(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115667505 A
(43)申请公布日 2023.01.31

(21)申请号 202180035786.9
(22)申请日 2021.03.18
(30)优先权数据
62/992,032 2020.03.19 US
63/055,829 2020.07.23 US
63/153,161 2021.02.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.11.16
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/023041 2021.03.18
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/188840 EN 2021.09.23
(71)申请人 因特利亚治疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 S·O·哈尔潘林
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 胡志君 黄革生
(51)Int.Cl.
C12N 9/12(2006.01)
C12N 9/22(2006.01)

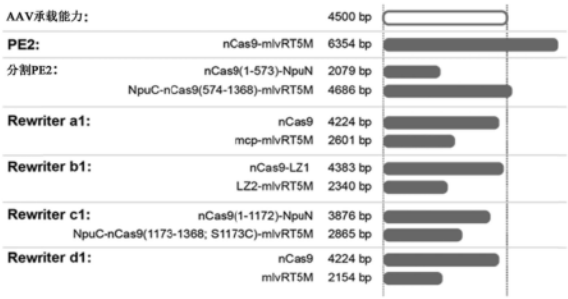
权利要求书8页 说明书61页
序列表249页 附图53页

(54)发明名称

用于定向基因组编辑的方法和组合物

(57)摘要

本文提供了用于提高靶核酸的编辑效率的组合物和方法。一种组合物可以包括向导核酸、Cas9切口酶或逆转录酶。所述逆转录酶可以与所述Cas9切口酶融合。所述逆转录酶可以与所述Cas9切口酶异二聚化。所述逆转录酶可以与向导核酸结合。所述逆转录酶可以被工程化成增加进行性。所述向导核酸可以被工程化成促进序列的合成或编辑。所述向导核酸、所述Cas9切口酶和所述逆转录酶可以被工程化成装配在AAV载体内。所述向导核酸可以包括与所述向导核酸上的另一个区结合以改进基因编辑的区。



CN 115667505 A

1.一种提高具有低脱氧核苷三磷酸(dNTP)浓度并且包括用于基因编辑的DNA聚合酶的细胞中的基因编辑效率的方法,所述方法包括:

相对于基线dNTP浓度增加所述细胞中的所述dNTP浓度。

2.根据权利要求1所述的方法,其中增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括抑制所述细胞中的脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶。

3.根据权利要求2所述的方法,其中所述脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶包括含SAM结构域和HD结构域的蛋白质1(SAMHD1)。

4.根据权利要求3所述的方法,其中抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与Vpx蛋白接触或在所述细胞中表达所述Vpx蛋白。

5.根据权利要求3所述的方法,其中抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与BGLF4蛋白接触或在所述细胞中表达所述BGLF4蛋白。

6.根据权利要求3所述的方法,其中抑制SAMHD1包括使编码所述SAMHD1的mRNA与和所述mRNA杂交的微小RNA或siRNA接触或在所述细胞中表达所述微小RNA或siRNA。

7.根据权利要求3所述的方法,其中抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与小分子SAMHD1抑制剂接触。

8.根据权利要求1所述的方法,其中增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞施用核苷或核苷酸,其中所述核苷或所述核苷酸任选地包括脱氧核苷(dN)、脱氧核苷单磷酸(dNMP)或核苷三磷酸(NTP)。

9.根据权利要求8所述的方法,其中向所述细胞施用核苷或核苷酸包括向包括所述细胞的受试者施用所述核苷或所述核苷酸。

10.根据权利要求9所述的方法,其中所述施用为口服或通过注射。

11.根据权利要求1所述的方法,其中增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞递送dNTP合成酶。

12.根据权利要求11所述的方法,其中所述dNTP合成酶包括激酶。

13.根据权利要求12所述的方法,其中所述激酶包括核苷激酶、脱氧核苷激酶、脱氧核苷单磷酸激酶或脱氧核苷二磷酸激酶。

14.根据权利要求1所述的方法,其中所述DNA聚合酶包括逆转录酶。

15.根据权利要求1所述的方法,其中所述细胞进一步包括Cas9可编程核酸酶、向导核酸或其组合。

16.根据权利要求1所述的方法,其中所述低dNTP浓度包括非分裂细胞中存在的dNTP浓度。

17.根据权利要求1所述的方法,其中所述低dNTP浓度小于激活的外周血单核细胞中存在的dNTP浓度。

18.根据权利要求1所述的方法,其中所述低dNTP浓度包括低于1微摩尔的dNTP浓度。

19.根据权利要求1所述的方法,其中所述增加所述dNTP浓度包括相对于基线dNTP测量结果将所述dNTP浓度增加至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%或更多。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述dNTP浓度包括脱氧腺苷三磷酸(dATP)浓度、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)浓度、脱氧鸟苷三磷酸(dGTP)浓度或脱氧胸苷三磷酸

(dTTP)浓度或其任何组合。

21.一种组合物,其包括Cas切口酶和逆转录酶,其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一部分包含在单独的多肽链中,并且其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶形成Cas-逆转录酶异二聚体。

22.根据权利要求21所述的组合物,其中所述Cas-逆转录酶异二聚体包括与所述Cas切口酶融合的第一异二聚体结构域和与所述逆转录酶融合的第二异二聚体结构域,其中所述第一异二聚体结构域与所述第二异二聚体结构域结合以形成所述Cas-逆转录酶异二聚体。

23.根据权利要求22所述的组合物,其中所述第一异二聚体结构域为亮氨酸拉链,并且所述第二异二聚体结构域为亮氨酸拉链。

24.根据权利要求21至23中任一项所述的组合物,其中所述逆转录酶包括与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80中的任一项具有至少80%序列同一性的序列或其片段。

25.根据权利要求21至24中任一项所述的组合物,其中所述逆转录酶包括来自非长末端重复逆转座元件的与所述Cas切口酶的一部分融合的结构域。

26.根据权利要求21至24中任一项所述的组合物,其中所述逆转录酶包括来自细菌II组内含子的与所述Cas切口酶的一部分融合的序列。

27.根据权利要求21至24中任一项所述的组合物,其中所述逆转录酶包括来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的与所述Cas切口酶的一部分融合的结构域。

28.一种组合物,其包括Cas切口酶、逆转录酶和向导核酸,其中第一多肽包括所述Cas切口酶,并且第二多肽包括所述逆转录酶,并且所述向导核酸与所述Cas切口酶和所述逆转录酶结合。

