacctttc gggagcgaac ctcaacctt cctgccactc ggcctctaac   | 1860 |
| [0882] | ccatccccgc agtattcttg gcgtatcaat gggataccgc agcaacacac acaagtctc   | 1920 |
| [0883] | tttatcgcca aaatcacgcc aaataataac gggacctatg cctgttttgt ctctaacttg  | 1980 |
| [0884] | gctactggcc gcaataattc catagtcaag agcatcacag tctctgcac tggaacttct   | 2040 |
| [0885] | cctggtctct cagctggggc cactgtcggc atcatgattg gagtgtggt tggggttgct   | 2100 |
| [0886] | ctgatata                                                           | 2109 |
| [0887] | <210> 13                                                           |      |
| [0888] | <211> 1683                                                         |      |
| [0889] | <212> DNA                                                          |      |
| [0890] | <213> CMV                                                          |      |
| [0891] | <400> 13                                                           |      |
| [0892] | atggaatcca gggggaggag gtgtccggag atgatctcag tcctcggacc gattagcgg   | 60   |
| [0893] | cacgtgtcga aagcggctct cagcagagga gacactccg tgctgccga cgaacaagg     | 120  |
| [0894] | ctccttcaga cggggataca cgtgcgtgtg agtcagccca gcctgacct cgtgtctca    | 180  |
| [0895] | tacaccctg acagactcc ctgtcacaga ggggacaacc aactccaggt ccagcacacc    | 240  |
| [0896] | tacttctact ggagcgaggt cgagaacgtc agcgtgaacg tgcacaaccc cacgggaaga  | 300  |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [0897] | tcaatctgcc ctagccagga gcccattgagc atctacgtgt acgccctccc gctcaagatg | 360  |
| [0898] | ctcaacatcc cctccatcaa cgtccaccac tatccctccg ctgccgaacg taaacaccga  | 420  |
| [0899] | cacttgccag ttgcggacgc cgtgatacac gcttcaggga agcagatgtg gcaagccagg  | 480  |
| [0900] | cttactgtga gtggactcgc ctggactagg caacagaacc agtggaagga gcccacgtg   | 540  |
| [0901] | tactacacca gcgccttcgt gttccccaca aaagacgtcg cgctgcgaca tgtggtgtgc  | 600  |
| [0902] | gctcacgaac tgggtgtgcag catggagaac acgcgagcga ccaagatgca ggtgatcgg  | 660  |
| [0903] | gaccagtacg tcaaggtgta cctggagagc ttctgcgagg atgtcccgtc cggaaagctg  | 720  |
| [0904] | ttcatgcacg tgaccctggg cagtgcagtt gaggaagacc tgaccatgac gcgtaacccg  | 780  |
| [0905] | cagcctttca tgagaccgca cgagaggaac ggattaccg tcctgtgccc gaagaacatg   | 840  |
| [0906] | atcatcaagc ccggaagat cagccacatc atgctcgacg tcgccttcac ctctcacgaa   | 900  |
| [0907] | cacttcgggc tgctgtgtcc gaagagcatt ccgggtctga gcatctcagg caacctgctg  | 960  |
| [0908] | atgaacgggc agcagatctt cctggaagtg caggccataa gggagaccgt ggaactgagg  | 1020 |
| [0909] | cagtacgatc ctgtggctgc cctgttcttc ttgcacatcg acctcttgct gcaaaggggt  | 1080 |
| [0910] | ccacagtata gcgaacaccc caccttcacc tcccagtacc gtatccaggg caagctggag  | 1140 |
| [0911] | taccgacaca cttgggatag gcacgacgag ggtgccgctc aaggtgacga cgatgttttg  | 1200 |
| [0912] | actagcggct ctgatagcga cgaagagctg gtgaccactg agcgcaaaac tccaagagtt  | 1260 |
| [0913] | acgggcggcg gcgcaatggc tggcgctctt acttcgcgg gaaggaaaag gaaaagcgcg   | 1320 |
| [0914] | tctagcgcaa ctgcatgcac tgccggtgtg atgacaaggg ggagactgaa ggccgagagt  | 1380 |
| [0915] | acagtggctc cggaagagga taccgacgag gactctgaca acgagatcca caaccccgca  | 1440 |
| [0916] | gtgtttacgt ggccaccttg gcaagccggc atccttgcta gaaacctggg gcccattgtg  | 1500 |
| [0917] | gccacagtcc aaggccagaa cctgaagtac caggagtctt tctgggacgc caacgacatc  | 1560 |
| [0918] | taccgtatct tcgccgaact tgaaggcgtc tggcagccgg cggctcaacc caaaaggaga  | 1620 |
| [0919] | cgtcacagac aggacgcgct tcccggaccc tgtattgcct ctacccccaa gaaacaccgg  | 1680 |
| [0920] | ggc                                                                | 1683 |
| [0921] | <210> 14                                                           |      |
| [0922] | <211> 1683                                                         |      |
| [0923] | <212> DNA                                                          |      |
| [0924] | <213> 人工序列                                                         |      |
| [0925] | <220>                                                              |      |
| [0926] | <223> 突变的CMV pp65 cDNA                                             |      |
| [0927] | <400> 14                                                           |      |
| [0928] | atggaatcca gggggaggag gtgtccggag atgatctcag tcctcggacc gattagcgg   | 60   |
| [0929] | cacgtgctca aagcggctct cagcagagga gacactccgg tgctgccgca cgaaacaagg  | 120  |
| [0930] | ctccttcaga cggggataca cgtgcgtgtg agtcagccca gcctgatcct cgtgtctcaa  | 180  |
| [0931] | tacaccctg acagcactcc ctgtcacaga ggggacaacc aactccagg ccagcacacc    | 240  |
| [0932] | tacttcaact ggagcgagg cgagaacgtc agcgtgaacg tgcacaaccc cacgggaaga   | 300  |
| [0933] | tcaatctgcc ctagccagga gcccattgagc atctacgtgt acgccctccc gctcaagatg | 360  |
| [0934] | ctcaacatcc cctccatcaa cgtccaccac tatccctccg ctgccgaacg taaacaccga  | 420  |
| [0935] | cacttgccag ttgcggacgc cgtgatacac gcttcaggga agcagatgtg gcaagccagg  | 480  |

|        |                                                                     |      |
|--------|---------------------------------------------------------------------|------|
| [0936] | cttactgtga gtggactcgc ctggactagg caacagaacc agtgaagga gcccgcgtg     | 540  |
| [0937] | tactacacca gcgccttcgt gttccccaca aaagacgtcg cgctgcgaca tgtggtgtgc   | 600  |
| [0938] | gctcacgaac tgggtgtcag catggagaac acgcgagcga ccaagatgca ggtgatcggt   | 660  |
| [0939] | gaccagtacg tcaaggtgta cctggagagc ttctgcgagg atgtcccgtc cggaaagctg   | 720  |
| [0940] | ttcatgcacg tgaccctggg cagtgcgtt gaggaagacc tgaccatgac gcgtaacccg    | 780  |
| [0941] | cagcctttca tgagaccgca cgagaggaac ggattcaccg tcctgtgccc gaagaacatg   | 840  |
| [0942] | atcatcaagc ccggcaagat cagccacatc atgctcgacg tcgccttcac ctctcacgaa   | 900  |
| [0943] | cacttcgggc tgctgtgtcc gaagagcatt ccgggtctga gcatctcagg caacctgctg   | 960  |
| [0944] | atgaacgggc agcagatctt cctggaagtg caggccataa gggagaccgt ggaactgagg   | 1020 |
| [0945] | cagtacgacg ctgtggctgc cctgttcttc ttcgacatcg acctcttgct gcaaaggggt   | 1080 |
| [0946] | ccacagtata gcgaacaccc caccttcacc tcccagtacc gtatccaggg caagctggag   | 1140 |
| [0947] | taccgacaca cttgggatag gcacgacgag ggtgccgtc aaggtgacga cgatgtttgg    | 1200 |
| [0948] | actagcggt ctgatagcga cgaagagctg gtgaccactg agcgcaaac tccaagagtt     | 1260 |
| [0949] | acgggcggcg gcgcaatggc tggcgctct acttccgagg gaaggaacag gaaaagcgcg    | 1320 |
| [0950] | tctagcgcaa ctgcatgcac tgccggtgtg atgacaaggg ggagactgaa ggccgagagt   | 1380 |
| [0951] | acagtggctc cggaagagga taccgacgag gactctgaca acgagatcca caaccccgca   | 1440 |
| [0952] | gtgtttacgt ggccaccttg gcaagccggc atccttgcta gaaacctggt gcccatggtg   | 1500 |
| [0953] | gccacagtcc aaggccagaa cctgaagtac caggagtctt tctgggacgc caacgacatc   | 1560 |
| [0954] | taccgtatct tcgccgaact tgaaggcgct tggcagccgg cggtcaacc caaaaggaga    | 1620 |
| [0955] | cgtcacagac aggacgcgct tcccggaccc tgtattgcct ctacccccaa gaaacaccgg   | 1680 |
| [0956] | ggc                                                                 | 1683 |
| [0957] | <210> 15                                                            |      |
| [0958] | <211> 1608                                                          |      |
| [0959] | <212> DNA                                                           |      |
| [0960] | <213> 人工序列                                                          |      |
| [0961] | <220>                                                               |      |
| [0962] | <223> 突变的CMV pp65 cDNA                                              |      |
| [0963] | <400> 15                                                            |      |
| [0964] | atggaatcca gggggaggag gtgtccggag atgatctcag tcctcggacc gattagcggt   | 60   |
| [0965] | cacgtgtcga aagcggctct cagcagagga gacactccgg tgctgccgca cgaaacaagg   | 120  |
| [0966] | ctccttcaga cggggataca cgtgcgtgtg agtcagccca gcctgatcct cgtgtctcaa   | 180  |
| [0967] | tacacccctg acagcactcc ctgtcacaga ggggacaacc aactccagggt ccagcacacc  | 240  |
| [0968] | tacttcaactg ggagcgagggt cgagaacgtc agcgtgaacg tgcacaaccc cacgggaaga | 300  |
| [0969] | tcaatctgcc ctageccagga gcccatgagc atctacgtgt acgccctccc gctcaagatg  | 360  |
| [0970] | ctcaacatcc cctccatcaa cgtccaccac tatccctccg ctgccgaacg taaacaccga   | 420  |
| [0971] | cacttgccag ttgcggacgc cgtgatacac gttcaggga agcagatgtg gcaagccagg    | 480  |
| [0972] | cttactgtga gtggactcgc ctggactagg caacagaacc agtgaagga gcccgcgtg     | 540  |
| [0973] | tactacacca gcgccttcgt gttccccaca aaagacgtcg cgctgcgaca tgtggtgtgc   | 600  |
| [0974] | gctcacgaac tgggtgtcag catggagaac acgcgagcga ccaagatgca ggtgatcggt   | 660  |

|        |                                                                   |      |
|--------|-------------------------------------------------------------------|------|
| [0975] | gaccagtacg tcaaggtgta cctggagagc ttctgcgagg atgtcccgtc cggaaagctg | 720  |
| [0976] | ttcatgcacg tgaccctggg cagtgcggtt gaggaagacc tgaccatgac gcgtaaccgc | 780  |
| [0977] | cagcctttca tgagaccgca cgagaggaac ggattcaccg tcctgtgccc gaagaacatg | 840  |
| [0978] | atcatcaagc ccggcaagat cagccacatc atgctcgacg tcgccttcac ctctcacgaa | 900  |
| [0979] | cacttcgggc tgctgtgtcc gaagagcatt ccgggtctga gcatctcagg caacctgctg | 960  |
| [0980] | atgaacgggc agcagatctt cctggaagtg caggccataa gggagaccgt ggaactgagg | 1020 |
| [0981] | cagtacgacg ctgtggctgc cctgtttctt ttcgacatcg acctcttgct gcaaaggggt | 1080 |
| [0982] | ccacagtata gcgaacaccc caccttcacc tcccagtacc gtatccaggg caagctggag | 1140 |
| [0983] | taccgacaca cttgggatag gcacgacgag ggtgccgctc aaggtgacga cgatgtttgg | 1200 |
| [0984] | actagcggct ctgatagcga cgaagagctg gtgaccactg agcgcaaaac tccaagagtt | 1260 |
| [0985] | acgggcggcg gcgcaatggc tggcgctctt acttcgcgg gaaggaacag gaaaagcgcg  | 1320 |
| [0986] | tctagcgcaa ctgcatgcac tgccggtgtg atgacaaggg ggagactgaa ggccgagagt | 1380 |
| [0987] | acagtggctc cggaagagga taccgacgag gactctgaca acgagatcca caaccccgca | 1440 |
| [0988] | gtgtttacgt ggccaccttg gcaagccggc atccttgcta gaaacctggg gcccatggtg | 1500 |
| [0989] | gccacagtcc aaggccagaa cctgaagtac caggagttct tctgggacgc caacgacatc | 1560 |
| [0990] | taccgtatct tcgccgaact tgaaggcgtc tggcagccgg cggtcaa               | 1608 |



