

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710141110. X

[51] Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61K 38/49 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 3 月 5 日

[11] 公开号 CN 101134107A

[22] 申请日 2000. 10. 5

[21] 申请号 200710141110. X

分案原申请号 00819723.7

[30] 优先权

[32] 2000. 5. 15 [33] US [31] 09/571,434

[71] 申请人 史密丝克莱恩比彻姆公司

地址 美国宾夕法尼亚州

[72] 发明人 弗兰克·C·巴龙

迈克尔·N·布莱克本

乔拉·Z·福伊尔斯坦

约翰·R·图米

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 张红春 封新琴

权利要求书 2 页 说明书 104 页 附图 15 页

[54] 发明名称

抗血栓剂

[57] 摘要

公开了针对凝固因子 IX 的单克隆抗体以及它们在抑制血栓形成中的用途。

1. 治疗动物血栓栓塞后引发的局部缺血的方法，包括施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段。

2. 权利要求 1 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段在栓塞后施用。

3. 权利要求 1 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段是在中风后施用。

4. 权利要求 1 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB 249417、SB 257731 或 SB 257732 的鉴定特征。

5. 权利要求 4 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249417 的鉴定特征。

6. 治疗动物血栓栓塞后引发的局部缺血的方法，包括施用 SB 249417。

7. 治疗动物血栓栓塞后引发的局部缺血的方法，包括联合施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段和纤溶酶原激活物。

8. 权利要求 7 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段和纤溶酶原激活物是在栓塞后施用。

9. 权利要求 7 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段和纤溶酶原激活物是在中风后施用。

10. 权利要求 7 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB 249417、SB 257731 或 SB 257732 的鉴定特征。

11. 权利要求 10 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249417 的鉴定特征。

12. 权利要求 7 所述方法，其中溶栓剂是 tPA、尿激酶、链激酶或它们的变体。

13. 权利要求 12 所述方法，其中溶栓剂是 tPA。

14. 治疗动物血栓栓塞后引发的局部缺血的方法，包括联合施用 SB 249417 和 tPA。

15. 在治疗动物血栓栓塞后引发的局部缺血中减少所需溶栓剂剂量的

方法，包括联合施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段与溶栓剂。

16. 权利要求 15 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB 249417、SB 257731 或 SB 257732 的鉴定特征。

17. 权利要求 16 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249417 的鉴定特征。

18. 权利要求 15 所述方法，其中溶栓剂是 tPA、尿激酶、链激酶或它们的变体。

19. 权利要求 18 所述方法，其中溶栓剂是 tPA。

20. 预防动物血栓栓塞性中风的方法，包括向具有发生血栓栓塞中风风险的动物施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段。

21. 权利要求 20 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB 249417、SB 257731 或 SB 257732 的鉴定特征。

22. 权利要求 20 所述方法，其中抗-因子 IX 抗体或抗体片段具有 SB 249417 的鉴定特征。

23. 预防动物血栓栓塞中风的方法，包括向具有发生血栓栓塞中风风险的动物施用 SB 249417。

抗血栓剂

此案是申请日为 2000 年 10 月 5 日、中国申请号为 00819723.7、发明名称为“抗血栓剂”的发明申请的分案申请。

发明领域

本发明涉及与人凝固因子或辅因子相结合的单克隆抗体(mAbs)和其作为血栓形成抑制剂的用途。

发明背景

在正常情况下,血管内膜血管内皮细胞的损伤,无论损伤大小,将通过通常称为凝血"级联反应(cascade)"的一系列事件而触发止血反应。该级联反应以使可溶性纤维蛋白原转变为不溶性纤维蛋白而达到极点,不溶性纤维蛋白与血小板一起形成局部血凝块或者血栓,血凝块或血栓阻止血液组分外渗。然后,随着血凝块溶解和血管完整性修复以及血流恢复而出现伤口愈合。

在受伤和血凝块形成之间发生的事件,受到一系列反应的精细调节和联接。简言之,大量以无活性酶原形式的血浆凝血蛋白和辅因子在血液中循环着。活性酶复合物在受损伤位点装配起来,继而激活丝氨酸蛋白酶,伴随有各个连续的丝氨酸蛋白酶催化后续酶原成为活化蛋白酶。此酶级联反应导致每一步骤均放大后继步骤的效应。关于凝血级联反应的概述,参见"Thrombosis and Hemorrhage", J. Loscalzo 和 A. Schafer,编著, Blackwell Scientific Publications, Oxford, England(1994)一书的第一章。

虽然有效的血凝限制了损伤部位的血液损失,但血栓在静脉或动脉的不适当形成是残障和死亡的常见原因。异常凝血活性可以导致和/或源自病理或治疗,诸如心肌梗塞、不稳定型心绞痛、房性纤颤、中风、肾脏损害、经皮冠状动脉腔内成形术、播散性血管内凝血、败血症、肺栓塞和深静脉血栓形成。血凝块在人造器官、分流器和假体如人工心脏瓣膜外表面的形成也是成问题的。

中风，是导致死亡的主要原因，是造成永久性残废的常见原因。导致中风神经缺陷的急性灶性脑缺血，最频见于由血栓栓塞引起。血栓可由心源性病变和动脉粥样斑产生。原位血栓形成可发生于大的、脑外的脑供血血管。研究提示，脑动脉闭塞后存在一个有限时间间期，超过该间期，则发生明显的不可逆的神经元损伤和持久的神经缺陷。参见 *Stroke Therapy: Basic, Preclinical, and Clinical Directions*, ed. L.P. Miller, Wiley-Liss, Inc.(1999) 一书的第 14 章第 355-381 页。

目前，批准用于这些病理和其它血栓形成性及栓子性病症治疗的抗凝剂，包括硫酸化杂多糖肝素和低分子量(LMW)肝素。这些药物经胃肠外给药，通过激活凝血酶抑制剂、抗凝血酶 III 并使全部凝血因子失活而引起快速、完全的凝血抑制反应。

然而，由于潜伏期的存在，肝素和 LMW 肝素有其缺点。作为单纯压迫动作和伴随的与物理物体接触结果的失控性出血或者在手术部位的失控性出血，是主要的并发症，并在 1~7% 接受连续输液患者和 8~14% 接受间断快速浓注的患者中观察到了并发症。为了使这些风险降至最小，不断地采集血液样本以便能够持续监测体外凝血时间，这在实质上增加了治疗成本并且给患者带来不便。

另外，达到所需有效水平而不置患者于冒出血风险境地的治疗目标范围是狭窄的。该治疗范围是大约 1 至小于 3(g 肝素/ml 血浆，它导致激活的部分凝血激酶时间(aPTT)测定时间约 35 至约 100 秒。将肝素浓度提高至超过目标范围 3(g/ml 和浓度大于 4(g/ml，则测不到凝血活性。因此，必须给予密切关注以保证患者的血浆浓度在治疗范围之内。

另一获得批准的具有缓慢和长效作用的抗凝剂是华法令(warfarin)，是一种香豆素衍生物。华法令通过与凝血酶原维生素 K 依赖性翻译后修饰和其它维生素 K-依赖性凝血因子竞争而发挥作用。

在抗凝作用的一般情形下，对于华法令、肝素及 LMW 肝素来说，在稍高于治疗范围的浓度时，可以见到血液表现为不凝结。

在急性心肌梗塞(MI)时，溶栓治疗的主要目标包括梗塞血管的早期和持久再灌注。急性 MI 的现行疗法，既包括纤溶酶原激活物如组织纤溶酶原激活物(tPA)或链激酶，也包括抗凝剂如未分级肝素、低分子量肝素或直接凝血酶抑制剂或者抗血小板剂如阿司匹林或血小板糖蛋白 IIb/IIIa 阻断剂。

参见 Topol, *Am Heart J*, 136, S66-S68(1998)。这些治疗的联合, 是基于这样的观察: 凝块形成和溶解是动态过程, 而凝血酶活性和生成在闭塞性血栓形成之后以及在凝块溶解期间和之后仍在继续。见 Granger 等, *J Am Coll Cardiol*, 31, 497-505(1998)。

治疗急性 MI 的最适策略依然难以捉摸, 可利用的制剂和治疗方案则显示出正负两方面的特性。举例来说, 纤维蛋白-结合的凝血酶对于肝素所致的抑制作用不敏感(Becker 等, "Chemistry and Biology of Serpins", Plenum Press, New York(1997)一书的第 6 章), 而停止肝素治疗后凝血酶活性则表现出反弹性增加, 于是观察到中止肝素后 24 小时内再梗塞增加。见 Watkins 等, *Catheterization and Cardiovascular Diagnosis*, 44, 257-264(1998)and Granger, *Circulation*, 91, 1929-1935(1995)。而且, 抗血小板剂可能伴发出血或血小板减少症。

再有, 大量临床试验业已证实, 高剂量溶栓剂导致血浆止血标志(hemostatic marker)显著改变。见 Rao 等, *J Clin Invest*, 101, 10-14(1988); Bovill 等, *Ann Int Med*, 115, 256-265(1991); Neuhaus 等, *J Am Coll Cardiol*, 19, 885-891(1992)。尽管提高 tPA 浓度造成血凝块溶解增加, 但是这些止血标志的改变反映出溶栓治疗不利之处的增大, 特别是严重出血的发生。

在血栓栓塞性中风的情况下, 在出现中风症状的早期(3 小时内)实施溶栓治疗以预防不可逆损害。目前许可用于局部缺血和/或梗塞组织再灌注的溶栓剂, 包括纤溶酶原激活物 tPA、尿激酶和链激酶。然而, 溶栓治疗与严重的出血倾向有关, 在血栓栓塞性中风的溶栓治疗中, 主要担心的是治疗将通过诱发出血而使局部缺血性损伤恶化。

很显然, 存在着对在控制栓塞性病症中有效、同时又保持止血功能的抗血栓剂的需求。

发明概述

本发明一方面, 是治疗动物血栓栓塞后诱发的局部缺血的方法, 包括施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段。

本发明另一方面, 是治疗动物血栓栓塞后诱发的局部缺血的方法, 包括联合施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段和纤溶酶原激活物。

本发明的再一方面, 是在动物血栓栓塞后诱发局部缺血的治疗中降低

所需溶栓剂剂量的方法，包括联合施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段和溶栓剂。

本发明还一方面，是预防动物血栓栓塞性中风的方法，包括对具有发生血栓栓塞性中风风险的动物施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段。

附图简述

图 1 是描述含有鼠抗-因子 IX mAbs BC1 和 BC2 的正常人血浆滴定实验结果的图。

图 2 是描述含鼠抗-因子 IX mAbs 9E4(2)F4 和 11G4(1)B9 的正常人血浆滴定的实验结果的图。

图 3 是描述含鼠抗-因子 X mAbs HFXHC 和 HFXLC 以及鼠抗-因子 XI mAb HFXI 的正常人血浆滴定的实验结果的图。

图 4 是描述在大鼠颈动脉血栓形成模型中肝素、乙酰水杨酸和鼠因子 IX mabs 于 60 分钟时对激活的部分凝血激酶时间(aPTT)影响的实验结果的直方图。

图 5 是描述在大鼠颈动脉血栓形成模型中肝素、乙酰水杨酸和鼠因子 IX mabs 于 60 分钟时对凝血酶原时间影响的实验结果的直方图。

图 6 是描述大鼠颈动脉血栓形成模型中肝素、乙酰水杨酸和鼠因子 IX mabs 对颈动脉血流的闭塞影响的实验结果的直方图。

图 7 是描述在大鼠颈动脉血栓形成模型中肝素、乙酰水杨酸和鼠因子 IX mabs 对血栓重量影响的实验结果的直方图。

图 8 是描述在大鼠颈动脉血栓形成模型中肝素、鼠因子 IX mab BC2、嵌合因子 IX mab 和人源化因子 IX mAbs 于 60 分钟时对 aPTT 影响的实验结果的直方图。

图 9 是描述在大鼠颈动脉血栓形成模型中肝素、鼠因子 IX mab BC2、嵌合因子 IX mab 和人源化因子 IX mAbs 对血栓重量影响的实验结果的直方图。

图 10 是描述抗-因子 IX mab 和肝素对 tPA-介导的再灌注影响的实验结果的直方图。

图 11 描述抗-因子 IX mab 和肝素对颈动脉脉管开放作用(patency)影响的实验结果的直方图。

图 12 是描述抗-因子 IX mab 和肝素对恢复血流时间影响的实验结果的直方图。

图 13 描述 tPA 对止血参数、纤维蛋白原、纤溶酶原和抗纤溶酶的影响。

图 14 描述 tPA、肝素和抗-因子 IX mab 对 aPTT 的影响。

图 15 描述在血栓栓塞性中风中 tPA、SB 249417、tPA 与 SB 249417 联合对合计的(aggregate)平均梗塞体积的影响。

发明详述

在本说明书中引证的所有出版物,包括但不限于专利和专利申请,均如前面那样引入本文作为参考。

本发明提供针对凝血因子的多种抗体、改变的抗体及其片段,它们以自限性中和活性(self-limiting neutralizing activity)为特征。优选地,凝血因子来自固有的或普通的凝血途径。更优选,抗-凝血因子抗体是抗-因子 IX、抗-因子 IXa、抗-因子 X、抗-因子 Xa、抗-因子 XI、抗-因子 XIa、抗-因子 VIII、抗-因子 VIIIa、抗-因子 V、抗-因子 Va、抗-因子 VII、抗-因子 VIIa、抗凝血酶或抗-凝血酶原。尤其优选的是抗-因子 IX 抗体。例举的抗-凝血因子抗体,是针对人因子 IX 的人源化单克隆抗体 SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB 249417、SB 257731 和 SB 257732, 针对人因子 IX 的嵌合单克隆抗体 ch α FIX、针对人因子 IX 和/或因子 IXa 的鼠单克隆抗体 BC1、BC2、9E4(2)F4, 和 11G4(1)B9, 或者分别针对人因子 X 和 XI 的小鼠单克隆抗体 HFXLC 和 HFXI。尤其优选的是抗-人因子 IX 单克隆抗体 SB 249417。

通过惯常的杂交瘤技术、噬菌体展示组合文库、免疫球蛋白链改组和人源化技术以产生新的自限性中和抗体,可以制备本发明抗体。还包括在内的是具有自限性中和活性的全长人 mAbs。这些产物对于与下述有关的血栓性和栓子性病症的治疗和药物组合物非常有用: 心肌梗塞、不稳定型心绞痛、房性纤颤、中风、肾脏损害、肺栓塞、深静脉血栓形成、经皮腔内冠状血管成形术、播散性血管内凝血、败血症、人造器官、分流器或假体。

本文所用术语"自限性中和活性",是指能与人凝血因子、优选是来自固有和普通途径的凝血因子相结合并以使得产生凝血的有限调变(limited modulation)之方式抑制血栓形成的抗体的活性,所述凝血因子包括因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa 和 V/Va、VII/VIIa 和凝血酶/凝血酶原。"

凝血的有限调变"定义为：凝血时间增加(通过激活的部分凝血激酶时间(activated partial thromboplastin time,aPTT)延长测得)，尽管单克隆抗体浓度增加血浆却保持 aPTT 达到其最大值的可凝性。凝血的此种有限调变，与增加肝素浓度时血浆呈现不凝性并显示无限 aPTT 的情形形成对照。优选地，本发明方法的最大 aPTT 值落入肝素治疗范围之内。最优选地，最大 aPTT 在约 35 秒至约 100 秒范围内，此相当于正常对照 aPTT 值的约 1.5 ~ 约 3.5 倍。在本发明一个实施方案中，aPTT 延长而没有显著的凝血酶原时间(PT)延长。

术语"联合"，是指单个疗程中一种治疗剂在施用另一种治疗剂之前、之后或者与之一同施用。

"改变的抗体"，是指由改变了的免疫球蛋白编码区编码的蛋白，它可以通过在一个选择的宿主细胞中进行表达而获得。此类改变的抗体是基因工程抗体(例如，嵌合的或人源化抗体)或者缺少全部或部分免疫球蛋白恒定区的抗体片段，例如 Fv、Fab、Fab'或 F(ab')₂ 等。

"改变的免疫球蛋白编码区"，是指编码本发明改变的抗体的核苷酸序列。当改变的抗体是 CDR-移植的或人源化抗体时，将编码非-人免疫球蛋白免疫球蛋白互补决定区(CDRs)的序列插入到含有人可变框架区序列的第一个免疫球蛋白配偶体(partner)中。任选地，第一个免疫球蛋白配偶体可操作地与第二个免疫球蛋白配偶体相连接。

"第一个免疫球蛋白配偶体"，是指编码人框架区或者人免疫球蛋白可变区的核苷酸序列，在所述区中，天然(或天然发生的)CDR-编码区被供体抗体的 CDR-编码区所替换。人可变区可以是免疫球蛋白重链、轻链(或者重、轻二链)、其类似物或功能片段。此类位于抗体(免疫球蛋白)可变区内的 CDR 区，可以用本领域已知的方法予以测定。譬如，Kabat 等在"Sequences of Protein of Immunological Interest", 4th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health(1987)中，公开了寻找 CDRs 的原则。另外，已知计算机程序对于确定 CDR 区/结构非常有用。

"第二个免疫球蛋白配偶体"，是指编码蛋白或肽的另一核苷酸序列，第一个免疫球蛋白配偶体就是与该第二个免疫球蛋白配偶体在框架融合或者通过任选的传统的接头序列相融合(即，可操作地联接)。优选地，它是免疫球蛋白基因。第二个免疫球蛋白配偶体可包括编码相同(即同源的，第一和

第二改变的抗体来源相同)或另一(即异源的)目的(interest)抗体整个恒定区的核苷酸序列。它可以是免疫球蛋白重链或轻链(或者作为单个多肽一部分的重、轻二链)。第二个免疫球蛋白配偶体并不局限于具体免疫球蛋白种类或者同种型。而且,第二个免疫球蛋白配偶体可包括免疫球蛋白恒定区的一部分,诸如在 Fab, 或 F(ab)₂(即,适当人恒定区或框架区的不连续部分)中发现的那些。此免疫球蛋白配偶体也可包括编码暴露在宿主细胞外表面的膜内在蛋白的序列(例如作为噬菌体展示文库的一部分),或编码分析或诊断检测所用蛋白的序列(例如辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶)等。

术语 Fv、Fc、Fd、Fab、Fab'或 F(ab')₂ 使用其标准含义,参见 Harlow 等, in "Antibody: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory,(1988)。

如本文所用的那样,"基因工程抗体"描述一类改变的抗体,即全长合成抗体(例如与抗体片段相对的嵌合或人源化抗体),其中所选受体抗体的轻链和/或重链可变域的一部分被来自一个或多个供体抗体的类似部分替换,所述供体抗体对所选抗原表位具有特异性。举例来说,此类分子可包括以人源化重链与未修饰轻链(或嵌合轻链)结合(或反之亦然)为特征的抗体。基因工程抗体也可以改变编码受体抗体轻链和/或重链可变域框架区的核苷酸序列以便保持供体的抗体结合特异性为特征。这些抗体可包括用来自本文所述供体抗体的 CDRs 替换来自受体抗体的一个或多个或 CDRs(优选所有 CDRs)。

"嵌合抗体",是指一类含有与源自受体抗体轻链和重链恒定区相结合的源自供体抗体的天然存在可变区(轻链和重链)的基因工程抗体。

"人源化抗体",是指一类具有源自非-人供体免疫球蛋白 CDRs、分子的其余免疫球蛋白衍生部分来自一种或多种人免疫球蛋白的基因工程抗体。另外,框架支持残基可以改变以保存结合亲合性。参见例如 Queen 等, *Proc Natl Acad Sci USA*, 86, 10029-10032(1989), Hodgson 等, *Bio/Technology*, 9, 421(1991)。

术语"供体抗体",是指为第一免疫球蛋白配偶体贡献其可变区、CDRs 或其功能片段或其类似物的核苷酸序列,以便提供改变的免疫球蛋白编码区并导致表达具有供体抗体的抗原特异性和中和活性的改变抗体的单克隆或重组抗体。适用于本发明的一个供体抗体是命名为 BC2 的鼠自限性中和

单克隆抗体。其它适宜供体抗体包括命名为 BC1、9E4(2)F4、11G4(1)B9、HFXLC 和 HFXI 的鼠自限性中和单克隆抗体。

术语"受体抗体",是指与供体抗体异源的的单克隆或重组抗体,它为第一免疫球蛋白配偶体提供编码其重链和/或轻链框架区和/或其重链和/或轻链恒定区的全部或部分的核苷酸序列。优选地,人抗体是受体抗体。

"CDRs"定义为抗体互补决定区氨基酸序列,它们是免疫球蛋白重链和轻链的超变区。参见例如 Kabat 等, "Sequences of Protein of Immunological Interest", 4th Ed., U.S. Department of Health and human Services, National Institutes of Health(1987)。在免疫球蛋白的可变部分,有 3 个重链和 3 个轻链 CDRs 或 CDR 区。因此,本文中"CDRs"是指所有 3 个重链 CDRs, 或所有 3 个轻链 CDRs 或者所有的重链和轻链 CDRs, 如果合适的话。

CDRs 为抗体与抗原或者抗原表位结合提供大多数接触残基。本发明目标 CDRs 来自于供体抗体可变重链和轻链序列,并包括天然存在 CDRs 的类似物,所述类似物也具有或者保持所衍自的供体抗体相同的抗原结合特异性和/或中和能力。

"具有抗原结合特异性或者中和能力",是指例如,尽管 mAb BC2 以一定水平的自限性中和活性为特征,但是由适宜结构环境中 BC2 核苷酸序列编码的 CDR 可以具有低的或者高的活性。预计 BC2 的 CDRs 在该环境中仍然与 BC2 一样识别相同的表位(一个或多个表位)。

"功能片段"是保持与所来自的抗体相同抗原结合特异性和/或中和活性的部分重链或轻链可变序列(例如,免疫球蛋白可变区氨基或羧基末端小的缺失)。

"类似物"是由至少一个氨基酸修饰的氨基酸序列,其中所述修饰可以是化学修饰或者是少数氨基酸(即不超过 10 个氨基酸)取代或重排,所述修饰允许氨基酸序列保持未修饰序列的生物学特性,例如抗原特异性和高亲合性。例举的类似物包括通过取代建构,从而在 CDR-编码区内或编码区附近产生一定的核酸内切酶限制性酶切位点的沉默突变。