29.根据权利要求21至28中任一项所述的组合物,其中所述逆转录酶包括mcp肽。

30.根据权利要求21至29中任一项所述的组合物,其中所述逆转录酶包括环区。

31.根据权利要求30所述的组合物,其中所述环区为2a环或3a环。

32.根据权利要求28至31中任一项所述的组合物,其中所述向导核酸包括MS2发夹。

33.一种组合物,其包括逆转录酶,所述逆转录酶具有与Cas切口酶融合的与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80中的任一项具有至少80%序列同一性的序列或其片段。

34.一种组合物,其包括逆转录酶,所述逆转录酶包括来自非长末端重复逆转座元件的与Cas切口酶融合的结构域。

35.一种组合物,其包括逆转录酶,所述逆转录酶包括来自细菌II组内含子的与Cas切口酶融合的序列。

36.一种组合物,其包括逆转录酶,所述逆转录酶包括来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的与Cas切口酶融合的结构域。

37.一种组合物,其包括Cas切口酶和逆转录酶,其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶包括单独的多肽链,并且其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶未被工程化成异二聚化。

38.根据权利要求21至37中任一项所述的组合物,其包括向导核酸,所述向导核酸与所述Cas切口酶形成复合物,其中在复合物形成时,所述Cas切口酶能够在靶核酸中的靶位点处引入单链断裂。

39.根据权利要求21至38中任一项所述的组合物，其中所述靶核酸包括CFTR核酸、USH2A核酸、ABCA4核酸、ATP7B核酸或HTT核酸。

40.根据权利要求21至39中任一项所述的组合物，其包括与所述Cas切口酶或所述逆转录酶融合的核定位信号。

41.根据权利要求21至40中任一项所述的组合物，其中所述逆转录酶为截短的逆转录酶。

42.根据权利要求21至41中任一项所述的组合物，其中相比于天然逆转录酶，所述逆转录酶的进行性增加。

43.根据权利要求21至42中任一项所述的组合物，其中相比于mlvRT，所述逆转录酶的进行性增加。

44.根据权利要求21至43中任一项所述的组合物，其中相比于mlvRT，所述逆转录酶在靶序列中编辑较长窗口长度。

45.根据权利要求21至44中任一项所述的组合物，其中相比于mlvRT，所述逆转录酶的免疫原性降低。

46.根据权利要求21至45中任一项所述的组合物，其中相比于mlvRT，所述逆转录酶到细胞的递送得到改进。

47.根据权利要求21至46中任一项所述的组合物，其中所述逆转录酶在单个结合事件中使20个或更多个、40个或更多个、45个或更多个、50个或更多个、60个或更多个、81个或更多个、100个或更多个、500个或更多个或1000个或更多个核苷酸聚合。

48.一种向导核酸，其包括：

间隔子，所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补；

支架，所述支架被配置成与Cas切口酶结合；

逆转录酶模板，所述逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列；以及

第一链引物结合位点，所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的第二区反向互补。

49.根据权利要求48所述的向导核酸，其进一步包括第二链引物，所述第二链引物包括所述逆转录酶模板的区的序列。

50.根据权利要求48或权利要求49所述的向导核酸，其中所述靶核酸的所述第一区位于所述靶核酸的第一链上，并且所述靶核酸的所述第二区位于所述靶核酸的第二链上。

51.根据权利要求48至50中任一项所述的向导核酸，其中所述靶核酸的所述第一区的全部或一部分与所述靶核酸的所述第二区的全部或一部分反向互补。

52.根据权利要求48至51中任一项所述的向导核酸，其进一步包括位于所述向导核酸的3'端处的可切割序列。

53.根据权利要求52所述的向导核酸，其中所述可切割序列为核酶可切割序列。

54.根据权利要求52所述的向导核酸，其中所述可切割序列为tRNA可切割序列。

55.根据权利要求48至54中任一项所述的向导核酸，其中所述第一链引物结合位点被配置成与所述靶核酸的所述第二区杂交，并且其中所述逆转录酶模板被配置成充当用于从所述靶核酸的所述第二区的3'端进行逆转录的模板。

56.根据权利要求48至55中任一项所述的向导核酸，其中所述第二链引物被配置成充当用于从与所述逆转录酶模板反向互补的模板进行转录的引物。

57.根据权利要求48至56中任一项所述的向导核酸,其中第一合成链充当用于从所述第二链引物合成第二链的模板。

58.根据权利要求48至57中任一项所述的向导核酸,其进一步包括与Velcro结合位点杂交的Velcro区。

59.根据权利要求58所述的向导核酸,其中所述Velcro结合位点与所述Velcro区100%反向互补;其中所述Velcro结合位点与所述Velcro区至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%反向互补;和/或其中所述Velcro结合位点与所述Velcro区不大于55%、不大于60%、不大于65%、不大于70%、不大于75%、不大于80%、不大于85%、不大于90%、不大于91%、不大于92%、不大于93%、不大于94%、不大于95%、不大于96%、不大于97%、不大于98%、不大于99%反向互补。

60.根据权利要求58或59所述的向导核酸,其中所述逆转录酶模板区包括所述Velcro结合位点。

61.根据权利要求58或59所述的向导核酸,其中所述Velcro结合位点为所述第一链引物结合位点的3'。

62.根据权利要求48至61中任一项所述的向导核酸,其中所述Velcro区为所述逆转录酶模板的3'。

63.根据权利要求48至62中任一项所述的向导核酸,其中所述Velcro区为所述支架的5'。

64.根据权利要求48至63中任一项所述的向导核酸,其中所述靶核酸包括CFTR核酸、USH2A核酸、ABCA4核酸、ATP7B核酸或HTT核酸。

65.根据权利要求48至64中任一项所述的向导核酸,其中所述间隔子包括与SEQ ID NO:96-119中的任一项至少85%相同的核酸序列。

66.一种组合物,其包括第一向导核酸和第二向导核酸,所述第一向导核酸包括根据权利要求28至32或37至65中任一项所述的向导。

67.根据权利要求66所述的组合物,其中所述第二向导核酸包括根据权利要求28、32或37或48至65中任一项所述的向导核酸。

68.根据权利要求67所述的组合物,其中所述第二向导核酸的逆转录酶模板与所述第一向导核酸的逆转录酶模板的至少一部分互补(或至少部分互补)。

69.根据权利要求66至68中任一项所述的组合物,其中所述第一向导核酸与第一Cas切口酶结合,并且所述第二向导核酸与第二Cas切口酶结合。

70.根据权利要求66至68中任一项所述的组合物,其中所述第一向导核酸的第一间隔子与第一Cas切口酶结合,所述第二向导核酸的第二间隔子与第二Cas切口酶结合,所述第一向导核酸的第一支架与所述第二Cas切口酶结合,并且所述第二向导核酸的第二支架与所述第一Cas切口酶结合。