|                                                                   |     |     |     |     |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 10                                                                | 20  | 30  | 40  | 50  | 60  |
| MQSKVLLAVA LWLCVETRAA SVGLPSVSLD LPRLSIQKDI LTIKANTTLQ ITCRGQRDL  |     |     |     |     |     |
| 70                                                                | 80  | 90  | 100 | 110 | 120 |
| WLWPNNQSGS EQRVEVTECS DGLFCKTLTI PKVIGNDTGA YKCFYRETDL ASVIYVYVQD |     |     |     |     |     |
| 130                                                               | 140 | 150 | 160 | 170 | 180 |
| YRSPFIASVS DQHGCVVYITE NKNKTVVIPCLGSISNLNVS LCARYPEKRF VPDGNRISWD |     |     |     |     |     |
| 190                                                               | 200 | 210 | 220 | 230 | 240 |
| SKKGFTIPSY MISYAGMVFC EAKINDESYQ SIMYIVVVVG YRIYDVVLSP SHGIELSVGE |     |     |     |     |     |
| 250                                                               | 260 | 270 | 280 | 290 | 300 |
| KLVLNCTART ELNVGIDFNW EYPSSKHQHK KLVNRDLKTQ SGSEMKKFLS TLTIDGVTRS |     |     |     |     |     |
| 310                                                               | 320 | 330 | 340 | 350 | 360 |
| DQGLYTCAAS SGLMTKKNST FVRVHEKPFV AFGSGMESLV EATVGERVRI PAKYLGYP   |     |     |     |     |     |
| 370                                                               | 380 | 390 | 400 | 410 | 420 |
| EIKWKNGIP LESNHTIKAG HVLTIMEVSE RDTGNYTVIL TNPISKEKQS HVVSLVYVP   |     |     |     |     |     |
| 430                                                               | 440 | 450 | 460 | 470 | 480 |
| PQIGEKSLIS PVDSYQYGT QTLTCTVYAI PPPHHIHWY QLEEECANEP SQAVSVN      |     |     |     |     |     |
| 490                                                               | 500 | 510 | 520 | 530 | 540 |
| PCEEWRSVED FQGGNKIEVN KNQFALIEGK NKTVSTLVIQ AANVSALYKC EAVNKVGRGE |     |     |     |     |     |
| 550                                                               | 560 | 570 | 580 | 590 | 600 |
| RVISFHVTRG PEITLQPD MQ PTEQESVSLW CTADRSTFEN LTWYKLGQP LPIHVGELPT |     |     |     |     |     |
| 610                                                               | 620 | 630 | 640 | 650 | 660 |
| PVCKNLDTLW KLNATMFSNS TNDILIMELK NASLQDQGDY VCLAQDRKTK KRHCVRQLT  |     |     |     |     |     |

图1

|                                                                    |      |      |      |      |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|
| 670                                                                | 680  | 690  | 700  | 710  | 720  |
| VLERVAPTIT GNLENQTTSI GESIEVSCTA SGNPPPQIMW FKDNETHVED SGIVLKDGNR. |      |      |      |      |      |
| 730                                                                | 740  | 750  | 760  | 770  | 780  |
| NLTIRRVKE DEGLYTCQAC SVLGCAKVEA FFIIEGAQEK TNLEIIILVG TAVIAMFFWL   |      |      |      |      |      |
| 790                                                                | 800  | 810  | 820  | 830  | 840  |
| LLVIILRTVK RANGGELKTG YLSIVMDPDE LPLDEHCERL PYDASKWEFP RDRLKLGKPL  |      |      |      |      |      |
| 850                                                                | 860  | 870  | 880  | 890  | 900  |
| GRGAFGQVIE ADAFGIDKTA TCRTVAVKML KEGATHSEHR ALMSELKILI HIGHHLNVVN  |      |      |      |      |      |
| 910                                                                | 920  | 930  | 940  | 950  | 960  |
| LLGACTKPGG PLMVIVEFCK FGNLSTYLRK KRNEFVPHYK KGARFRQKGD YVGAIPVDLK  |      |      |      |      |      |
| 970                                                                | 980  | 990  | 1000 | 1010 | 1020 |
| RRLDSITSSQ SSASSGFVEE KSLSDVEEEE APEDLYKDFL TLEHLICYSF QVAKGMEFLA  |      |      |      |      |      |
| 1030                                                               | 1040 | 1050 | 1060 | 1070 | 1080 |
| SRKCIHRDLA ARNILLSEKN VVKICDFGLA RDIYKDPDYV RKG DARLPLK WMAPETIFDR |      |      |      |      |      |
| 1090                                                               | 1100 | 1110 | 1120 | 1130 | 1140 |
| VYTIQSDVWS FGVLLWEIFS LGASPYPGVK IDEEFCRRLK EGTRMRAPDY TTPEMYQTML  |      |      |      |      |      |
| 1150                                                               | 1160 | 1170 | 1180 | 1190 | 1200 |
| DCWHGEPSQR PTFSELVEHL GNLLQANAQQ DGKDYIVLPI SETLSMEEDS GLSLPTSPVS  |      |      |      |      |      |
| 1210                                                               | 1220 | 1230 | 1240 | 1250 | 1260 |
| CMEEEEEVCDP KFHYDNTAGI SQYLQNSKRK SRPVSVKTFE DIPLEEPEVK VIPDDNQTDG |      |      |      |      |      |
| 1270                                                               | 1280 | 1290 | 1300 | 1310 | 1320 |
| GMVLASEELK TLEDRTKLSP SFGGMVPSKS RESVASEGSN QTSQYQSGYH SDDTDTTVYS  |      |      |      |      |      |

图1续

---

| 1330       | 1340       | 1350              |
|------------|------------|-------------------|
| SEEAELLKLI | EIGVQTGSTA | QILQPDSGTT LSSPPV |

图1续

TGGGCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTGACTCTTCGCGATGTACGGGCCA  
GATATACGCGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTC  
ATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCC  
GCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTT  
CCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGT  
AACTGCCCCTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTG  
ACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGG  
GACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATG  
CGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTC  
AAGTCTCCACCCCATTTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCAAAATCAACGGG  
ACTTTCCAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGT  
GTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCTCTGGCTAACTAGAGAACCCACTGC  
TTACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCCAAGCTGGCTAGCC  
TCGAGTCTAGAGGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGT  
TGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCCCTCCCCCGTGCCCTTCTTGACCCTGGAAGGTGC  
CACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAG  
GTGTCACTTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTG  
GGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTACTGGG  
CGGTTTTATGGACAGCAAGCGAACCGBAATTGCCAGCTGGGGCGCCCTCTGGTAA  
GGTTGGGAAGCCCTGCAAAGTAACTGGATGGCTTCTCGCCGCCAAGGATCTGAT  
GGCGCAGGGGATCAAGCTCTGATCAAGAGACAGGATGAGGATCGTTTCGCATGATT  
GAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCG  
GCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCT  
GTCAGCGCAGGGGGCGCCCGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTG  
AATGAAGTGAAGACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTT  
CTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATT  
GGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAA  
GTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTG  
CCCATTTCGACCACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAA  
GCCGGTCTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCTCGCGCCAG  
CCGAAGTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGAGCATGCCCAGCGGCGAGGATCTCGTCGT  
GACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTG  
GATTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTATCAGGACATAGCGTT  
GGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTC  
GTGCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCT  
TGACGAGTTCTTCTGAATTATTAACGCTTACAATTTCTGATGCGGTATTTTCTCCTT  
ACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATACAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTG  
CGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGA  
GACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATAGCACGTGCTAAACTTTCATTTTTAATT  
TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGT  
GAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCCATCAGTGACCAAAACAGGAAAAACC  
GCCCTTAACATGGCCCGCTTTATCAGAAGCCAGACATTAACGCTTCTGGAGAAACT  
CAACGAGCTGGACGCGGATGAACAGGCAGACATCTGTGAATCGCTTCACGACCAC

图2

GCTGATGAGCTTTACCGCAGCTGCCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCT  
CTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGG  
AGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGCGCA  
GCCATGACCCAGTCACGTAGCGATAGCGGAGTGTATACTGGCTTAACTATGCGGCA  
TCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATG  
CGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGC  
TGCGCTCGGTCTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAAT  
ACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCC  
AGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTC  
CGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACC  
CGACAGGACTATAAAGATAACAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCT  
CCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAG  
CGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTT  
GCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTT  
ATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGG  
CAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGA  
GTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTG  
CGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA  
AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACGCGC  
AGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATC

图2续

|                                                                    |     |     |     |     |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 10                                                                 | 20  | 30  | 40  | 50  | 60  |
| MGSDVRLNA LLPAVPSLGG GGGCALPVSG AAQWAPVLD APPGASAYGS LGGPAPPPAP    |     |     |     |     |     |
| 70                                                                 | 80  | 90  | 100 | 110 | 120 |
| PPPPPPPPHS FIKQEPSWGG AEPHEEQCLS AFTVHFSGQF TG TAGACRYG PFGPPPPSQA |     |     |     |     |     |
| 130                                                                | 140 | 150 | 160 | 170 | 180 |
| SSGQARMFPN APYLPSCLES QPAIRNQGYS TVTFDGTSPY GH TPSHHAAQ FPNHSFKHED |     |     |     |     |     |
| 190                                                                | 200 | 210 | 220 | 230 | 240 |
| PMGQQGSLGE QQYSVPPPVY GCHTPDST GSQALLLRTP YSSDNLYQMT SQLECM TWNQ   |     |     |     |     |     |
| 250                                                                | 260 | 270 | 280 | 290 | 300 |
| MNLGATLKGV AAGSSSSVKW TEGQSNHSTG YESDNHTTPI LCGAQYRIHT HGVFRGIQDV  |     |     |     |     |     |
| 310                                                                | 320 | 330 | 340 | 350 | 360 |
| RRVPGVAPTL VRSASETSEK RPFMCAYPGC NKRYFKLSHL QMHSRKHTGE KPYQCDFKDC  |     |     |     |     |     |
| 370                                                                |     |     |     |     |     |
| ERRFSRSDQL K                                                       |     |     |     |     |     |

图3

MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLGETGQEAAPLDGVLNPPNISSLS  
PRQLLGFPCEVSGLSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPEDLDALPLDLLL  
FLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDLLPRGAPERQRLLPAALACWGVVRSLLSEADVRAL  
GGLACDLPGRFVAESADEVLLPRLVSCPGPLDQDQQAARAALQGGGPPYGGPSTWSVST  
MDALRGLLPVLGQPIIRSIPQGIVAAWRQRSSRDPSWRQPRTLPRFRREVEKTACPSGK  
KAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYVESVI  
QHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLKLELVNKGHEMSPQAPRRPLPQVATLIDRFVKGR  
GQLDKDTLDTLAFYPGYLCSLSPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAF  
QNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKLRTDAVLPLTVAEVQKLLGP  
HVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDLGLGLQGIPNGYLVLDLSMQEALSGTPCLLGP  
GPVLTVALLLASTLA

图4

MESPSAPPHRWCIWQRLLLTASLLTFWNPPTTAKLTIESTPFNVAEGKEVLLLHNLP  
QHLFGYSWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIYPNASLLIQNIQNDTGFI  
TLHVIKSDLVNEEATGQFRVPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWW  
VNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTNRNDTASYKCETQNPVSARRSDSVILNVLYGPD  
APTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWVFNQTFQQSTQELFIPNITVNNSGSY  
TCQAHNSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITSNNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLW  
WVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTLSSVTRNDVGPYECGIQNKLSVDHSDPVILNVLYGP  
DDPTISPSYTYRPGVNLNLSCHAASNPPAQYSWLIDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLY  
TCQANNSASGHSRTTVKTITVSAELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLW  
WVNGQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTNRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYG  
PDTPIISPDDSSYLSGANLNLSCHSASNPSQYSWRINGIPQQHTQVLFIKITPNNGTY  
ACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALI

图5

MESRGRRCPEMISVLGPISGHVLKAVFSRGDTPVLPHETRLLQTGIHVRVSQPSLILVSQ  
YTPDSTPCHRGDNQLQVQHTYFTGSEVENVSVNVHNPTGRSICPSQEPMSIYVYALPL  
KMLNIPSINVHHYPSAAERKHRHLPVADAVIHASGKQMWQARLTVSGLAWTRQQNQW  
KEPDVYYTSAFVFPTKDVALRHVCAHELVCSMENTRATKMQVIGDQYVKVYLESFCE  
DVPSGKLFMHVTLGSDVEEDLTMTNRNPQPFMRPHERNGFTVLCPKNMIKPGKISHIML  
DVAFTSHEHFGLLCPKSIPGLSIGNLLMNGQQIFLEVQAIRETVELRQYDPVAALFFDI  
DLLLQRGPQYSEHPTFTSQYRIQGKLEYRHTWDRHDEGAAQGGDDVWTS GSDSDEEL  
VTERKTPTVTGGGAMAGASTSAGRKRKSASSATACTAGVMTRGRLKAESTVAPEED  
TDESDNEIHNPVFTWPPWQAGILARNLVPMVATVQGQNLKYQEFFWDANDIYRIFA  
ELEGVWQPAAQPKRRRHRQDALPGPCIASTPKKHRG