类似物也可以等位变异(allelic variations)的方式出现。"等位变异或修饰"是编码本发明氨基酸或肽序列的核苷酸序列的改变。此变异或修饰可以缘于遗传密码的简并或者是特意进行工程改造的,以提供所需的特性。这些变异或修饰可以致使或者不致使任何编码的氨基酸序列发生改变。

术语"效应剂",是指非-蛋白载体分子,所述改变的抗体、和/或天然或合成的供体抗体轻链或重链或供体抗体的其它片段通过常规手段与之结合。此类非-蛋白载体可包括诊断领域中使用的常规载体,例如聚苯乙烯或其它塑料珠,多糖,例如 BIAcore(Pharmacia)系统中所用的,或者在医疗领域中有用的和对人与动物施用安全的其它非-蛋白质。其它效应剂可包括螯合重金属原子或放射性同位素的大环化合物(macrocyclic)。此类效应剂对增加改变的抗体的半衰期是有用的,例如聚乙二醇。

为用于构建本发明抗体、改变抗体及片段,可使用非-人种属如牛、羊、猴、鸡、啮齿类(例如鼠和大鼠)以产生通过人凝血因子,优选因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原或来自它们的肽表位进行呈递所需的免疫球蛋白。使用常规的杂交瘤技术以提供将非-人 mAb 分泌为各自的凝血因子的杂交瘤细胞株。然后,如实施例部分所描述的那样,使用包被 96-孔板的因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原,或者使用与抗生蛋白链菌素包被的板相结合的生物素酰化因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原,进行此类杂交瘤的结合筛选。或者,用本领域技术人员已知或本发明所用的技术产生全长人 mAbs。

本发明一示范性、自限性中和 mAb 是 mAb BC2,它是一种可用于发展嵌合或人源化分子的鼠抗体。BC2 mAb 以对凝血时间的自限性抑制活性为特征。如 aPTT 试验测定的那样,BC2 mAb 对凝血时间的作用显示出约 100 秒的最大值。BC2 mAb 也结合因子 IXa,抑制因子 IX 向 IXa 转变并抑制因子 IXa 活性。二价金属辅因子是活性所需的,mAb 对于 Ca^{2+} 显示出较 Mn^{2+} 更大的偏爱。在 aPTT 试验中,观察到的 IC_{50} 为约 50 nM。BC2 mAb 显示出与大鼠的种属-交叉反应性而且是 IgG2a 同位型。

其它所需供体抗体是鼠 mAbs,BC1、9E4(2)F4 和 11G4(1)B9。这些 mAbs 以对凝血时间的自限性抑制活性为特征。如 aPTT 试验中测得的那样,这些 mAbs 对凝血时间作用显示出的最大值为:对 9E4(2)F4 约 90~100 秒,对 11G4(1)B9 约 80 秒。BC1 mAb 也结合因子 IXa,抑制因子 IXa 活性但是不抑制因子 IX 向 IXa 的转变。其活性不需要金属辅因子。在 aPTT 试验中观察到 BC1 的 IC_{50} 为约 35 nM。BC1 mAb 是 IgG1 同位型。

另一种以对凝血时间自限性抑制活性为特征的所需的供体抗体是鼠

mAb HFXLC。如 aPTT 试验测得的那样, HFXLC mAb 对凝血时间的作用显示出约 50~60 秒的最大值。HFXLC mAb 结合因子 X 轻链, 并抑制因子 X/Xa 活性。aPTT 试验中观察到的 IC_{50} 是约 20 nM。

另一种以对凝血时间自限性抑制活性为特征的所需的供体抗体是小鼠 mAb, HFXI。如 aPTT 试验测得的那样, HFXI mAb 对凝血时间的作用显示出约 100 秒的最大值。HFXLC mAb 结合因子 XI 并抑制因子 XI/XIa 活性。在 aPTT 试验中观察到的 IC_{50} 是约 30 nM。

尽管不意欲受到有关作用机理的任何具体理论的限制, 但是这些 mAbs 看起来通过非竞争性或者变构机理来调节凝血, 因而仅达到了部分抑制作用。

本发明不限于使用 BC1、BC2、9E4(2)F4、11G4(1)B9、HFXLC、HFXI 或它们的超变(即 CDR)序列。因而, 任何其它以自限性中和活性为特征的适合的高亲和力抗体和相应的 CDRs 可被替换。在下面描述中, 将 BC1、BC2、9E4(2)F4、11G4(1)B9、HFXLC 或 HFXI 通称为供体抗体, 这样做只是为了使说明和描述简明。

本发明也包括使用衍生自针对适合的人凝血因子或辅因子的 mAbs 的 Fab 片段或 $F(ab')_2$ 片段。这些片段作为抗凝血因子, 优选抗因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原的具有自限性中和活性的试剂是非常有用的。Fab 片段包含整个轻链和重链的氨基末端部分。 $F(ab')_2$ 片段由通过二硫键结合在一起的 2 个 Fab 片段所形成。mAbs BC1、BC2、9E4(2)F4、11G4(1)B9、HFXLC 和 HFXI 以及其它类似的高亲和力抗体, 提供可用常规方法得到的 Fab 片段和 $F(ab')_2$ 片段, 所述常规方法例如用适当的蛋白水解酶, 木瓜蛋白酶和/或胃蛋白酶裂解 mAb, 或采用重组方法。这些 Fab 和 $F(ab')_2$ 片段本身作为治疗剂、预防剂或诊断剂非常有用, 并且作为包括对于形成本文所述重组或人源化抗体有用的可变区和 CDR 序列的序列供体是非常有用的。

通过组合噬菌体文库(参见例如 Winter 等, *Ann Rev Immunol*, 12,433-455(1994)) 或通过免疫球蛋白链改组(参见例如 Marks 等, *Bio/Technology*, 10, 779-783(1992))(涉及到的这两篇文献以其全部在此引入作为参考), 可以构建 Fab 和 $F(ab')_2$ 片段, 其中使来自选择抗体(例如 BC2)的 Fd 或 v_H 免疫球蛋白与轻链免疫球蛋白的所有组成成分 v_L (或 v_K)相结

合,以形成新的 Fabs。相反,使来自选择抗体的轻链免疫球蛋白与重链免疫球蛋白的所有组成成分 V_H (或 Fd)结合,以形成新的 Fabs。通过使 mAb BC2 的 Fd 与轻链免疫球蛋白的所有组成成分结合,可以得到自限性中和因子 IX Fabs。因此,人们能够从链改组技术中回收(recover)具有独特序列(核苷酸和氨基酸)的中和 Fabs。

上述 mAb BC2 或其它抗体可以捐献序列,如可变重链和/或轻链肽序列、框架序列、CDR 序列、功能片段和它们的类似物,以及编码它们的在设计和得到以供体抗体抗原结合特异性为特征的各种改变抗体中有用的核苷酸序列。

本发明编码可变轻链和重链肽序列的核苷酸序列或其或片段,对于在编码 CDRs 或框架区的核苷酸序列内特异性变化的诱变引入,和对于使产生的修饰或融合的核苷酸序列整合入表达质粒中是非常有用的。例如,框架和 CDR-编码区核苷酸序列的沉默取代,可用于产生便于插入诱变的 CDR 和/或框架区的限制性酶切位点。这些 CDR-编码区可用于构建本发明的人源化抗体。

BC2 重链可变区的核酸和氨基酸序列列于 SEQ ID NO: 5 和 7。来自此区的 CDR 序列列于 SEQ ID NO: 8、9 和 10。

BC2 轻链可变区的核酸和氨基酸序列列于 SEQ ID NOs: 6 和 11。来自该区的 CDR 序列列于 SEQ ID NOs: 12、13 和 14。

把遗传密码的简并考虑进来,可以构建编码本发明可变重链和轻链氨基酸序列和 CDR 序列以及它们的功能片段和具有相同的供体抗体抗原结合特异性的类似物的各种编码序列。编码可变链肽序列或 CDRs 的本发明分离的核苷酸序列或其片段,可用于产生改变的抗体,例如本发明嵌合或人源化抗体或当与第二个免疫球蛋白配偶体可操作地结合时的其它基因工程抗体。

应当指出的是,除了编码本文所述改变抗体和抗体部分的核苷酸序列外,其它这样的核苷酸序列也在本发明考虑之中,诸如那些与天然 CDR-编码序列互补的或与 CDR-编码区附近修饰的人框架区互补的核苷酸序列。有用的 DNA 序列包括那些在严谨条件下与该 DNA 序列杂交的序列,见 T. Maniatis 等, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory(1982), pp. 387-389。此种严谨杂交条件的一个实例是, 65°C

4XSSC, 接着于 65°C 用 0.1XSSC 洗涤 1 小时。或者, 示范性的严谨杂交条件是, 50%甲酰胺, 42°C 4XSSC。优选地, 这些杂交 DNA 序列长度上至少约 18 个核苷酸, 即大约 CDR 的大小。

改变的免疫球蛋白分子可编码改变的抗体, 后者包括基因工程抗体如嵌合抗体和人源化抗体。一种所期望的改变的免疫球蛋白编码区, 包含编码具有因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原抗体, 优选如本发明提供的高亲和力抗体的抗原特异性的肽的 CDR-编码区, 所述编码区插入到第一免疫球蛋白配偶体诸如人框架或人免疫球蛋白可变区。

优选地, 第一免疫球蛋白配偶体可操作地与第二免疫球蛋白配偶体连接。第二个免疫球蛋白配偶体定义同上, 并可包括编码有关第二抗体区的序列, 例如 Fc 区。第二免疫球蛋白配偶体也可包括编码另一免疫球蛋白的序列, 轻链或重链恒定区在读框内或者通过联结子序列而与所述另一免疫球蛋白序列融合。针对凝血因子的功能片段或类似物的基因工程抗体, 也可被设计引出与相同抗体的结合性增强。

第二个免疫球蛋白配偶体也可与上述定义的包括非-蛋白载体的效应剂结合, 第二个免疫球蛋白配偶体可以通过常规方式可操作地与效应剂相连接。

第二个免疫球蛋白配偶体(例如抗体序列)和效应剂之间的融合或连接可通过任何适宜方法来完成, 例如通过常规的共价或离子键、蛋白质融合或异-双功能交联剂如碳二亚胺、戊二醛等。此类技术为本领域所熟知并描述在常用化学和生物化学课文中。

另外, 只是为第二个免疫球蛋白配偶体和效应剂之间提供所需空间量的常规接头序列也可构建在改变的免疫球蛋白编码区中。此类联结子的设计也为本领域技术人员所熟知。

此外, 可用本领域已知的技术修饰本发明分子的信号序列以增强表达。

优选的改变的抗体包含具有 mAb BC2 的抗原结合特异性的可变重链和/或轻链肽或蛋白序列, 例如 V_H 和 V_L 链。本发明还期望的另一改变的抗体, 是以含有鼠抗体分子 BC2 重链和/或轻链可变区至少一个, 优选全部 CDRs 的氨基酸序列为特征的抗体, 所述鼠抗体分子 BC2 的其余序列来自人来源或是其功能片段或类似物。

在另一个实施方案中,本发明改变的抗体已经附着上其它试剂。譬如,重组 DNA 技术用于产生本发明的改变的抗体,其中完全抗体分子的 Fc 片段或 CH2 CH3 结构域已被酶或其它可检测分子替换(即多肽效应子或者报导分子(reporter molecular))。

第二个免疫球蛋白配偶体也可以可操作地与异源于含 CDR 序列的非-免疫球蛋白肽、蛋白或其片段相连接,所述含 CDR 序列对凝血因子,优选因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原具有抗原特异性。产生的蛋白显示出非-免疫球蛋白抗原特异性和表达特征(characteristic)。融合配偶体特征可以是例如功能性特征,如另一结合或受体结构域,或治疗特征,如果融合配偶体本身是治疗性蛋白的话,或另外的抗原特征。

本发明另一期望的蛋白可包括完整抗体分子、具有全长重链和轻链或者它们的任何不连续片段如 Fab 或 F(ab')₂ 片段、重链二聚体或它们的任何小的重组片段如 F_v、或者单链抗体(SCA)或者任何与所选供体 mAb(例如 mAb BC1、BC2、9E4(2)F4、11G4(1)B9、HFXLC 或 HFXI)具有相同特异性的其它分子。此类蛋白可以改变的抗体形式使用或者以其未融合形式使用。

每当第二免疫球蛋白配偶体来自不同于供体抗体的抗体时,例如免疫球蛋白框架或恒定区的任何同位型或种类(class),就产生基因工程抗体。基因工程抗体可包括来自一个来源(例如受体抗体)的免疫球蛋白(Ig)恒定区和可变框架区,来自供体抗体的一个或多个(优选所有的)CDRs,例如本文所述的抗-因子 IX/IXa、X/Xa、XI/XIa、VIII/VIIIa、V/Va、VII/VIIa 或凝血酶/凝血酶原抗体。另外,可以进行对受体 mAb 轻链和/或重链可变结构域框架区在核酸或氨基酸水平或者供体 CDR 区的改变,例如缺失、取代或添加,以保持供体抗体抗原结合特异性。

此类基因工程抗体设计使用凝血因子 mAb(任选地如前所述进行修饰)可变重链和/或轻链的一个(或者二者均用)或者一个或多个重链或轻链 CDRs。本发明基因工程抗体显示出自限性中和活性。

此基因工程抗体可包括人源化抗体或嵌合抗体,所述人源化抗体包含选择的人免疫球蛋白或亚型的框架区,所述嵌合抗体含有与凝血因子抗体功能片段融合的人重链和轻链恒定区。适合的人(或其它动物)受体抗体可以通过与供体抗体的核苷酸和氨基酸序列同源性而选自常规数据库例如

KABAT® 数据库、Los Alamos 数据库和 Swiss 蛋白数据库。以与供体抗体框架区同源性(基于氨基酸)为特征的人抗体,可能适宜于为插入供体 CDRs 提供重链可变框架区。可按照类似方式选择能够贡献轻链可变框架区的适宜受体抗体。应当指出,受体抗体重链和轻链并非必需来自相同的受体抗体。

优选地,异源框架和恒定区选自人免疫球蛋白类(class)和同位型,如 IgG(亚型 1 至 4)、IgM、IgA 和 IgE。然而,受体抗体不必要仅包含人免疫球蛋白蛋白序列。举例来说,可以购建这样一个基因,其中编码人免疫球蛋白链一部分的 DNA 序列与编码非-免疫球蛋白氨基酸序列如多肽效应子或报导分子的 DNA 融合。

特别优选的人源化抗体包含插入到选择的人抗体序列框架区上的 BC2s 的 CDRs。为中和人源化抗体,来自因子 IX 抗体重链和/或轻链可变区的一个、两个或优选三个 CDRs 被插入到选择的人抗体序列的框架区中,取代后者抗体的天然 CDRs。

优选地,在人源化抗体中,人重链和轻链的可变域均已经通过一个或多个 CDR 替换而被基因工程改造。使用全部 6 个 CDRs 或小于 6 个 CDRs 的各种组合是可能的。优选 6 个 CDRs 被全部替换。使用来自人受体抗体未修饰的轻链作为轻链,仅仅在人重链替换 CDRs 是可能的。而且,依靠常用抗体数据库,相容性轻链还可以选自另一个人的抗体。基因工程抗体的其余部分可来自任何适宜的受体人免疫球蛋白。

因此,基因工程人源化抗体优选具有天然人抗体结构或其片段,并且具有对于有效治疗应用而言所需的结合特性,所述治疗例如治疗人血栓性和栓子性疾病。

最优选地,人源化抗体具有 SEQ ID NO: 31、52、或 89 所列出的重链氨基酸序列。也最优选的是,人源化抗体具有 SEQ ID NO: 44、57、62、74、78 或 99 所示轻链氨基酸序列。特别优选人源化抗体 SB 249413,其重链具有 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列 而其轻链具有 SEQ ID NO: 44 所示氨基酸序列。也特别优选人源化抗体 SB 249415,其重链具有 SEQ ID NO: 52 所示氨基酸序列而其轻链 SEQ ID NO: 57 所示氨基酸序列。还特别优选人源化抗体 SB 249416,其重链具有 SEQ ID NO: 52 所示氨基酸序列而轻链具有 SEQ ID NO: 62 所示氨基酸序列。还特别优选人源化抗体 SB 249417,其重

链具有 SEQ ID NO: 52 所示氨基酸序列和轻链具有 SEQ ID NO: 74 所示氨基酸序列。还特别优选人源化抗体 SB 257731, 其重链具有 SEQ ID NO: 52 所示氨基酸序列和轻链具有 SEQ ID NO: 78 所示氨基酸序列。还特别优选人源化抗体 SB 257732, 其重链具 SEQ ID NO: 89 所示氨基酸序列和轻链具有 SEQ ID NO: 99 所示氨基酸序列。

本领域技术人员应当懂得, 不必影响供体抗体(即类似物(analog))特异性和高亲和力, 通过改变可变域氨基酸, 可将基因工程抗体进一步修饰。可以预见, 重链和轻链氨基酸可被可变域框架或 CDRs 或者框架和 CDRs 的其它氨基酸取代。这些取代可由来自特定亚组的供体抗体或共有序列提供。

另外, 可改变恒定区以增强或降低本发明分子的选择特性。譬如, 二聚化, 与 Fc 受体结合, 或结合并激活补体的能力(参见例如, Angal 等, *Mol Immunol*, 30, 105-108(1993), Xu 等, *J Biol Chem*, 269, 3469-3474(1994), Winter 等, EP 307434-B)。

改变的抗体是嵌合抗体的话, 它有别于前述人源化抗体, 因为它提供全部的非-人供体抗体重链和轻链可变区, 包括框架区, 与重链和轻链的人免疫球蛋白恒定区相结合。可以预见到, 相对于本发明人源化抗体而言保留了另外的非-人序列的嵌合抗体将会在人体引发显著的免疫应答。

此类抗体在预防和治疗下面讨论的血栓和栓子性病症中特别有用。

优选地, 通过下述过程, 可变轻链和/或重链序列和 mAb BC2 或其它适宜供体 mAbs(如 BC1、9E4(2)F4、11G4(1)B9、HFXLC、HFXI)的 CDRs 以及它们的编码核苷酸序列, 用于构建本发明的改变的抗体, 优选人源化抗体。也使用相同或类似的技术以产生本发明的其它实施方案。

按照常规克隆产生选择供体 mAb(例如小鼠抗体 BC2)的杂交瘤, 通过本领域已知的技术获得重链和轻链可变区的 DNA, 例如 Sambrook 等在 "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory(1989)中描述的技术。使用多聚核苷酸引物和反转录酶, 得到含有至少 CDR-编码区的 BC2 的可变重链和轻链区和为保持供体 mAb 结合特异性以及保持来自人免疫球蛋白抗体链的免疫球蛋白-来自部分所需的受体 mAb 轻链和/或重链可变域框架区。使用已知数据库通过与其它抗体比较来鉴定 CDR-编码区。

接着,制备小鼠/人嵌合抗体并分析结合能力。此嵌合抗体包含与人 Ig 两条链恒定区结合的全部非-人供体抗体 V_H 和 V_L 区。

使用计算机数据库(例如 KABAT®)鉴定来自人抗体重链可变区的同源性框架区,并选择与 BC2 具有同源性的人抗体作为受体抗体。采用在框架区中任选核苷酸取代以整合入限制性酶切位点的手段,设计人抗体框架内含有 BC2 CDR-编码区的合成的重链可变区序列。然后,使用长的合成寡聚体来合成设计的序列。或者,设计的序列通过重叠寡核苷酸来合成、通过聚合酶链式反应(PCR)进行扩增并且矫正错误。可按类似方式设计适宜的轻链可变框架区。

人源化抗体可来自嵌合抗体,或优选地,通过将来自重链和轻链的供体 mAb CDR-编码区适当地插入选择的重链和轻链框架内而合成得到。或者,使用标准诱变技术来制备本发明人源化抗体。因此,产生的人源化抗体含有人框架区和供体 mAb CDR-编码区。接着可进行框架残基的操作。产生的人源化抗体可在重组宿主细胞例如 COS、CHO 或骨髓瘤细胞中表达。对其它适宜的因子 IX-特异性或其它凝血因子-特异性、自限性、中和、高亲和力、非-人抗体使用该项技术,可以制得其它人源化抗体。

通过把改变抗体的编码序列与常规调节控制序列可操作地结合,产生常规的表达载体或重组质粒,所述常规调节控制序列能够控制在宿主细胞中复制和表达,和/或由宿主细胞的分泌。调节序列包括启动子序列(例如 CMV 启动子)和信号序列(可以来自其它已知抗体)。类似地,可以产生具有编码互补性抗体轻链或重链的 DNA 序列的第二个表达载体。优选地,为尽可能确保每一个多肽链被功能性表达,除有关的编码序列和选择标志之外,此第二个表达载体与第一个表达载体完全相同。或者,改变的抗体的重链和轻链编码序列存在于单个载体中。

使用常规技术,将选择的宿主细胞与第一和第二载体共转染(或仅用一个载体转染)以产生本发明的转染宿主细胞,其同时包含重组或合成的轻链和重链。然后,用常规技术培养转染细胞来产生本发明的基因工程抗体。通过适当的实验,例如 ELISA 或 RIA,把包括重组重链和/或轻链相结合的人源化抗体从培养物中筛选出来。类似的常规技术可用于构建其它本发明的改变抗体和分子。

本发明方法和组分构建物中使用的适于克隆和亚克隆步骤的载体,可

由本领域技术人员加以选择。譬如,可使用 pUC 克隆载体系列,如 pUC19,可自供应商商购得到,所述供应商如 Amersham 或 Pharmacia。另外,能够迅速复制、具有丰富克隆位点和选择性基因(例如抗生素抗性)并容易操纵的任何载体,均可用于克隆。因此,在本发明中,克隆载体的选择并不是限制因素。

类似地,用于表达本发明基因工程抗体的载体,可由本领域技术人员从任何常规载体中予以选择。载体也含有指导异源 DNA 序列在选择的宿主细胞中复制和表达的选择的调节序列(如 CMV 启动子)。这些载体含有上述 DNA 序列,其编码基因工程抗体或改变的免疫球蛋白编码区。另外,载体可以整合选择的为便于操作通过插入所需限制性酶切位点而修饰的免疫球蛋白序列。

表达载体也以适于扩增表达异源 DNA 序列的基因为特征(例如哺乳动物二氢叶酸还原酶基因(DHFR))。其它优选的载体序列包括聚腺苷酸信号序列,如来自牛生长激素(BGH)和 β 球蛋白启动子序列(betaglopro)。可用本领域熟知的技术合成对于本发明有用的表达载体。