71.根据权利要求66至68或70中任一项所述的组合物,其中所述第一向导核酸包括第一接头,并且所述第二向导核酸包括第二接头,其中所述第一接头与所述第二接头杂交。

72.一种提高基因组编辑效率的方法,所述方法包括向细胞递送Orf1p,所述细胞表达根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物或根据权利要求38至45中任一项所

述的向导核酸。

73.一种或多种核酸,其编码根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物或包括根据权利要求48至65中任一项所述的向导核酸。

74.一种病毒载体,其包括根据权利要求73所述的核酸。

75.一种细胞,其包括根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物、根据权利要求48至65中任一项所述的向导核酸、根据权利要求73所述的核酸或根据权利要求74所述的病毒载体。

76.根据权利要求72所述的方法或根据权利要求75所述的细胞,其中所述细胞为原核细胞。

77.根据权利要求72所述的方法或根据权利要求75所述的细胞,其中所述细胞为真核细胞。

78.一种提高基因组编辑效率的方法,所述方法包括在细胞中表达Vpx蛋白。

79.根据权利要求78所述的方法,其中所述细胞表达根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物或根据权利要求48至65中任一项所述的向导核酸。

80.一种通过增加细胞中的dNTP浓度来提高基因组编辑效率的方法,例如一种提高基因组编辑效率的方法,所述方法包括抑制细胞中的SAMHD1。

81.根据权利要求80所述的方法,其中所述细胞表达Cas9可编程核酸酶、逆转录酶和向导核酸。

82.根据权利要求80或81所述的方法,其中抑制SAMHD1包括在所述细胞中表达Vpx蛋白。

83.根据权利要求80或81所述的方法,其中抑制SAMHD1包括在所述细胞中表达针对SAMHD1的微小RNA或包括用小分子SAMHD1抑制剂处理所述细胞。

84.一种组合物,其包括Cas9可编程核酸酶,所述Cas9可编程核酸酶包括实现或改进内含肽催化的一个或多个点突变或插入突变。

85.根据权利要求84所述的组合物,其中所述Cas9可编程核酸酶包括位于所述Cas9可编程核酸酶的C末端一半中的点突变或插入突变,或者其中所述点突变或所述插入突变位于所述Cas9可编程核酸酶的氨基酸位置574之后的任何地方。

86.根据权利要求85所述的组合物,其中所述点突变包括半胱氨酸点突变、丝氨酸点突变、苏氨酸点突变或丙氨酸点突变;或者其中所述插入突变包括半胱氨酸插入突变、丝氨酸插入突变、苏氨酸插入突变或丙氨酸插入突变。

87.根据权利要求85所述的组合物,其中所述点突变包括半胱氨酸点突变,或者其中所述插入突变包括半胱氨酸插入突变。

88.根据权利要求84至87中任一项所述的组合物,其中所述Cas9可编程核酸酶为Cas9切口酶。

89.根据权利要求84至88中任一项所述的组合物,其中所述Cas9可编程核酸酶为酿脓链球菌Cas9。

90.根据权利要求89所述的组合物,其中所述点突变位于所述酿脓链球菌Cas9的D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212处,或者其中所述插入突变位于紧挨着所述酿脓链球菌Cas9的D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、

I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212的上游。

91.根据权利要求84至90中任一项所述的组合物，其中所述Cas9可编程核酸酶包括SEQ ID NO:85-SEQ ID NO:87或SEQ ID NO:90-SEQ ID NO:92中的任一项的序列。

92.根据权利要求84至91中任一项所述的组合物，其中所述Cas9可编程核酸酶表达为两个或更多个段。

93.根据权利要求92所述的组合物，其中所述两个或更多个段中的第一段包括所述Cas9可编程核酸酶的N末端部分和第一内含肽，并且其中所述两个或更多个段中的第二段包括所述Cas9可编程核酸酶的C末端部分和第二内含肽。

94.根据权利要求93所述的组合物，其中所述半胱氨酸点突变位于所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的N末端处。

95.根据权利要求93或94所述的组合物，其中所述第一内含肽与所述Cas9可编程核酸酶的所述N末端部分的C末端融合，并且其中所述第二内含肽与所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的N末端融合。

96.根据权利要求93至95中任一项所述的组合物，其中所述第一段包括SEQ IDNO:90的序列，并且其中所述第二段包括SEQ ID NO:91的序列。

97.根据权利要求93至96中任一项所述的组合物，其中所述两个或更多个段中的所述第二段包括逆转录酶，所述逆转录酶与所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分融合。

98.根据权利要求97所述的组合物，其中所述逆转录酶包括N末端，所述N末端与所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的C末端融合。

99.根据权利要求97或98所述的组合物，其中所述逆转录酶包括mlvRT或其变体。

100.一种优化基因组编辑效率的方法，所述方法包括用莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)进行基因组编辑，所述mlvRT被修饰成提高其在低dNTP浓度下的催化效率(例如，被修饰成降低其对dNTP的Km)。

101.一种优化受限的dNTP条件下基因组编辑效率的方法，所述方法包括用莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)或其变体进行基因组编辑，所述mlvRT包括位于所述逆转录酶的位置221或223处的点突变。

102.根据权利要求100或101所述的方法，其中所述mlvRT或其变体包括位于位置221处的点突变。

103.根据权利要求102所述的方法，其中所述位于位置221处的点突变包括Q221R。

104.根据权利要求100或101所述的方法，其中所述mlvRT或其变体包括位于位置223处的点突变。

105.根据权利要求104所述的方法，其中所述位于位置223处的点突变包括V223A。

106.根据权利要求104所述的方法，其中所述位于位置223处的点突变包括V223M。

107.根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物，其中所述逆转录酶包括位于位置P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524处的点突变。

108.根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物，其中所述逆转录酶包括包含P51L、S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T197A、D653N、T664N、L671P、L435G、H204R或D524A的点突变。

109.根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物，其中所述逆转录酶包括位于氨基酸位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671处的点突变。

110.根据权利要求21至47或66至71中任一项所述的组合物，其中所述逆转录酶包括包含S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T664N、L671P或D524A的点突变。