图6

MESRGRRCPPEMISVLGPISGHVLKAVFSRGDTPVLPHETRLLQTGIHVRVSQPSLILVSQ  
YTPDSTPCHRGDNQLQVQHTYFTGSEVENVSVNVHNPTGRSICPSQEPMSIYVYALPL  
KMLNIPSINVHHYPSAAERKHRHLPVADAVIHASGKQMWQARLTVSGLAWTRQQNQW  
KEPDVYYTSAFVFPTKDVALRHVVCAHELVCSEMENTRATKMQVIGDQYVKVYLESFCE  
DVPSGKLFMHVTLGSDVEEDLTMTRNPQPFMRPHERNGFTVLCPKNMIKPGKISHIML  
DVAFTSHEHFGLLCPKSIPGLSISGNLLMNGQQIFLEVQAIRETVELRQYDPVAALFFFDI  
DLLLQRGPQYSEHPTFTSQYRIQGKLEYRHTWDRHDEGAAQGDDDVWTSGSDSDEEL  
VTERKTPRVTGGGAMAGASTSAGRNRKSASSATACTAGVMTRGRLKAESTVAPEED  
TDESDNEIHNPVFTWPPWQAGILARNLVPMVATVQGQNLKYQEFFWDANDIYRIFA  
ELEGVWQPAAQPKRRRHRQDALPGPCIASTPKKHRG

图7

MESRGRRCPPEMISVLGPISGHVLKAVFSRGDTPVLPHETRLLQTGIHVRVSQPSLILVSQ  
YTPDSTPCHRGDNQLQVQHTYFTGSEVENVSVNVHNPTGRSICPSQEPMSIYVYALPL  
KMLNIPSINVHHYPSAAERKHRHLPVADAVIHASGKQMWQARLTVSGLAWTRQQNQW  
KEPDVYYTSAFVFPTKDVALRHVVCAHELVCSEMENTRATKMQVIGDQYVKVYLESFCE  
DVPSGKLFMHVTLGSDVEEDLTMTRNPQPFMRPHERNGFTVLCPKNMIKPGKISHIML  
DVAFTSHEHFGLLCPKSIPGLSISGNLLMNGQQIFLEVQAIRETVELRQYDPVAALFFFDI  
DLLLQRGPQYSEHPTFTSQYRIQGKLEYRHTWDRHDEGAAQGDDDVWTSGSDSDEEL  
VTERKTPRVTGGGAMAGASTSAGRNRKSASSATACTAGVMTRGRLKAESTVAPEED  
TDESDNEIHNPVFTWPPWQAGILARNLVPMVATVQGQNLKYQEFFWDANDIYRIFA  
ELEGVWQPAAQ

图8



atgcagagcaaggtgctgctggccgtgcacctgtggctctgcgtggagacccgggcccctctgtgggttgccctagtgtttct  
cttgatctgccaggctcagcatatacaaaaagacatacttacaattaaggctaatacaactcttcaaattacttgaggggac  
agagggacttgactggctttggccaataatcagagtggcagtgagcaaaaggtggaggtgactgagtgacgcgatgg  
cctctctgtaagacactcacaattccaaaagtgcgaaatgacactggagcctacaagtgttctaccgggaaactgac  
ttggcctcggtcatttatgtctatgttcaagattacagatctccattattgtctctgttagtgaccaacatggagtcgtgtacattact  
gagaacaaaaacaaaactgtggtgattccatgtctcgggtccatttcaaactcaacgtgtcactttgtgcaagatacccaga  
aaagagatttgttctgatggtaacagaatttctgggacagcaagaagggcttactattcccagctacatgatcagctatgc  
tggcatggtcttctgtgaagcaaaaattaatgatgaaagtaccagctattatgtacatagttgtcgtttagggataggttta  
tgatgtggttctgagtcctctcatggaattgaactatctgttggagaaaagctgttctaaattgtacagcaagaactgaacta  
aatgtggggattgacttcaactgggaatacccttctcgaagcatcagcataagaaactgtaaaccgagacctaataaacc  
cagctctgggagtgagatgaagaaattttgagcaccttaactatagatggtgtaaccggagtgaccaaggattgtacacct  
gtgcagcatccagtggtgctgatgaccaagaagaacagcacatttgtcagggccatgaaaaacctttgtgtctttggaagt  
ggcatggaatctctgggtggaagccacgggtgggggagcgtgtcagaatccctgcgaagtaccttggttaccacccccaga  
aataaaatggtataaaaaatggaatacccttgagtcacacataaagcgggcatgtactgacgattatggaagt  
gagtgaagagacacaggaaatcacctgtcatccttaccatccatttcaaaggagaagcagagccatgtggtctctct  
ggttgtatgtcccaccccagattggtgagaaatctctaactctctctgtggttctaccagtcagccaccactcaaacgct  
gacatgtacggtctatgccattctccccgcacacatccactggtattggcagttggaggaagagtgcccaacgagccc  
agccaagctgtctcagtgacaaacccatacccttgtgaagaatggagaagtgtggaggacttccaggaggaaataaaa  
ttgaagtaataaaaaatcaattgtcttaattgaaggaaaaaactgttaagtaacctgttatccaagcggcaaatgtgt  
cagctttgtacaaatgtgaagcggtaacaaagtcgggagaggagagaggggtgatctcctccacgtgaccaggggtcct  
gaaattactttgcaacctgacatgcagcccactgagcaggagagcgtgtctttgtggtgactgcagacagatctacgtttga  
gaacctcacatggtacaagcttgcccacagcctctgccaatccatgtgggagagtgtcccacacctgtttgcaagaacttg  
gatactctttggaattgaatgccaccatgttctctaatagcacaaatgacattttgatcatggagcttaagaatgatccttgca  
ggaccaaggagactatgtctgcctgtcgaagacaggaagaccaagaaaagacattgcgtgggtcaggcagctcacagtc  
ctagagcgtgtggcaccacgatcacaggaacctggagaatcagacgacaagtattggggaagcatcgaagtctcat  
gcacggcatctgggaatccccctccacagatcatgtgtttaaagataatgagacctgtagaagactcaggcattgtattg  
aaggatgggaaccggaacctcactatccgcagagtgaggaaggaggacgaaggcctctacacctgccaggcatgcag  
tgttcttggtgtgcaaaagtggaggcattttcataatagaaggtgccaggaaaagacgaacttggaatcattattctagt  
aggcacggcgggtgattgccatgttctctggctactctgtcatcatcctacggaccgttaagcgggccaatggaggggaact  
gaagacaggctactgtccatcgtcatggatccagatgaactcccattggtgaacattgtgaacgactgccttatgatgcc  
gcaaatgggaattcccagagaccggctgaagctaggttaagcctcttgccgtggtgcctttggccaagtgttgagcag  
atgcctttggaattgacaagacagcaactgcaggacagtagcagtcaaaatgttgaaagaaggagcaacacacagtga  
gcatcgagctctcatgtctgaactcaagatcctcattcatattggtcaccatctcaatgtgttcaacctttaggtgctgtacca  
agccaggaggggcactcatggtgattgtggaattctgcaatttggaaacctgtccacttacctgaggagcaagagaaatg  
aatgttccctacaagaccaaaaggggcacgattccgtcaagggaagactacgttgagcaatccctgtggatctgaaa  
cggcgttgagacagcatcaccagtagccagagctcagccagctctggatttggaggagaagtccctcagtgatgtaga  
agaagaggaagctcctgaagatctgtataaggacttctgacctggagcatctcatctgttacagcttcaagtggctaagg  
gcatggagtcttggcatcgcaaggtgtatccacagggacctggcggcacgaaatcctcttatcggaagaagacgtgg  
ttaaactctgtgactttggcttggccgggatattataaagatccagattatgcagaaaaggagatgtcgcctcccttgaa  
atggatggcccagaaacaattttgacagagtgtacacaatccagagtgcgctgtgtctttggtgtttgtgtgggaaata  
tttcttaggtgcttctccatctctgggtaagattgtatgaagaattttgtaggcgattgaaagaaggaaactagaatgagg  
gccccgtattatactacaccagaaatgtaccagaccatgtctggactgtctggcaggggagcccagtcagagaccacgtt  
ttcagagttggtggaacatttgggaaatcttgcagctaattgtcagcaggatggcaagactacattgttctccgatatca  
gagactttgagcatggaagaggattctggactctctgcctacctcacctgttctgtatggaggaggaggaagtatgtgac  
cccaattccattatgacaacacagcaggaatcagtcagtatctgcagaacagtaagcgaaagagccggcctgtgagtg  
aaaaacatttgaagatatcccgtagaagaaccagaagtaaaagtaatccagatgacaaccagacggacagtggatg  
gttcttgctcagaagagctgaaaacttggagacagaacaaatctccatcttttgggtggaatggtgccagcaaaag  
cagggagctgtggcatctgaaggctcaaaccagacaagcggctaccagtcgggatctccgatgacacagacacc  
accgtgtactccagtgaggaagcagaactttaaagctgatagagattggagtgcaaacgggtagcacagcccagattctc  
cagcctgactcggggaccacactgagctctcctctgtttaa

图9

ATGGACTTCCTCTTGCTGCAGGACCCGGCTTCCACGTGTGTCCCGGAGCCGGCGTCTC  
AGCACACGCTCCGCTCCGGGCCTGGGTGCCTACAGCAGCCAGAGCAGCAGGGAGTCC  
GGGACCCGGGCGGCATCTGGGCCAAGTTAGGCGCCGCCGAGGCCAGCGCTGAACGT  
CTCCAGGGCCGGAGGAGCCGCGGGGCGTCCGGGTCTGAGCCGCAGCAAATGGGCTC  
CGACGTGCGGGACCTGAACGCGCTGCTGCCCCGCGTCCCCTCCCTGGGTGGCGGCG  
GCGGCTGTGCCCTGCCTGTGAGCGGCGCGGCGCAGTGGGCGCCGGTGCTGGACTTTG  
CGCCCCCGGGCGCTTCGGCTTACGGGTCTGTTGGGCGGCCCGCGCCGCCACCGGCT  
CCGCCGCCACCCCCGCCGCCGCCGCTCACTCCTTCATCAAACAGGAGCCGAGCTGG  
GGCGGCGCGGAGCCGCACGAGGAGCAGTGCCTGAGCGCCTTCACTGTCCACTTTTCC  
GGCCAGTTCACTGGCACAGCCGGAGCCTGTCGCTACGGGGCCCTTCGGTCCTCCTCCG  
CCCAGCCAGGCGTCATCCGGCCAGGCCAGGATGTTTCCTAACGCGCCCTACCTGCCCA  
GCTGCCTGGAGAGCCAGCCCGCTATTCGCAATCAGGGTTACAGCACGGTCACCTTCGA  
CGGGACGCCCAGCTACGGTCACACGCCCTCGCACCATGCGGCGCAGTTCCCCAACCA  
CTCATTCAAGCATGAGGATCCCATGGGCCAGCAGGGCTCGCTGGGTGAGCAGCAGTAC  
TCGGTGCCGCCCCCGGTCTATGGCTGCCACACCCCCACCGACAGCTGCACCGGCAGC  
CAGGCTTTGCTGCTGAGGACGCCCTACAGCAGTGACAATTTATACCAAATGACATCCCA  
GCTTGAATGCATGACCTGGAATCAGATGAACTTAGGAGCCACCTTAAAGGGAGTTGCTG  
CTGGGAGCTCCAGCTCAGTGAAATGGACAGAAGGGCAGAGCAACCACAGCACAGGGTA  
CGAGAGCGATAACCACACAACGCCCATCCTCTGCGGAGCCCAATACAGAATACACACG  
CACGGTGTCTTCAGAGGCATTCACTGA