通过已知的引导重组 DNA 产物在选择宿主中表达和/或分泌所用的方法,可以从商业或天然来源或合成得到此类载体的组分,例如复制子、选择基因、增强子、启动子,信号序列等。为了此目的,也可选择其它无数类型的为本领域所知的用于哺乳动物、细菌、昆虫、酵母和真菌表达的适宜表达载体。

本发明也包括用含有基因工程抗体或其改变的免疫球蛋白分子编码序列的重组质粒转染了的细胞系。对于此类克隆载体克隆和其它操作有用的宿主细胞,也是常规的。然而,最期望来自各种大肠杆菌株的细胞用于本发明构建改变的抗体中的克隆载体的复制和其它步骤。

表达本发明基因工程抗体或改变的抗体的适宜的宿主细胞或细胞系,优选哺乳动物细胞如 CHO、COS(纤维母细胞(例如 3T3))和髓样细胞,更加优选 CHO 或髓样细胞。可以使用人细胞,这样使得分子被用人糖基化模式予以修饰。或者,可以使用其它真核细胞系。适宜哺乳动物宿主细胞的选择,以及转化、培养、扩增、筛选、产物生产和纯化的方法,均为本领域所已知。参见例如 Sambrook 等,出处同上。

证明细菌细胞作为适宜表达本发明重组 Fabs 的宿主细胞是非常有用

的(参见例如, Plückthun, A., *Immunol Rev*, 130, 151-188(1992))。然而, 由于在细菌细胞中表达的蛋白呈未折叠或不适当的折叠形式或呈非-糖基化形式的倾向, 因此在细菌细胞中产生的任何重组 Fab 将不得不进行保留抗原结合能力的筛选。如果由细菌细胞表达的分子以正确折叠的形式呈现, 那么该细菌细胞则是所需的宿主。譬如, 表达所用各种 *E. coli* 株作为宿主细胞是生物工程领域众所周知的。也可使用各种枯草芽孢杆菌株、链霉菌属、其它细菌等。

如果需要, 对于本领域技术人员已知的酵母株以及昆虫细胞(例如果蝇属(*Drosophila*)和鳞翅类(*Lepidoptera*))和病毒性表达系统也可用作宿主细胞。参见例如 Miller 等, *Genetic Engineering*, 8, 277-298, Plenum Press(1986) 并在此引入作为参考。

构建本发明载体的一般方法、产生本发明宿主细胞所需的转染方法和从该宿主细胞产生本发明改变的抗体所需的培养方法, 均是常规技术。同样, 本发明改变的抗体一旦产生, 则可以按照本领域的标准技术而从细胞培养物中纯化出来, 所述技术包括硫酸铵沉降、亲和柱、柱层析、凝胶电泳等。这些技术在本领域技术人员掌握范围之内并且不限制本发明。

另一表达人源化抗体的方法, 可利用转基因动物中的表达, 例如美国专利 4,873,316 所描述的方法。该方法涉及使用动物酪蛋白启动子的表达系统, 所述酪蛋白启动子转基因性地整合进哺乳动物中, 使雌性动物在其乳汁中产生所需的重组蛋白。

基因工程抗体一旦由所需方法产生, 接着就要使用适当的试验检测抗体的体外活性。目前, 传统的 ELISA 试验模式用于定性和定量评定基因工程抗体与因子 IX 或其它适合凝血因子的结合。另外, 其它体外试验也用于证实中和效力, 继之后, 进行人临床研究评价基因工程抗体在体内的持久性(不管通常的清除机制)。

按照所述的由 BC2 制备人源化抗体的方法, 本领域技术人员也可由本文所述其它供体抗体、可变区序列和 CDR 肽构建人源化抗体。可以产生具有潜在可能性地被基因工程抗体受体识别为"自身"可变区框架的基因工程抗体。对可变区框架小的修饰, 可以引起抗原结合的大的增加, 而对受体没有可估量的增加的免疫原性。此类基因工程抗体可优选治疗人凝血因子-介导的病症。此类抗体对于诊断这些病症也是非常有用的。

本发明也涉及抑制动物特别是人血栓形成的方法，方法包括联合施用有效剂量的具有自限性中和活性的抗-凝血因子单克隆抗体与纤溶酶原激活物。联合治疗增加亚-最适浓度纤溶酶原激活物时的血栓溶解，减少恢复血流的时间和增加血管再灌注的频率和总持续时间。与肝素相反，联合治疗不显著扰乱正常的止血功能和节约(spare)纤维蛋白原、纤溶酶原和 α -2-抗纤溶酶水平。因此，本发明也涉及减少在治疗动物血栓形成中所需溶栓剂剂量的方法，包括与溶栓剂联合施用特异靶向于固有凝血途径的组分的抗凝剂。

优选地，凝血因子来自固有的或普通的凝血途径。最优选地，抗-凝血因子单克隆抗体是抗-因子 IX、抗-因子 IXa、抗-因子 X、抗-因子 Xa、抗-因子 XI、抗-因子 XIa、抗-因子 VIII、抗-因子 VIIIa、抗-因子 V、抗-因子 Va、抗-因子 VII、抗-因子 VIIa、抗凝血酶或抗-凝血酶原。MAb 可包括一种或多种本文所述基因工程抗体或改变的抗体或者它们的片段。

优选地，纤溶酶原激活物是 tPA、链激酶、尿激酶。特别优选的是 tPA。也优选在例如 Tachias and Madison, *J Biol Chem*, 272, 14580-14585(1997); Fujise 等, *Circulation*, 95, 715-722(1997); Coombs 等, *J Biol Chem*, 273, 4323-4328(1998); Van de Werf 等, *Am Heart J*, 137, 786-791(1999)描述的 tPA 变体，和链激酶与尿激酶变体，如单链尿激酶纤溶酶原激活物、酰化的纤溶酶原链激酶激活剂复合物、葡萄球菌激酶和吸血蝠来源的纤溶酶原激活物。

或者，乙酰水杨酸与抗-凝血因子单克隆抗体联合施用。某些情况下，联合治疗降低抗-凝血因子单克隆抗体的治疗有效量。

通过与各自凝血因子结合并且继之自限性抑制凝血级联反应，从而产生使用本发明分子而诱发的治疗反应。因此，以适于治疗用的制剂和配制品形式存在的本发明分子，是易于患有或者体验过与下述疾病(但不限于此)有关的异常凝血活性的人群所高度期望的：心肌梗塞、不稳定型心绞痛、房性纤颤、中风、肾脏损害、肺栓塞、深静脉血栓形成和人工器官以及假体性植入物。特别优选在心肌梗塞中使用。

另一优选的用途是在治疗血栓栓塞后诱发的局部缺血中使用。因此，本发明也涉及治疗动物血栓栓塞后诱发的局部缺血的方法，包括施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段。该抗体或片段可在栓子后施用，即在无论起源于脉管系统何处的血凝块已经进入脑脉管系统并滞留、阻断和/或减少血流且引起

局部缺血之后再施用。抗体或片段也可在中风后施用,即在个体或观察者识别到由栓子形成造成了神经功能损害后施用。而且,本发明涉及治疗动物血栓栓塞后诱发的局部缺血的方法,包括联合施用抗-因子 IX 抗体或抗体片段与纤溶酶原激活物。抗体或片段和纤溶酶原激活物在栓子后或中风后施用。这些治疗方法导致侧枝血管的持续灌注。本发明的损伤后治疗方法缓解延长局部缺血的后果,所述局部缺血如局部缺血床(bed)中持续性病理性血栓形成,后者可以造成梗塞组织扩大和神经缺损增大。

另外,本发明涉及在动物血栓栓塞后诱发的局部缺血治疗中减少所需溶栓剂剂量的方法,包括联合施用抗-因子 IX 抗体与溶栓剂。

另一优选的用途是向易于患血栓栓塞性中风的动物预防性给药。因此,本发明也涉及预防动物血栓栓塞性中风的方法,包括向具有血栓栓塞中风风险的动物施用抗-因子 IX 抗体。具有血栓栓塞中风风险的个体包括但不限于:易患心房颤动或者接受外科手术或其它 pro-促凝剂侵袭性技术的患者。

本发明改变的抗体、抗体及其片段也用于与其它抗体联接,特别是与负责本发明基因工程抗体所针对的病症标志物(表位)发生反应的其它人 mAbs。

据信,本发明治疗剂治疗异常凝血病症需要约 1 天至约 3 周,或者根据需要而定。这较目前使用的抗凝剂肝素和华法令显示出相当大的优越性。剂量和治疗期间涉及本发明分子在人循环中的相对持续时间,并且可由本领域技术人员根据受治病症和患者的一般健康状况而加以调整。

本发明治疗剂的给药模式可以是将治疗剂投放给宿主的任何适宜途径。本发明的改变的抗体、抗体、基因工程抗体及其片段、纤溶酶原激活物、药物组合物,特别适于非胃肠给药,即皮下、肌内、静脉内或者鼻内给药。

本发明治疗剂可配制成在可药用载体中含有有效量本发明基因工程(例如人源化)抗体和纤溶酶原激活物作为活性成分的药物组合物。或者,本发明药物组合物也可含有乙酰水杨酸。在本发明的预防药中,优选的是含有基因工程抗体、呈备用(ready for)注射形式的含水悬浮液或者溶液,悬浮液或溶液优选在生理 pH 缓冲。非胃肠给药的组合物一般含有本发明基因工程抗体溶液或者基因工程抗体溶解在可药用载体优选含水载体中的混合物。可使用多种载体,例如 0.4% 盐液,0.3% 甘氨酸等。这些溶液无菌并且

一般不含微粒子。这些溶液可用常规的、众所周知的灭菌技术(例如过滤)进行灭菌。组合物可含有为接近生理条件所需的可药用辅剂,如 pH 调节剂和缓冲剂等。药物制剂中本发明抗体浓度可以差异很大,即从小于约 0.5%,通常为或至少约 1%至高达 15 或 20%重量,而且将依所选具体给药模式主要根据液体体积、粘度等加以选择。

因此,本发明肌肉注射用的药物组合物可制成含有 1 mL 无菌缓冲水和约 1 ng 至约 100 mg(例如约 50 ng 至约 30 mg 或更多)、优选地约 5 mg 至约 25 mg 本发明基因工程抗体。类似地,本发明静脉输注用药物组合物可制成含有约 250 ml 无菌 Ringer's 溶液和约 1 mg 至约 30 mg、优选 5 mg 至约 25 mg 本发明基因工程抗体。配制非胃肠给药组合物的实际方法为本领域技术人员所熟知或者对于本领域技术人员而言是显然的,并且表述在"Remington's Pharmaceutical Science", 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 中。

优选本发明治疗剂在作为药品制剂时是呈单位剂量形式。合适的治疗有效量可由本领域技术人员很方便地决定。为有效治疗人或动物的血栓或栓子性病症,应当非胃肠道施用单剂量大约 0.1 mg 至约 20 mg/kg 体重的本发明蛋白或抗体,优选静脉输注或者肌肉注射。如果需要,在血栓响应期间可按照临床医师选择的适当的间歇重复施用此剂量。

为了贮存并于使用前在适宜载体中重悬,可以将本文描述的抗体、改变的抗体或其片段冷冻干燥。该项技术已被证实对于常规的免疫球蛋白是有效的,可以使用本领域熟知的冷冻干燥和重悬技术。

现在,参照下列具体但非限制性实施例来描述本发明。

实施例 1

制备和筛选抗-因子 IX 单克隆抗体

给雌性 Balb/C 小鼠注射按照 Jenny, R. 等, *Prep Biochem*, 16, 227-245(1986)所述方法纯化的人因子 IX。通常,每只小鼠接受的初始注射剂量为溶解在 0.15 mL 磷酸缓冲盐液(PBS)中并与 0.15 mL 完全 Freund's 佐剂相混合的 100(g 蛋白。在 2-3 月的期间,每两周一次注射溶于 0.15 mL PBS 和 0.15 mL 不完全 Freund's 佐剂中的 50(g 蛋白,以加强免疫。最后一次加强注射后,在脾/骨髓瘤细胞融合前 3 天小鼠接受溶于 PBS 的 50(g 因子 IX。

从免疫的小鼠中分离出脾细胞，并按照 Oi, V.T.等在"Selected Methods in Cellular Immunology," Mishell, B.B. and Shigii, S.M., eds., Freeman Press, San Francisco 一书中描述的方法，使用聚乙二醇使脾细胞与 NS-1 骨髓瘤细胞融合(Kohler, G等, *Eur J Immunol*, 6, 292-295(1976))。融合后，细胞重悬于含有 10%胎牛血清的 RPMI 1640 介质中，将等量份的介质加到含有 0.5 mL 腹腔灌洗细胞-条件培养介质的 4 块 24-孔板的每一个孔中。第二天，每孔接受 1.0 mL 溶于含 10%胎牛血清 RPMI 1640 介质中的 2×10^{-4} M 次黄嘌呤、 8×10^{-7} M 氨基蝶呤和 3.2×10^{-5} M 胸苷。每 3-4 天去除一半的介质并代之以含有 1×10^{-4} M 次黄嘌呤和 1.6×10^{-5} M 胸苷的新鲜介质，由此营养细胞。

大约 2 周后，从每个孔中取出 1.0 mL 杂交瘤介质，使用 Jenny, R.J.等在 *Meth Enzymol*, 222, 400-416(1993)中所述的 ELISA 试验检测抗-因子 IX 抗体。简要讲，将因子 IX 固定到 96-孔微滴定板的塑料孔上，接着，在孔中孵育杂交瘤上清液或纯化抗体的稀释液。洗涤孔，并用与辣根过氧化物酶和生色物质 *o*-联茴香胺(dianisidine)相偶合的山羊抗-鼠免疫球蛋白第二抗体来检测抗体-抗原复合物的存在。

通过有限稀释将含有抗-因子 IX 抗体的孔亚克隆，并在 96-孔板中生长。通过上述 ELISA 测定从克隆的杂交瘤细胞培养物的上清液中筛选因子 IX 的抗体，将来自阳性杂交瘤的细胞扩展(extend)、冷冻、贮于液氮中，然后在小鼠中作为腹水肿瘤生长。

实施例 2

抗-凝血因子抗体在凝血中的自限性作用

在使用 Baxter 参考程序 LIB0293-J, 3/93 版(Baxter Scientific, Edison, New Jersey) 的 fibrometer(Becton-Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, Maryland)中，测定增加抗-凝血因子抗体浓度对于人血浆激活的部分凝血激酶时间(aPTT)的影响。

开始本试验之前，盛有 2~3 mL 0.02 M CaCl_2 的 5 mL 试管放入 fibrometer 的加热室中。人血浆样本，要么来自新鲜采集血液并冰浴保存，要么按照制造商的介绍而由 Hemostasis Reference Plasma(American Diagnostics, Greenwich, Connecticut)重配。

来自猪肠粘膜的未分级的肝素(Sigma Chemical, St. Louis, Missouri)、来

自肠粘膜的低分子量肝素(Lovenox®, enoxaparin sodium, Rhone-Poulenc Rorer Pharmaceuticals, Collegeville, Pennsylvania)或 mAb 抗凝剂, 均配制成大约 50 μ M 的储备溶液, 并系列稀释直接成为检测血浆。含有血浆而不含抗凝剂的空白管作为对照。

两个 fibroTube® fibrometer 杯分别充满含有抗凝剂的 100 μ l 检测血浆和含有 125 μ l 肌动蛋白激活的 cephaloplastin reagent(肌动蛋白试剂, 来自鞣花酸中的兔脑磷脂, 购自 Baxter Scientific)的 100 μ l 检测血浆, 将两个杯子放入到 37 $^{\circ}$ C 的 fibrometer 井中。

1 分钟后, 将 100 μ l 肌动蛋白试剂转移到含有血浆的杯中, 用吸量管混合内容物数次。孵育 3 分钟后, 使用 Automatic Pipette/Timer-trigger(Becton-Dickinson)将预热到 37 $^{\circ}$ C 的 100 μ l CaCl_2 加入到血浆-肌动蛋白试剂混合物中。记录凝血时间, 结果以凝血时间作为在 300 μ l 总试验体积中抗凝剂终浓度的函数而呈示于图 1。试验中因子 IX 表观浓度(nominal concentration)是 30-40 nM。

图 1 所示结果描述增加鼠抗-因子 IX mAbs BC1 和 BC2 浓度对 aPTT 凝血时间的影响。两种 mAbs 均通过延长 aPTT 而抑制凝血, 并且两种 mAbs 均达到对 aPTT 的终极饱和效应。BC1 和 BC2 分别为 ~ 35 nM 和 ~ 50 nM 时, IC_{50} 值类似, 但是两种抗体在最大响应方面的差异是显著的。饱和浓度的 BC1 增加 aPTT 约 50%, 达到 ~ 40 秒。另一方面, BC2 增加 aPTT 3.5 倍, 达到约 90 秒。在使用肝素的抗凝治疗中所用的治疗靶范围是突出的。结果表明: 这两种 mAbs 落入肝素治疗的 aPTT 范围。

mAbs BC1 和 BC2 的特性总结于表 I。每一个 BC mAbs 识别酶原、因子 IX 以及活性蛋白酶、因子 IXa, 但只有 BC2 能够阻断酶原激活和蛋白酶活性。发现 BC1 和 BC2 与 Cynomologous 猴因子 IX 有交叉反应。另外, BC2 与大鼠因子 IX 也有交叉反应。

表 I. 抗-因子 IX mAbs 体外特性总结

	BC1	BC2
结合因子 IX	是	是
结合因子 IXa	是	是
抑制 IX 转变为 IXa	不	是
抑制在 Xase 复合物中 IXa 的活性	是	是
需要辅因子	不需要	二价金属 $\text{Ca}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$
<u>aPTTmax</u> x 100%	150	350
aPTT 正常		
IC ₅₀ , nM	~ 35	~ 50
种属交叉反应	猴	大鼠, 猴
同位型	IgG1	IgG2a

图 2 所示结果描述增加抗-因子 IX mAbs 9E4(2)F4 和 11G4(1)B9 浓度对 aPTT 凝血时间的影响。将试验用血浆稀释到正常浓度的一半, 得到起始 aPTT 为 45 秒。两种 mAbs 均通过延长 aPTT 而抑制凝血, 两种 mAbs 均达到对 aPTT 的终极饱和效应。9E4(2)F4 和 11G4(1)B9 的饱和浓度增加 aPTT, 对于 9E4(2)F4 aPTT 增加到 ~ 90 至 100 秒, 而 11G4(1)B9 增加至 ~ 80 秒。结果表明: 两种 mAbs 均处于肝素治疗 aPTT 范围的上末端。

图 3 所示结果描述增加抗-因子 X mAbs HFXLC(相对轻链表位), HFXHC(相对重链表位)和抗-因子 XI mab HFXI 的浓度对 aPTT 凝血时间的影响。这些 mAbs 得自 Enzyme Research Laboratories(South Bend, IN)。mAbs HFXLC 和 HFXI 通过延长 aPTT 而抑制凝血, 两种 mAbs 均达到对 aPTT 的终极饱和效应。HFXLC 的 IC₅₀ 值是 ~ 40 nM; 饱和浓度增加 aPTT 至 ~ 60 秒。HFXI 的 IC₅₀ 值是 ~ 20 nM; 饱和浓度增加 aPTT 至 ~ 100 秒。结果表明, HFXLC 落入肝素治疗 aPTT 范围, 而 HFXI 落入肝素治疗范围的上末端。mAb HFXHC 对于 aPTT 凝血时间无影响。

用因子 VIII 的抗体、因子 IXa 的辅因子, 也观察到 aPTT 的自限性延长。例如, 购自 Affinity Biologicals, Inc. 的抗-人因子 VIII 抗体、SAF8C-IG, 增加 aPTT 至最大约 65 秒。用约 100 nM 抗体, 达到 aPTT 最大延长的一半。

实施例 3

鼠因子 IX mAbs 在大鼠血栓模型的效力

为了评价抗-因子 IX 抗体在预防动脉血栓形成中的效力, 采用了 Schumacher 等在 *J Cardio Pharm*, 22, 526-533(1993)中报道的大鼠颈动脉血栓形成模型。该模型是如下构成的: 将 FeCl_3 溶液产生的氧自由基(oxygen radicals)施用在颈动脉表面上, 从而对颈动脉内皮造成局部(segmental)损伤。

简而言之, 用戊巴比妥钠麻醉大鼠, 颈静脉插套管以便进行静脉内注射, 左股动脉插套管以便监测血压和心率。通过颈部手术切口无菌操作分离颈动脉, 并装备上磁性流动探头以便测量血流。稳定一段时间后, 建立下列各项变量的基线参数: 颈动脉血流、动脉压、心率、激活的部分凝血激酶时间(aPTT)和凝血酶原时间(PT)。此后, 把用 50% FeCl_3 溶液湿透的预测(premeasured) Whatman 滤纸放到颈动脉上 15 分钟, 以彻底损伤下面的内皮细胞。移走 FeCl_3 浸湿的滤纸后, 经过 60 分钟完成实验。实验末, 从颈动脉中取出颈动脉血栓并称重。

所有试药均在开始颈动脉损伤前 15 分钟施用。检验下列治疗, 并与因子 IX mAb BC2 进行比较。

1. 肝素: 15、30、60 或 120 U/kg 快速浓注, 接着在 60 分钟内分别输注 0.5、1、2 或 4 U/kg/min。
2. 乙酰水杨酸(ASA, 阿司匹林): 5 mg/kg 快速浓注。
3. 抗-因子 IX mAb BC2: 1、3 或 6 mg/kg 快速浓注, 随后 60 分钟时间内分别输注 0.3、1 或 2 $\mu\text{g/kg/min}$ 。
4. 肝素: 30U/kg 快速浓注 + 1U/kg/min + 5mg/kg 的 ASA。
5. 抗-因子 IX mAb BC2: 1 mg/kg + 0.3 $\mu\text{g/kg/min}$ + 5 mg/kg 的 ASA。

图 4 和 5 通过显示肝素、ASA 和因子 IX mAb BC2 对 aPTT(图 4)和 PT(图 5)的影响而描述抗-凝血剂/血栓形成样本的比较药理学。

出血素质关键指数 - aPTT, 用作评价本研究所用抗-凝血剂/血栓形成剂对出血倾向效力的主要标准。图 4 的结果证实, 肝素使 aPTT 剂量依赖性延长, 在两个较高剂量时凝血时间最大延长, 超出检测限。单独的 ASA 不显著增加 aPTT, 但与肝素联合时, 观察到明显的协同效应。因子 IX mAbs 对于 aPTT 具有中度作用, 即使是最高剂量, 凝血时间的增加也不超过临床实践所用标准抗-凝血剂的 3 倍界限。最显著的是, 低剂量因子 IX mAb BC2