111.根据权利要求21至47中任一项所述的组合物，其中所述Cas切口酶和所述RT由多核苷酸编码。

112.AAV，其包括根据权利要求111所述的多核苷酸。

113.根据权利要求112所述的AAV，其中所述Cas切口酶和所述RT的至少一部分被单独的AAV涵盖。

114.腺相关病毒(AAV)，其包括：第一AAV和第二AAV，所述第一AAV包括编码Cas切口酶的至少一部分的第一多核苷酸，所述第二AAV包括编码逆转录酶的第二多核苷酸。

115.根据权利要求112至114中任一项所述的AAV，其中所述AAV包括AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-DJ、AAV-DJ/8、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-retro、AAV-PHP.B、AAV8-PHP.eB或AAV-PHP.S或其组合。

116.根据权利要求114或115所述的AAV，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶彼此形成异二聚体。

117.根据权利要求114至116中任一项所述的AAV，其中所述第一多核苷酸或所述第二多核苷酸进一步编码向导核酸，所述向导核酸与所述Cas切口酶和所述逆转录酶结合以形成复合物，并且其中所述复合物的所述Cas切口酶在靶核酸中的靶位点处引入单链断裂。

118.根据权利要求114至117中任一项所述的AAV，其中所述Cas切口酶包括如酿脓链球菌Cas9切口酶等Cas9切口酶，并且所述逆转录酶包括mlvRT或其变体，其中所述逆转录酶包括位于P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524处的点突变。

119.根据权利要求118所述的AAV，其中所述点突变包括P51L、S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T197A、D653N、T664N、L671P、L435G、H204R或D524A。

120.根据权利要求114至119中任一项所述的AAV，其中所述Cas9切口酶包括酿脓链球菌Cas9切口酶，并且所述逆转录酶包括mlvRT或其变体，其中所述逆转录酶包括紧挨着P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524的上游的插入突变。

121.一种基因组编辑方法，所述方法包括向受试者或细胞施用组合物，所述组合物包括根据权利要求114至120中任一项所述的第一AAV或第二AAV。

122.一种基因组编辑方法，所述方法包括向受试者或细胞施用组合物，所述组合物包括根据权利要求112至120中任一项所述的AAV。

123.根据权利要求121或122所述的方法，其进一步包括测量所述受试者或所述细胞中的基因组编辑。

124.一种提高具有低脱氧核苷三磷酸(dNTP)浓度的细胞中的基因编辑效率的方法，所述方法包括：

使所述细胞与基因编辑酶接触，所述基因编辑酶被修饰成用于在所述低dNTP浓度下高效催化或在所述细胞中表达所述基因编辑酶。

125.根据权利要求124所述的方法，其中所述基因编辑酶包括逆转录酶，所述逆转录酶

通过在位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671处引入点突变进行修饰。

126.一种用于筛选或鉴定改进的逆转录酶(RT)的方法,所述方法包括:

在细胞中过表达SAMHD1或表达突变体SAMHD1,所述突变体SAMHD1已突变成防止所述突变体SAMHD1的残基磷酸化;

鉴定所述细胞中的RT活性;以及

基于所述RT活性,将所述RT鉴定为改进的RT。

127.一种系统,其包括RNA或多核苷酸,所述RNA或所述多核苷酸包括间隔子、包括期望的编辑的逆转录酶模板以及引物结合位点,其中所述引物结合位点与核酸结合,所述核酸不包括由所述间隔子靶向或结合的核酸或与由所述间隔子靶向或结合的所述核酸反向互补的核酸的区的任何部分。

128.一种系统,其包括:

第一向导核酸,所述第一向导核酸包括:

间隔子,所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补;

支架,所述支架被配置成与Cas核酸酶结合;

逆转录酶模板,所述逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列;

第一链引物结合位点,所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的不包括所述第一区的任何部分并且不包括所述第一区的反向补体的任何部分的区结合;以及

GPS区,所述GPS区与第二向导核酸上的GPS结合位点杂交。

129.根据权利要求128所述的系统,其进一步包括所述第二向导核酸,所述第二向导核酸包括所述GPS结合位点。

130.根据权利要求129所述的系统,其中所述第二向导核酸包括第二间隔子,所述第二间隔子与所述靶核酸的另一个区反向互补。

131.根据权利要求129或130所述的系统,其中所述第二向导核酸使所述引物结合位点与基因组瓣紧密接近。

用于定向基因组编辑的方法和组合物

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年3月19日提交的美国临时申请第62/992,032号、于2020年7月23日提交的美国临时申请第63/055,829号以及于2021年2月24日提交的美国临时申请第63/153,161号的权益,所述文献的全部内容通过引用以其整体并入本文。

[0003] 通过引用并入序列表

[0004] 本申请含有已经以ASCII格式电子提交的序列表,并且在此通过引用以其整体并入。创建于2021年3月16日的所述ASCII副本命名为56385-701_601_SL.txt并且大小为609,554字节。

背景技术

[0005] 在靶核酸中引入双链断裂的Cas定向基因组编辑技术经常导致不期望产物,包含序列易位、插入、缺失和对DNA损伤修复的激活、细胞周期停滞、或p53的细胞凋亡功能。引入单链断裂的编辑技术可能在允许突变的类型和大小方面受到限制或者其编辑效率可能有限。需要准确性、效率和多样性改进的基因组编辑技术。

发明内容

[0006] 在各个方面,本公开提供了一种提高具有低脱氧核苷三磷酸(dNTP)浓度并且包括DNA聚合酶的细胞中的基因编辑效率的方法,所述方法包括:相对于基线dNTP浓度增加所述细胞中的所述dNTP浓度。在各个方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括抑制所述细胞中的脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶。在各个方面,所述脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶包括含SAM结构域和HD结构域的蛋白质1(SAMHD1)。在各个方面,抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与Vpx蛋白接触或在所述细胞中表达所述Vpx蛋白。在各个方面,抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与BGLF4蛋白接触或在所述细胞中表达所述BGLF4蛋白。在各个方面,抑制SAMHD1包括使编码所述SAMHD1的mRNA与和所述mRNA杂交的微小RNA或siRNA接触或在所述细胞中表达所述微小RNA或siRNA。在各个方面,抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与小分子SAMHD1抑制剂接触。在各个方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞施用核苷或核苷酸(例如,dN、dNMP或NTP)。在各个方面,向所述细胞施用dNTP包括向包括所述细胞的受试者施用核苷或核苷酸。在各个方面,所述施用为口服或通过注射。在各个方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞递送dNTP合成酶。在各个方面,所述dNTP合成酶包括激酶。在各个方面,所述激酶包括核苷激酶、脱氧核苷激酶、脱氧核苷单磷酸激酶或脱氧核苷二磷酸激酶。在各个方面,所述DNA聚合酶包括逆转录酶。在各个方面,所述细胞进一步包括Cas9可编程核酸酶、向导核酸或其组合。在各个方面,所述低dNTP浓度包括非分裂细胞中存在的dNTP浓度。在各个方面,所述低dNTP浓度小于激活的外周血单核细胞中存在的dNTP浓度。在各个方面,所述低dNTP浓度包括低于1微摩尔的dNTP浓度。在各个方面,所述增加所述dNTP浓度包括相对于基线dNTP测量结果将所述dNTP浓度增加至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少