图10

ATGGCCTTGCCAACGGCTCGACCCCTGTTGGGGTCCTGTGGGACCCCCGCCCTCGGC  
AGCCTCCTGTTCTGCTCTTCAGCCTCGGATGGGTGCAGCCCTCCAGGACCCTGGCTG  
GAGAGACAGGGCAGGAGGCTGCGCCCTGGACGGAGTCCTGGCCAACCCACCTAACA  
TTTCCAGCCTCTCCCTCGCCAACTCCTTGGCTTCCCGTGTGCGGAGGTGTCCGGCCT  
GAGCACGGAGCGTGTCCGGGAGCTGGCTGTGGCCTTGGCACAGAAGAATGTCAAGCT  
CTCAACAGAGCAGCTGCGCTGTCTGGCTCACCGGCTCTCTGAGCCCCCGAGGACCTG  
GACGCCCTCCCATTTGGACCTGCTGCTATTCTCAACCCAGATGCGTTCTCGGGGCCCC  
AGGCCTGCACCCGTTTCTTCTCCCGCATCACGAAGGCCAATGTGGACCTGCTCCCGAG  
GGGGGCTCCCGAGCGACAGCGGCTGCTGCCTGCGGCTCTGGCCTGCTGGGGTGTGC  
GGGGGTCTCTGCTGAGCGAGGCTGATGTGCGGGCTCTGGGAGGCCTGGCTTGCGACC  
TGCCTGGGCGCTTTGTGGCCGAGTCGGCCGAAGTGCTGCTACCCCGGCTGGTGAGCT  
GCCCCGGGACCCCTGGACCAGGACCAACAGGAGGCAGCCAGGGCGGCTCTGCAGGGC  
GGGGGACCCCCCTACGGCCCCCGTCGACATGGTCTGTCTCCACGATGGACGCTCTG  
CGGGGCTGCTGCCCCGTGCTGGGCCAGCCCATCATCCGCAGCATCCCGCAGGGCATC  
GTGGCCGCGTGGCGGCAACGCTCCTCTCGGGACCCATCCTGGCGGCAGCCTGAACGG  
ACCATCCTCCGGCCGCGGTTCCGGCGGGGAAGTGAGAGAAGACAGCCTGTCTTCAGGC  
AAGAAGGCCCGCGAGATAGACGAGAGCCTCATCTTCTACAAGAAGTGGGAGCTGGAAG  
CCTGCGTGGATGCGGCCCTGCTGGCCACCCAGATGGACCGCGTGAACGCCATCCCCT  
TCACCTACGAGCAGCTGGACGTCCTAAAGCATAACTGGATGAGCTCTACCCACAAGGT  
TACCCCGAGTCTGTGATCCAGCACCTGGGCTACCTCTTCTCAAGATGAGCCCTGAGG  
ACATTGCAAGTGGAATGTGACGTCCCTGGAGACCCTGAAGGCTTTGCTTGAAGTCAAC  
AAAGGGCACGAAATGAGTCCTCAGGCTCCTCGGCGGCCCTCCACAGGTGGCCACC  
CTGATCGACCGCTTTGTGAAGGGAAGGGGCCAGCTAGACAAAGACACCCTAGACACCC  
TGACCGCCTTCTACCCTGGGTACCTGTGCTCCCTCAGCCCCGAGGAGCTGAGCTCCGT  
GCCCCCAGCAGCATCTGGGCGGTGAGGCCCCAGGACCTGGACACGTGTGACCCAAG  
GCAGCTGGACGTCCTCTATCCCAAGGCCCGCCTTGCTTTCCAGAACATGAACGGGTCC  
GAATACTTCGTGAAGATCCAGTCCTTCTGGGTGGGGCCCCCACGGAGGATTTGAAGG  
CGCTCAGTCAGCAGAATGTGAGCATGGACTTGCCACGTTTCATGAAGCTGCGGACGGA  
TGCGGTGCTGCCGTTGACTGTGGCTGAGGTGCAGAACTTCTGGGACCCACGTGGAG  
GGCCTGAAGGCGGAGGAGCGGCACCGCCCGGTGCGGGACTGGATCCTACGGCAGCG  
GCAGGACGACCTGGACACGCTGGGGCTGGGGCTACAGGGCGGCATCCCCAACGGCTA  
CCTGGTCCTAGACCTCAGCATGCAAGAGGCCCTCTCGGGGACGCCCTGCCTCCTAGGA  
CCTGGACCTGTTCTACCGTCCTGGCACTGCTCCTAGCCTCCACCCTGGCCTGA

图11

ATGGAGTCTCCCTCGGCCCCCTCCCCACAGATGGTGCATCCCCTGGCAGAGGCTCC  
TGCTCACAGCCTCACTTCTAACCTTCTGGAACCCGCCCACCACTGCCAAGCTCACT  
ATTGAATCCACGCCGTTCAATGTCTGCAGAGGGGAAGGAGGTGCTTCTACTTGTCCA  
CAATCTGCCCCAGCATCTTTTTGGCTACAGCTGGTACAAAGGTGAAAGAGTGGATG  
GCAACCGTCAAATTATAGGATATGTAATAGGAACTCAACAAGCTACCCCAGGGCCC  
GCATACAGTGGTCGAGAGATAATATACCCCAATGCATCCCTGCTGATCCAGAACAT  
CATCCAGAATGACACAGGATTCTACACCCTACACGTCATAAAGTCAGATCTTGTGAA  
TGAAGAAGCAACTGGCCAGTTCCGGGTATACCCGGAGCTGCCCAAGCCCTCCATCT  
CCAGCAACAACCTCCAAACCCGTGGAGGACAAGGATGCTGTGGCCTTCACCTGTGAA  
CCTGAGACTCAGGACGCAACCTACCTGTGGTGGGTAAACAATCAGAGCCTCCCGGT  
CAGTCCCAGGCTGCAGCTGTCCAATGGCAACAGGACCCTCACTCTATTCAATGTCA  
CAAGAAATGACACAGCAAGCTACAAATGTGAAACCCAGAACCCAGTGAGTGCCAGG  
CGCAGTGATTCAGTCATCCTGAATGTCCTCTATGGCCCGGATGCCCCACCATTTTC  
CCCTCTAAACACATCTTACAGATCAGGGGAAAATCTGAACCTCTCCTGCCACGCAG  
CCTCTAACCCACCTGCACAGTACTCTTGGTTTGTCAATGGGACTTTCCAGCAATCCA  
CCCAAGAGCTCTTTATCCCCAACATCACTGTGAATAATAGTGGATCCTATACGTGCC  
AAGCCCATAACTCAGACACTGGCCTCAATAGGACCACAGTCACGACGATCACAGTC  
TATGCAGAGCCACCCAAACCCCTTCATCACCAGCAACAACCTCCAACCCCGTGGAGGA  
TGAGGATGCTGTAGCCTTAACCTGTGAACCTGAGATTGAGAACACAACCTACCTGT  
GGTGGGTAAATAATCAGAGCCTCCCGGTGAGTCCCAGGCTGCAGCTGTCCAATGAC  
AACAGGACCCTCACTCTACTCAGTGTGACAAGGAATGATGTAGGACCCTATGAGTG  
TGGAATCCAGAACAATTAAGTGTGACCACAGCGACCCAGTCATCCTGAATGTCCT  
CTATGGCCCAGACGACCCCAACATTTCCCCCTCATACACCTATTACCGTCCAGGGG  
TGAACCTCAGCCTCTCCTGCCATGCAGCCTCTAACCCACCTGCACAGTATTCTTGG  
CTGATTGATGGGAACATCCAGCAACACACACAAGAGCTCTTTATCTCCAACATCACT  
GAGAAGAACAGCGGACTCTATACCTGCCAGGCCAATAACTCAGCCAGTGGCCACA  
GCAGGACTACAGTCAAGACAATCACAGTCTCTGCGGAGCTGCCCAAGCCCTCCATC  
TCCAGCAACAACCTCCAAACCCGTGGAGGACAAGGATGCTGTGGCCTTCACCTGTGA  
ACCTGAGGCTCAGAACACAACCTACCTGTGGTGGGTAAATGGTCAGAGCCTCCCAG  
TCAGTCCCAGGCTGCAGCTGTCCAATGGCAACAGGACCCTCACTCTATTCAATGTC  
ACAAGAAATGACGCAAGAGCCTATGTATGTGGAATCCAGAACTCAGTGAGTGCAAA  
CCGCAGTGACCCAGTCACCCTGGATGTCTCTATGGGCCGGACACCCCATCATTT  
CCCCCCCAGACTCGTCTTACCTTTCTGGGAGCGAACCTCAACCTCTCCTGCCACTCG  
GCCTCTAACCCATCCCCGCAGTATTCTTGGCGTATCAATGGGATACCGCAGCAACA  
CACACAAGTTCTCTTTATCGCCAAAATCACGCCAAATAATAACGGGACCTATGCCTG  
TTTTGTCTCTAACTTGGCTACTGGCCGCAATAATTCCATAGTCAAGAGCATCACAGT  
CTCTGCATCTGGAACCTTCTCCTGGTCTCTCAGCTGGGGCCACTGTCGGCATCATGA  
TTGGAGTGCTGGTTGGGGTTGCTCTGATATAG

图12

ATGGAATCCAGGGGGAGGAGGTGTCCGGAGATGATCTCAGTCCTCGGACCGATTA  
GCGGTACGTGCTCAAAGCGGTCTTCAGCAGAGGAGACACTCCGGTGCTGCCGCA  
CGAAACAAGGCTCCTTCAGACGGGGATACACGTGCGTGTGAGTCAGCCCAGCCTG  
ATCCTCGTGTCTCAATACACCCCTGACAGCACTCCCTGTCACAGAGGGGACAACCA  
ACTCCAGGTCCAGCACACCTACTTCACTGGGAGCGAGGTTCGAGAACGTCAGCGTG  
AACGTGCACAACCCCAACGGGAAGATCAATCTGCCCTAGCCAGGAGCCCATGAGCA  
TCTACGTGTACGCCCTCCCGCTCAAGATGCTCAACATCCCCTCCATCAACGTCCAC  
CACTATCCCTCCGCTGCCGAACGTAAACACCGACACTTGCCAGTTGCGGACGCCGT  
GATACACGCTTCAGGGGAAGCAGATGTGGCAAGCCAGGCTTACTGTGAGTGGACTC  
GCCTGGACTAGGCAACAGAACCAGTGGAAGGAGCCCGACGTGTACTACACCAGCG  
CCTTCGTGTTCCCCACAAAAGACGTCGCGCTGCGACATGTGGTGTGCGCTCACGAA  
CTGGTGTGCAGCATGGAGAACACGCGAGCGACCAAGATGCAGGTGATCGGTGACC  
AGTACGTCAAGGTGTACCTGGAGAGCTTCTGCGAGGATGTCCCGTCCGGAAAGCT  
GTTTCATGCACGTGACCCTGGGCAGTGACGTTGAGGAAGACCTGACCATGACGCGT  
AACCCGCAGCCTTTCATGAGACCGCACGAGAGGAACGGATTACCCGTCTGTGCC  
CGAAGAACATGATCATCAAGCCCGGCAAGATCAGCCACATCATGCTCGACGTCCGC  
TTCACCTCTCACGAACACTTCGGGCTGCTGTGTCCGAAGAGCATTCCGGGTCTGAG  
CATCTCAGGCAACCTGCTGATGAACGGGCAGCAGATCTTCCTGGAAGTGCAGGCC  
ATAAGGGAGACCGTGGAAGTGAAGGCAGTACGATCCTGTGGCTGCCCTGTTCTTCTT  
CGACATCGACCTCTTGCTGCAAAGGGGTCCACAGTATAGCGAACACCCACCTTCA  
CCTCCCAGTACCGTATCCAGGGCAAGCTGGAGTACCGACACACTTGGGATAGGCA  
CGACGAGGGTGCCGCTCAAGGTGACGACGATGTTTGGACTAGCGGCTCTGATAGC  
GACGAAGAGCTGGTGACCACTGAGCGCAAACTCCAAGAGTTACGGGCGGCGGCG  
CAATGGCTGGCGCCTCTACTTCCGCGGGAAGGAAAGGAAAAGCGCGTCTAGCGC  
AACTGCATGCACTGCCGGTGTGATGACAAGGGGGGAGACTGAAGGCCGAGAGTACA  
GTGGCTCCGGAAGAGGATACCGACGAGGACTCTGACAACGAGATCCACAACCCCG  
CAGTGTTTACGTGGCCACCTTGCCAAGCCGGCATCCTTGCTAGAAACCTGGTGCCC  
ATGGTGGCCACAGTCCAAGGCCAGAACCTGAAGTACCAGGAGTTCTTCTGGGACG  
CCAACGACATCTACCGTATCTTCGCCGAACCTGAAGGCGTCTGGCAGCCGGCGGC  
TCAACCCAAAAGGAGACGTACAGACAGGACGCGCTTCCCGGACCCTGTATTGCCT  
CTACCCCCAAGAAACACCGGGGC