与 ASA 联合并不改变 aPTT。

图 5 中, 数据表明: 肝素在两个高剂量时和 ASA+肝素联合时也使 PT 显著延长, 但任何剂量的因子 IX mAb 单独时或者与 ASA 联合时均不使 PT 延长。

肝素、ASA 和因子 IX mAb 对颈动脉闭塞的作用示于图 6。结果表明, 所有载体-治疗动物的颈动脉因对损伤发生响应而闭塞。肝素剂量依赖性地抑制颈动脉的闭塞。在最高剂量时, 肝素完全预防颈动脉闭塞; 然而, 该剂量时不能引发凝血。单独 ASA 对于颈动脉闭塞仅有微小的作用。ASA 与肝素联合也不能完全预防颈动脉闭塞。因子 IX mAb 在两个高剂量时完全中止颈动脉闭塞, 而这两个剂量并不使凝血延长超过临床所需的目标。单独使用很多情况下不能保证开放的低剂量因子 IX mAb, 当与 ASA 联合给药时, 完全抑制颈动脉闭塞。

肝素、ASA 和因子 IX mAb 对血栓重量的影响示于图 7。肝素剂量依赖性减小颈动脉血栓块。然而, 尽管完全阻断凝血, 但是仍在颈动脉中发现了一些残余的血栓。ASA 单独使用或者与肝素(30 U/kg 给药方案)联合给药仅部分影响血栓重量。因子 IX mAb 剂量依赖性减小血栓块, 高剂量确实完全预防血栓形成。而且, 低剂量抗-因子 IX mAb 和 ASA 联合, 一个完全预防颈动脉闭塞而对凝固指标无不利影响的给药方案, 完全预防血栓形成。

在大鼠颈动脉血栓形成模型进行的该项研究清楚地证明, 因子 IX mAb 在高度形成血栓的动脉损伤模型中预防血栓形成的效力。最为突出的是, 证实了因子 IX mAb 的效力落在 aPTT 限定的所期望的治疗抗凝目标内。而且, 肝素 - 现行的标准抗凝剂, 仅在严重影响凝固达到产生不可凝固血液程度的剂量时才能获得与因子 IX mAb 堪比的效力。有趣的是, 观察到的 ASA 与肝素联合治疗所达到的提高效力的作用和协同作用, 在 ASA 与抗-因子 IX mAb 联合给药时也得到了证实。然而, 与肝素和 ASA 联合导致抗-血栓形成和抗-凝血剂作用均增强不同, 因子 IX mAb 和 ASA 联合导致抗-血栓形成效力提高而与对体外血液凝固参数没有持续作用。一起考虑, 数据显示, 因子 IX mAb 卓越的抗血栓形成能力比得上肝素、ASA 或肝素与 ASA 的联合。

实施例 4

大鼠血栓形成模型的扫描电镜

应用氯化铁后 15 分钟,从假性对照(sham)、单用氯化铁、氯化铁 + 6 mg/kg 因子 IX 抗体的模型中采集大鼠颈动脉(3/组)片段。通过甲醛灌注并且结扎损伤区域的上下两端而固定动脉。将固定动脉脱水,六甲基二硅氮烷中温育并在干燥器中干燥。将干燥的动脉纵向切开,放置在扫描电镜(SEM)的支柱上并用金溅射涂膜。

假性对照动脉的 SEM 显示基本正常的内皮,伴有零星分散的血小板。内皮中有少数破裂处,可能是手术期间机械损伤的结果,下面的基底膜覆盖有一层血小板。在模型大鼠中未观察到血栓形成的证据。

用氯化铁处理的动脉 SEM 显示占据管腔大部分的大的壁血栓。血栓由聚集的血小板、红细胞和无定形及纤维性蛋白性材料。蛋白性材料由纤维蛋白组成。动脉内皮大部分被大的血栓遮盖。可以看到,用氯化铁处理过的区域下的内皮被无数附着的血小板和无定形蛋白性物质所覆盖。

取自大鼠的用氯化铁处理、也用因子 IX 抗体处理过的动脉的 SEM,显示大部分管腔没有血栓。用氯化铁处理过区域下的内皮显示出广泛损伤,且一些区域被附着的血小板所覆盖和血小板聚集,但是没有或者很少有蛋白性物质。

实施例 5

抗-因子 IX mAb BC2 重链和轻链 cDNA 序列分析

使用 TriReagent(Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH)按照制造商的指导纯化总 RNA。用异丙醇沉淀 RNA 并溶于 0.5% SDS 以及以 0.5M NaCl 调整。按照制造商的指导,使用 Dynabeads Oligo(dT)₂₅(Dynal A.S., Lake Success, NY)分离聚腺苷酸化 RNA。从珠粒中洗脱聚腺苷酸化 RNA 并将后者重悬于 TE 缓冲液。根据制造商的说明书(Boehringer Mannheim Cat. No. 1483-188),以 dT 寡聚物起始采用 RT-PCR 试剂盒将 12 等量份的 100 ng RNA 进行反转录。对于重链,使用鼠 IgG2a 铰链引物(SEQ ID NO: 1)和重链信号序列引物(SEQ ID NO: 2),将 6 RNA/DNA 杂化物进行 25 轮 PCR 扩增。类似地,对于轻链,使用小鼠 κ 引物(SEQ ID NO: 3)和简并轻链信号序列引物(SEQ ID NO: 4),将 6 RNA/DNA 杂化物进行 25 轮 PCR 扩增。将 12 份扩增物中的每一份 PCR 产物联接 PCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)。随机挑选重组克隆的集落,使用 Birnboim 和 Doly 在 *Nucl. Acids Res.* 7, 1513(1979)中所述的碱性提取方法,小量制备质粒 DNA。用

*Eco*RI 消化分离的质粒 DNA，并在 0.8%琼脂糖凝胶上进行分析。通过改进的 Sanger 法，对双链 cDNA 的适宜大小的插入片段(即对于重链是 ~700 bp 而对于轻链是 ~700 bp)测序。比较所有 12 份产物的重链和轻链的序列，得到共有的 BC2 重链可变区序列(SEQ ID NO: 5)和共有的 BC2 轻链可变区序列(SEQ ID NO: 6)。

BC2 重链可变区 cDNA 的序列分析揭示了编码 121 氨基酸序列的 363 核苷酸开放阅读框架(SEQ ID NO: 7)。重链 CDR1、2 和 3 序列分别列于 SEQ ID NOs: 8、9 和 10。

BC2 轻链可变区 cDNA 的序列分析揭示了编码 107 氨基酸序列的 321 核苷酸开放读框(SEQ ID NO: 11)。轻链 CDR1、2 和 3 序列分别列于 SEQ ID NO12、13 和 14。

实施例 6

人源化抗体

将称为 SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB249417、SB 257731 和 SB 257732 的 6 个人源化抗体设计为在人抗体框架中含有上述鼠 CDRs。

SB 249413

SB 249413 含有重链 F9HZHC 1-0 和轻链 F9HZLC 1-0。使用得自免疫球蛋白 RF-TS3'CL 的重链的前 3 个框架区(Capra, J.D.等, *J. Clin. Invest.* 86, 1320-1328(1990)在 Kabat 数据库中标识为 Kabpro:Hhc10w)和前述 BC2 重链 CDRs, 设计合成的可变区人源化重链 F9HZHC 1-0。不进行影响 CDR 呈递的框架氨基酸取代。产生四个重叠的合成寡核苷酸(SEQ ID NOs: 15、16、17 和 18), 后者在退火和延伸时, 编码代表重链可变区并包括 CDR3(SEQ ID NOs: 19 和 20)的氨基酸。然后, 使用 PCR 引物(SEQ ID NOs: 21 和 22)扩增该合成的基因, 将该基因联接于 pCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)并从 *Spe*I、*Kpn*I 限制性消化中分离。使用 2 个引物(SEQ ID NOs: 26 和 27)经 PCR 扩增编码人源化抗-呼吸道合病毒重链(SEQ ID NO: 25)的构建物的适当区域, 并用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Spe*I 进行消化, 得到编码包括可变区(SEQ ID NOs: 23 和 24)前 5 个氨基酸的 campath 信号序列的第二个 DNA 片段。产生的 2 个片段联接进 *Eco*RI、*Kpn*I 消化的含有人共有框架 4 和 IgG1 恒定区的 pFHZHC2-6pCD 哺乳动物细胞表达载体。含有单个氨基酸突变载体的 pFHZHC2-3pCD 载体描述在公布的国际专利申请

WO94/05690 中。用 *Xba*I 和 *Eco*R5 消化 pFHZHC2-3pCD 并插入得自 2 个合成的寡核苷酸(SEQ ID NOs: 28 和 29)的联接子, 使框架 2 最后的残基(残基 49)由丝氨酸突变为丙氨酸。F9HZHC 1-0 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 30 和 31。

使用得自免疫球蛋白 LS8'CL(Carmack 等, *J. Exp. Med.* 169, 1631-1643(1989)在 Kabat 数据库中标识为 Kabpro:Hkl318)的人轻链的框架区和前述 BC2 轻链 CDRs, 设计合成的可变区人源化轻链 F9HZLC 1-0。不进行可能影响 CDR 呈递的框架氨基酸取代。产生了两个重叠的合成的寡核苷酸(SEQ ID NOs: 32 和 33), 当后者退火和延伸时, 编码代表轻链可变区(SEQ ID NOs: 34 和 35)的氨基酸。然后, 使用 PCR 引物(SEQ ID NOs: 36 和 37)扩增该合成的基因, 将该基因联接进 pCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)并从 *Sca*I、*Sac*II 限制性消化中分离。使用 2 个引物(SEQ ID NOs: 26 和 40)经 PCR 扩增编码人源化抗-呼吸道合病毒重链(SEQ ID NO: 25)的构建物的适当区域, 并用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Sca*I 进行消化, 得到编码包括可变区(SEQ ID NOs: 38 和 39)头 2 个氨基酸的 campath 信号序列的第二个 DNA 片段。将产生的 2 个片段联接进 *Eco*RI、*Sac*II 消化的含有人框架 4 和 κ 恒定区的 pFHzLC1-2pCN 哺乳动物细胞表达载体中。含有单个氨基酸突变的载体的 pFHZLC1-1pCN 载体描述在公布的国际专利申请 WO94/05690 中。通过用 *Sma*I 和 *Kpn*I 消化 pFHZLC1-pCN 并插入得自 2 个合成的寡核苷酸(SEQ ID NOs: 41 和 42)的联接子, 使框架 2 的一个残基由丝氨酸突变为脯氨酸。F9HZLC 1-0 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 43 和 44。

SB 249415

SB 249415 含有重链 F9HZHC 1-1 和轻链 F9HZLC 1-1。这些重链和轻链构建物分别基于 F9HZHC 1-0 和 F9HZLC 1-0, 然而, 它们具有影响 CDR 呈递的框架氨基酸取代。

F9HZHC 1-1 具有可能影响 CDR 呈递的 3 个框架氨基酸取代。产生两个重叠的合成寡核苷酸(SEQ ID NOs: 45 和 46), 当后者退火和延伸时, 编码代表重链可变区的可变部分的氨基酸发生改变(SEQ ID NOs: 47 和 48)。然后, 使用 PCR 引物(SEQ ID NOs: 49 和 50)扩增合成的基因, 将基因联接进 pCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)并从 *Eco*NI、

KpnI 限制性消化中分离。将该片段联接进 *EcoNI*、*KpnI* 消化的 F9HZHC1-0(SEQ ID NO: 30)载体中。F9HZHC 1-1 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 51 和 52。

F9HZLC 1-1 具有影响 CDR 呈递的 4 个框架氨基酸取代。产生两个合成的寡核苷酸(SEQ ID NOs: 53 和 54), 当后者退火时, 具有 *KpnI* 和 *BamHI* 粘性末端, 并编码代表轻链可变区(SEQ ID NO: 55)改变部分的氨基酸。用限制性内切酶 *KpnI* 和 *BamHI* 消化 F9HZLC 1-0(SEQ ID NO: 43)并与合成的 DNA 联接。F9HZLC 1-1 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 56 和 57。

SB 249416

SB 249416 含有重链 F9HZHC 1-1(上述)(SEQ ID NO: 52)和轻链 F9HZLC 1-2。轻链构建物基于 F9HZLC 1-1, 然而, 它具有影响 CDR 呈递的另外一个框架氨基酸取代。

产生了两个合成的寡核苷酸(SEQ ID NOs: 58 和 59), 当退火时, 具有 *BamHI* 和 *XbaI* 粘性末端并编码代表轻链可变区可变部分的氨基酸(SEQ ID NO: 60)。用限制性内切酶 *BamHI* 和 *XbaI* 消化 F9HZLC 1-1(SEQ ID NO: 56)载体并与合成的 DNA 相联接。F9HZLC 1-2 插入物序列示于 SEQ ID NOs: 61 和 62。

SB 249417

SB 249417 含有重链 F9HZHC 1-1(上述)(SEQ ID NO: 52)和轻链 F9HZLC 2-0。使用得自免疫球蛋白 REI(Palm and Hilschmann, *Z. Physiol. Chem.* 354, 1651-1654(1973)在 Kabat 数据库中标识为 Kabpro: HKL111)的人轻链框架区和前述 BC2 轻链 CDRs, 设计 F9HZLC 2-0 合成的可变区人源化轻链。引入 5 个氨基酸共有人取代基。进行影响 CDR 呈递的 6 个框架氨基酸鼠取代。产生两个重叠的合成寡核苷酸(SEQ ID NOs: 63 和 64)当后者退火并延伸时, 编码代表轻链可变区的氨基酸(SEQ ID NOs: 65 和 66)。然后, 使用 PCR 引物(SEQ ID NOs: 67 和 68)扩增该合成的基因, 将该基因联接进 pCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)并从 *ScaI*、*SacII* 限制性消化中分离。使用 2 个引物(SEQ ID NOs: 26 和 69)经 PCR 扩增编码人源化抗-呼吸道合病毒重链(SEQ ID NO: 25)的构建物的适当片段, 并用限制性内切酶 *EcoRI* 和 *ScaI* 消化, 得到编码包括可变区(SEQ ID NO: 38)头 2 个氨基酸的 campath 信号序列的第二个 DNA 片段。通过退火 2 个合成的寡

核苷酸(SEQ ID NOs: 71 和 72), 产生编码人框架 4(SEQ ID NO: 70)并具有 *Sac*II 和 *Nar*I 粘性末端的第三个 DNA 片段。用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Nar*I 消化 F9HZLC 1-0(SEQ ID NO: 43), 并联接到 3 个 DNA 片段。F9HZLC 2-0 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 73 和 74。

SB 257731

SB 257731 含有重链 F9HZHC 1-1(SEQ ID NO: 52)和轻链 F9HZLC 1-3, F9HZLC 1-2(SEQ ID NO: 62)的单个氨基酸突变。用 2 个引物(SEQ ID NOs: 26 和 69)经 PCR 扩增 F9HZLC 1-2, 并用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Sca*I 进行消化。分离出 94 bp 片段(SEQ ID NOs: 75 和 76)。将该片段联接进 *Eco*RI、*Sca*I 消化的 F9HZLC 1-2 载体中产生轻链构建体 F9HZLC 1-3。F9HZLC 1-3 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 77 和 78。

SB 257732

SB 257732 含有合成的可变区人源化重链 F9HZHC 3-和轻链 F9HZLC 3-0。产生 4 个重叠的合成寡核苷酸(SEQ ID NOs: 79、80、81 和 82), 当后者退火并延伸时, 编码代表被改变的重链可变区的氨基酸(SEQ ID NOs: 83 和 84)。然后, 使用 PCR 引物(SEQ ID NOs: 85 和 86)扩增该合成的基因, 将基因联接进 pCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)中, 并从 *Stu*I、*Kpn*I 限制性消化中分离。将分离的片段联接进 *Stu*I、*Kpn*I 消化的 F9HZHC1-1(SEQ ID NO: 52)载体。然后, 用 *Eco*RI、*Spe*I 消化该载体以除去信号序列。使用 2 个引物(SEQ ID NOs: 26 和 87)经 PCR 扩增 F9HZHC1-0 并用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Spe*I 消化, 得到编码含有可变区头 5 个氨基酸的信号序列(SEQ ID NO: 23)的 DNA 片段。将产生的片段联接进载体中。F9HZHC3-0 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 88 和 89。

产生了 4 个重叠的合成寡核苷酸(SEQ ID NOs: 90、91、92 和 93), 当它们退火并延伸时, 编码代表轻链可变区(SEQ ID NOs: 94 和 95)的氨基酸。然后, 使用 PCR 引物(SEQ ID NOs: 96 和 97)扩增该合成的基因, 将基因联接进 pCR2000 载体(TA cloning Kit, Invitrogen, Cat. No. K2000-01)并从 *Sca*I、*Nar*I 限制性消化物中分离。将分离的片段联接进 *Sca*I、*Nar*I 消化的 F9HZLC1-3(SEQ ID NO: 77)载体中。F9HZLC3-0 插入物的序列示于 SEQ ID NOs: 98 和 99。

人源化抗-因子 IX mAbs 在 CHO 细胞表达。将适合在不含血清的介质

中悬浮生长的 DG-44 细胞系接种到盛在 250 ml 一次性无菌埃伦迈尔烧瓶 (Corning) 中的不含蛋白但含有 1X 核苷酸和 0.05% F68 的 100ml 介质中, 所述埃伦迈尔烧瓶放在 37°C 5% CO₂、95% 空气潮湿培养箱的 Innova 2100 型 150 rpm 平台振动器(New Brunswick Scientific)上。这些细胞以 4×10^5 细胞/ml 每周两次进行传代。通过用 *NotI* 消化, 每 15 μ g 的 pCN-Lc-轻链和 pCD-Hc-重链载体线性化, 无菌条件下共沉淀并重悬于 50 μ l 1X TE 缓冲液 (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 7.5) 中。使用 Hensley 等在 *J. Biol. Chem.* 269, 23949-23958(1994) 中所述技术, 利用 Bio-Rad Gene Pulser(Bio-Rad Laboratories)将 DNA 电穿孔进 Acc-098 细胞中。 1.2×10^7 细胞在 12.5 ml 冰浴 PBS 蔗糖溶液(PBS, 272mM 蔗糖, 7mM pH 7.4 磷酸钠, 1mM MgCl₂)中洗涤一次, 重悬于 0.8 ml PBS, 加入 50 μ l DNA 溶液并在冰上培养 15 min。于 380 V 和 25 微法脉冲(pulse)细胞, 然后在冰上培养 10 min。筛选前 24 hr, 将细胞以在维持介质中 5×10^5 细胞/板的密度铺板到 96 孔培养板中。在维持介质中, 通过对 400 μ g/ml G418(Geneticin, Life Technologies, Inc.)的抗性来筛选细胞。测定前 24 hr, 用 150 μ l 维持介质营养细胞。

使用电化学发光(ECL)检测法在 Origen 分析器(IGEN, Inc.)上测定来自各个集落的条件培养基, 参见 Yang 等, *Biotechnology*, 12, 193-194(1994)。

进行测定(测定缓冲剂)和操作分析器(细胞清洁剂)所需的所有溶液均来自 IGEN。使用 TAG-NHS-酯(IGEN, Inc.)按照 TAG:蛋白为 7:1 的摩尔比标记抗体(抗-人 IgG(g-链特异性), Sigma 化学品和人 IgG(H+L)的 F(ab')₂ 片段, Kirkegaard & Perry Laboratories Inc.), 同时用生物素-LC-Sulfo-NHS-酯(IGEN, Inc.)以生物素:蛋白为 20:1 的摩尔比对蛋白 A(Sigma)加以标记, 两种标记均按照 IGEN 的推荐进行。抗生蛋白链菌素-涂层的磁珠(M-280)购自 Dynal。

使用下述步骤进行免疫测定: 每份样本, 50 μ l 抗生蛋白链菌素-涂层的磁珠(用吐温 1.25% 稀释成在 pH7.8 PBS 中的终浓度为 600(g/ml)与 50 μ l 生物素-蛋白 A(用 1.25% 吐温在 pH7.8 PBS 中稀释为终浓度 1 μ g/ml)混合, 并于室温搅拌状态下孵育 15 分钟, 加入 50 μ l TAG 抗体(终浓度 1.25(g/ml 人 IgG(H+L)的 F(ab')₂ 片段与用 1.25% 吐温在 pH7.8 PBS 中稀释的 0.25(g/ml 抗-人 IgG(g-链特异性)的混合物), 然后, 将溶液加入到 50 μ l 条件培养介质中, 于室温搅拌状态下孵育 1 hr。200 μ l 测定缓冲液加入到反应混合物中, 在 Origen I 型分析器上分析样本以测定 ECL。结果表明, 约 20-37% 的被测定

集落分泌超过 15 ng/ml 的抗体，平均表达约 150 ng/ml。

使用 Procep A 捕获步骤(step)接着进行离子交换色谱以减少 DNA 负担，从条件培养介质中纯化人源化抗-因子 IX mAbs。Procep A 吸着剂材料(Bioprocessing Ltd., Durham, England)用于制备直径与高度比为 1:1 的柱。把澄清的条件培养介质以 150 cm/hr 的速度装载到柱上。用磷酸缓冲盐液(PBS)、含有 1 M NaCl 的 PBS、最后用 PBS 顺次洗柱。结合的物质用 0.1 M 乙酸洗脱液收获。将洗脱液调整至 pH 5.5 并用水稀释(1:4)。以 80 cm/hr 的速度将稀释液装载到预先用 pH 5.5 20 mM 乙酸钠平衡过的 S-琼脂糖凝胶柱(2.5 x 13 cm)上。用乙酸缓冲液洗柱直至得到稳定的基线，并用 pH 7.4 的 20 mM 磷酸钠以 25 cm/hr 速度洗脱结合的蛋白。洗脱下来的物质用 0.4 微米的膜过滤并贮于 4℃。

