

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 39/02
A61P 31/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01815133.7

[43] 公开日 2003 年 10 月 29 日

[11] 公开号 CN 1452495A

[22] 申请日 2001.9.4 [21] 申请号 01815133.7
[30] 优先权
[32] 2000. 9. 4 [33] GB [31] 0021757.0
[86] 国际申请 PCT/GB01/03964 2001. 9. 4
[87] 国际公布 WO02/20045 英 2002. 3. 14
[85] 进入国家阶段日期 2003. 3. 4
[71] 申请人 免疫生物学有限公司
地址 英国剑桥
[72] 发明人 卡米洛·安东尼·利奥·塞尔温·科拉索

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
代理人 林晓红

权利要求书 4 页 说明书 10 页 附图 2 页

[54] 发明名称 抗微生物病原体的疫苗
[57] 摘要

本发明提供了一种包含微生物病原体的疫苗，其中所述微生物病原体接受了诱导应激的刺激。所述诱导应激的刺激可以是热激或渗透压震扰，优选所述微生物病原体被遗传修饰，这样热激蛋白基因的至少一个阻抑基因被失活，使热激蛋白组成型表达。尤其地，当将热激蛋白阻抑基因突变体细菌用于本发明疫苗中时，其示出有效诱导免疫性。本发明还提供了一种生产包含应激诱导的微生物病原体的疫苗的方法，以及热激蛋白阻抑基因缺失突变微生物作为疫苗载体的用途，其可额外地使异源抗原片段得以表达。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1.一种包含作为免疫决定簇的微生物病原体的疫苗，其中所述微生物病原体已经接受诱导应激的刺激。

2. 权利要求 1 的疫苗，其中诱导应激的刺激引起所述微生物表达热激蛋白。

3. 权利要求 1 或 2 的疫苗，其中所述诱导应激的刺激是热激或渗透压震扰。

4. 权利要求 1—3 任一项的疫苗，其中诱导应激的刺激是对微生物病原体进行的遗传修饰，这样热激蛋白基因的至少一个阻抑基因被失活，从而使热激蛋白基因表达。

5. 前述任一权利要求的疫苗，其中所述微生物病原体是能诱导感染性疾病的任何病原体。

6. 前述任一权利要求的疫苗，其中所述微生物病原体是细菌，动物，真菌或寄生虫。

7. 权利要求 4—6 任一项的疫苗，其中所述遗传修饰导致 hspR 阻抑基因失活。

8. 权利要求 4—6 任一项的疫苗，其中所述遗传修饰导致应激基因调节蛋白基因 MerR 或 HmrR 失活。

9. 权利要求 4—6 任一项的疫苗，其中所述遗传修饰导致转录控制基因 rho 或 sigma 失活。

10. 前述任一权利要求的疫苗，其中所述微生物病原体选自分枝杆菌属，沙门氏菌属，弧菌属，李斯特氏菌属，链霉菌属，螺杆菌属和乳球菌属。

11. 前述任一权利要求的疫苗，其中所述微生物病原体是减毒的。

12. 前述任一权利要求的疫苗，其中所述疫苗还包含一种佐剂。
13. 权利要求 12 的疫苗，其中所述佐剂选自 Freund's 完全佐剂，Freund's 不完全佐剂，Quil A，Detox，ISCOMs 和鲨烯。
14. 前述任一权利要求的疫苗，其中所述疫苗适于通过注射施用。
15. 权利要求 1—13 任一项的疫苗，其中所述疫苗适于口服施用。
16. 权利要求 14 的疫苗，其中所述疫苗适于通过无针输送方式输送。
17. 一种接种动物的方法，特征在于所述方法包括施用药物学适量的权利要求 1—13 任一项的疫苗组合物，所述数量足以激发所述动物的免疫应答。
18. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗作为预防性疫苗施用。
19. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗作为治疗性疫苗施用。
20. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗组合物通过注射施用。
21. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗组合物通过无针输送方式施用。
22. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗组合物是经皮施用。
23. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗组合物通过肺部输送施用。
24. 权利要求 17 的方法，其中所述疫苗口服施用。
25. 一种生产包含免疫原性决定簇的疫苗组合物的方法，特征在于所述方法包括以下步骤：使微生物病原体接受诱导应激的刺激；及使用所述应激的微生物作为所述免疫原性决定簇制备所述疫苗组合物。
26. 权利要求 25 的方法，特征在于所述诱导应激的刺激是热激