90％、至少100％或更多。在各个方面，所述dNTP浓度包括脱氧腺苷三磷酸(dATP)浓度、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)浓度、脱氧鸟苷三磷酸(dGTP)浓度或脱氧胸苷三磷酸(dTTP)浓度或其任何组合。

[0007] 在各个方面，本公开提供了一种提高基因组编辑效率的方法，所述方法包括在细胞中表达Vpx蛋白，所述细胞表达如本文所述的组合物或如本文所述的向导核酸。

[0008] 在各个方面，本公开提供了一种通过增加细胞中的dNTP浓度来提高基因组编辑效率的方法。在各个方面，本公开提供了一种提高基因组编辑效率的方法，所述方法包括抑制细胞中的SAMHD1，所述细胞表达Cas9可编程核酸酶、逆转录酶和向导核酸。在各个方面，本公开提供了一种提高基因组编辑效率的方法，所述方法包括增加细胞中的dNTP浓度(例如，通过抑制SAMHD1)，所述细胞表达Cas9可编程核酸酶、逆转录酶和向导核酸。

[0009] 在一些方面，抑制SAMHD1包括在所述细胞中表达Vpx蛋白。在一些方面，抑制SAMHD1包括在所述细胞中表达针对SAMHD1的微小RNA。在一些方面，抑制SAMHD1包括用小分子SAMHD1抑制剂处理所述细胞。

[0010] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括Cas切口酶和逆转录酶，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶为单独的多肽链，并且所述Cas切口酶和所述逆转录酶形成Cas-逆转录酶异二聚体。

[0011] 在一些方面，所述Cas-逆转录酶异二聚体包括与所述Cas切口酶融合的第一异二聚体结构域和与所述逆转录酶融合的第二异二聚体结构域，其中所述第一异二聚体结构域与所述第二异二聚体结构域结合以形成异二聚体。在一些方面，所述第一异二聚体结构域为亮氨酸拉链，并且所述第二异二聚体结构域为亮氨酸拉链。在一些方面，所述逆转录酶包括与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22中的任一项具有至少80％序列同一性的序列或其片段。在一些方面，所述逆转录酶包括来自非长末端重复逆转座元件的与Cas切口酶融合的结构域。在一些方面，所述逆转录酶包括来自细菌II组内含子的与Cas切口酶融合的序列。在一些方面，所述逆转录酶包括来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的与Cas切口酶融合的结构域。

[0012] 本文公开了组合物，其包括Cas切口酶和逆转录酶，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶包括单独的多肽链，并且其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶未被工程化成异二聚化。

[0013] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括Cas切口酶、逆转录酶和向导核酸，其中第一多肽包括所述Cas切口酶，并且第二多肽包括所述逆转录酶，并且所述向导核酸与所述Cas切口酶和所述逆转录酶结合。

[0014] 一些方面包括向导核酸，所述向导核酸与所述Cas切口酶形成复合物，其中在复合物形成时，所述Cas切口酶能够在靶核酸中的靶位点处引入单链断裂。在一些方面，所述靶核酸包括CFTR核酸、USH2A核酸、ABCA4核酸、ATP7B核酸或HTT核酸。

[0015] 在一些方面，所述逆转录酶包括mcp肽。在一些方面，所述逆转录酶包括环区。在一些方面，所述环区为2a环或3a环。在一些方面，所述环区为2a环。在一些方面，所述环区为3a环。在一些方面，所述向导核酸包括MS2发夹。

[0016] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括逆转录酶，所述逆转录酶具有与Cas切口酶融合的与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22中的任一项具有至少80％序列同一性的序列或片段。

[0017] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括逆转录酶，所述逆转录酶包括来自非长末端重复逆转座元件的与Cas切口酶融合的结构域。

[0018] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括逆转录酶，所述逆转录酶包括来自细菌II组内含子的与Cas切口酶融合的序列。

[0019] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括逆转录酶，所述逆转录酶包括来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的与Cas切口酶融合的结构域。

[0020] 在一些方面，所述组合物包括向导核酸，所述向导核酸与所述Cas切口酶和所述逆转录酶复合，其中在复合物形成时，所述Cas切口酶能够在靶核酸中的靶位点处引入单链断裂。在一些方面，所述组合物包括与所述Cas切口酶或所述逆转录酶融合的核定位信号。在一些方面，所述逆转录酶为截短的逆转录酶。在一些方面，相比于天然逆转录酶，所述逆转录酶的进行性增加。在一些方面，相比于mlvRT，所述逆转录酶的进行性增加。在一些方面，相比于mlvRT，所述逆转录酶在靶序列中编辑较长窗口长度。在一些方面，相比于mlvRT，所述逆转录酶的免疫原性降低。在一些方面，相比于mlvRT，所述逆转录酶到细胞的递送得到改进。在一些方面，所述逆转录酶在单个结合事件中使20个或更多个、40个或更多个、45个或更多个、50个或更多个、60个或更多个、81个或更多个、100个或更多个、500个或更多个或1000个或更多个核苷酸聚合。