实施例 7

小鼠-人嵌合抗体

按照制造商(Boehringer Mannheim Cat. No. 1483-188)的指示，使用 dT 寡聚物引发，用 RT-PCR 试剂盒对 100 ng BC2 RNA 进行反转录，用合成的 *ScaI*(SEQ ID NO: 100)和 *NarI*(SEQ ID NO: 101)引物扩增 PCR，以产生带有 *ScaI*、*NarI* 末端(SEQ ID NOs: 102 和 103)的 BC2 轻链可变区。该 DNA 联接进 *ScaI*、*NarI* 消化的 F9HZHC1-3(SEQ ID 77)中，并用 *ScaI*、*NarI* 进行消化以产生小鼠-人嵌合轻链 F9CHLC(SEQ ID NOs: 104 和 105)。

按照制造商(Boehringer Mannheim Cat. No. 1483-188)的指示，使用 dT 寡聚物作为引物，用 RT-PCR 试剂盒对 100 ng BC2 RNA 进行反转录，用合成的 *SpeI*(SEQ ID NO: 106)和 *NheI*(SEQ ID NO: 107)引物扩增 PCR，以产生带有 *SpeI*、*NheI* 末端(SEQ ID NOs: 108 和 109)的 BC2 重链可变区。用 *EcoRI*(SEQ ID 26)和 *SpeI*(SEQ ID 87)引物从 RSVHZ19 重链(SEQ ID NO: 25)中 PCR 扩增 campath 信号序列。把这两个 DNA 片段联接进 *EcoRI*、*NheI* 消化的公布的国际专利申请 WO95/07301 所述的 IL4CHHCpcd 载体中，用 BC2 因子 IX 小鼠可变区代替 IL4 可变区，从而产生小鼠-人嵌合的重链 F9CHHC(SEQ ID Nos: 110 和 111)。

按照上述人源化构建物的共转染和纯化方法，完成小鼠-人嵌合抗体 ch α FIX 的共转染和纯化。

实施例 8

人源化因子 IX mAbs 在大鼠血栓模型的效力

为了评价人源化抗-因子 IX 抗体预防动脉血栓形成的效力,使用了实施例 3 所述的大鼠颈动脉血栓形成模型。建立颈动脉血流、动脉压、心率、血管开放和激活的部分凝血激酶时间(aPTT)的基线参数。此后 15 分钟,损伤颈动脉 10 分钟。发生颈动脉损伤后 60 分钟,测定这些参数。也从颈动脉中取出颈动脉血栓并称重。

所有试药均在发生颈动脉损伤前 15 分钟经静脉施用。检验下述治疗并与抗-因子 IX mAb BC2 进行比较。

1. 载体
2. ch α FIX: 3 mg/kg 快速浓注
3. SB 249413: 3 mg/kg 快速浓注
4. SB 249415: 3 mg/kg 快速浓注
5. SB 249416: 3 mg/kg 快速浓注
6. SB 249417: 3 mg/kg 快速浓注
7. SB 257731: 3 mg/kg 快速浓注
8. 肝素: 60 units/kg 快速浓注+ 2 单位/kg/min 输注

aPTT 用作评价本研究所用抗-凝血剂/血栓剂效力对出血倾向的主要标准。图 8 的结果证实,人源化因子 IX mAbs SB 249413、SB 249415、SB 249416、SB 249417 和 SB 257731 在 3.0 mg/kg 时对 aPTT 具有中度的作用,所用剂量在临床可接受范围之内。

因子 IX mAbs 对血栓块的作用示于图 9。结果表明,所有人源化 mAbs 在减小血栓块方面同等有效。

该项在大鼠颈动脉血栓形成模型进行的研究清楚地证明,人源化因子 IX mAbs 在高度形成血栓的动脉损伤模型中预防血栓形成的效力。最突出的是,所有人源化因子 IX mAbs 的效力落入所期望的由 aPTT 限定的治疗抗凝目标范围之内。

实施例 9

抗体的生物化学和生物物理学特性

用 MALD-MS 测定 SB 249417 的分子质量为 148,000Da。SB 249417 的分析性超速离心得到完全相同的值。在因子 IX 和 Ca²⁺存在时,得自 BC 2 沉淀的抗体具有 248,000Da 的质量,相当于 mAb 和两个因子 IX 合起来的质量。

存在或不存在因子 IX 时，未观测到更高数量级聚集物的证据。

用与固定的蛋白 A 表面相结合的抗体，使用 BIAcore 分析法评定了因子 IX 与 SB 249417 结合的动力学。使用 49 nM 重组人因子 IX(rhFIX, Genetics Institute)并在 5 mM Ca^{2+} 存在条件下进行测定。相互作用以快速结合和相对缓慢的解离速度为特征，结合 $k_{\text{ass}} = 2.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，而解离 $k_{\text{diss}} = 4.1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 。计算出因子 IX 结合的 K_d 为 1.9 nM。

表 1 总结 SB 249417 的生物物理学特性。

表 1

SB 249417 的生物物理学特性总结

同位型	IgG1,kappa
由 SDS-PAGE 的纯度	>95%(还原条件下)
分子量	
质谱测量法	148,000 Da
分析性超速离心法	148,000 Da
因子 IX 结合的化学计量学	
等温滴定测热法	1.5 摩尔因子 IX: 1 摩尔 mAb
因子 IX 结合亲合性	
等温滴定测热法	$K_d = 4 \text{ nM}$, 25°C
生物传感器	$K_d = 2 \text{ nM}$
因子 IX 结合动力学	
生物传感器	$k_{\text{ass}} = 2.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ $k_{\text{diss}} = 4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$

表 2 总结本发明 mAbs 的因子 IX 结合特性。计算的解离常数基本上相同，在试验误差之内。

表 2
因子 IX 与抗-因子 IX mAbs 结合的动力学

<u>mAb</u>	<u>$k_{\text{ass}}(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$</u>	<u>$k_{\text{diss}}(\text{s}^{-1})$</u>	<u>calc. $K_D(\text{nM})$</u>
SB 249417	2.0×10^5	4.1×10^{-4}	1.9
BC2	4.8×10^5	9.1×10^{-4}	1.9
Chf9	2.4×10^5	3.0×10^{-4}	1.3
SB 249413	6.5×10^5	2.8×10^{-3}	3.7-5.1
SB 249415	7.5×10^5	1.8×10^{-4}	1.1-2.3
SB 249416	5.2×10^5	4.1×10^{-4}	0.8
SB 257731	9.2×10^5	9.9×10^{-4}	1.1
SB 257732	1.1×10^6	1.2×10^{-3}	1.5

用滴定微量量热法描述 rhFIX 和 SB 249417, BC2 和其它人源化构建物之间相互作用的特征, 微量量热法测量溶液中来自结合固有热的结合相互作用。将 106(M FIX 9 次注射入含有 $2\mu\text{M}$ mAb SB 249417 的热量计中。以发出的热量检测头 4 次注射的结合。最后 5 次注射时, 用 FIX 饱和 mAb 结合位点, 仅仅观测到混合的基础(background)热量。结果表明, 如预期的那样, 等位点发生在 FIX/mAb 的摩尔结合比接近 2。非线性最小平方分析这些数据得到结合亲合力。

在 $34-44^\circ\text{C}$ 温度范围内, 在 pH 7.4 的 10mM HEPES、10mM CaCl_2 、150mM NaCl 中, 测定 mAbs 的 rhFIX 亲和力。这些数据使得直接测定 37°C 的亲和力, 从 van't Hoff 方程中计算 25°C 时的亲和力。表 3 中的数据表明, SB 249417、BC2 和它的其它人源化构建物的亲和力相同, 在误差之内(因子 2)。

表 3
抗-FIX mAbs 滴定测热法的结果

mAb	Kd, nM(25℃)	Kd,nM(37℃)	摩尔结合比 FIX/mAb
BC2	10	20	1.4
SB 249413	6	12	1.9
SB 249415	3	7	1.7
SB 249417	4	12	1.5
SB 257732	4	9	1.8

通过差式扫描测热法测定, mAbs SB 249413、SB 249415、SB 249417 和 SB 257732 均显示出极类似的热稳定性。它们的未折叠(unfolding)Tms 范围为 70-75℃, 表明对抗热诱导变性的高稳定性。

实施例 10

抗体-介导的抑制因子 IX 的机制

构建由因子 IX 序列剪接进同源蛋白因子 VII 框架而构成的嵌合构建物文库, 并用于绘制因子 IX BC2 mAb 的表位。见 Cheung 等, *Thromb. Res.* 80, 419-427(1995)。使用 BiaCore 2000 表面胞质团共振装置, 测定结合。BC2 抗体利用 NHS/EDC 反应直接与芯片(chip)偶合。在 pH 7.4, 25 mM MOPS、0.15 M NaCl、5 mM CaCl₂ 中, 以 20μL/min 的量与 200 nM 每种给定构建物进行接触, 接触两分钟测定结合。使用相同但不含蛋白质的缓冲液, 监测 3 分钟的解离情况。在存在 50 mM EDTA 的条件下, 未检测到野生型构建物。数据示于表 4。

表 4
因子 IX 构建物与 BC2 抗体结合的总结

构建物	结合程度
血浆 IXa	结合
r-IX	结合
血浆 VII	无结合
IX LC/VII HC	结合
IX-A/VII	结合
VII gla/IX	无结合
VII-A/IX	无结合
VII gla(IX 3-11)/IX	结合
VII gla(IX 3-6)/IX	极低的结合
VII gla(IX 9-11)/IX	极低的结合
IX K5A	结合

这些数据表明, 下列构建物表现出与 BC2 结合: 含有因子 IX 轻链和因子 VII 重链(IX LC/VII HC)的构建物;含有因子 IX gla 和芳族堆叠结构域(IX-A/VII)的构建物;含有在因子 VII gla 结构域(VII gla(IX 3-11)/IX)之内的因子 IX gla 结构域的残基 3-11 的构建物; 和含有在残基 5(IX K5A)处具有赖氨酸取代为丙氨酸的因子 IX 的构建物。VII gla(IX 3-11)/IX 构建物显示出等同于野生型因子 IX(血浆 IXa and r-IX)的 BC2 结合性。因此, BC2 抗体与含在因子 IX gla 结构域残基 3-11 之内的表位相结合。

实施例 11

用抗-因子 IX 抗体和组织纤溶酶原激活物治疗动脉血栓形成

在颈动脉完全闭塞后开始施用 tPA, 伴有或不伴有辅助治疗。持续监测动脉的血流。

用戊巴比妥钠 (55 mg/kg, i.p.) 麻醉体重 300-490 gm 的雄性 Sprague-Dawley 大鼠(Charles River, Raleigh, NC)。把大鼠仰位置于加热的(37

℃)手术板上,在颈部制造切口;分离气管,用 PE-240 Intramedic tube 进行气管插管。然后分离左颈动脉和颈静脉。将 Parafilm M 垫(4 mm², American National Can)放置在颈动脉下,在动脉上放置电磁血流探针(Carolina Medical)以测量血流。为了给药,将插管(Tygon, 0.02" x 0.04", Norton Performance Plastics)插入颈静脉中。接下来,分离左股动脉并进行插管以测量血压和采集血液样本。

按照实施例 3 的方法,把用 FeCl₃ 溶液(50%)饱和过的直径 6.5 mm 的玻璃微滤纸环状片放置在颈动脉流速探针下游 10 分钟,引发颈动脉中的血栓形成。在该特性得到清楚描述的模型中,血栓通常在 15 分钟内完全形成。

抗-因子 IX 抗体、SB 249415 以快速浓注方式施用而与 tPA(Genentech, South San Francisco, CA)联合给药,而以快速浓注方式施用肝素(Elkins-Sinn Inc., Cherry Hill, NJ),然后输注。所有药物输注持续到实验期间末-自血管闭塞时间起 60 分钟。于 0、30 和 60 min(实验末)时自股动脉采集血液样本 1 mL,加入 3.8%柠檬酸溶液并离心,用于 aPTT 和 PT 测定。用带有标准程序的 fibrometer(BB1L, Baxter Dade 或 MLA Electra 800 自动凝固计时器)监测 aPTT 和凝血酶原时间(PT)。实验末时,从颈动脉取出血栓并称重。

所有数据用平均组值(SEM 表示以表明各组大鼠的只数。组间分析使用多项比较目的的 ANOVA 和 Bonferoni 检验, $p < 0.05$ 则认为有显著性。

通过将 FeCl₃ 处理过的片敷贴到大鼠颈动脉而造成动脉开始损伤后约 15 min,发生闭塞血栓形成。如图 10 所示,单用 tPA,在 60 min 实验方案期间,仅在施用剂量为 9 mg/kg tPA 后 67% 受治疗血管显示出重新得到血流时才观察到闭塞血管再灌注。该剂量的 tPA,包括 60 U/kg 肝素或 3 mg/kg 抗-因子 IX 抗体,SB 249415,不会导致再灌注发生率的进一步增加,提示在 FeCl₃ 损伤模型中大约 30%血栓对于溶解而言是难治疗的。

图 10 的结果表明,低剂量 tPA,再灌注发生率显著依赖于与溶栓剂一同给药的抗凝剂。当施用 60 U/kg 肝素时,显示再灌注的血管百分比急剧下降,用 3 和 6 mg/kg tPA 时,分别仅观察到 12.5%和 40% 再灌注。然而,当 3 mg/kg SB 249415 与 tPA 一同给药时,3 mg/kg tPA 达到大于 60% 再灌注,6 mg/kg tPA 时,大于 79% 再灌注。因此,抗-因子 IX 抗体显著位移溶栓剂量响应曲线,使得低剂量溶栓剂即可再灌注。

血栓溶解和血凝块形成是动态过程,有时观察到再闭塞后的开放期间。

既然在 60 min 实验方案期间持续监测颈动脉血流, 那么也就可能定量颈动脉开放(patency)的总时间。如图 11 所示, 血管开放的总期间大体上因 3 mg/kg 抗-因子 IX 抗体和 tPA 的联合施用而增加。这在最低剂量和中等剂量 tPA 即分别为 3 和 6 mg/kg 时尤为明显。联合施用剂量为 3 mg/kg SB 249415 和 3 mg/kg tPA 时, 总开放时间为 30.6 ± 9.2 min, 与之相对, 联合施用 60 U/kg 肝素和 3 mg/kg tPA 时, 总开放时间为 7.1 ± 7.1 min。单用 3 mg/kg tPA, 开放时间为 0。剂量为 6 mg/kg 的 tPA 与肝素联合施用, 仅使开放时间轻微增加至 12.9 ± 6.0 min。而与 tPA-SB 249415 联合, 则达到最大开放时间 38.7 ± 8.4 min。仅在最高剂量 tPA(9 mg/kg)时, 与肝素的联合才接近与 SB 249415 联合时达到的开放时间, 分别为 31.9 ± 4.8 min 和 38.0 ± 8.4 min。

动脉梗塞后血流的快速恢复对于使局部缺血组织的损害降至最小而言是决定性的。图 12 的结果表明, 抗-因子 IX 抗体与 tPA 联合相对于单用 tPA 或者肝素加用 tPA 来说, 使再灌注时间减少, 使用低剂量 tPA 即可达到这一效果。当 3 mg/kg SB 249415 与 3 mg/kg tPA 联合施用来造成血栓溶解时, 血栓溶解时间是 29.4 ± 9.2 min。单用 3 mg/kg tPA, 未观察到再灌注。用 60 U/kg 肝素与 3 mg/kg tPA 联合, 血栓溶解时间是 52.8 ± 7.1 min。更高剂量的 tPA, 6 和 9 mg/kg, 抗体与 tPA 联合治疗方案 取得分别在 19.4 ± 6.3 和 20.8 ± 8.7 min 开始血栓溶解的效果。在不加抗凝剂的情况下, 6 和 9 mg/kg tPA 的血栓溶解时间分别是 60 min(即实验方案的界限)和 27.5 ± 6.4 min。加入 60 U/kg 肝素, 相应的血栓溶解时间是 44.0 ± 7.1 和 27.0 ± 4.9 min。因此, 使用 SB 249415 总是能够较肝素或者单用 tPA 更早取得再灌注。

实施例 12

抗-因子 IX 抗体对止血功能的影响

在用单独 tPA、tPA 与肝素联合以及 tPA 与 SB 249415 联合对大鼠治疗的治疗期末, 通过监测纤维蛋白原、纤溶酶原和 α -2-抗纤溶酶的水平测定了抗-因子 IX 或作为辅助剂的肝素对维持止血功能的影响, 并与使用载体治疗动物的结果进行比较。如图 13 所示, 增加 tPA 的剂量导致每一种所测止血标志物的水平下降。随着 tPA 剂量增加至 9 mg/kg, α -2-抗纤溶酶水平从未用 tPA 治疗动物的约 90%降至约 20%。在 9 mg/kg 治疗组, 纤溶酶原水平从未用 tPA 治疗的约 100%平均值降至约 40%。类似地, 在高剂量 tPA 组, 纤维蛋白原水平从约 150 mg/dL 降至约 90 mg/dL。有趣的是, 辅剂的选择并不

显著影响其中的任何一种标志物。在施用载体、30 或 60 U/kg 肝素或者 1 或 3 mg/kg SB 249415 的动物中，每一剂量的 tPA 均观察到相似水平的 α -2-抗纤溶酶、纤溶酶原和纤维蛋白原；观察到的止血标志物的降低只是溶栓剂剂量, tPA 的函数, 而且这些降低特别是纤维蛋白原的降低, 似乎在 tPA 剂量大于 6 mg/kg, 即在最高剂量组 9 mg/kg 时尤其明显。

也监测了不同治疗方案对标准 aPTT 凝固试验 aPTT 的影响(图 14)。随着 tPA 剂量增加, aPTT 分别由对使用载体和 9 mg/kg tPA 的 $19.3s \pm 0.6s$ 增至 $30.0s \pm 1.6s$ 。施用 3 mg/kg SB 249415, 对照动物 aPTT 的有限增加, 增至 $49.6s \pm 6.4s$ 。当 SB 249415 与 tPA 联合给药时, 观察到 aPTT 稍有增加, 并取决于 tPA 剂量。SB 249415 与 3 mg/kg tPA 联合时, aPTT 为 $58.3s \pm 5.2s$, 而 SB 249415 与 9 mg/kg tPA 联合, 则使 aPTT 增至 $77.3s \pm 19.7s$ 。施用 30 U/kg 或 60 U/kg 剂量的肝素, 导致 aPTT 大幅度增加。没有 tPA 时, 30 和 60 U/kg 剂量的肝素, 其 aPTT 分别为约 300 s 到 600 s。tPA 治疗的动物, aPTT 为约 800 s。

肝素提高 aPTT, 特别是与干扰止血参数的药剂配伍时, 由于需要高剂量 tPA 以达到有效再灌注, 因而很容易造成出血倾向。相反, SB 249415 并不引起 aPTT 明显提高并且能够使用低剂量 tPA, 从而带来在心肌梗塞和中风的溶栓治疗中的显著优势。

实施例 13

SB 249417 提高中风时组织纤溶酶原激活物的溶解的潜力

在这些研究中使用的大鼠血栓栓塞中风模型基本上如 Busch 等在 *Brain Research*, 778, 16-24(1997)中所描述的那样。按照模型的三个主要步骤进行: 制备栓子, 栓子形成后准备大鼠, 进行药理干预。

将取自供体大鼠的全血盛入柠檬酸化的空白管(vacutainer tube)中。将柠檬酸化(citrated)的血液(500ul)快速地加入含有 1 单位人凝血酶和 5 μ l 1M $CaCl_2$ 测试管中, $CaCl_2$ 终浓度为 10 mM。5-10 秒钟内, 将小部分的混合物取出装入 ~15cm 长的 PE50 导管中, 使之在室温下凝结 1 小时。1 小时结束时, 从管中挤出凝块放入盛有盐水的佩氏培养皿中, 切成 1.5 mm 长的切片。将 12 块切片(血凝块)转移到含有 0.04mg/ml 大鼠白蛋白的盐溶液中, 并以 ~60 μ l 体积灌回 PE50 导管中。在导管中首尾相接的血凝块用于大鼠的

栓子形成。

对体重 350-400g 的雄性 Sprague Dawley 大鼠进行手术，以备接受皮下剂量的阿托品(0.5mg/kg)，然后用 5%异氟烷麻醉，维持剂量使用 2%异氟烷。体温保持在 37-38°C。在无菌条件下，在颈部制造 sagittal 正中切口，暴露右侧颈总动脉(CCA)，右侧内端颈动脉(ICA)，右侧外端的颈动脉(ECA)，以及翼腭动脉。给翼腭动脉打结(tied off)。分离出一段 ECA 后结扎并切断。用血管钳夹住 CCA 和 ICA，将含有栓子的 PE50 导管插入 ECA 残端并延伸到分叉处。去除 ICA 的血管钳，在松开 CCA 血管钳的同时将血栓缓慢注入 ICA。在栓子形成后 5 分钟，开始通过尾静脉输注载体(盐液)、SB 249417(2.0mg/kg)和/或 t-PA(5.0mg/kg)。SB 249417 以单一快速浓注剂量输注，而 t-PA 的 5mg/kg 剂量则以 10%快速浓注，接着在 30 分钟时间内将剩余的 90%输注。闭合手术切口，使大鼠苏醒。

血栓形成后 24 小时，麻醉并处死大鼠。取出脑，并从前脑干开始切出每个 2mm 厚的 7 个横断面切片。在 1% 2,3,5-氯三苯四唑中温育 20 分钟，接着进行甲醛固定。对染色的脑切片摄像，使用图象分析系统(Optimus Inc., Bothell, Wash)进行分析。由不知实验情况的操作者通过描计计算机屏幕上的梗塞来计算以 mm^2 为单位的梗塞面积。每种处理情况下合起来的平均梗塞示于图 15(对照(n=20), tPA(n=7)和 SB 249417(n=6))。栓塞后给大鼠施用 tPA(5.0mg/kg)使平均梗塞体积减少 ~ 33%。单独施用 SB 249417 使梗塞体积减少 ~ 70%。tPA(5.0mg/kg)和 SB 249417(2.0mg/kg)联合施用，提供进一步的保护作用，使平均梗塞体积减少 ~ 88%($P = 0.126$)。该模型中，梗塞以类似频率出现在纹状体和新皮质。基于梗塞组织的部位，闭塞最频发生部位是大脑中脑动脉(MCA)。尽管频率小，但是证据提示脉络膜、大脑前动脉和大脑后动脉也偶尔发生闭塞。通过冠状切面(未提供数据)观察时，在治疗基础上出现的梗塞体积减少大部分在中央 MCA 灌注区域。治疗后，几乎不改变梗塞组织分布。