图13



ATGGAATCCAGGGGGAGGAGGTGTCCGGAGATGATCTCAGTCCTCGGACCGATTA  
GCGGTACGTGCTCAAAGCGGTCTTCAGCAGAGGAGACACTCCGGTGCTGCCGCA  
CGAAACAAGGCTCCTTCAGACGGGGATACACGTGCGTGTGAGTCAGCCCAGCCTG  
ATCCTCGTGTCTCAATACACCCCTGACAGCACTCCCTGTACAGAGGGGACAACCA  
ACTCCAGGTCCAGCACACCTACTTCACTGGGAGCGAGGTTCGAGAACGTGACGCTG  
AACGTGCACAACCCACGCGGAAGATCAATCTGCCCTAGCCAGGAGCCCATGAGCA  
TCTACGTGTACGCCCTCCCGCTCAAGATGCTCAACATCCCCTCCATCAACGTCCAC  
CACTATCCCTCCGCTGCCGAACGTAAACACCGACACTTGCCAGTTGCGGACGCCGT  
GATACACGCTTCAGGGAAGCAGATGTGGCAAGCCAGGCTTACTGTGAGTGGACTC  
GCCTGGACTAGGCAACAGAACCAGTGGAAGGAGCCCGACGTGTACTACACCAGCG  
CCTTCGTGTTCCCCACAAAAGACGTGCGCGCTGCGACATGTGGTGTGCGCTCACGAA  
CTGGTGTGCAGCATGGAGAACACGCGAGCGACCAAGATGCAGGTGATCGGTGACC  
AGTACGTCAAGGTGTACCTGGAGAGCTTCTGCGAGGATGTCCCGTCCGGAAAGCT  
GTTCATGCACGTGACCCTGGGCAGTGACGTTGAGGAAGACCTGACCATGACGCGT  
AACCCGCGAGCCTTTTCATGAGACCGCACGAGAGGAACGGATTCACCGTCCTGTGCC  
CGAAGAACATGATCATCAAGCCCGGCAAGATCAGCCACATCATGCTCGACGTGCGC  
TTCACCTCTCACGAACACTTCGGGCTGCTGTGTCCGAAGAGCATTCCGGGTCTGAG  
CATCTCAGGCAACCTGCTGATGAACGGGCAGCAGATCTTCCTGGAAGTGCAGGCC  
ATAAGGGAGACCGTGGAAGTGAAGCAGTACGATCCTGTGGCTGCCCTGTTCTTCTT  
CGACATCGACCTCTTGCTGCAAAGGGGTCCACAGTATAGCGAACACCCACCTTCA  
CCTCCAGTACCGTATCCAGGGCAAGCTGGAGTACCGACACACTTGGGATAGGCA  
CGACGAGGGTGCCGCTCAAGGTGACGACGATGTTTGGACTAGCGGCTCTGATAGC  
GACGAAGAGCTGGTGACCACTGAGCGCAAACTCCAAGAGTTACGGGCGGCGGCG  
CAATGGCTGGCGCCTCTACTTCCGCGGGAAGGAAcAGGAAAAGCGCGTCTAGCGC  
AACTGCATGCACTGCCGGTGTGATGACAAGGGGGGAGACTGAAGGCCGAGAGTACA  
GTGGCTCCGGAAGAGGATACCGACGAGGACTCTGACAACGAGATCCACAACCCCG  
CAGTGTTTACGTGGCCACCTTGCAAGCCGGCATCCTTGCTAGAAACCTGGTGCCC  
ATGGTGGCCACAGTCCAAGGCCAGAACCTGAAGTACCAGGAGTTCTTCTGGGACG  
CCAACGACATCTACCGTATCTTCGCCGAACCTGAAGGCGTCTGGCAGCCGGCGGC  
TCAACCCAAAAGGAGACGTACAGACAGGACGCGCTTCCCGGACCCTGTATTGCCT  
CTACCCCCAAGAAACACCGGGGC

图14

ATGGAATCCAGGGGGAGGAGGTGTCCGGAGATGATCTCAGTCCTCGGACCGATTA  
GCGGTCACGTGCTCAAAGCGGTCTTCAGCAGAGGAGACACTCCGGTGCTGCCGCA  
CGAAACAAGGCTCCTTCAGACGGGGATACACGTGCGTGTGAGTCAGCCCAGCCTG  
ATCCTCGTGTCTCAATACACCCCTGACAGCACTCCCTGTCACAGAGGGGACAACCA  
ACTCCAGGTCCAGCACACCTACTTCACTGGGAGCGAGGTCGAGAACGTCAGCGTG  
AACGTGCACAACCCACGCGGAAGATCAATCTGCCCTAGCCAGGAGCCCATGAGCA  
TCTACGTGTACGCCCTCCCGCTCAAGATGCTCAACATCCCCTCCATCAACGTCCAC  
CACTATCCCTCCGCTGCCGAACGTAAACACCGACACTTGCCAGTTGCGGACGCCGT  
GATACACGCTTCAGGGAAGCAGATGTGGCAAGCCAGGCTTACTGTGAGTGGACTC  
GCCTGGACTAGGCAACAGAACCAGTGGAAGGAGCCCGACGTGTACTACACCAGCG  
CCTTCGTGTTCCCCACAAAAGACGTCGCGCTGCGACATGTGGTGTGCGCTCACGAA  
CTGGTGTGCAGCATGGAGAACACGCGAGCGACCAAGATGCAGGTGATCGGTGACC  
AGTACGTCAAGGTGTACCTGGAGAGCTTCTGCGAGGATGTCCCGTCCGGAAAGCT  
GTTTCATGCACGTGACCCTGGGCAGTGACGTTGAGGAAGACCTGACCATGACGCGT  
AACCCGCAGCCTTTTCATGAGACCGCACGAGAGGAACGGATTACCGTCTGTGCC  
CGAAGAACATGATCATCAAGCCCGGCAAGATCAGCCACATCATGCTCGACGTCGCC  
TTCACCTCTCACGAACACTTCGGGCTGCTGTGTCCGAAGAGCATTCCGGGTCTGAG  
CATCTCAGGCAACCTGCTGATGAACGGGCAGCAGATCTTCCTGGAAGTGCAGGCC  
ATAAGGGAGACCGTGGAAGTGAAGGAGTACGATCCTGTGGCTGCCCTGTTCTTCTT  
CGACATCGACCTCTTGCTGCAAAGGGGTCCACAGTATAGCGAACACCCACCTTCA  
CCTCCCAGTACCGTATCCAGGGCAAGCTGGAGTACCGACACACTTGGGATAGGCA  
CGACGAGGGTGCCGCTCAAGGTGACGACGATGTTTGGAAGTACCGGCTCTGATAGC  
GACGAAGAGCTGGTGACCACTGAGCGCAAACTCCAAGAGTTACGGGCGGCGGCG  
CAATGGCTGGCGCCTCTACTTCCGCGGGAAGGAAcAGGAAAAGCGCGTCTAGCGC  
AACTGCATGCACTGCCGGTGTGATGACAAGGGGGGAGACTGAAGGCCGAGAGTACA  
GTGGCTCCGGAAGAGGATACCGACGAGGACTCTGACAACGAGATCCACAACCCCG  
CAGTGTTCAGTGCCACCTTGGAAGCCGGCATCCTTGCTAGAAACCTGGTGCC  
ATGGTGGCCACAGTCCAAGGCCAGAACCTGAAGTACCAGGAGTTCTTCTGGGACG  
CCAACGACATCTACCGTATCTTCGCCGAACCTGAAGGCGTCTGGCAGCCGGCGGC  
TCAA