[0021] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括Cas切口酶和逆转录酶或编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一个多核苷酸，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶中的至少一部分包含在至少2个单独的多肽链中。在一些方面，所述至少2个单独的多肽链包括包含异二聚体结构域的彼此结合的单独的多肽链。在一些方面，所述至少2个单独的多肽链包括包含内含肽的彼此结合单独的多肽链，并且所述Cas切口酶包括位于氨基酸位置1030处或氨基酸位置1030之后的突变，所述突变包括到半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸或丝氨酸的点突变或半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸或丝氨酸的插入。在一些方面，所述至少2单独的多肽链包括包含异二聚体结构域的彼此结合的所述单独的多肽链。在一些方面，所述单独的多肽链包括包含所述异二聚体结构域的融合蛋白。在一些方面，所述异二聚体结构域包括亮氨酸拉链、PDZ结构域、链霉亲和素和链霉亲和素结合蛋白、折叠体结构域、疏水多肽、与所述Cas切口酶结合的抗体或与所述逆转录酶结合的抗体或其一个或多个结合片段。在一些方面，所述异二聚体结构域包括第一异二聚体结构域和第二异二聚体结构域，所述Cas切口酶包括所述第一异二聚体结构域，并且所述逆转录酶包括所述第二异二聚体结构域。在一些方面，所述第一异二聚体结构域与所述Cas切口酶的氨基端或羧基端融合，并且所述第二异二聚体结构域与所述逆转录酶的氨基端或羧基端融合。在一些方面，所述第一异二聚体结构域包括第一亮氨酸拉链，并且其中所述第二异二聚体结构域包括第二亮氨酸拉链。在一些方面，所述至少2个单独的多肽链包括包含所述内含肽的彼此结合的所述单独的多肽链，并且所述Cas切口酶包括位于氨基酸位置1030处或氨基酸位置1030之后的突变，所述突变包括到半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸或丝氨酸的点突变或半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸或丝氨酸的插入。在一些方面，所述点突变是到半胱氨酸的突变，或者所述插入具有半胱氨酸。在一些方面，所述点突变是到苏氨酸的突变，或者所述插入具有苏氨酸。在一些方面，所述点突变是到丙氨酸的突变，或者所述插入具有丙氨酸。在一些方面，所述点突变是到丝氨酸的突变，或者所述插入具有丝氨酸。在一些方面，所述突变包括所述点突变，其中所述点突变位

于氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203、R1212或由前述氨基酸位置中的任何两个位置限定的范围处。在一些方面，所述突变包括所述点突变，其中所述点突变位于氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212处。在一些方面，所述突变包括所述插入突变，其中所述插入突变紧挨着氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203、R1212或由前述氨基酸位置中的任何两个位置限定的范围的上游或下游。在一些方面，所述突变包括所述插入突变，其中所述插入突变紧挨着氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212的上游或下游。在一些方面，所述内含肽包括第一内含肽和第二内含肽，并且其中所述Cas切口酶包括第一段和第二段，所述第一段包括所述第一内含肽，所述第二段包括所述突变和所述第二内含肽。一些方面包含向导核酸，所述向导核酸与所述Cas切口酶或所述逆转录酶结合。在一些方面，所述复合物的所述Cas切口酶在靶核酸的靶位点处引入单链断裂。在一些方面，所述Cas切口酶包括Cas9切口酶或其变体。在一些方面，所述Cas9切口酶或其变体包括酿脓链球菌Cas9切口酶或其变体。在一些方面，所述逆转录酶包括莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(Moloney leukemia virus reverse transcriptase，mlvRT)或其变体。在一些方面，所述逆转录酶包括位于位置P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524处的点突变。在一些方面，所述逆转录酶包括包含P51L、S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T197A、D653N、T664N、L671P、L435G、H204R或D524A的点突变。在一些方面，所述逆转录酶包括位于氨基酸位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671处的点突变。在一些方面，所述逆转录酶包括包含S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T664N、L671P或D524A的点突变。在一些方面，所述组合物包括所述Cas切口酶和所述逆转录酶，并且其中所述至少2个单独的多肽链为2个单独的多肽链。在一些方面，所述组合物包括所述Cas切口酶和所述逆转录酶，并且其中所述至少2个单独的多肽链包括第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链包括所述Cas切口酶的第一部分，所述第二多肽链包括所述Cas切口酶和所述逆转录酶的第二部分。一些方面包含编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的所述至少一个多核苷酸。在一些方面，编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的所述至少一个多核苷酸包括第一多核苷酸和第二多核苷酸，所述第一多核苷酸编码所述Cas切口酶的第一部分，所述第二多核苷酸编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的第二部分。一些方面包含至少一个腺相关病毒，所述至少一个腺相关病毒包括所述至少一个多核苷酸。在一些方面，所述组合物由细胞产生。

[0022] 在各个方面，本公开提供了一种组合物，其包括Cas切口酶和逆转录酶或编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一个多核苷酸，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一部分包含在单独的多肽链中。在一些方面，所述Cas切口酶或所述逆转录酶包括第一亮氨酸拉链。在一些方面，所述Cas9切口酶包括酿脓链球菌Cas9切口酶或其变体以及位于氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212处的点突变或紧挨着氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212的上游或下游的插入突变。在一些方面，所述逆转录酶包括莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)或其变体以及位于氨基酸位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671处的点突变。在一些方面，所述单独的多肽链包括异二聚体结构域。在一些方面，所述Cas切口酶和所述逆转录酶形成异二聚体，所述异二聚体包括与所述Cas切口酶融合的第一

异二聚体结构域和与所述逆转录酶融合的第二异二聚体结构域,其中所述第一异二聚体结构域与所述第二异二聚体结构域结合以形成所述异二聚体。在一些方面,所述第一异二聚体结构域包括所述第一亮氨酸拉链。在一些方面,所述第二异二聚体结构域包括第二亮氨酸拉链。在一些方面,所述逆转录酶包括与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80中的任一项具有至少80%序列同一性的序列或其片段。在一些方面,所述逆转录酶包括来自非长末端重复逆转座元件的与所述Cas切口酶的一部分融合的结构域、来自细菌II组内含子的与所述Cas切口酶的一部分融合的序列或来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的与所述Cas切口酶的一部分融合的结构域。一些方面包含向导核酸,所述向导核酸与所述Cas切口酶或所述逆转录酶结合。在一些方面,所述复合物的所述Cas切口酶在靶核酸的靶位点处引入单链断裂。在一些方面,所述向导核酸包括发夹。在一些方面,所述发夹包括MS2发夹。在一些方面,所述逆转录酶包括经修饰的逆转录酶,所述经修饰的逆转录酶包括发夹结合结构域。在一些方面,所述逆转录酶包括经修饰的逆转录酶,所述经修饰的逆转录酶包括MS2外被蛋白(MCP)肽。在一些方面,所述逆转录酶包括环区。在一些方面,所述Cas9切口酶包括位于所述Cas9切口酶的C末端一半中的点突变或插入突变。在一些方面,所述Cas9切口酶的所述C末端一半中的所述点突变是到半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸或丙氨酸的突变;或者其中所述插入突变为半胱氨酸插入、丝氨酸插入、苏氨酸插入或丙氨酸插入。在一些方面,所述Cas9切口酶包括所述Cas9切口酶的所述C末端一半中的所述点突变。在一些方面,所述Cas9切口酶包括所述Cas9切口酶的所述C末端一半中的所述插入突变。在一些方面,所述Cas9切口酶包括第一段和第二段,所述第一段包括第一内含肽,所述第二段包括所述点突变或所述插入突变和第二内含肽。在一些方面,所述Cas9切口酶包括所述酿脓链球菌Cas9切口酶或其变体。在一些方面,所述Cas9切口酶包括位于氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212处的所述点突变或紧挨着氨基酸位置D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212的上游或下游的所述插入突变。在一些方面,所述Cas切口酶或所述逆转录酶包括核定位信号。在一些方面,所述逆转录酶为截短的逆转录酶。在一些方面,所述逆转录酶包括所述mlvRT或其变体。在一些方面,所述逆转录酶包括位于氨基酸位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671处的所述点突变。在一些方面,所述逆转录酶包括包含P51L、S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T197A、D653N、T664N、L671P、L435G、H204R或D524A的点突变。在一些方面,所述逆转录酶包括包含S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T664N、L671P或D524A的点突变。在一些方面,所述Cas切口酶和所述逆转录酶包括单独的多肽链。在一些方面,所述组合物由细胞产生。一些方面包含编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的所述至少一个多核苷酸。一些方面包含至少一个腺相关病毒,所述至少一个腺相关病毒包括所述至少一个多核苷酸。