结果表明，栓塞后施用抗-因子 IX 抗体如 SB 249417 作为单剂治疗或者作为溶栓剂如 tPA 的辅剂时，可以减少梗塞脑组织的形成。期望抗-因子 IX 抗体如 SB 249417 作为单剂药物或者作为溶栓剂的辅剂在治疗血栓栓塞中风中具有临床实用性。联合治疗使得溶栓剂剂量减小并由此而减少了促发出血性中风的风险。

本发明可以其它并不背离本发明精神或者基本特性的具体形式实施，因此，表明本发明保护范围应当参照本发明权利要求书而不是前述的说明书。

序列表

- (1) 一般信息
- (i) 申请人: 迈克尔, 布莱克本 (Blackburn, Michael)
乔拉, 福伊尔斯坦 (Feuerstein, Giora)
弗兰克.C.巴龙 (Barone, Frank C.)
约翰.R.图米 (Toomey, John R.)
- (ii) 发明名称: 抗血栓剂
- (iii) 序列数量: 111
- (iv) 相关地址:
- (A) 地址: 史密丝克莱恩比彻姆公司 (SmithKline Beecham Corporation)
(B) 街道: 709 Swedeland Road
(C) 城市: King of Prussia
(D) 州: PA
(E) 国家: USA
(F) ZIP: 19406
- (v) 计算机可读形式:
- (A) 介质类型: 磁盘
(B) 计算机: IBM 相容机
(C) 操作系统: DOS
(D) 软件: FastSEQ Version 1.5
- (vi) 现申请数据:
- (A) 申请号: 未知
(B) 申请日期: herewith
(C) 分类:
- (vii) 优先权项:
- (A) 申请号: 09/571,434
(B) 申请日期: 15-5-2000
- (viii) 代理人/代理信息:
- (A) 姓名: Baumeister, Kirk
(B) 登记号: 33,833
(C) 参考/文档号码: P50438-2
- (ix) 联系信息:
- (A) 电话: 610-270-5096
(B) 传真: 610-270-5090
(C) TELEX:
- (2) 序列信息: SEQ ID NO: 1:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 20 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 1:

CATCCTAGAG TCACCGAGGA 20

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 2:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 21 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 2:

AGCTGCCCAA AGTGCCCAAG C 21

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 3:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 36 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 3:

CTAACACTCA TTCCTGTTGA AGCTCTTGAC AATGGG 36

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 4:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 21 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 4:

GATTTTCARG TGCAGATTTT C

21

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 5:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 363 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 5:

CAGATCCACT TGGTGCAGTC TGGACCTGAG CTGAAGAAGC CTGGAGAGAC AGTCAAGATC	60
TCCTGCAAGG CTTCTGGGTA CACCTTCACA AACTATGGAA TGAAGTGGGT GAAGCAGGCT	120
CCAGGAAAGG GTTTAAAGTG GATGGGCTGG ATAAACACCA GAAATGGAAA GTCAACATAT	180
GTTGATGACT TCAAGGGACG GTTTGCCTTC TCTTTGAAA GCTCTGCCAG CACTGCCAAT	240
TTGCAGATCG ACAACCTCAA AGATGAGGAC ACGGCTACAT ATTTCTGTAC AAGAGAAGGG	300
AATATGGATG GTTACTTCCC TTTACTTAC TGGGGCCAAG GGACTCTGGT CACTGTCTCT	360
GCA	363

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 6:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 321 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 6:

```

CAAATTGTTC TCTCCAGTC TCCAGCAATC CTGTCTGCAT CTCCAGGGGA GAAGGTCACA    60
ATGACTTGCA GGGCCAGCTC AAGTGTAAT TACATGCACT GGTACCAGCA GAAGCCAGGA    120
TCCTCCCCCA AACCTGGAT TTATGCCACA TCCAACCTGG CTTCTGGAGT CCCTGCTCGC    180
TTCAGTGGCA GTGGGTCTGG GACCTCTTAC TCTCTCACA TCAGCAGAGT GGAGGCTGAA    240
GATGCTGCCA CTTATTACTG CCAGCAGTGG AGTATTAACC CACGGACGTT CGGTGGAGGC    300
ACCAAGCTGG AAATCAAACG G                                     321

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 7:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 121 氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 肽

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 7:

```

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1           5           10           15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20          25          30
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35          40          45
Gly Trp Ile Asn Thr Arg Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe
50          55          60
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Ser Ser Ala Ser Thr Ala Asn
65          70          75          80
Leu Gln Ile Asp Asn Leu Lys Asp Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85          90          95
Thr Arg Glu Gly Asn Met Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly
100         105         110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115         120

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 8:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 5 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 肽
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 8:

Asn Tyr Gly Met Asn
1 5

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 9:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 17 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 肽
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 9:

Trp Ile Asn Thr Arg Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15
Gly

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 10:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 12 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 肽
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 10:

Glu Gly Asn Met Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr
1 5 10

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 11:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 107 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 肽

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 11:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 12:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 10 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 肽

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 12:

Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His
1 5 10

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 13:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 7 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 肽

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 13:

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 14:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 9 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 肽

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 14:

Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr
1 5

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 15:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 104 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 15:

```
CAACTAGTGC AATCTGGGTC TGAGTTGAAG AAGCCTGGGG CCTCAGTGAA GGTTCCTGC    60
AAGGCCTCTG GATACACCTT CACTAACTAT GGAATGAACT GGGT                      104
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 16:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 108 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 16:

```
TTGAAGTCAT CAACATATGT TGACTTTCCA TTTCTGGTGT TTATCCATCC CATCCACTCG    60
AGCCCTTGTC CAGGGGCCTG TCGCACCCAG TTCATTCCAT AGTTAGTG                      108
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 17:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 107 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 17:

```
GTCAACATAT GTTGATGACT TCAAGGGGCG GTTTGTCTTC CCTCTGTCAG CACGGCATAT    60
CTACAGATCA GCAGCCTAAA GGCTGACGAC ACTGCAGTGT ATTACTG                      107
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 18:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 91 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 18:

GGTACCCTGG CCCCAGTAAG TAAAAGGGAA GTAACCATCC ATATTCCTT CTCTCGCACA60

GTAATACACT GCAGTGTCTG CAGCCTTAG G91

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 19:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 337 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 2...337
- (D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 19:

A CTA GTG CAA TCT GGG TCT GAG TTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG49

Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys

151015

GTT TCC TGC AAG GCC TCT GGA TAC ACC TTC ACT AAC TAT GGA ATG AAC97

Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

202530

TGG GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTC GAG TGG ATG GGA TGG ATA145

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile

35	40	45	
AAC ACC AGA AAT GGA AAG TCA ACA TAT GTT GAT GAC TTC AAG GGG CGG			193
Asn Thr Arg Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe Lys Gly Arg			
50	55	60	
TTT GTC TTC TCC TTG GAC ACC TCT GTC AGC ACG GCA TAT CTA CAG ATC			241
Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile			
65	70	75	80
AGC AGC CTA AAG GCT GAC GAC ACT GCA GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAA			289
Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu			
85	90	95	
GGG AAT ATG GAT GGT TAC TTC CCT TTT ACT TAC TGG GGC CAG GGT ACC			337
Gly Asn Met Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 20:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 112 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 20:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 21:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 33 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 21:

GCTACTAGTG CAATCTGGGT CTGAGTTGAA GCC 33

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 22:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 30 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 22:

TGGGTACCCT GGCCCCAGTA AGTAAAAGGG 30

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 23:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 97 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 27...95

(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 23:

```

GAATTCTGAG CACACAGGAC CTCACC ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC      53
                Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe
                  1                5

TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC CAG GTC CAA CTA GT      97
Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Gln Val Gln Leu
10                15                20

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 24:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 23 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 24:

```

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
  1                5                10                15
Val His Ser Gln Val Gln Leu
                20

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 25:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 110 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 25:

GGAGACGCCA TCGAATTCTG AGCACACAGG ACCTCACCAT GGGATGGAGC TGTATCATCC	60
TCTTCTTGGT AGCAACAGCT ACAGGTGTCC ACTCCCAGGT CCAACTGCAG	110

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 26:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 21 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 26:

GGAGACGCCA TCGAATTCTG A	21
-------------------------	----

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 27:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 30 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 27:

GATTGCACTA GTTGGACCTG GGAGTGGACA	30
----------------------------------	----

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 28:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 77 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无

- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 28:

CTAGAGTGGG TCGCAGAGAT CTCTGATGGT GGTAGTTACA CCTACTATCC AGACACTGTG	60
ACGGGCCGGT TCACGAT	77

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 29:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 73 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 29:

ATCGTGAACC GGCCCGTCAC AGTGTCTGGA TAGTAGGTGT AACTACCACC ATCAGAGATC	60
TCTGCGACCC ACT	73

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 30:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 363 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 1... 363
- (D) 其它信息: F9HZHC 1-0

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 30:

CAG GTG CAA CTA GTG CAA TCT GGG TCT GAG TTG AAG AAG CCT GGG GCC	48
---	----

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
TCA GTG AAG GTT TCC TGC AAG GCC TCT GGA TAC ACC TTC ACT AAC TAT	96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	
20 25 30	
GGA ATG AAC TGG GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTC GAG TGG ATG	144
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35 40 45	
GGA TGG ATA AAC ACC AGA AAT GGA AAG TCA ACA TAT GTT GAT GAC TTC	192
Gly Trp Ile Asn Thr Arg Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe	
50 55 60	
AAG GGA CGG TTT GTC TTC TCC TTG GAC ACC TCT GTC AGC ACG GCA TAT	240
Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
CTA CAG ATC AGC AGC CTA AAG GCT GAC GAC ACT GCA GTG TAT TAC TGT	288
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
GCG AGA GAA GGG AAT ATG GAT GGT TAC TTC CCT TTT ACT TAC TGG GGC	336
Ala Arg Glu Gly Asn Met Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly	
100 105 110	
CAG GGT ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA	363
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
115 120	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 31:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 121 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 31:

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

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 32:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 165 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 32:

AGTACTGACA CAGTCTCCAG CCACCCTGTC TTTGTCTCCA GGGGAAAGAG CCACCCTCTC 60
CTGCAGGGCC AGCTCAAGTG TAAATTACAT GCACTGGTAC CAACAGAGAC CTGGCCAGGC 120
TCCCAGGCTC CTCATCTATG CCACTAGTAA CCTGGCTTCT GGCAT 165

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 33:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 146 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 33:

CCGCGGGTTA ATACTCCACT GCTGACAGTA ATAAACCGCA AAATCTTCAG GCTCTAGACT 60
GCTGATGGTG AGAGTGAAAT CTGTCCCAGA CCCGGATCCA CTGAACCTGG CTGGGATGCC 120

AGAAGCCAGG TTACTAGTGG CATAGA

146

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 34:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 280 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 2...280
- (D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 34:

A GTA CTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA	49
Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg	
1 5 10 15	
GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG CAC TGG	97
Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp	
20 25 30	
TAC CAA CAG AGA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GCC ACT	145
Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ala Thr	
35 40 45	
AGT AAC CTG GCT TCT GGC ATC CCA GCC AGG TTC AGT GGA TCC GGG TCT	193
Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser	
50 55 60	
GGG ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGT CTA GAG CCT GAA GAT TTT	241
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe	
65 70 75 80	
GCG GTT TAT TAC TGT CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG	280
Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg	
85 90	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 35:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 93 氨基酸
(B) 类型: 氨基酸
(C) 链: 单链
(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 35:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 36:

- (i) 序列特征:
- (A) 长度: 27 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
(iii) 假设: 无
(iv) 反义: 无
(v) 片段类型:
(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 36:

TCGAGTACTG ACACAGTCTC CAGCCAC

27

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 37:

- (i) 序列特征:
- (A) 长度: 27 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

- (xi) 序列描述: SEQ ID NO: 37:

GACCGCGGGT TAATACTCCA CTGCTGA

27

- (2) 序列信息: SEQ ID NO: 38:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 94 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 27...92
- (D) 其它信息:

- (xi) 序列描述: SEQ ID NO: 38:

GAATTCTGAG CACACAGGAC CTCACC ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe

1 5

53

TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC GAG ATA GTA CT

Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Glu Ile Val

10 15 20

94

- (2) 序列信息: SEQ ID NO: 39:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 22 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无
(v) 片段类型: 内部的
(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 39:

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Glu Ile Val
20

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 40:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 30 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 40:

GACTGTGTCA GTACTATCTC GGAGTGGACA 30

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 41:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 55 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 41:

GGGCAGCCTC CTAAGTTGCT CATTACTGG GCGTCGACTA GGGAATCTGG GGTAC 55

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 42:

(i) 序列特征:
(A) 长度: 51 个碱基对

- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 42:

CCCAGATTCC CTAGTCGACG CCCAGTAAAT GAGCAACTTA GGAGGCTGCC C 51

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 43:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 321 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 1...321
- (D) 其它信息: F9HZLC1-0

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 43:

GAA ATA GTA CTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG	48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
1 5 10 15	
GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG	96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met	
20 25 30	
CAC TGG TAC CAA CAG AGA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT	144
His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr	
35 40 45	

GCC ACT AGT AAC CTG GCT TCT GGC ATC CCA GCC AGG TTC AGT GGA TCC	192
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	
GGG TCT GGG ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGT CTA GAG CCT GAA	240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu	
65 70 75 80	
GAT TTT GCG GTT TAT TAC TGT CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG ACG	288
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr	
85 90 95	
TTC GGC GGA GGG ACC AAG GTG GAG ATC AAA CGA	321
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg	
100 105	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 44:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 107 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 44:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 45:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 134 个碱基对

- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 45:

CCTGGACAAG GGCTCAAGTG GATGGGATGG ATAAACACCA GAAATGGAAA GTCAACATAT	60
GTTGATGACT TCAAGGGACG GTTTGTCTTC TCTCTAGACT CCTCTGTCAG CACGGCATAT	120
CTACAGATCA GCAG	134

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 46:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 134 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 46:

GGTACCCTGG CCCAGTAAG TAAAAGGGAA GTAACCATCC ATATCCCTT CTCTCGTACA	60
GTAATACACT GCAGTGTCGT CAGCCTTTAG GCTGCTGATC TGTAGATATG CCGTGCTGAC	120
AGAGGAGTCT AGAG	134

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 47:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 225 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 1...225

(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 47:

CCT GGA CAA GGG CTC AAG TGG ATG GGA TGG ATA AAC ACC AGA AAT GGA 48
Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Arg Asn Gly
1 5 10 15

AAG TCA ACA TAT GTT GAT GAC TTC AAG GGA CGG TTT GTC TTC TCT CTA 96
Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu
20 25 30

GAC TCC TCT GTC AGC ACG GCA TAT CTA CAG ATC AGC AGC CTA AAG GCT 144
Asp Ser Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala
35 40 45

GAC GAC ACT GCA GTG TAT TAC TGT ACG AGA GAA GGG AAT ATG GAT GGT 192
Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Asn Met Asp Gly
50 55 60

TAC TTC CCT TTT ACT TAC TGG GGC CAG GGT ACC 225
Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
65 70 75

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 48:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 75 氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 48:

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

(vi) 来源:

(ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 1...363

(D) 其它信息: F9HZHC 1-1

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 51:

CAG Gln 1	GTG Val	CAA Gln	CTA Leu	GTG Val 5	CAA Gln	TCT Ser	GGG Gly	TCT Ser	GAG Glu 10	TTG Leu	AAG Lys	AAG Lys	CCT Pro	GGG Gly 15	GCC Ala	48
TCA Ser	GTG Val	AAG Lys	GTT Val 20	TCC Ser	TGC Cys	AAG Lys	GCC Ala	TCT Ser 25	GGA Gly	TAC Tyr	ACC Thr	TTC Phe	ACT Thr 30	AAC Asn	TAT Tyr	96
GGA Gly	ATG Met	AAC Asn 35	TGG Trp	GTG Val	CGA Arg	CAG Gln	GCC Ala 40	CCT Pro	GGA Gly	CAA Gln	GGG Gly	CTC Leu 45	AAG Lys	TGG Trp	ATG Met	144
GGA Gly 50	TGG Trp	ATA Ile	AAC Asn	ACC Thr	AGA Arg	AAT Asn 55	GGA Gly	AAG Lys	TCA Ser	ACA Thr	TAT Tyr 60	GTT Val	GAT Asp	GAC Asp	TTC Phe	192
AAG Lys 65	GGA Gly	CGG Arg	TTT Phe	GTC Val 70	TTC Phe	TCT Ser	CTA Leu	GAC Asp	TCC Ser	TCT Ser 75	GTC Val	AGC Ser	ACG Thr	GCA Ala 80	TAT Tyr	240
CTA Leu	CAG Gln	ATC Ile	AGC Ser 85	AGC Ser	CTA Leu	AAG Lys	GCT Ala	GAC Asp	GAC Asp 90	ACT Thr	GCA Ala	GTG Val	TAT Tyr 95	TAC Tyr	TGT Cys	288
ACG Thr	AGA Arg	GAA Glu	GGG Gly 100	AAT Asn	ATG Met	GAT Asp	GGT Gly	TAC Tyr 105	TTC Phe	CCT Pro	TTT Phe	ACT Thr 110	TAC Tyr	TGG Trp	GGC Gly	336
CAG Gln	GGT Gly	ACC Thr 115	CTG Leu	GTC Val	ACC Thr	GTC Val	TCC Ser 120	TCA Ser								360

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 52:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 121 氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

- (iii) 模拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 52:

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Arg Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Ser Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Gly Asn Met Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 53:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 82 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 模拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 53:

CAACAGAGAC CTGGCCAGGC TCCCAAGCCC TGGATCTATG CCACGAGTAA CCTGGCTAGC 60
GGCGTCCCAG CCAGGTTTCAG TG 82

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 54:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 90 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

- (xi) 序列描述: SEQ ID NO: 54:

GATCCACTGA ACCTGGCTGG GACGCCGCTA GCCAGGTTAC TCGTGGCATA GATCCAGGGC60

TTGGGAGCCT GGCCAGGTCT CTGTTGGTAC90

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 55:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 27 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 肽
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 55:

Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser

15

Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

2025

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 56:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 321 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 1...321
- (D) 其它信息: F9HZLC 1-1

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 56:

GAA ATA GTA CTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG	48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
1 5 10 15	
GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG	96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met	
20 25 30	
CAC TGG TAC CAA CAG AGA CCT GGC CAG GCT CCC AAG CCC TGG ATC TAT	144
His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr	
35 40 45	
GCC ACG AGT AAC CTG GCT AGC GGC GTC CCA GCC AGG TTC AGT GGA TCC	192
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	
GGG TCT GGG ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGT CTA GAG CCT GAA	240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu	
65 70 75 80	
GAT TTT GCG GTT TAT TAC TGT CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG ACG	288
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr	
85 90 95	
TTC GGC GGA GGG ACC AAG GTG GAG ATC AAA CGA	321
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg	
100 105	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 57:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 107 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 57:

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 58:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 41 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 58:

GATCCGGGTC TGGGACAGAT TACTCTCTCA CGATATCCAG T 41

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 59:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 41 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 59:

CTAGACTGGA TATCGTGAGA GTGTAATCTG TCCCAGACCC G 41

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 60:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 13 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸

- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 肽
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 60:

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser
1 5 10

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 61:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 321 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 1...321
- (D) 其它信息: F9HZLC 1-2

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 61:

GAA ATA GTA CTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG	48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
1 5 10 15	
GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG	96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met	
20 25 30	
CAC TGG TAC CAA CAG AGA CCT GGC CAG GCT CCC AAG CCC TGG ATC TAT	144
His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr	
35 40 45	
GCC ACG AGT AAC CTG GCT AGC GGC GTC CCA GCC AGG TTC AGT GGA TCC	192
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	

GGG TCT GGG ACA GAT TAC ACT CTC ACG ATA TCC AGT CTA GAG CCT GAA 240
 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80

GAT TTT GCG GTT TAT TAC TGT CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG ACG 288
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr
 85 90 95

TTC GGC GGA GGG ACC AAG GTG GAG ATC AAA CGA 321
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 62:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 107 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 62:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 63:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 165 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 63:

```
AGTACTCACC CAGAGCCCAA GCAGCCTGAG CGCCAGCGTG GGTGACAGAG TGACCATCAC    60
CTGCAGGGCC AGCTCAAGTG TAAATTACAT GCACTGGTAC CAGCAGAAGC CAGGTAAGGC    120
TCCAAAGCCT TGGATCTACG CCACTAGTAA CCTGGCTTCT GGTGT                      165
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 64:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 161 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 64:

```
CCGCGGGTTA ATACTCCACT GCTGGCAGTA GTAGGTGGCG ATATCCTCTG GCTGGAGGCT    60
GCTGATGCTG AAGGTGTAGT CTGTACCGCT ACCGGATCCG CTGAATCTGC TTGGCACACC    120
AGAAGCCAGG TTACTAGTGG CGTAGATCCA AGGCTTTGGA G                          161
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 65:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 280 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 2...280

(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 65:

```

A GTA CTC ACC CAG AGC CCA AGC AGC CTG AGC GCC AGC GTG GGT GAC AGA      49
Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
   1             5             10             15

GTG ACC ATC ACC TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG CAC TGG      97
Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp
           20             25             30

TAC CAG CAG AAG CCA GGT AAG GCT CCA AAG CCT TGG ATC TAC GCC ACT      145
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Thr
           35             40             45

AGT AAC CTG GCT TCT GGT GTG CCA AGC AGA TTC AGC GGA TCC GGT AGC      193
Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
           50             55             60

GGT ACA GAC TAC ACC TTC ACC ATC AGC AGC CTC CAG CCA GAG GAT ATC      241
Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile
65             70             75             80

GCC ACC TAC TAC TGC CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG      280
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg
           85             90

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 66:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 93 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 66:

```

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

```


50

55

60

Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile

65707580

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg

8590

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 67:

- (i) 序列特征:
- (A) 长度: 27 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 67:

TTTAGTACTC ACCCAGAGCC CAAGCAG

27

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 68:

- (i) 序列特征:
- (A) 长度: 27 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 68:

TTCCGCGGGT TAATACTCCA CTGCTGG

27

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 69:

- (i) 序列特征:
- (A) 长度: 33 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 69:

CTCGAGCAGT ACTATCTGGG AGTGGACACC TGT

33

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 70:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 17 氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 肽

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: N-末端

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 70:

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
1 5 10 15
Ala

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 71:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 48 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 71:

GGACGTTCCG CCAAGGGACC AAGGTGGAAA TCAAACGGAC TGTGGCGG

48

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 72:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 52 个碱基对

- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 72:

CGCCGCCACA GTCCGTTTGA TTTCCACCTT GGTCCCTTGG CCGAACGTCC GC 52

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 73:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 321 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 1...321
- (D) 其它信息: F9HZLC 2-0

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 73:

CAG ATA GTA CTC ACC CAG AGC CCA AGC AGC CTG AGC GCC AGC GTG GGT	48
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
1 5 10 15	
GAC AGA GTG ACC ATC ACC TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG	96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met	
20 25 30	
CAC TGG TAC CAG CAG AAG CCA GGT AAG GCT CCA AAG CCT TGG ATC TAC	144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr	
35 40 45	
GCC ACT AGT AAC CTG GCT TCT GGT GTG CCA AGC AGA TTC AGC GGA TCC	192
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	

```

GGT AGC GGT ACA GAC TAC ACC TTC ACC ATC AGC AGC CTC CAG CCA GAG      240
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65              70              75              80

GAT ATC GCC ACC TAC TAC TGC CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG ACG      288
Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr
            85              90              95

TTC GGC CAA GGG ACC AAG GTG GAA ATC AAA CGG                        321
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
            100              105

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 74:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 107 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 74:

```

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

```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 75:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 94 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:
 - (A) NAME/KEY: 编码序列
 - (B) 位置: 27...94
 - (D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 75:

GAATTCTGAG CACACAGGAC CTCACC ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC53

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe

15

TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC CAG ATA GTA CT94

Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Gln Ile Val Leu

101520

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 76:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 23 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 76:

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

151015

Val His Ser Gln Ile Val Leu

20

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 77:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 401 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 27...401

(D) 其它信息: F9HZLC 1-3

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 77:

GAATTCTGAG CACACAGGAC CTCACC ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC	53
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe	
1 5	
TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC CAG ATA GTA CTG ACA CAG	101
Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Gln Ile Val Leu Thr Gln	
10 15 20 25	
TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC	149
Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser	
30 35 40	
TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG CAC TGG TAC CAA CAG AGA	197
Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Arg	
45 50 55	
CCT GGC CAG GCT CCC AAG CCC TGG ATC TAT GCC ACG AGT AAC CTG GCT	245
Pro Gly Gln Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala	
60 65 70	
AGC GGC GTC CCA GCC AGG TTC AGT GGA TCC GGG TCT GGG ACA GAT TAC	293
Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr	
75 80 85	
ACT CTC ACG ATA TCC AGT CTA GAG CCT GAA GAT TTT GCG GTT TAT TAC	341
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr	
90 95 100 105	
TGT CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG ACG TTC GGC GGA GGG ACC AAG	389
Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys	
110 115 120	
GTG GAG ATC AAA	401
Val Glu Ile Lys	
125	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 78:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 125 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 78:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 79:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 81 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 79:

AGGCCTCTGG ATACACCTTC ACTAACTATG GAATGAACTG GGTGCGACAG GCCCCTGGAC 60

AAGGGCTCGA GTGGATGGGA T

81

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 80:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 99 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 80:

TGTCTAGAGA GAAGACAAAC CGTCCCTTGA AGTCATCAAC ATATGTTGAC TTTCCATTTT	60
TGGTGTAT CCATCCCATC CACTCGAGCC CTTGTCCAG	99

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 81:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 87 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 81:

GGTTTGTCTT CTCTCTAGAC ACCTCTGTCA GCACGGCATA TCTACAGATC AGCAGCCTAA	60
AGGCTGAGGA CACTGCAGTG TATTTCT	87

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 82:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 86 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 82:

GGTACCCTGG CCCCAGTAAG TAAAAGGGAA GTAACCATCC ATATTCCCTT CTCTCGTACA	60
GAAATACACT GCAGTGCCT CAGCCT	86

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 83:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 278 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 3...278

(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 83:

AG GCC TCT GGA TAC ACC TTC ACT AAC TAT GGA ATG AAC TGG GTG CGA	47
Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg	
1 5 10 15	
CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTC GAG TGG ATG GGA TGG ATA AAC ACC AGA	95
Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Arg	
20 25 30	
AAT GGA AAG TCA ACA TAT GTT GAT GAC TTC AAG GGA CGG TTT GTC TTC	143
Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe	
35 40 45	
TCT CTA GAC ACC TCT GTC AGC ACG GCA TAT CTA CAG ATC AGC AGC CTA	191
Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu	
50 55 60	
AAG GCT GAG GAC ACT GCA GTG TAT TTC TGT ACG AGA GAA GGG AAT ATG	239
Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Arg Glu Gly Asn Met	
65 70 75	
GAT GGT TAC TTC CCT TTT ACT TAC TGG GGC CAG GGT ACC	278

Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
80 85 90

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 84:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 92 氨基酸
 - (B) 类型: 氨基酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 84:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 85:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 30 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 85:

AGGCCTCTGG ATACACCTTC ACTAACTATG 30

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 86:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 26 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 86:

GGTACCCTGG CCCCAGTAAG TAAAAG

26

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 87:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 37 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 87:

CCAGACTCGA CTAGTTGGAT CTGGGAGTGG ACACCTG

37

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 88:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 446 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 27...446

(D) 其它信息: F9HZHC 3-0

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 88:

GAATTCTGAG CACACAGGAC CTCACC ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC	53
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe	
1 5	
TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC CAG ATC CAA CTA GTG CAA	101
Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln	
10 15 20 25	
TCT GGG TCT GAG TTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTT TCC TGC	149
Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys	
30 35 40	
AAG GCC TCT GGA TAC ACC TTC ACT AAC TAT GGA ATG AAC TGG GTG CGA	197
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg	
45 50 55	
CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTC GAG TGG ATG GGA TGG ATA AAC ACC AGA	245
Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Arg	
60 65 70	
AAT GGA AAG TCA ACA TAT GTT GAT GAC TTC AAG GGA CGG TTT GTC TTC	293
Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe	
75 80 85	
TCT CTA GAC ACC TCT GTC AGC ACG GCA TAT CTA CAG ATC AGC AGC CTA	341
Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu	
90 95 100 105	
AAG GCT GAG GAC ACT GCA GTG TAT TTC TGT ACG AGA GAA GGG AAT ATG	389
Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Arg Glu Gly Asn Met	
110 115 120	
GAT GGT TAC TTC CCT TTT ACT TAC TGG GGC CAG GGT ACC CTG GTC ACC	437
Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
125 130 135	
GTC TCC TCT	446
Val Ser Ser	
140	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 89:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 140 氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 89:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 90:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 90 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 90:

AGTACTGACA CAGTCTCCAT CCTCCCTGTC TGCATCTGTT GGGGACAGAG TCACCATCAC 60
TTGCAGGGCC AGCTCAAGTG TAAATTACAT 90

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 91:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 108 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 91:

```
CTTGATGGGA CGCCGCTAGC CAGGTTACTC GTGGCATAGA TCCAGGGCTT GGGAGCTTTG    60
CCAGGTTTCT GTTGGTACCA GTGCATGTAA TTTACACTTG AGCTGGCC                108
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 92:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 108 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 92:

```
TAACCTGGCT AGCGGCGTCC CATCAAGGTT CAGTGGATCC GGGTCTGGGA CAGATTACAC    60
TCTCACCATA TCCAGTCTAC AACCTGAAGA TTTGCGACT TATTACTG                108
```

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 93:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 102 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 93:

GGCGCCGCCA CAGTTCGTTT GATCTCCAGC TTGGTCCCTC CGCCGAACGT CCGCGGGTTA 60
ATACTCCACT GCTGACAGTA ATAAGTCGCA AAATCTTCAG GT 102

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 94:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 330 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 2...328

(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 94:

A GTA CTG ACA CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTT GGG GAC AGA	49
Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg	
1 5 10 15	
GTC ACC ATC ACT TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG CAC TGG	97
Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp	
20 25 30	
TAC CAA CAG AAA CCT GGC AAA GCT CCC AAG CCC TGG ATC TAT GCC ACG	145
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Thr	
35 40 45	
AGT AAC CTG GCT AGC GGC GTC CCA TCA AGG TTC AGT GGA TCC GGG TCT	193
Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser	
50 55 60	
GGG ACA GAT TAC ACT CTC ACG ATA TCC AGT CTA CAA CCT GAA GAT TTT	241
Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe	
65 70 75 80	
GCG ACT TAT TAC TGT CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCG CGG ACG TTC GGC	289
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr Phe Gly	
85 90 95	
GGA GGG ACC AAG CTG GAG ATC AAA CGA ACT GTG GCG GCG CC	330

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 95:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 109 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 95:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 96:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 26 个碱基对
- (B) 类型: 核酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 96:

CAAGTACTGA CACAGTCTCC ATCCTC

26

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 97:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 26 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 97:

AGGGCGCCGC CACAGTTCGT TTGATC

26

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 98:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 412 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性
- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 27...412
- (D) 其它信息: F9HZLC 3-0

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 98:

GAATTCTGAG CACACAGGAC CTCACC ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC53

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe

15

TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC CAG ATA GTA CTG ACA CAG101

Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Gln Ile Val Leu Thr Gln

10152025

TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTT GGG GAC AGA GTC ACC ATC ACT149

Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr		
				30					35					40			
TGC	AGG	GCC	AGC	TCA	AGT	GTA	AAT	TAC	ATG	CAC	TGG	TAC	CAA	CAG	AAA	197	
Cys	Arg	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Asn	Tyr	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys		
			45					50					55				
CCT	GGC	AAA	GCT	CCC	AAG	CCC	TGG	ATC	TAT	GCC	ACG	AGT	AAC	CTG	GCT	245	
Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Pro	Trp	Ile	Tyr	Ala	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala		
		60					65					70					
AGC	GGC	GTC	CCA	TCA	AGG	TTC	AGT	GGA	TCC	GGG	TCT	GGG	ACA	GAT	TAC	293	
Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr		
	75					80				85							
ACT	CTC	ACG	ATA	TCC	AGT	CTA	CAA	CCT	GAA	GAT	TTT	GCG	ACT	TAT	TAC	341	
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr		
90				95					100					105			
TGT	CAG	CAG	TGG	AGT	ATT	AAC	CCG	CGG	ACG	TTC	GGC	GGA	GGG	ACC	AAG	389	
Cys	Gln	Gln	Trp	Ser	Ile	Asn	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys		
			110					115					120				
CTG	GAG	ATC	AAA	CGA	ACT	GTG	GC									412	
Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Val										
			125														

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 99:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 129 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 99:

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

[illegible]

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 100:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 26 个碱基对
(B) 类型: 核酸
(C) 链: 单链
(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEO ID NO: 100:

CAAATAGTAC TCTCCCAGTC TCCAGC

26

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 101:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 41 个碱基对
(B) 类型: 核酸
(C) 链: 单链
(D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: cDNA

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 101:

GGATAAGCTT GCGCCGCAA CAGTCGGTTT GATTTCACG T

41

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 102:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 335 个碱基对
(B) 类型: 核酸

- (C) 链: 单链
(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
(iii) 假拟: 无
(iv) 反义: 无
(v) 片段类型:
(vi) 来源:
(ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
(B) 位置: 1...335
(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 102:

CAG ATA GTA CTC TCC CAG TCT CCA GCA ATC CTG TCT GCA TCT CCA GGG	48
Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly	
1 5 10 15	
GAG AAG GTC ACA ATG ACT TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG	96
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met	
20 25 30	
CAC TGG TAC CAG CAG AAG CCA GGA TCC TCC CCC AAA CCC TGG ATT TAT	144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr	
35 40 45	
GCC ACA TCC AAC CTG GCT TCT GGA GTC CCT GCT CGC TTC AGT GGC AGT	192
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	
GGG TCT GGG ACC TCT TAC TCT CTC ACA ATC AGC AGA GTG GAG GCT GAA	240
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu	
65 70 75 80	
GAT GCT GCC ACT TAT TAC TGC CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCA CGG ACG	288
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr	
85 90 95	
TTC GGT GGA GGC ACC AAG CTG GAA ATC AAA CGG ACT GTT GCG GCG CC	335
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro	
100 105 110	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 103:

- (i) 序列特征:
(A) 长度: 112 氨基酸
(B) 类型: 氨基酸
(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 103:

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

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 104:

- (i) 序列特征:
 - (A) 长度: 318 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:
- (ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
- (B) 位置: 1... 318
- (D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 104:

CAG ATA GTA CTC TCC CAG TCT CCA GCA ATC CTG TCT GCA TCT CCA GGG 48
Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

GAG AAG GTC ACA ATG ACT TGC AGG GCC AGC TCA AGT GTA AAT TAC ATG	96
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met	
20 25 30	
CAC TGG TAC CAG CAG AAG CCA GGA TCC TCC CCC AAA CCC TGG ATT TAT	144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr	
35 40 45	
GCC ACA TCC AAC CTG GCT TCT GGA GTC CCT GCT CGC TTC AGT GGC AGT	192
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	
GGG TCT GGG ACC TCT TAC TCT CTC ACA ATC AGC AGA GTG GAG GCT GAA	240
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu	
65 70 75 80	
GAT GCT GCC ACT TAT TAC TGC CAG CAG TGG AGT ATT AAC CCA CGG ACG	288
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ile Asn Pro Arg Thr	
85 90 95	
TTC GGT GGA GGC ACC AAG CTG GAA ATC AAA	318
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
100 105	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 105:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 106 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 105:

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

859095

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100105

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 106:

- (i) 序列特征:

(A) 长度: 30 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 106:

CAGATCCAAC TAGTGCAGTC TGGACCTGAG30

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 107:

- (i) 序列特征:

(A) 长度: 32 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型:
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 107:

TTAAGCTTGC TAGCTGCAGA GACAGTGACC AG32

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 108:

- (i) 序列特征:

(A) 长度: 369 个碱基对

(B) 类型: 核酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无

(v) 片段类型:

(vi) 来源:

(ix) 特点:

(A) NAME/KEY: 编码序列

(B) 位置: 1...369

(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 108:

CAG Gln 1	ATC Ile	CAA Gln	CTA Leu	GTG Val 5	CAG Gln	TCT Ser	GGA Gly	CCT Pro	GAG Glu 10	CTG Leu	AAG Lys	AAG Lys	CCT Pro	GGA Gly 15	GAG Glu	48
ACA Thr	GTC Val	AAG Lys	ATC Ile	TCC Ser 20	TGC Cys	AAG Lys	GCT Ala	TCT Ser	GGG Gly 25	TAC Tyr	ACC Thr	TTC Phe	ACA Thr	AAC Asn	TAT Tyr	96
GGA Gly	ATG Met	AAC Asn 35	TGG Trp	GTG Val	AAG Lys	CAG Gln	GCT Ala	CCA Pro	GGA Gly 40	AAG Lys	GGT Gly	TTA Leu	AAG Lys	TGG Trp	ATG Met	144
GGC Gly 50	TGG Trp	ATA Ile	AAC Asn	ACC Thr	AGA Arg	AAT Asn 55	GGA Gly	AAG Lys	TCA Ser	ACA Thr	TAT Tyr 60	GTT Val	GAT Asp	GAC Asp	TTC Phe	192
AAG Lys 65	GGA Gly	CGG Arg	TTT Phe	GCC Ala	TTC Phe 70	TCT Ser	TTG Leu	GAA Glu	AGC Ser	TCT Ser 75	GCC Ala	AGC Ser	ACT Thr	GCC Ala	AAT Asn 80	240
TTG Leu	CAG Gln	ATC Ile	GAC Asp	AAC Asn 85	CTC Leu	AAA Lys	GAT Asp	GAG Glu	GAC Asp 90	ACG Thr	GCT Ala	ACA Thr	TAT Tyr	TTC Phe 95	TGT Cys	288
ACA Thr	AGA Arg	GAA Glu	GGG Gly	AAT Asn 100	ATG Met	GAT Asp	GGT Gly	TAC Tyr	TTC Phe 105	CCT Pro	TTT Phe	ACT Thr	TAC Tyr	TGG Trp	GGC Gly	336
CAA Gln	GGG Gly	ACT Thr 115	CTG Leu	GTC Val	ACT Thr	GTC Val	TCT Ser	GCA Ala	GCT Ala 120	AGC Ser						36

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 109:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 123 氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 链: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: 蛋白质
- (iii) 假拟: 无
- (iv) 反义: 无
- (v) 片段类型: 内部的
- (vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 109:

Gln	Ile	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Lys	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Arg	Asn	Gly	Lys	Ser	Thr	Tyr	Val	Asp	Asp	Phe
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Asn
65				70					75					80	
Leu	Gln	Ile	Asp	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys
			85					90						95	
Thr	Arg	Glu	Gly	Asn	Met	Asp	Gly	Tyr	Phe	Pro	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly
		100					105					110			
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Ala	Ser					
		115					120								

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 110:

- (i) 序列特征:
- (A) 长度: 363 个碱基对
 - (B) 类型: 核酸
 - (C) 链: 单链
 - (D) 拓扑结构: 线性

- (ii) 分子类型: cDNA
(iii) 假拟: 无
(iv) 反义: 无
(v) 片段类型:
(vi) 来源:
(ix) 特点:

- (A) NAME/KEY: 编码序列
(B) 位置: 1...363
(D) 其它信息:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 110:

CAG ATC CAA CTA GTG CAG TCT GGA CCT GAG CTG AAG AAG CCT GGA GAG 48
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

ACA GTC AAG ATC TCC TGC AAG GCT TCT GGG TAC ACC TTC ACA AAC TAT	96
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	
20 25 30	
GGA ATG AAC TGG GTG AAG CAG GCT CCA GGA AAG GGT TTA AAG TGG ATG	144
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met	
35 40 45	
GGC TGG ATA AAC ACC AGA AAT GGA AAG TCA ACA TAT GTT GAT GAC TTC	192
Gly Trp Ile Asn Thr Arg Asn Gly Lys Ser Thr Tyr Val Asp Asp Phe	
50 55 60	
AAG GGA CGG TTT GCC TTC TCT TTG GAA AGC TCT GCC AGC ACT GCC AAT	240
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Ser Ser Ala Ser Thr Ala Asn	
65 70 75 80	
TTG CAG ATC GAC AAC CTC AAA GAT GAG GAC ACG GCT ACA TAT TTC TGT	288
Leu Gln Ile Asp Asn Leu Lys Asp Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys	
85 90 95	
ACA AGA GAA GGG AAT ATG GAT GGT TAC TTC CCT TTT ACT TAC TGG GGC	336
Thr Arg Glu Gly Asn Met Asp Gly Tyr Phe Pro Phe Thr Tyr Trp Gly	
100 105 110	
CAA GGG ACT CTG GTC ACT GTC TCT GCA	363
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala	
115 120	

(2) 序列信息: SEQ ID NO: 111:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 121 氨基酸
- (B) 类型: 氨基酸
- (C) 链: 单链
- (D) 拓扑结构: 线性

(ii) 分子类型: 蛋白质

(iii) 假拟: 无

(iv) 反义: 无

(v) 片段类型: 内部的

(vi) 来源:

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 111:

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

50						55						60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Asn		
65						70					75				80		
Leu	Gln	Ile	Asp	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys		
				85						90					95		
Thr	Arg	Glu	Gly	Asn	Met	Asp	Gly	Tyr	Phe	Pro	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly		
			100						105						110		
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala									
		115						120									