或渗透压震扰。

27. 权利要求 25 的方法，特征在于所述诱导应激的刺激是抑制热激蛋白基因表达的基因的失活。

28. 权利要求 25 的方法，特征在于所述阻抑基因是 hspR 基因。

29. 权利要求 25 的方法，特征在于所述阻抑基因是 MerR 或 HmrR。

30. 前述任一权利要求的方法，特征在于所述微生物病原体细胞在用于所述疫苗中之前被杀死。

31. 前述任一权利要求的方法，特征在于所述微生物病原体细胞在用于所述疫苗之前被干燥。

32. 权利要求 25—31 任一项的疫苗组合物，特征在于所述组合物是一种水性组合物。

33. 权利要求 25—31 任一项的疫苗组合物，特征在于所述组合物是一种干燥组合物。

34. 权利要求 25—31 任一项的疫苗组合物，特征在于所述组合物是一种冻干的组合物。

35. 一种病原性微生物作为疫苗载体以进而表达异源抗原的用途，所述微生物已经被遗传修饰，这样热激蛋白的至少一个阻抑基因被失活，从而使热激蛋白组成型表达。

36. 权利要求 34 的病原性微生物的用途，其中所述病原性微生物是一种原核生物，其适用于作为疫苗载体。

37. 权利要求 35 的病原性微生物的用途，其中所述原核生物是 BCG，所述异源抗原片段是破伤风类毒素片段 C。

38. 权利要求 34 的病原性微生物的用途，其中所述原核生物是沙门氏菌属或乳球菌属，这样所述疫苗可以口服。

39. 一种病原性微生物作为热激蛋白—肽复合物的来源以用于

亚单位和多亚单位疫苗中的用途，所述微生物已经被遗传修饰，这样热激蛋白的至少一个阻抑基因被失活，从而使热激蛋白组成型表达。

抗微生物病原体的疫苗

本发明涉及一种疫苗和一种生产疫苗的方法。更具体地，本发明提供了一种包含微生物病原体的疫苗和生产此疫苗的方法。

发明背景

任何人体免疫应答的一个重要组成部分是通过抗原呈递细胞（APCs）如巨噬细胞，B 细胞或树突细胞将抗原呈递给 T 细胞。外源抗原的肽片段呈递于巨噬细胞的表面，与主要组织相容复合物（MHC）分子组合，与辅助分子如 CD4 和 CD8 分子关联。以这种方式呈递的抗原性肽片段由 T 细胞的 T 细胞受体识别。所述抗原性肽片段与 T 细胞受体的相互作用导致抗原特异性 T 细胞增殖，并由 T 细胞分泌淋巴因子。由 APC 呈递的抗原肽的性质在建立免疫中是关键的。

热激蛋白(hsp)形成一个高保守蛋白质家族，其广泛分布于植物和动物王国。基于其分子量，将 hsp 分为 6 个不同家族：小型 (hsp 20-30ka)；hsp40；hsp60；hsp70；hsp90；和 hsp100。尽管 hsp 最初是在受热激的细胞中鉴别的，但已经发现其也与许多其它形式的刺激相关，如感染，并因此也常称为应激蛋白(SP)。

哺乳动物 hsp90 家族成员包括胞质 hsp90 (hsp83)和内质网 hsp90 (hsp83)，hsp87，Grp94 (Erp99)和 gp97，见例如 Gething 等 (1992)，自然 355: 33-45 所述。hsp70 家族成员包括胞质 hsp70 (p73)和 hsp70 (p72)，内质网 BiP (Grp78)，及线粒体 hsp70 (Grp75)。哺乳动物 hsp60 家族成员只在线粒体中鉴别。

应激蛋白在细胞内遍在地表达。应激蛋白的一个作用是伴随肽

从一个细胞区室至另一个区室，并将肽呈递给 MHC 分子，以在细胞表面呈递给免疫系统。在患病细胞的情况下，应激蛋白也伴随病毒或肿瘤相关肽至细胞表面，见 Li 和 Srivastava (1994), *Behring Inst. Mitt*, 94: 37-47 及 Suzue 等(1997), 美国科学院院报 94: 13146-51。