图15

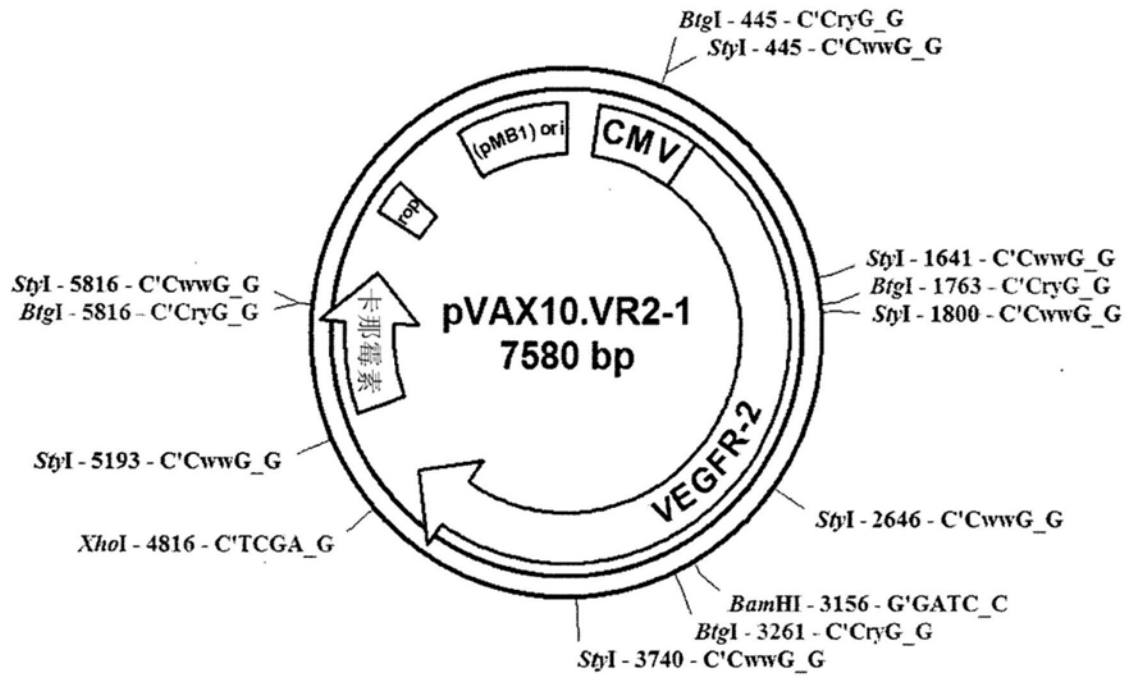


图16

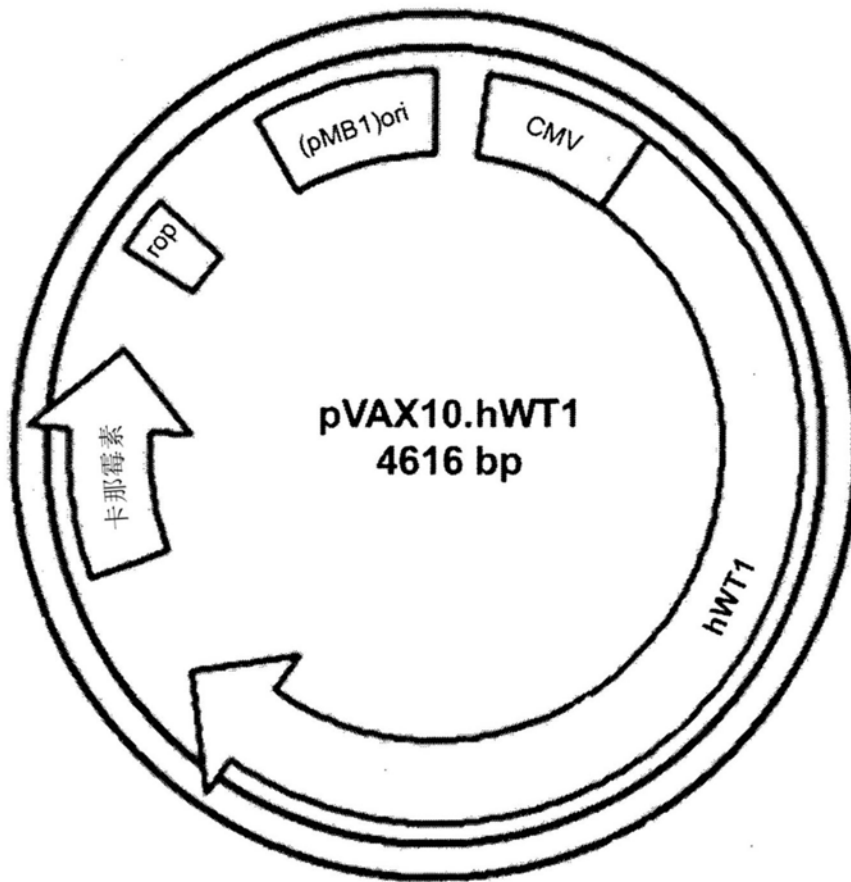


图17



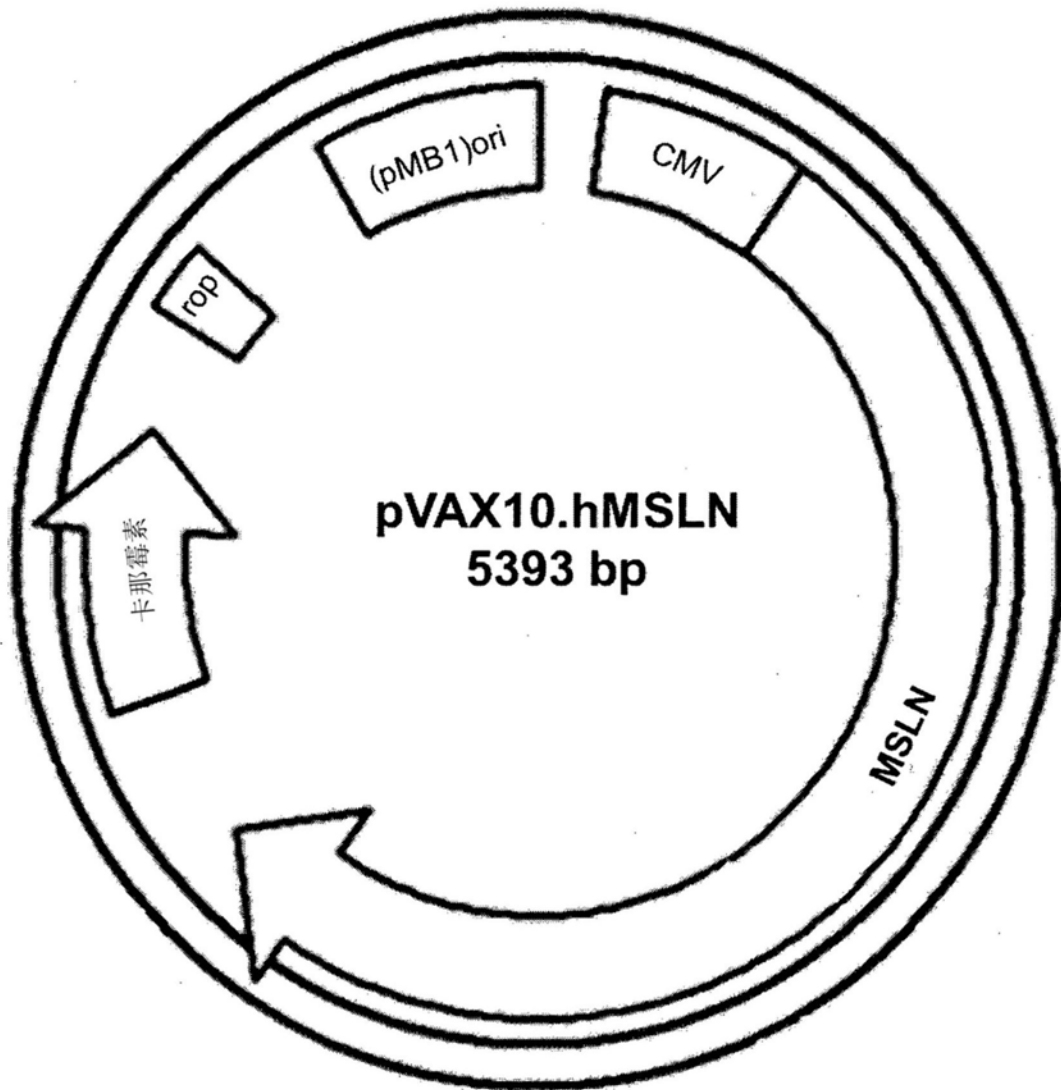


图18

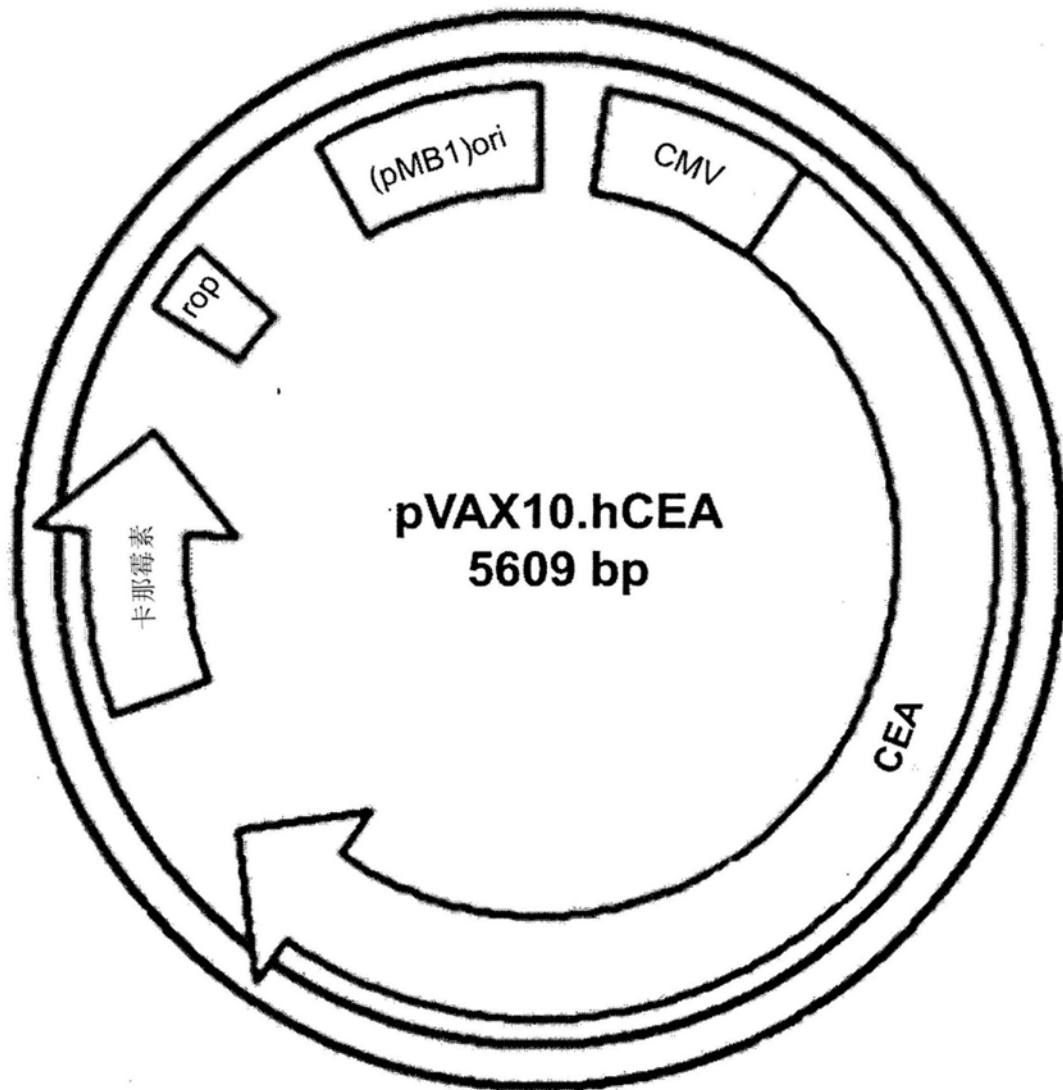


图19

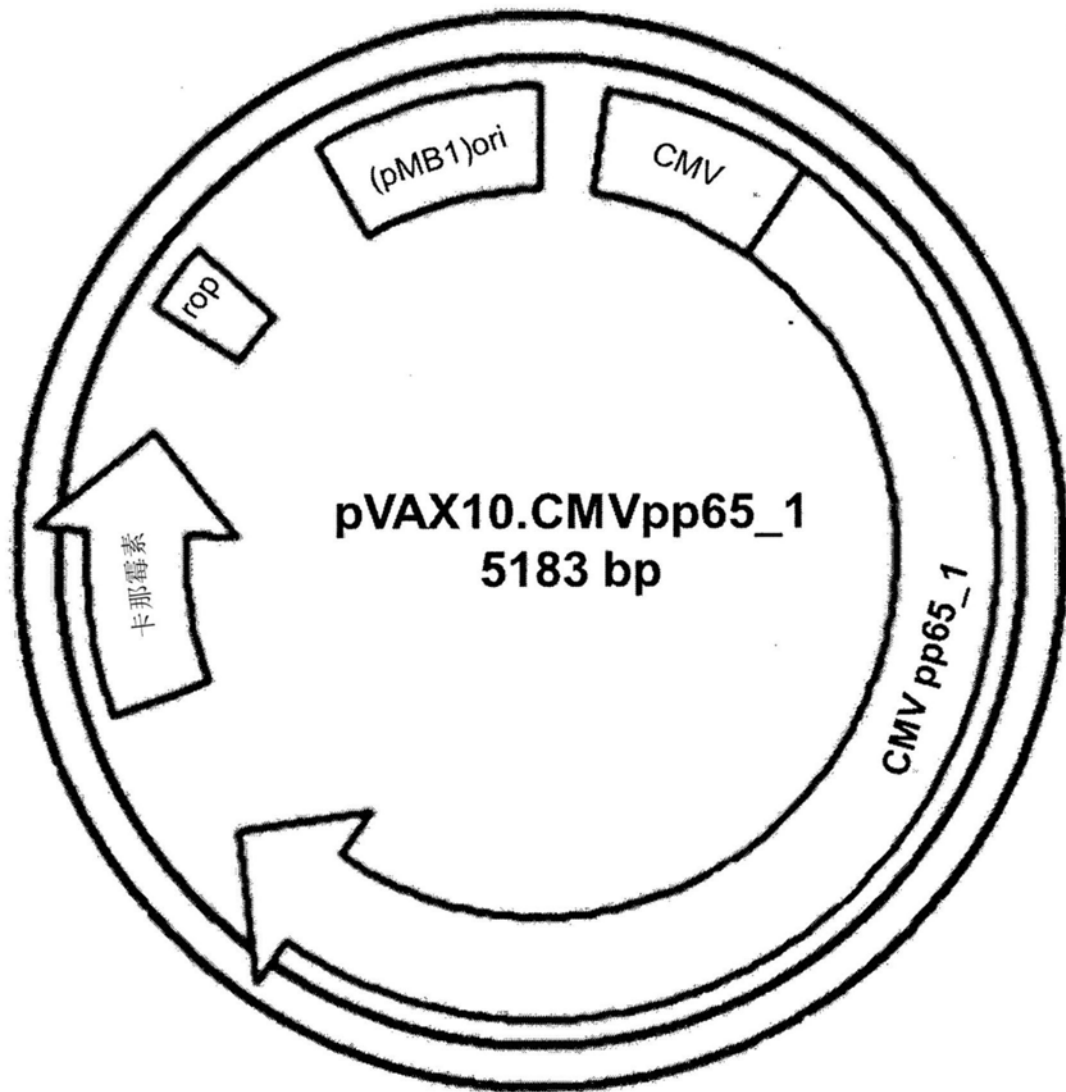


图20