[0023] 在各个方面,本公开提供了一种向导核酸,其包括:间隔子,所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补;支架,所述支架被配置成与Cas切口酶结合;逆转录酶模板,所述逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列;以及第一链引物结合位点,所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的第二区反向互补。

[0024] 在一些方面,所述向导核酸进一步包括第二链引物,所述第二链引物包括所述逆转录酶模板的区的序列。在一些方面,所述靶核酸的所述第一区位于所述靶核酸的第一链

上,并且所述靶核酸的所述第二区位于所述靶核酸的第二链上。在一些方面,所述靶核酸的所述第一区的全部或一部分与所述靶核酸的所述第二区的全部或一部分反向互补。在一些方面,所述向导核酸进一步包括位于所述向导核酸的3'端处的可切割序列。在一些方面,所述可切割序列为核酶可切割序列。在一些方面,所述可切割序列为tRNA可切割序列。在一些方面,所述第一链引物结合位点被配置成与所述靶核酸的所述第二区杂交,并且其中所述逆转录酶模板被配置成充当用于从所述靶核酸的所述第二区的3'端进行逆转录的模板。在一些方面,所述第二链引物被配置成充当用于从与所述逆转录酶模板反向互补的模板进行转录的引物。在一些方面,第一合成链充当用于从所述第二链引物合成第二链的模板。在一些方面,与所述逆转录酶模板区的区杂交的Velcro区。

[0025] 在各个方面,本公开提供了一种组合物,其包括第一向导核酸和第二向导核酸,所述第一向导核酸包括如本文所述的向导。

[0026] 在一些方面,所述第二向导核酸包括如本文所述的向导。在一些方面,所述第一向导核酸与第一Cas切口酶结合,并且所述第二向导核酸与第二Cas切口酶结合。在一些方面,所述第一向导核酸的第一间隔子与第一Cas切口酶结合,所述第二向导核酸的第二间隔子与第二Cas切口酶结合,所述第一向导核酸的第一支架与所述第二Cas切口酶结合,并且所述第二向导核酸的第二支架与所述第一Cas切口酶结合。在一些方面,所述第一向导核酸包括第一接头,并且所述第二向导核酸包括第二接头,其中所述第一接头与所述第二接头杂交。

[0027] 在各个方面,本公开提供了一种向导核酸,其包括:间隔子,所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补;支架,所述支架被配置成与Cas核酸酶结合;逆转录酶模板,所述逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列;第一链引物结合位点,所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的第二区反向互补;以及以下中的至少一者:i.gRNA定位系统(GPS)区和与所述GPS区杂交的GPS结合位点;ii.所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的前间隔子邻近基序(PAM)序列的修饰;iii.所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的同一碱基的至少4个连续核苷酸的轨道的修饰;或者iv.第二链引物,所述第二链引物包括所述逆转录酶模板的区的序列。在各个方面,本公开提供了一种向导核酸,其包括:间隔子,所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补;支架,所述支架被配置成与Cas核酸酶结合;逆转录酶模板,所述逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列;第一链引物结合位点,所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的第二区反向互补;以及以下中的至少一者:i.gRNA定位系统(GPS)区和与所述GPS区杂交的GPS结合位点;ii.所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的同一碱基的至少4个连续核苷酸的轨道的修饰;或者iii.第二链引物,所述第二链引物包括所述逆转录酶模板的区的序列。一些方面包含所述第二链引物。在一些方面,所述第二链引物被配置成充当用于从与所述逆转录酶模板反向互补的模板进行转录的引物。在一些方面,第一合成链充当用于从所述第二链引物合成第二链的模板。在一些方面,所述靶核酸的所述第一区位于所述靶核酸的第一链上,并且所述靶核酸的所述第二区位于所述靶核酸的第二链上。在一些方面,所述靶核酸的所述第一区的全部或一部分与所述靶核酸的所述第二区的全部或一部分反向互补。一些方面包含位于所述向导核酸的3'端处的核酶可切割序列。一些方面包含位于所述向导核酸的3'端处的tRNA可切割序列。在一些方面,所述第一链引物结合位点被配置成与所述靶核酸的所述第二区杂交,并且其中所述逆转录酶模板被配