应激蛋白的伴随功能是在一 ATP 依赖性反应中，通过在应激蛋白和抗原性肽片段之间及在应激蛋白和病毒或肿瘤相关肽片段之间形成复合物而实现。与应激蛋白复合的肽片段形成了抗原性复合物 (hspCs)，其由 APC 捕获以提供抗原性肽片段。

应激蛋白与肽片段的复合在正常组织中也观测到，因此不是肿瘤特异性现象，见 Srivastava (1994), *Experimentia* 50: 1054-60。据认为 hsp70 家族成员包括 grp96 的免疫原性，反映了其在呈递体 (presentosome) 中的正常作用，具有荷载 I 类 MHC 分子功能的假定胞内细胞器发挥功能需要其细胞表面表达。这个步骤对于其由抗原特异性 T 细胞进行 MHC 限制识别是必需的。见 Srivastava 等 (1998), 免疫; Singh-Jasuja 等, *J. Exp. Med* (2000) 191,1957。

尽管病原体的 hsp 已经广泛用作抗原和佐剂，但迄今为止，还未提议使用病原体衍生的内源性 hsp 肽复合物(hspC)作为疫苗。PCT 申请 No GB00/03228 揭示了病原体衍生的内源性 hspC 的用途，尤其应激诱导的 hspC 在接种的动物中示出提供良好的保护性免疫性。

微生物 hsp 家族的成员包括 Dna J 和 Dna K 家族及 Gro-EL 和 Gro-ES 家族。在原核细胞微生物中，这些家族表现为由操纵子编码，在所述操纵子中的初始基因是控制基因，其抑制所述操纵子中包含的 hsp 基因的表达。

在链霉菌和螺杆菌中，hspR 基因的表达抑制 Dna J 和 Dna K 的表达。因此缺失 hspR 基因产生一种遗传修饰的微生物，其组成型表达 hsp，见 Bucca 等(1997), *分子微生物学* 15: 633-45。在许多近来测序的微生物中包括在链霉菌和结核分枝杆菌的其它菌株和通常使

用的相关疫苗菌株 BCG 中已经鉴别了同源操纵子。

其它阻抑基因也可以控制 hsp 基因家族成员的表达，而且它们还可以经遗传工程化以提供组成型表达 hspC 的修饰的微生物，其可用于生产疫苗和疫苗载体。这些基因包括但非限于转录控制基因 sigma 和 rho，及应激基因调节蛋白基因 MerR 和 HmrR。还应意识到含有组成型 hspC 的修饰的微生物可以直接用作疫苗，或用作分离 hspC 的来源。另外，来自其它病原体的异源基因在这些微生物中的表达使其能用作疫苗载体，以便于针对这些病原体的基于 hspC 的疫苗的生产。

在观察热激诱导的内源性微生物 hsp 肽复合物的使用时，将提取的 hsp 肽复合物与应激诱导的微生物自身作为疫苗的使用相对比。令人惊奇地，使用所述微生物作为疫苗在接种的动物体内产生比使用分离的肽明显更好的免疫性。使用遗传修饰的组成型产生 hsp 的微生物获得相似结果，表明是在原位与内源性微生物多肽包括在微生物中由异源基因表达的重组蛋白形成了 hspC。遗传修饰的微生物也可以用作有效的来源，以分离 hspC 用于亚单位和多亚单位疫苗中。