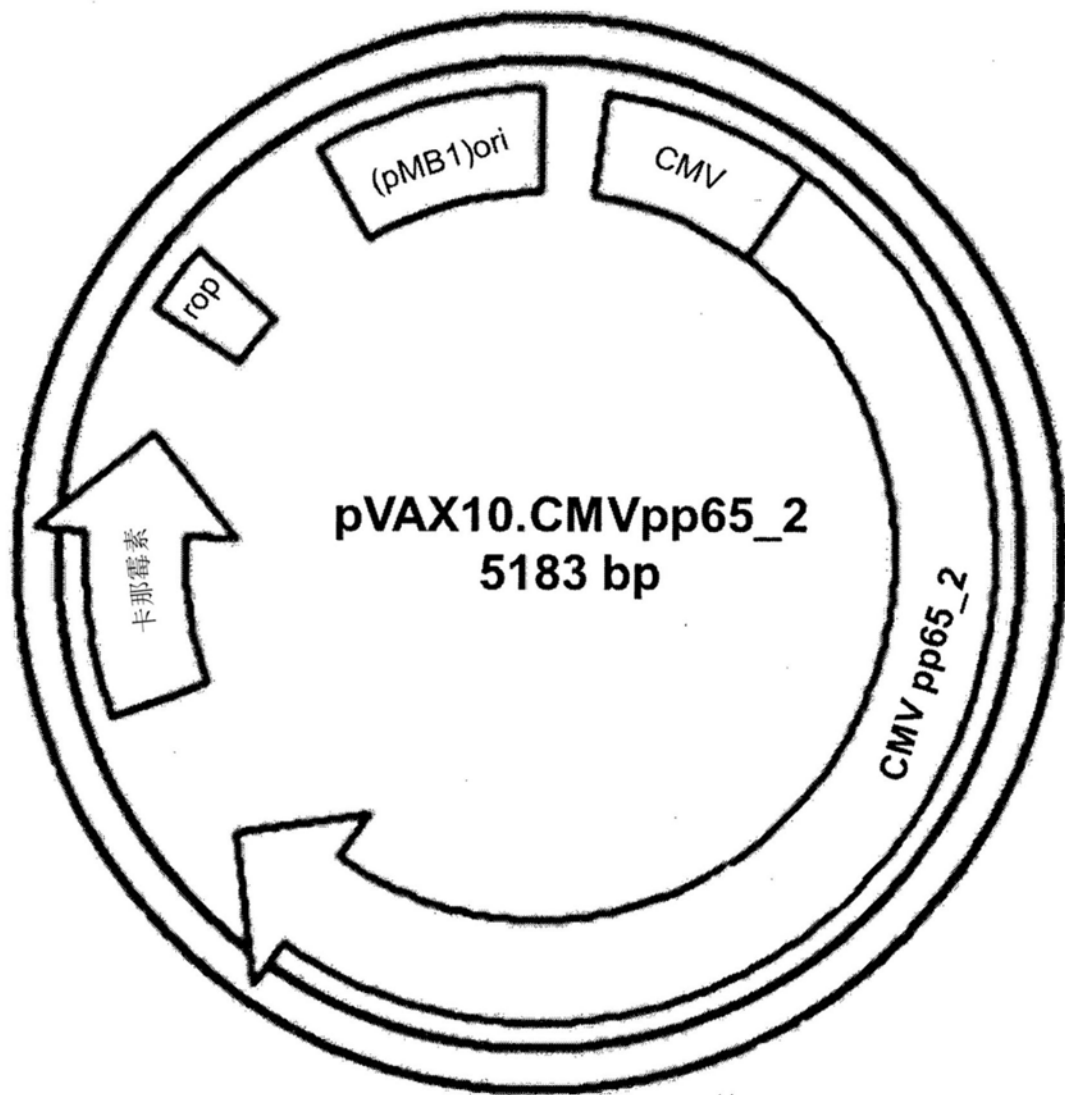


图21

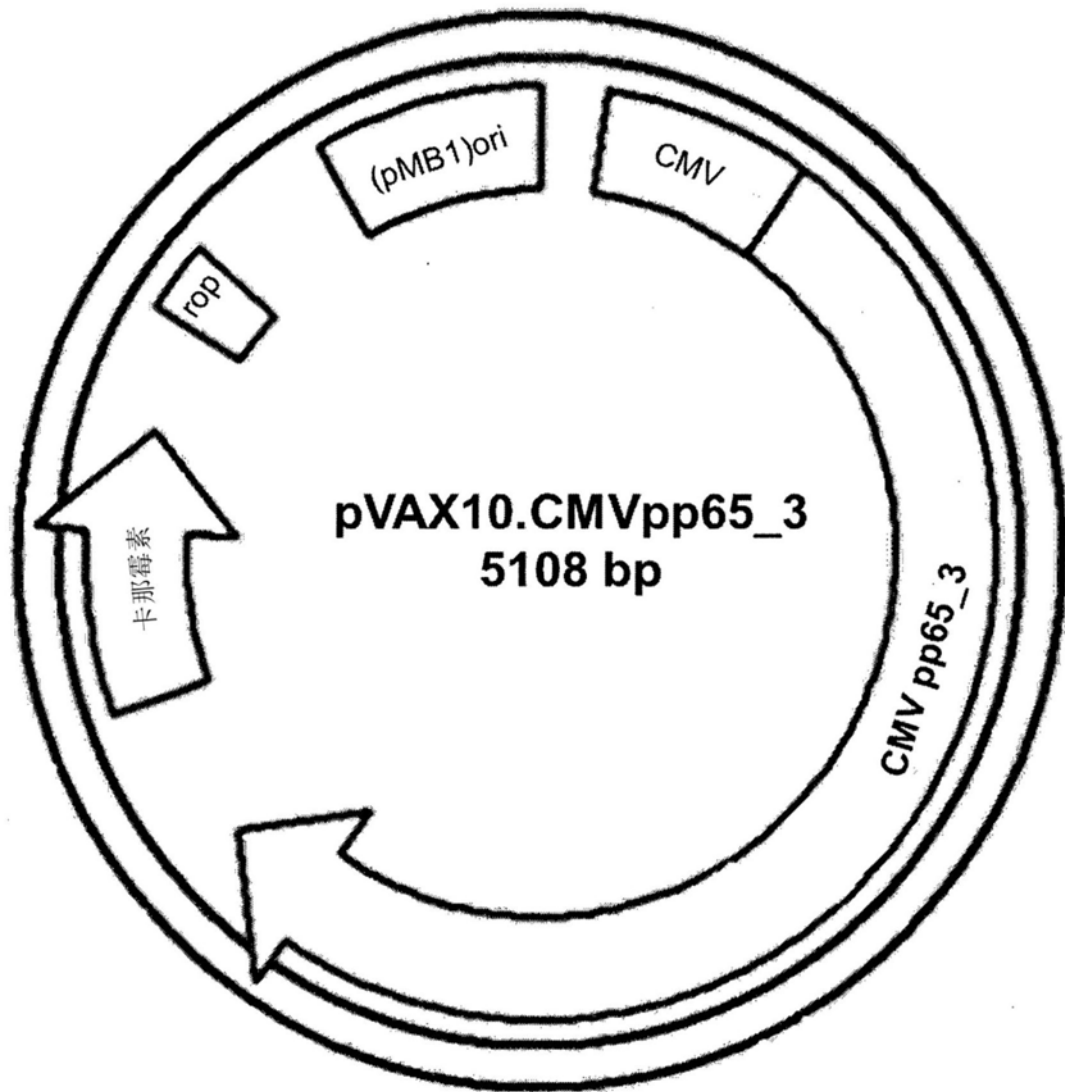


图22

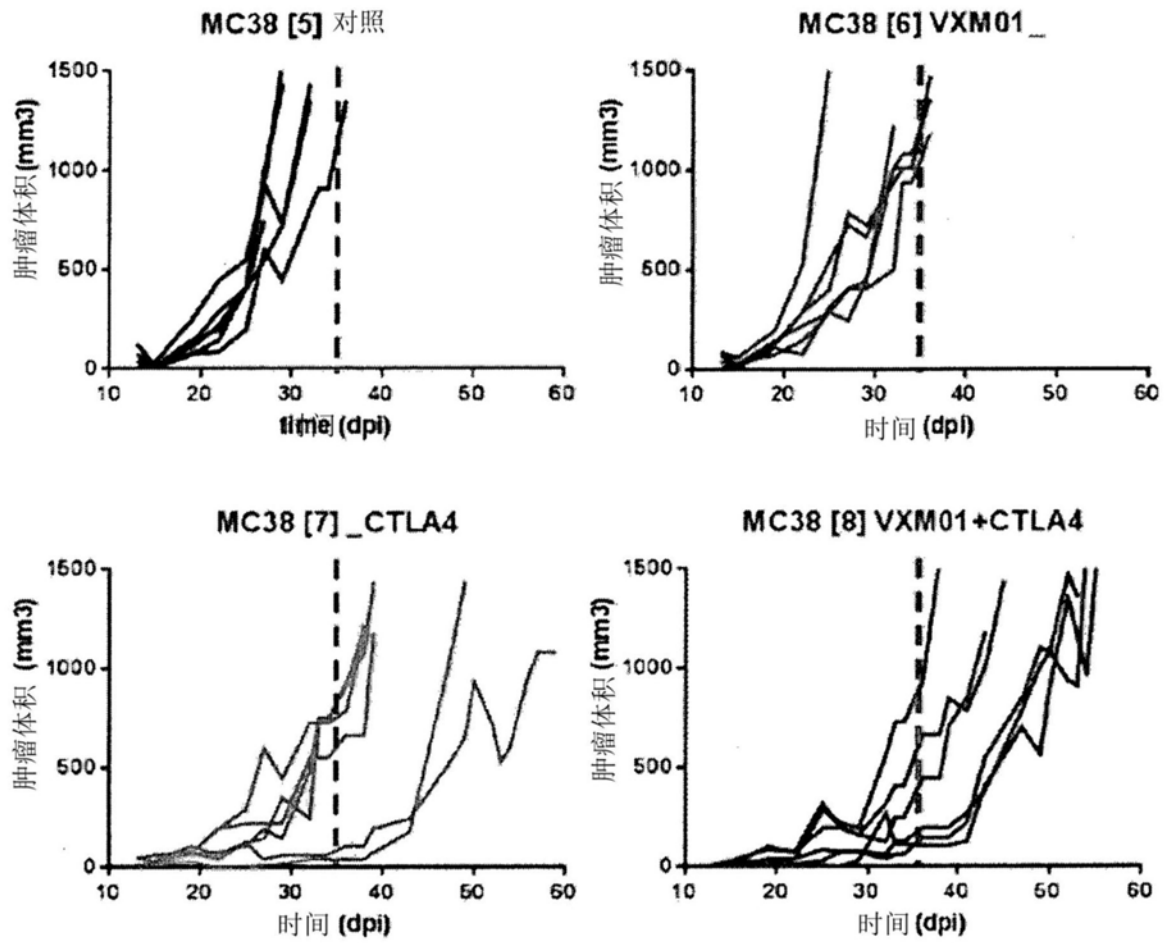


图23

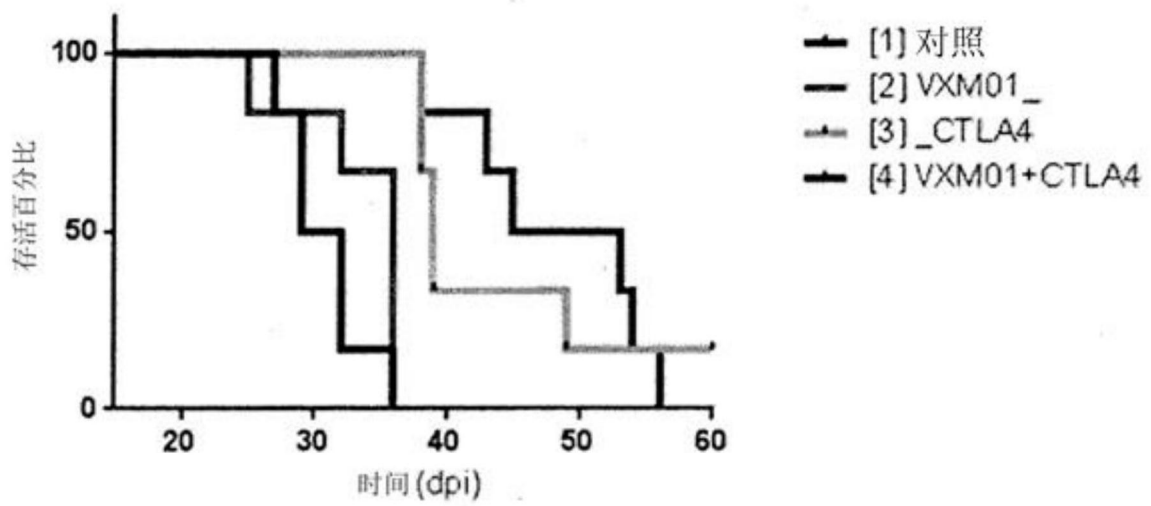


图24

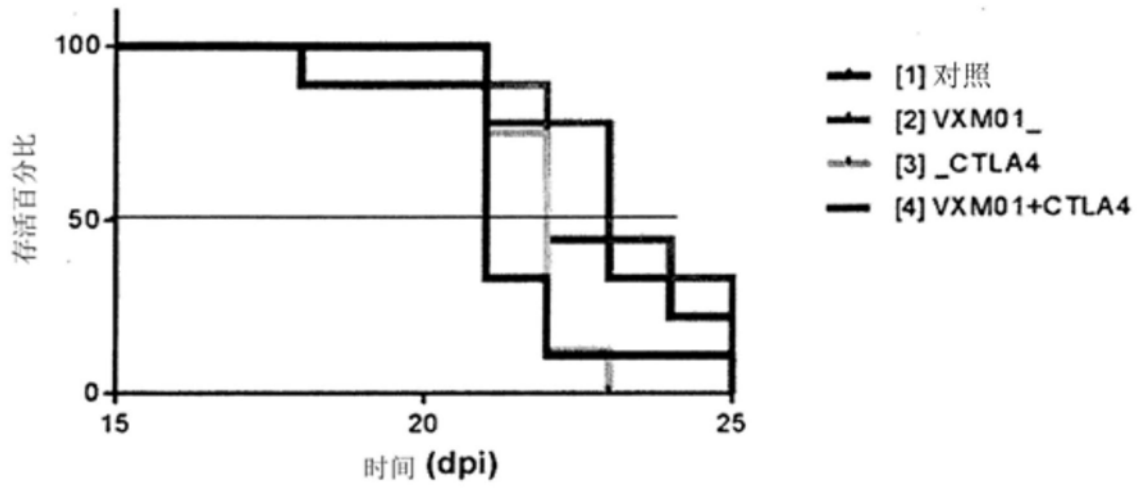


图25

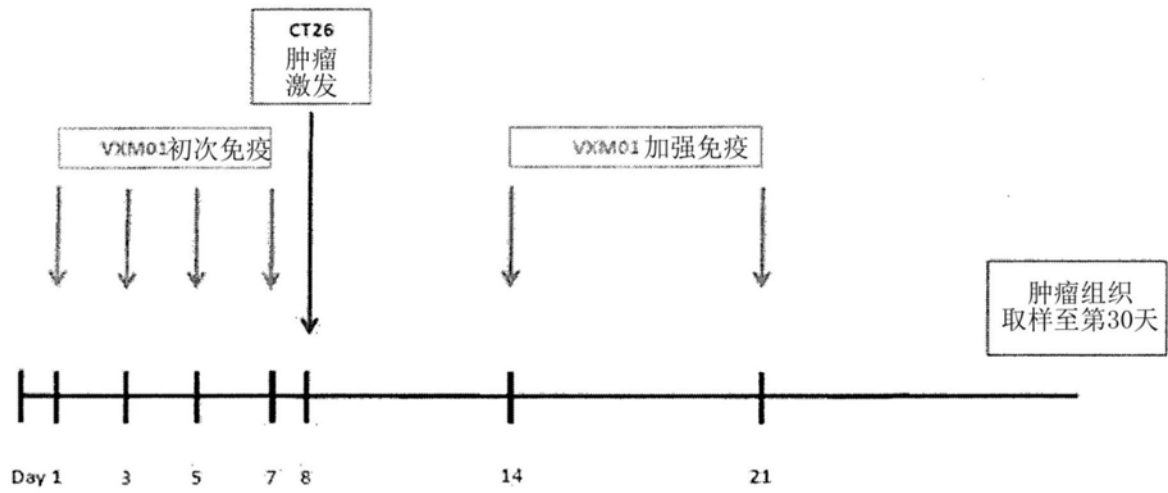