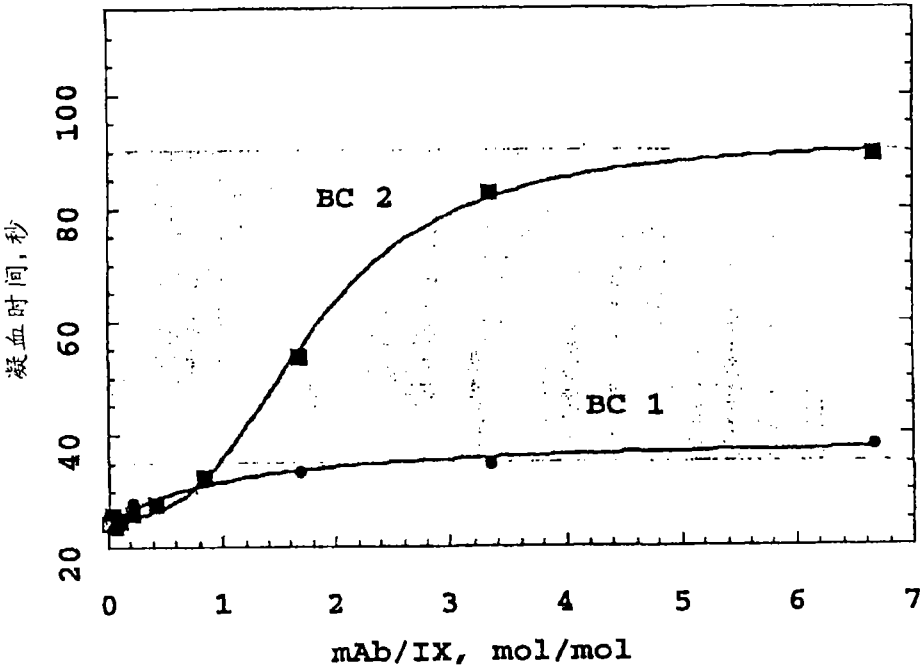


图 1

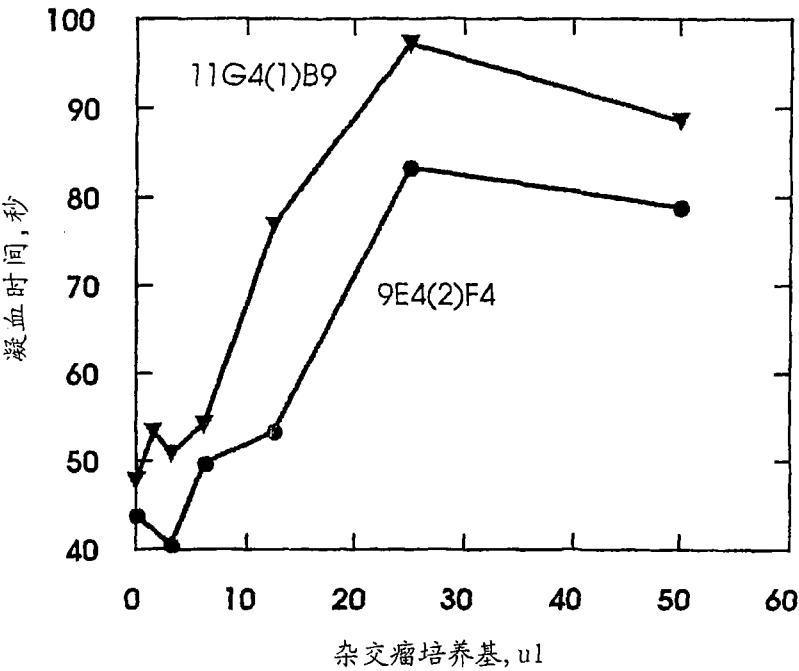


图 2

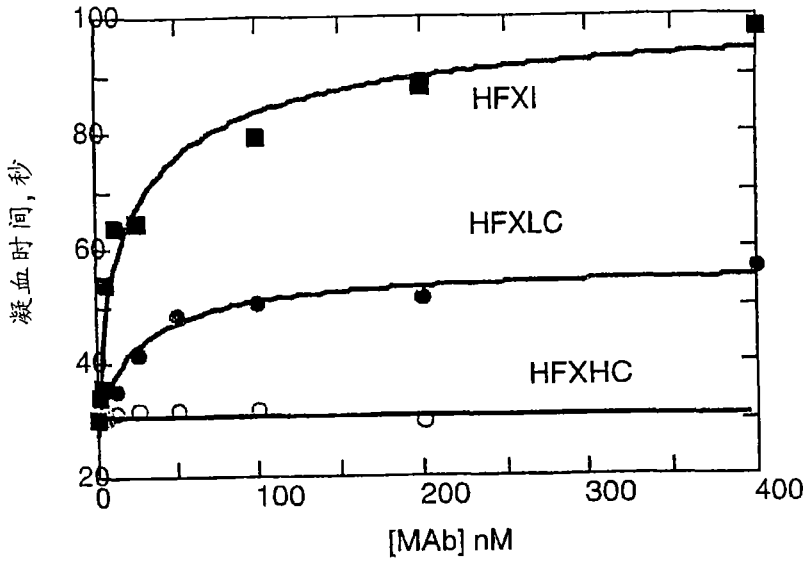


图 3

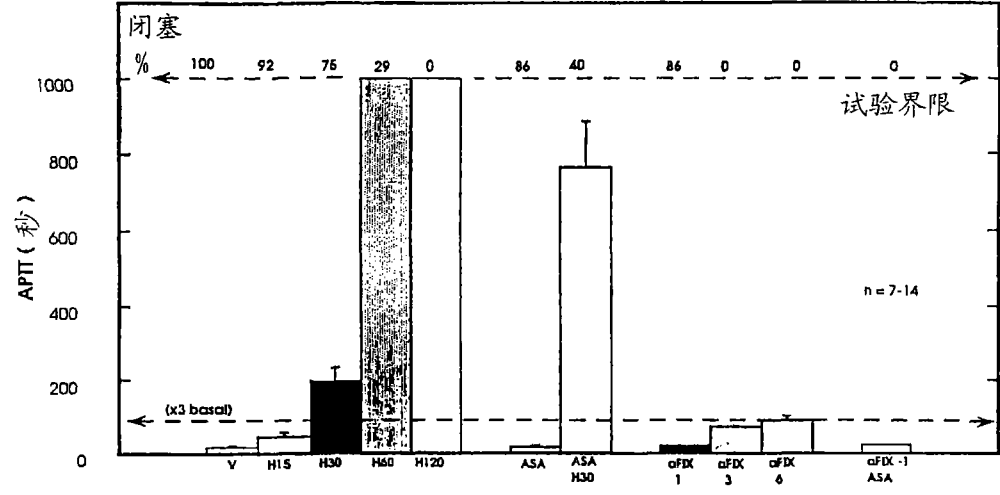


图 4

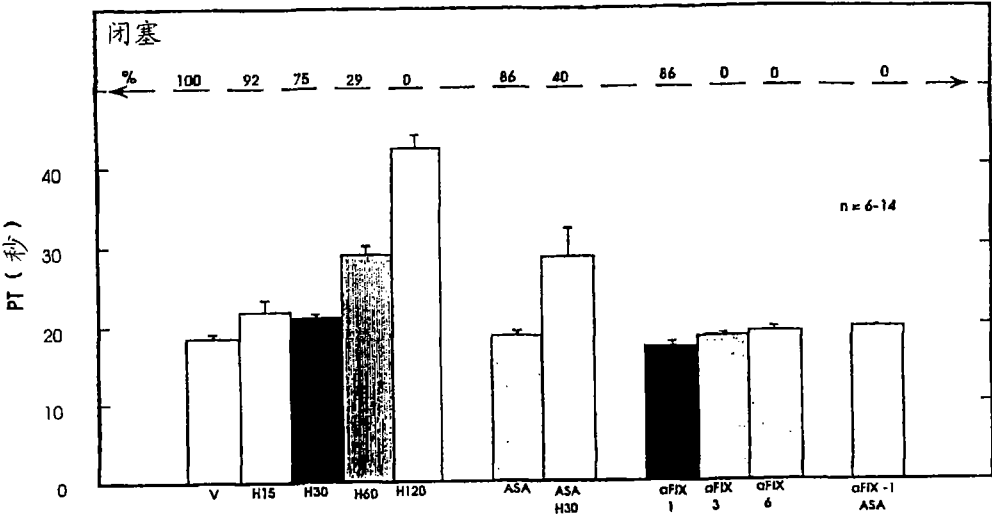


图 5

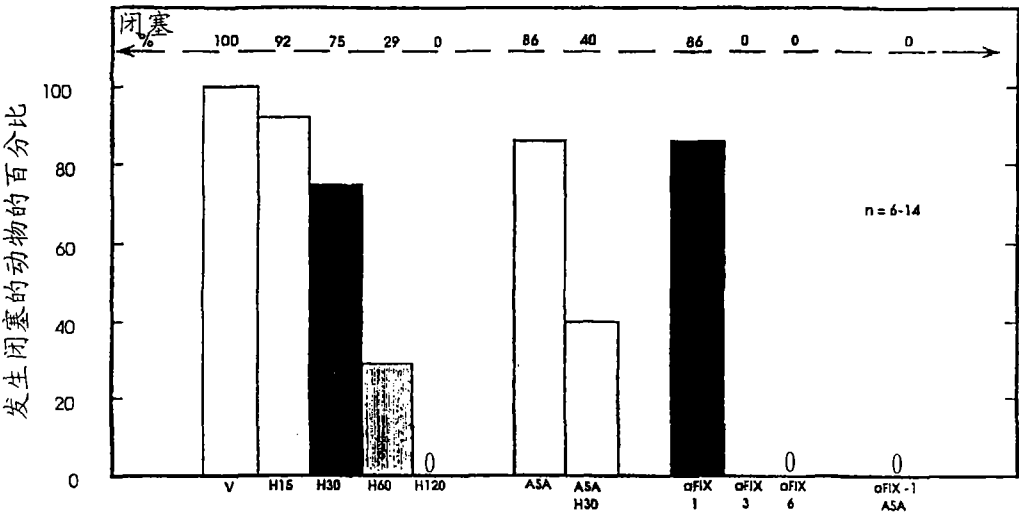


图 6

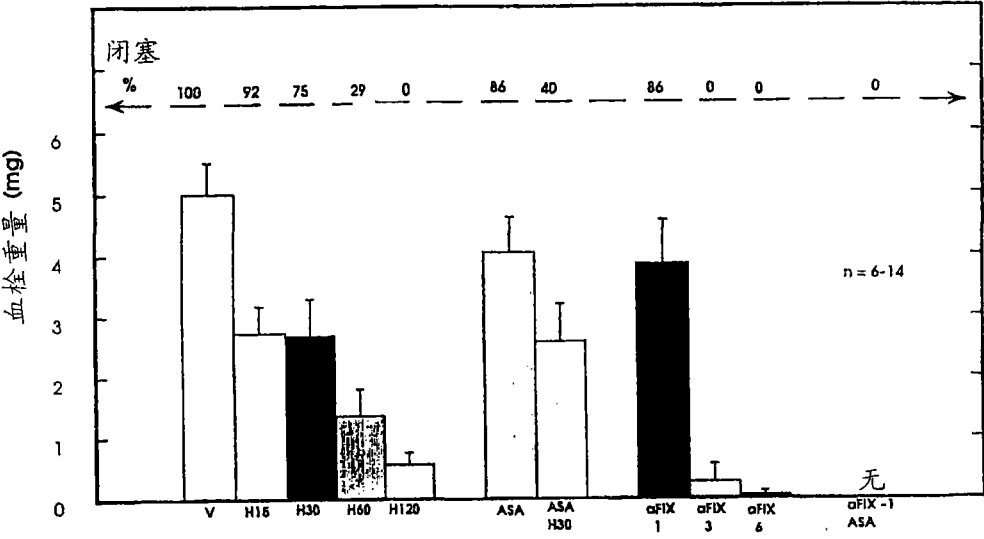


图 7

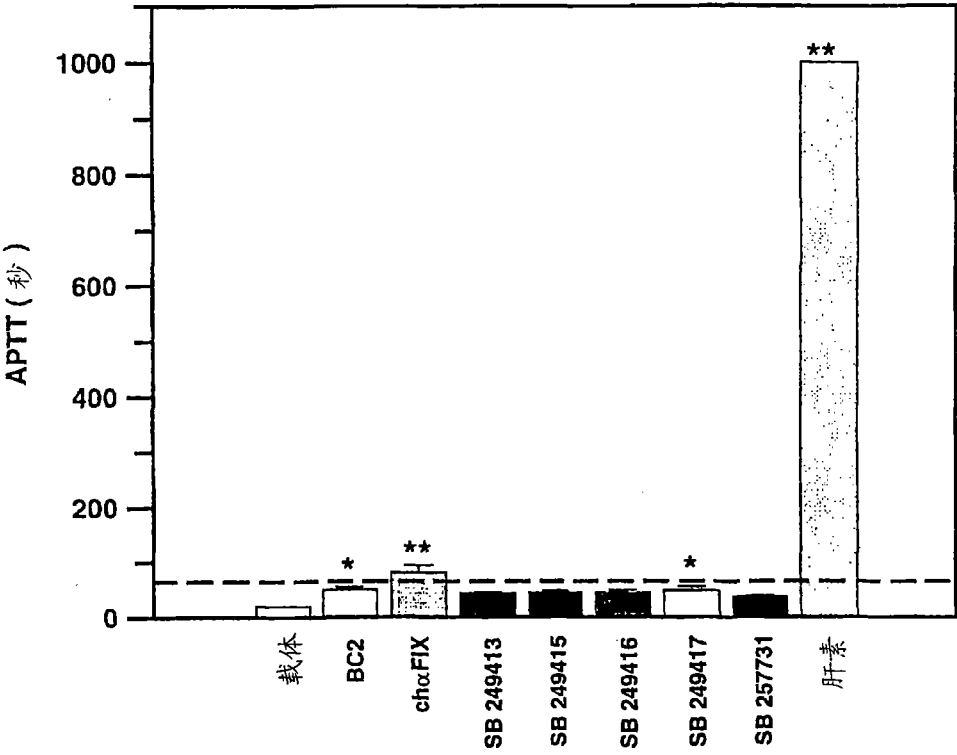


图 8

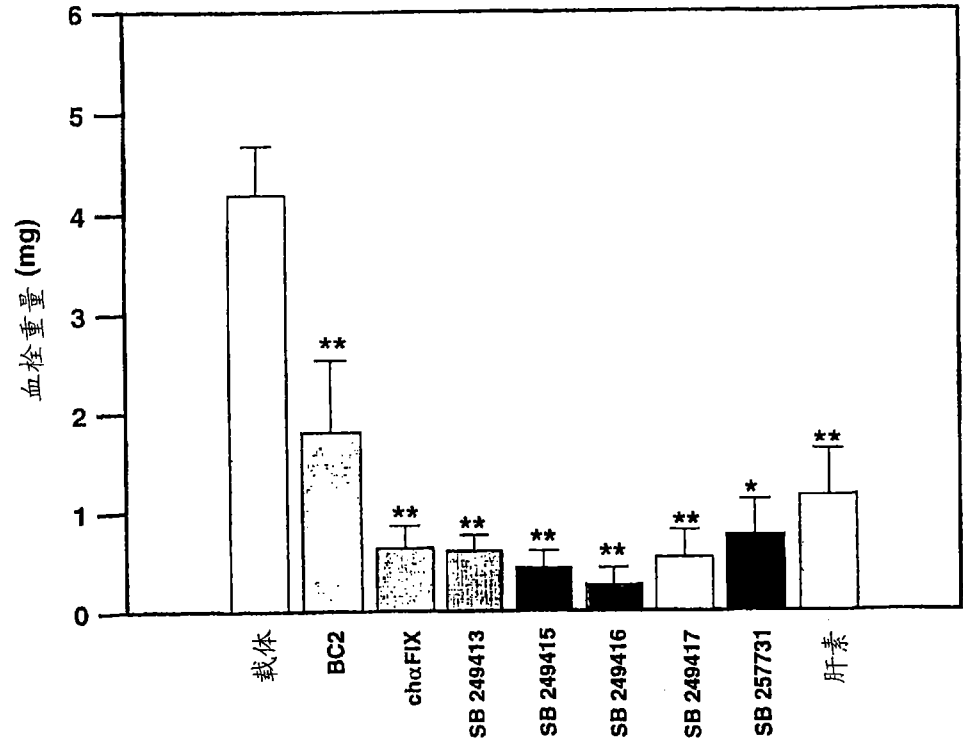


图 9

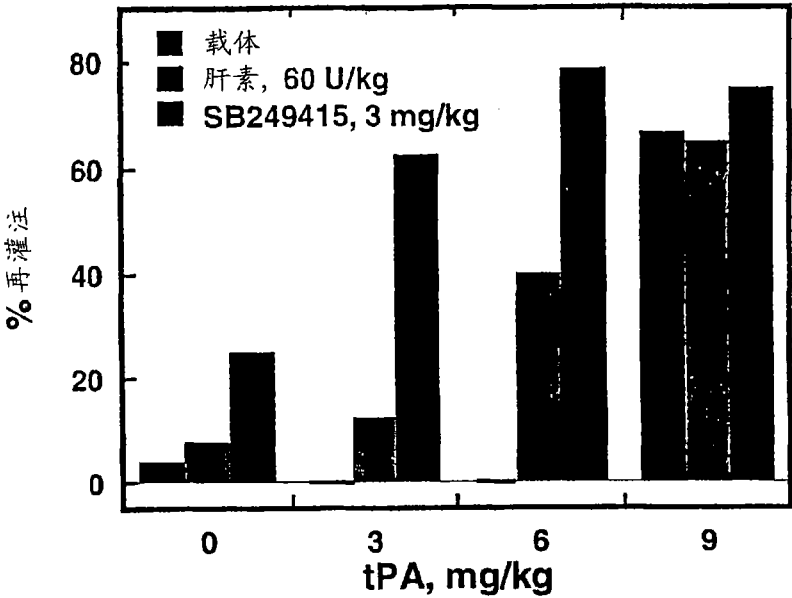


图 10

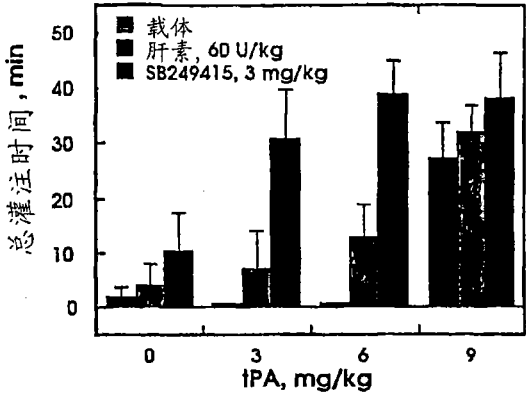


图 11

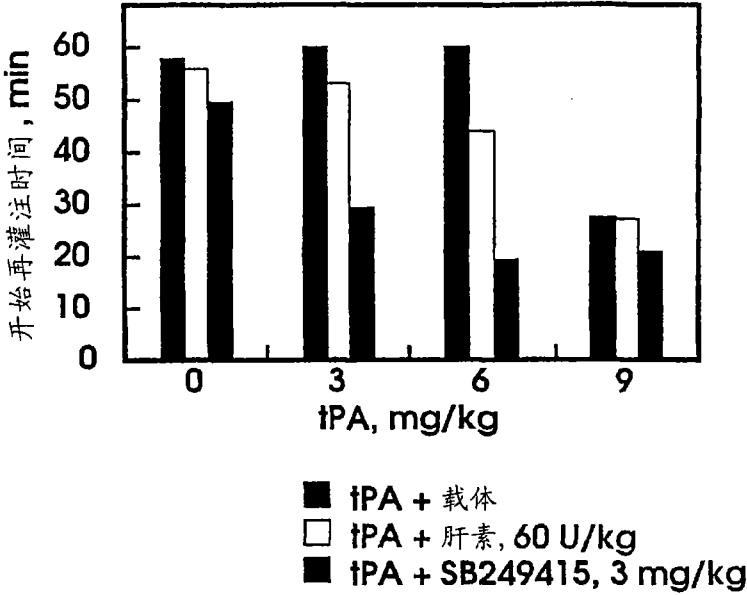


图 12

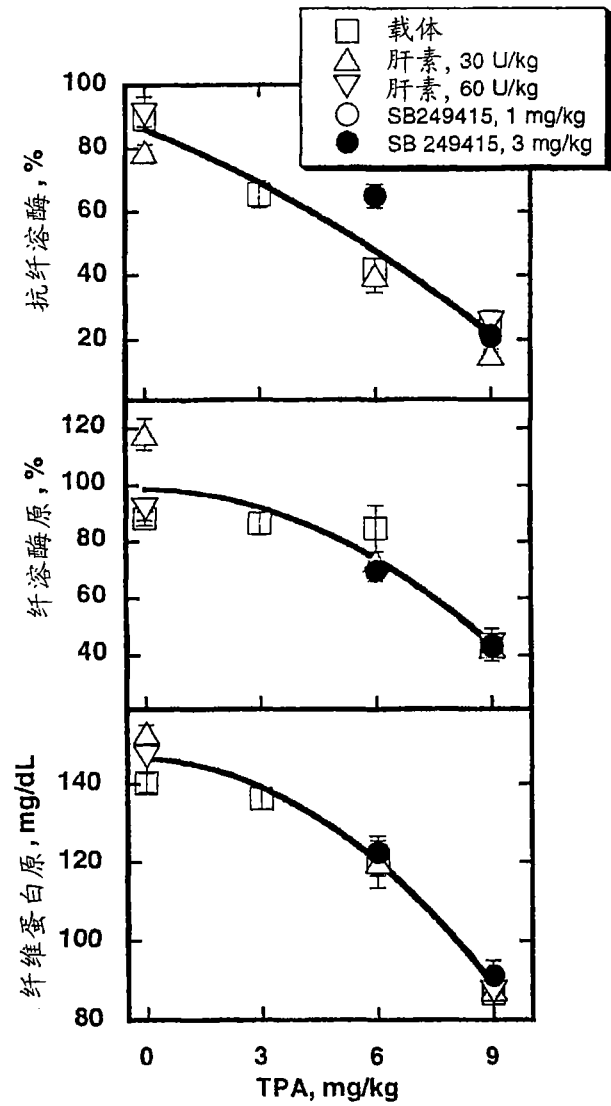


图 13

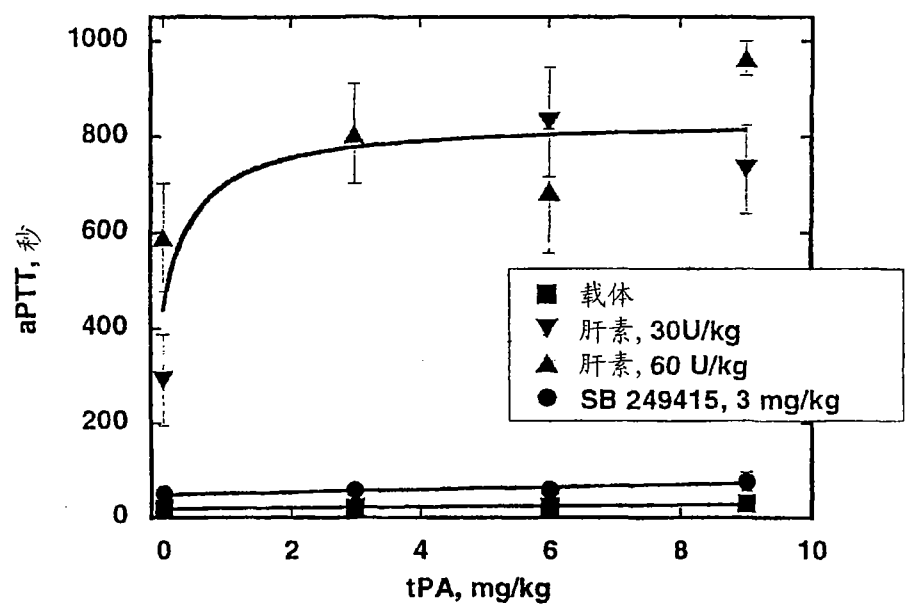


图 14

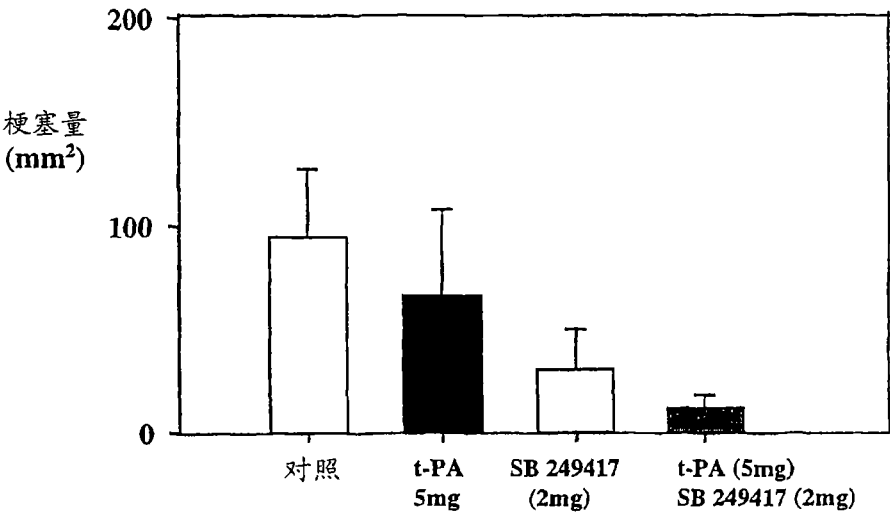


图 15