发明概述

根据本发明，提供了一种包含微生物病原体作为免疫原性决定簇的疫苗，其中所述微生物病原体已经接受了诱导应激的刺激。

优选地，诱导应激的刺激导致所述微生物表达热激蛋白。

优选地，诱导应激的刺激是热激或渗透压震扰。

更优选地，诱导应激的刺激是所述微生物病原体的遗传修饰物，这样热激蛋白基因的至少一个阻抑基因被失活，从而使热激蛋白基因表达。

优选地，所述微生物病原体是能诱导感染性疾病的任何病原体。

优选地，所述微生物病原体是一种细菌，原生动物，真菌或一种寄生虫。

优选地，所述遗传修饰导致 hspR 阻抑基因的失活。

或者，所述遗传修饰导致应激基因调节蛋白基因 MerR 或 HmrR 阻抑基因失活，或转录控制基因 sigma 和 rho 失活。

优选地，所述微生物病原体选自分枝杆菌属，沙门氏菌属，弧菌属，链霉菌属，螺杆菌属，乳球菌属和李斯特氏菌属。

优选地，所述微生物病原体是减毒的。

优选地，所述疫苗还包含一种佐剂。

优选地，所述佐剂选自 Freund's 完全佐剂，Freund's 不完全佐剂，Quil A，Detox，ISCOMs 和鲨烯。

优选地，所述疫苗适于通过注射施用。

或者，所述疫苗适于口服施用。

优选地，所述疫苗适于通过无针输送形式输送。

本发明的另一方面是提供了一种接种动物的方法，特征在于所述方法包括施用足以激发动物体内的免疫应答的药物学适量的本发明的疫苗组合物。

优选地，所述疫苗作为预防性疫苗而施用。

或者，所述疫苗作为治疗性疫苗而施用。

优选地，所述疫苗组合物通过注射施用。

或者，所述疫苗组合物通过无针输送方式施用。

或者，所述疫苗组合物通过经皮，肺部输送或口服施用。

本发明的再一方面是提供了生产包含一种免疫原性决定簇的疫苗组合物的方法，特征在于所述方法包括以下步骤：使微生物病原体接受诱导应激的刺激；并使用该应激的微生物作为所述免疫原性决定簇制备疫苗组合物。

优选地，所述诱导应激的刺激是热激或渗透压震扰。

更优选地，所述诱导应激的刺激是阻抑热激基因表达的基因的失活。

优选地，所述被阻抑的基因是 hspR 基因。

或者，所述被阻抑的基因是应激基因调节蛋白基因 MerR 或 HmrR，或转录控制基因 sigma 和 rho。

优选地，所述微生物病原体细胞在用于所述疫苗中之前被杀灭。

或者，所述微生物病原体细胞在用于所述疫苗之前被干燥。

优选地，所述疫苗组合物是一种水性组合物。

或者，所述疫苗组合物是一种干燥的组合物或一种冻干的组合物。

本发明还提供了病原性微生物作为进一步表达异源抗原的疫苗载体的应用，所述微生物已经被遗传修饰，由此热激蛋白的至少一个阻抑基因被失活，从而使热激蛋白组成型表达。

优选地，所述病原性微生物是一种原核生物，其适于用作一种疫苗载体。

优选地，所述原核生物是 BCG，所述异源抗原片段是破伤风类毒素片段 C。

或者，所述原核生物是沙门氏菌属或乳球菌属，这样所述疫苗可以口服施用。

本发明还提供了病原性微生物作为热激蛋白-肽复合物的来源以用于亚单位和多亚单位疫苗中的应用，所述微生物已经被遗传修饰，由此热激蛋白的至少一个阻抑基因被失活，从而使热激蛋白组成型表达。

“微生物病原体”是指在动物体内能引起感染性疾病的任何病原体，特别包括细菌，原核生物，真菌或寄生虫。

“诱导应激的刺激”（stress inducing stimuli）是指诱导微生物病原体 SP、尤其 hsp 产生的任何刺激，包括热激或渗透压震扰。这种

诱导应激的刺激还包括设计的使微生物病原体内应激蛋白尤其 hsp 组成型表达的遗传改变。这些遗传改变包括阻抑（抑制）基因的失活，所述基因抑制应激蛋白尤其抑制表达热激蛋白的基因。这特别包括失活 hspR 阻抑基因，应激基因调节蛋白基因 MerR 和 HmrR，或转录控制基因 sigma 和 rho。

应意识到这些遗传改变易于通过分子遗传方法实现，包括使用噬菌体或转座子载体的插入诱变，见例如 Bucca 等，分子微生物学 (1997) 17: 633 所述。另外还应意识到微生物病原体中操纵子基因、阻抑基因和 SP 及 hsp 的存在，可简便地通过重组 DNA 技术而确定。见分子生物学常用方法(1999)，Wiley 出版社。

因此应意识到表达这些基因的任何微生物均可以进行遗传修饰，以提供本发明的疫苗。这包括用作活疫苗或灭活疫苗的现有微生物，如分枝杆菌属，沙门氏菌属，弧菌和李斯特氏菌属，特别是这些病原体的减毒品种。特别地，已经遗传修饰为缺失热激蛋白阻抑基因的分枝杆菌属突变体，可用于抗结核的疫苗中，而已经遗传修饰为缺失热激蛋白阻抑基因的沙门氏菌属突变体，可用于抗伤寒的疫苗中。本发明进一步提供了这些微生物作为疫苗载体以表达异源基因的应用。