图26

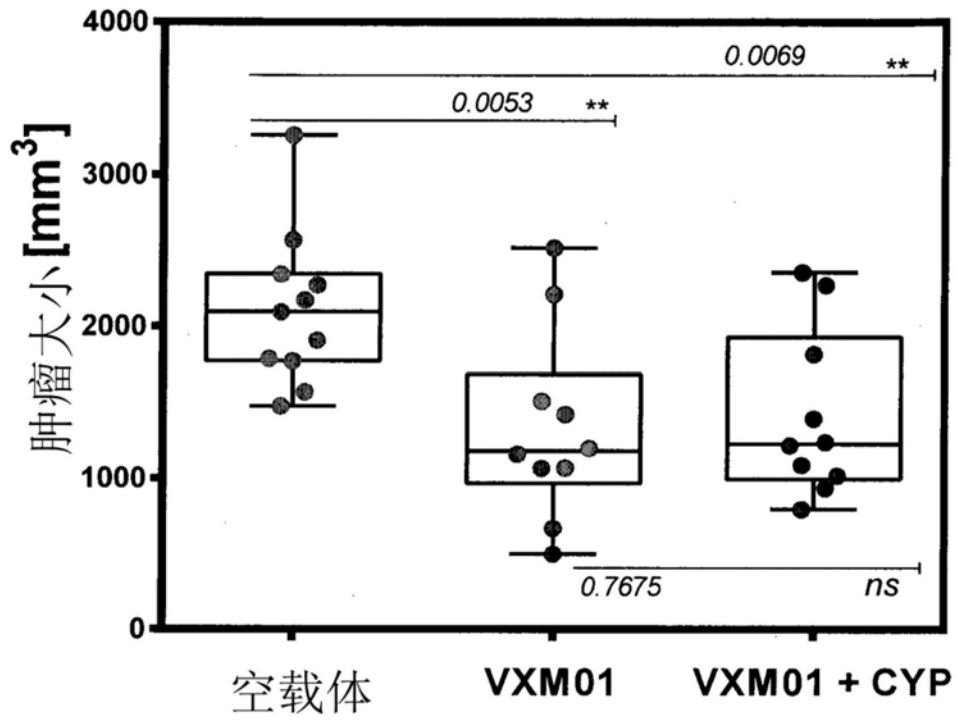


图27

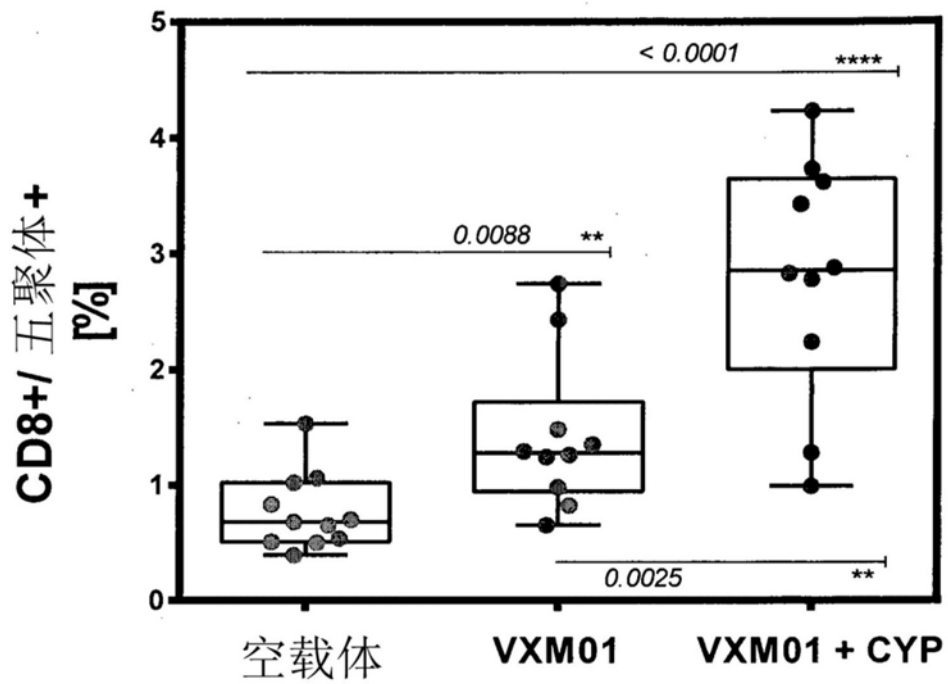


图28



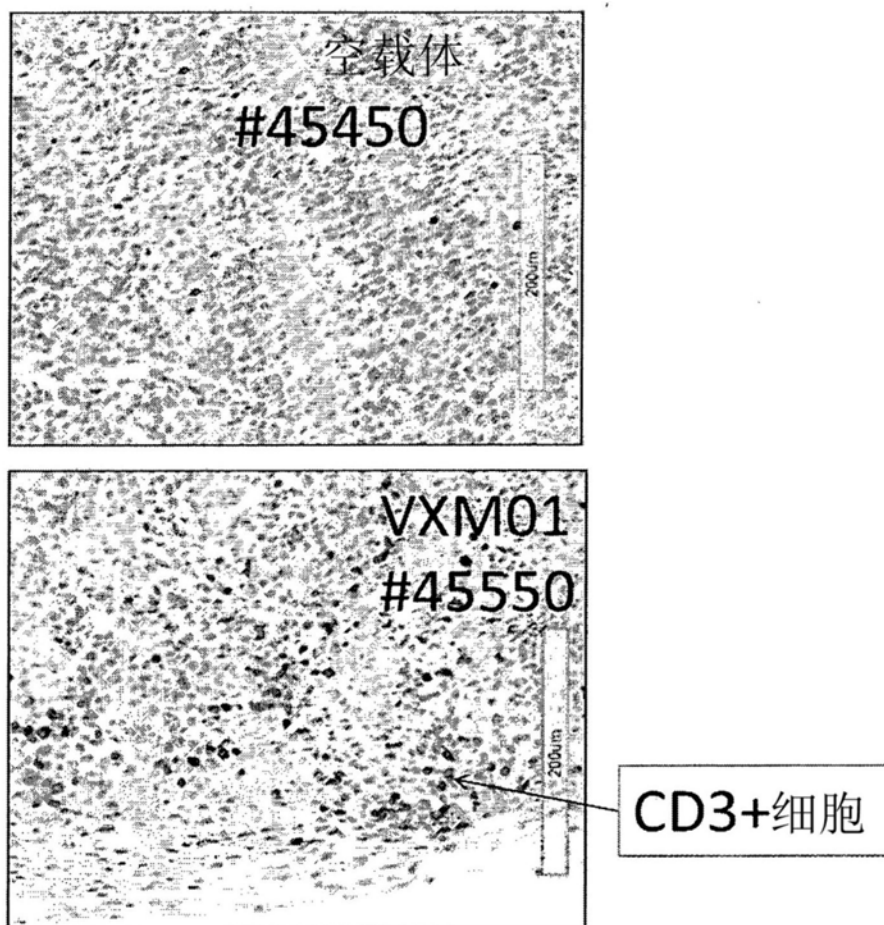


图29

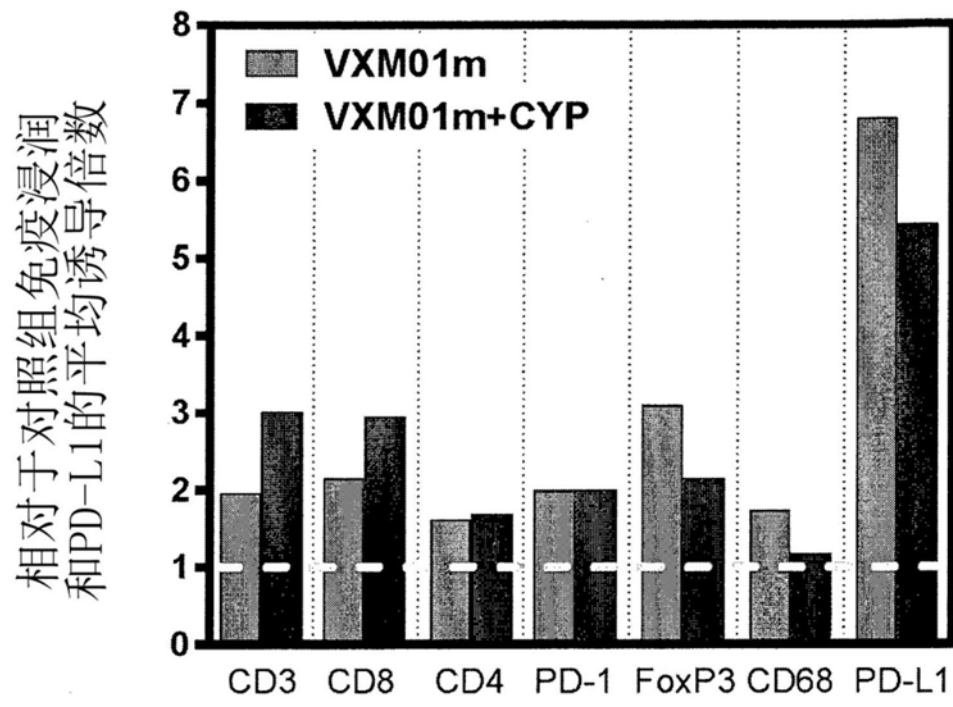


图30

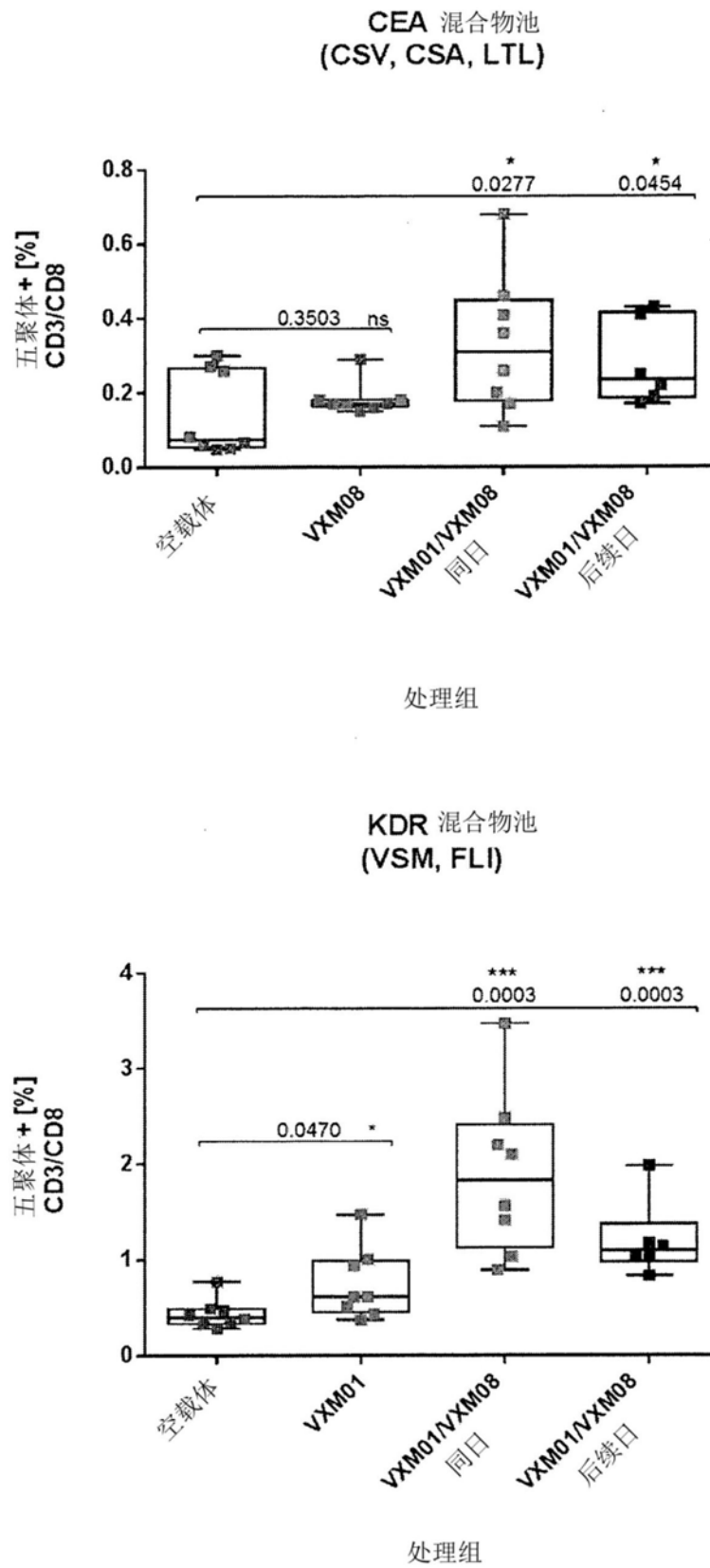


图31