本文所用术语“疫苗”是指含有免疫原性决定簇的任何组合物，其刺激免疫系统，这样可以更好地应答随后的感染。应意识到疫苗通常含有一种免疫原性决定簇和一种佐剂，所述佐剂非特异性地增强对该免疫原性决定簇的免疫应答。适当的佐剂是本领域技术人员所熟知的，包括：Freund's 完全佐剂，Freund's 不完全佐剂，Quil A，Detox，ISCOMs 或鲨烯。

然而，应意识到本发明的疫苗不用佐剂也是有效的。

对于 SP 的非遗传诱导，诱导 SP 的最佳条件可以通过简便的反复试验而易于确定，刺激变化的作用可使用常规方法确定，如对动

份冻干或直接对实验动物进行免疫。为进行对比，如 PCT 申请 No GB00/03228 所述制备分离的内源性 SP-肽复合物。简而言之，将洗过的应激诱导的细胞重悬浮于均质缓冲液如具有 5%Tween 的 PBS 中，然后将细胞通过冻融循环或使用细胞破裂器（例如珠搅拌器，法国）破碎。细胞裂解物然后通过离心处理，典型地以 3-5000g 离心 5 分钟，以除去核及细胞碎片，随后通过高速离心步骤，典型地以 100,000g 离心 15-30 分钟。将由此获得的上清进行加工，以提供适用于疫苗中的 SP/抗原性肽片段复合物，这可以简便地使用 20-70%硫酸铵通过硫酸铵沉淀而进行。具体地，在 4℃加入 20% (w/w) 硫酸铵，弃去沉淀，随后加入更多的硫酸铵以使浓度达到 70% w/w。通过离心收集蛋白质沉淀，然后用适当的生理学可注射缓冲液如盐水透析，以在使用之前除去硫酸铵。所述 SP 复合物可以以任何适当浓度使用，以提供疫苗组合物中的免疫原性决定簇。

优选的是，诱导的应激蛋白-肽复合物的量在 10-600 微克，更优选 10-100 微克，最优选 25 微克/kg 动物体重。

为确定 SP 复合物的免疫原性，可以使用 T 细胞增殖分析。适当的分析包括混合的淋巴细胞反应 (MLR)，通过含氚胸苷摄取而进行测定，及胞毒性分析，以确定靶细胞中释放的 ^51Cr ，见《免疫学当前方案》，Wiley Interscience, 1997 所述。对于分枝杆菌，使用商购的试剂盒 (CSL 公司)，MLR 也可以用于分析对细胞因子产生的诱导情况，如干扰素 γ 的产生。或者，抗体的产生可以使用标准免疫分析或噬斑裂解分析而检测，或通过胎儿的子宫内保护作用而确定，见《免疫学当前方案》所述。

用在磷酸盐缓冲盐水中的热激的微生物或分离自热激的微生物的内源性 SP 肽复合物对小鼠进行免疫接种，在初次或加强接种中均未加入任何佐剂。

与通过分离的内源性 SP-肽复合物诱导的免疫相比，用完整的

物进行体内测试，或通过其它方法，例如《免疫学当前方案》，Wiley Interscience, 1997 所述。其它的这类条件在 PCT 申请 No GB00/03228 中有描述并在此加以引用。

本发明还提供了将动物暴露于本发明疫苗的方法，其包括施用足以激发所述动物体内的免疫应答的药物学适量的本发明疫苗，任选地组合佐剂。

所述动物典型是人。然而，本发明还可用于治疗其它动物，如马，牛，山羊，绵羊或猪，及治疗鸟类，特别是家禽如鸡或火鸡。优选地，选择用于本发明的特定疫苗中的微生物病原体，导致接受所述疫苗的动物物种或密切相关物种发生疾病或感染。本发明的疫苗既可以用作预防性疫苗，也可以用作治疗性疫苗，但由于其生产的经济实惠性而特别用作预防性疫苗。

本发明的疫苗组合物可以通过任何适当方法施用，如口服，通过吸入，经皮或通过注射及在任何适当的载体介质中。然而，优选将疫苗作为水性组合物使用任何适当的有针或无针技术注射施用。

本发明的疫苗可以用作初次治疗，随后以相同或不同剂量，每次治疗间隔 1—26 周，通过一或多次“加强”治疗，提供对所述病原体的延长的免疫性。

现在通过以下实施例，参考附图对本发明加以阐述。

图 1 示出结核分枝杆菌的 hspR 基因的核苷酸序列。

图 2 示出鉴别的与 hspR 同源的阻抑基因列表。

实施例 1：热激微生物的制备

将 *M. vaccae* 菌株 NCTC11659 在 Sauton's 培养基中生长至饱和状态，在新鲜培养基中稀释并生长过夜，以提供对数期培养物，然后将其在 42° C 热激 3 小时，或在 39° C 热激 5 小时，并培养过夜。接着将细胞在培养基中洗涤，随后在盐水中洗涤，以单独的疫苗等

应激诱导的微生物以及尤其是冻干的微生物进行的免疫，提供了更好的免疫性，包括产生的 IFN- γ 和抗体增多。

实施例 2: 组成型 hsp 突变体的制备和使用

组成型产生 hsp 的微生物可以通过剔除转录调节物抑制基因而构建，所述基因如 hspR，MerR (汞抗性操纵子调节蛋白)，HmrR (重金属调节蛋白) 及其同源物或转录控制基因 rho 和 sigma。这种基因通过用典型的测试序列扫描基因组序列数据库而易于鉴别。这种典型的测试序列例如是结核分枝杆菌的 hsp 基因 (见图 1)。经鉴别与 hspR 基因同源的抑制基因示于图 2。

组成型产生 hspC 的 *M. bovis* 菌株是通过遗传工程化 *M. bovis* 菌株 BCG 构建的，以产生 hspR 基因的缺失突变体。所述 hspR 基因使用自杀载体通过同源重组缺失，所述载体携带 hspR 基因的一个大片段和一个卡那霉素选择标记。所述 hspR 基因片段是使用衍生自图 1 所示结核分枝杆菌 hspR 序列的引物通过 PCR 从 BCG 基因组 DNA 中克隆的。这种方法应该可以广泛适用于从携带相关抑制基因的任何原核生物中产生类似的突变体。

BCG hspR 缺失突变体用于产生 hspC，而且得自这些突变体的蛋白质产量与得自热激的野生型菌株的那些蛋白质产量相当。同样，这种方法应该可以广泛适用于从携带相关抑制基因的任何原核生物中产生 hspC。由此为生产基于 hspC 的疫苗提供了有利资源。因此，从 BCG hspR 缺失突变体中产生的 hspC 诱导的抗结核分枝杆菌气溶胶攻击的保护性免疫，可与由得自热激野生型 BCG 菌株的 hspC 诱导的免疫相当。

BCG hspR 缺失突变体还可以用作疫苗载体，以表达异源抗原。例如，用表达破伤风类毒素 (TT) 片段 C 的 BCG hspR 缺失突变体免疫的小鼠，通过 Western 印迹示出抗 TT 抗体产生。使用适于作为

疫苗的载体的任何原核生物的突变体，这种方法应该可以广泛适用于生产表达异源疫苗抗原的相似载体。例如使用沙门氏菌属或乳球菌属突变体，能生产用于经粘膜输送疫苗的载体。根据此原理产生的疫苗在其可以口服施用的情况中是特别有益的。

图1

hspR: 378 bp - M. tuberculosis
atggcgaagaacccaaaggacggggaatcccgacgtttttgatctcggtagccgccgagctag
ccggcatgcatgcacagaccctgcgtacctacgatcgtcttgggttggtcagcccgcggcgac
ctccggtggcgggcgccgctattccctgcatgacgtcgagttgctgcgccaggtgcagcacctc
tcgcaggacgagggggtcaacttggccggcatcaagcgattattgaactgaccagtcaggtcg
aggcgctgcagtcaggttgcaagagatggctgaggagttggcggtgttgctgccaaccagcg
ccgcgaggtcgcggtggtgccgaagagcacgcacctggtcgtctggaaaccgcgcgg

图2

GI 蛋白质描述

13094040 热激调节物 [Mycobacterium leprae]
987631 热激蛋白 [Streptomyces coelicolor]
1850936 HspR [Streptomyces albus]
6458658 转录调节物, MerR家族 [Deinococcus radiodurans]
6968663 推断的热激转录调节物 [Campylobacter jejuni]
2314167 推断的热激蛋白 (hspR) [Helicobacter pylori 26695]
4154930 推断的转录调节物 [Helicobacter pylori J99]
2983291 转录调节物 (MerR 家族) [Aquifex aeolicus]
216395 GlnR 蛋白 [Bacillus subtilis]
80358 谷氨酰胺合成酶转录阻抑物 glnR [validated] - Bacillus subtilis
577593 对于蛋白质序列: merR (Hg 抗性) 蛋白. [Myxococcus xanthus]
80075 假设的15K蛋白 (glnA 5' 区域) - Bacillus cereus
7635981 推断的MerR家族转录调节物 [Streptomyces coelicolor A3(2)]
2120400 假设蛋白11 - Myxococcus xanthus (fragment)
15140739 推断的蛋白, merR和LacI家族 [Sinorhizobium meliloti]
468509 谷氨酰胺合成酶阻抑物 [Staphylococcus aureus]
12722376 未知 [Pasteurella multocida]
13472246 可能的转录调节物 [Mesorhizobium loti]
2808790 推断的转录调节物 [Streptomyces coelicolor A3(2)]
13622913 推断的转录调节物 [Streptococcus pyogenes M1 GAS]
4062747 在metG-dld基因间隔区中的假设的转录调节物 [Escherichia coli]
1787409 推断的转录调节物 [Escherichia coli K12]
2116754 YfmP [Bacillus subtilis]
1405480 scgR [Bacillus subtilis]
13476954 假设蛋白 [Mesorhizobium loti]
595259 NolA [Bradyrhizobium elkanii]
15156241 AGR_C_2207p [Agrobacterium tumefaciens]
9657661 转录调节物, 推断的 [Vibrio cholerae]

图2续

1075010 merR 同系物 HI0293 - *Haemophilus influenzae* (strain Rd KW20)
6093208 GlnR 蛋白 [*Lactobacillus rhamnosus*]
10174111 转录调节物 [*Bacillus halodurans*]
15073910 推断的转录调节蛋白[*Sinorhizobium meliloti*]
988279 NolA [*Bradyrhizobium* sp.]
12060165 ORF1 [*Streptomyces coelicolor*]
11493190 推断的merR家族转录调节物[*Streptomyces coelicolor*]
9950914 可能的转录调节物[*Pseudomonas aeruginosa*]
98171 假设蛋白1 (mer 操纵子) - *Bacillus* sp
6562779 推断的merR家族转录调节物[*Streptomyces coelicolor*]
3413184 调节蛋白 [*Exiguobacterium* sp.]
4633809 重金属调节物HmrR [*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*]
11071705 调节蛋白 [*Bacillus licheniformis*]
1006583 merR [*Synechocystis* sp. PCC 6803]
577592 对于蛋白序列:merR (Hg 抗性) 蛋白 . [*Myxococcus xanthus*]
7321278 假设蛋白SCD31.13c [*Streptomyces coelicolor* A3(2)]
7649594 假设蛋白[*Streptomyces coelicolor* A3(2)]
11071711 调节蛋白 [*Bacillus macroides*]
15156225 AGR_C_2183p [*Agrobacterium tumefaciens*]
98175 汞抗性操纵子调节蛋白- *Bacillus* sp
6179679 pmrA的调节物 [*Streptococcus pneumoniae*]
12723097 转录调节物 NolA [*Bradyrhizobium* sp. WM9] bsp. *lactis*]
12642170 结瘤转录激活蛋白NolA [*Bradyrhizobium* sp. WM9]
9657439 转录调节物, MerR 家族 [*Vibrio cholerae*]
4680351 重金属调节物 HmrR [*Sinorhizobium meliloti*]
15140905 推断的转录调节物, merR家族蛋白[*Sinorhizobium meliloti*]
6941979 推断的MerR家族转录调节物[*Streptomyces coelicolor*]
7688302 推断的MerR家族转录调节物[*Streptomyces coelicolor* A3(2)]
2894244 假设蛋白 Rv3334 [*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv]
48151 merR2 [*Acidithiobacillus ferrooxidans*]
2815330 SC10A5.22, 未知 [*Streptomyces coelicolor* A3(2)]
1074017 可能的DNA结合蛋白同系物 - *Haemophilus influenzae* (strain Rd KW20)
13622897 推断的转录激活调节蛋白[*Streptococcus pyogenes* M1 GAS]
12517921 推断的转录调节物[*Escherichia coli* O157:H7 EDL933]