置成充当用于从所述靶核酸的所述第二区的3'端进行逆转录的模板。一些方面包含所述GPS区和所述GPS结合位点。在一些方面,所述GPS区和所述GPS结合位点一起包括所述向导核酸的与所述向导核酸上的另一个区结合以影响所述向导核酸中的构象变化并且改进基因编辑的区。在一些方面,所述GPS区和所述GPS结合位点的杂交在构象上改变所述向导核酸,并且相比于没有所述GPS区或所述GPS结合位点的向导核酸改进编辑效率。在一些方面,所述逆转录酶模板区包括所述GPS结合位点。在一些方面,所述GPS结合位点为所述第一链引物结合位点的5'。在一些方面,所述GPS结合位点为所述第一链引物结合位点的3'。在一些方面,所述GPS区为所述逆转录酶模板的5'。在一些方面,所述GPS区为所述逆转录酶模板的3'。在一些方面,所述GPS区为所述支架的5'。在一些方面,所述GPS区的长度为5-100个核苷酸。在一些方面,所述GPS结合位点与所述GPS区至少50%互补。在一些方面,所述靶核酸包括CFTR核酸、USH2A核酸、ABCA4核酸、ATP7B核酸或HTT核酸。在一些方面,所述间隔子包括与SEQ ID NO:96-119中的任一项至少85%相同的核酸序列。一些方面包含所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的PAM序列的所述修饰。在一些方面,所述PAM序列包括所述Cas核酸酶所识别的2-6碱基对核酸序列。在一些方面,相对于没有所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的所述PAM序列的所修饰的向导核酸,所述修饰改进基因编辑。一些方面包含所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的所述同一碱基的至少4个连续核苷酸的所述轨道的所述修饰。在一些方面,所述同一碱基的至少4个连续核苷酸的所述轨道包括polyA轨道。在一些方面,相对于没有所述逆转录酶模板中的破坏所述靶核酸中的所述同一碱基的至少4个连续核苷酸的所述轨道的所述修饰的向导核酸,所述修饰改进基因编辑。在一些方面,所述Cas核酸酶包括Cas切口酶。在一些方面,所述向导核酸包括向导RNA。一些方面包含基因编辑方法,其包括向细胞递送组合物,所述组合物包括所述向导核酸。在一些方面,所述组合物包括病毒载体,所述病毒载体包括所述向导核酸。一些方面包含与所述第二向导核酸的所述GPS结合位点杂交的所述GPS区。

[0028] 在各个方面,本公开提供了一种提高基因组编辑效率的方法,所述方法包括向细胞递送Orf1p,所述细胞表达如本文所述的组合物或如本文所述的向导核酸。

[0029] 在各个方面,本公开提供了一种核酸,其包括编辑如本文所述的组合物或如本文所述的向导核酸的核苷酸序列。

[0030] 在各个方面,本公开提供了一种病毒载体,其包括本文所述的核酸。

[0031] 在各个方面,本公开提供了一种细胞,其包括如本文所述的组合物、如本文所述的向导核酸、如本文所述的核酸或如本文所述的病毒载体。

[0032] 在一些方面,所述细胞为原核细胞。在一些方面,所述细胞为真核细胞。

[0033] 在一些方面,本公开提供了一种组合物,其包括Cas9可编程核酸酶,所述Cas9可编程核酸酶包括实现或改进内含肽催化的一个或多个点突变或插入突变。在各个方面,本公开提供了一种组合物,其包括Cas9可编程核酸酶,其中所述Cas9可编程核酸酶包括位于所述Cas9可编程核酸酶的C末端一半中的半胱氨酸点突变。在各个方面,本公开提供了一种组合物,其包括Cas9可编程核酸酶,其中所述Cas9可编程核酸酶包括位于所述Cas9可编程核酸酶的C末端一半中的插入突变(例如,半胱氨酸插入突变)。所述点突变可以为半胱氨酸点突变、丝氨酸点突变、苏氨酸点突变或丙氨酸点突变。所述插入突变可以为半胱氨酸插入突变、丝氨酸插入突变、苏氨酸插入突变或丙氨酸插入突变。

[0034] 在一些方面,所述Cas9可编程核酸酶为Cas9切口酶。在一些方面,所述Cas9可编程核酸酶为酿脓链球菌Cas9。在一些方面,所述点突变位于所述酿脓链球菌Cas9的D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212处。在一些方面,所述插入突变紧挨着所述酿脓链球菌Cas9的D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212的上游。在一些方面,所述半胱氨酸点突变位于所述酿脓链球菌Cas9的S1173C、D1079C或D1180C处。在一些方面,所述半胱氨酸插入突变位于所述酿脓链球菌Cas9的1173C、1079C或1180C处。在一些方面,所述Cas9可编程核酸酶包括SEQ ID NO:85-SEQ ID NO:87或SEQ ID NO:90-SEQ ID NO:92中的任一项的序列。

[0035] 在一些方面,所述Cas9可编程核酸酶表达为两个或更多个段。在一些方面,所述两个或更多个段中的第一段包括所述Cas9可编程核酸酶的N末端部分和第一内含肽,并且其中所述两个或更多个段中的第二段包括所述Cas9可编程核酸酶的C末端部分和第二内含肽。在一些方面,所述半胱氨酸点突变位于所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的N末端处。在一些方面,所述半胱氨酸插入突变位于所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的N末端处。在一些方面,所述第一内含肽与所述Cas9可编程核酸酶的所述N末端部分的C末端融合,并且其中所述第二内含肽与所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的N末端融合。在一些方面,所述第一段包括SEQ ID NO:90的序列,并且其中所述第二段包括SEQ ID NO:91的序列。所述两个或更多个段中的所述第二段可以包括逆转录酶,所述逆转录酶与所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分融合。所述逆转录酶可以包括N末端,所述N末端与所述Cas9可编程核酸酶的所述C末端部分的C末端融合。所述逆转录酶可以包括mlvRT或其变体。

[0036] 本文公开了优化基因组编辑效率的方法,所述方法包括用莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)进行基因组编辑,所述mlvRT被修饰成提高其在低dNTP浓度下的催化效率(例如,被修饰成降低其对dNTP的Km)。本文公开了优化受限的dNTP条件下基因组编辑效率的方法,所述方法包括用莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)或其变体进行基因组编辑,所述mlvRT包括位于所述逆转录酶的位置221或223处的点突变。所述mlvRT或其变体可以包括位于位置221处的点突变。位于位置221处的所述点突变可以包括Q221R。所述mlvRT或其变体可以包括位于位置223处的点突变。位于位置223处的所述点突变可以包括V223A。位于位置223处的所述点突变可以包括V223M。

[0037] 所述Cas切口酶和所述RT可以由多核苷酸编码。本文公开了AAV,其包括多核苷酸。所述Cas切口酶和所述RT的至少一部分可以涵盖或包含在单独的AAV内。本文公开了AAV,其包括第一AAV和第二AAV,所述第一AAV包括第一多核苷酸,所述第一多核苷酸编码Cas或Cas9组分,所述第二AAV包括第二多核苷酸,所述第二多核苷酸编码RT组分。所述AAV可以包括AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-DJ、AAV-DJ/8、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-retro、AAV-PHP.B、AAV8-PHP.eB或AAV-PHP.S或其组合。

[0038] 本文公开了用于筛选或鉴定改进的逆转录酶(RT)的方法,所述方法包括:在细胞中过表达SAMHD1或表达突变体SAMHD1,所述突变体SAMHD1已突变成预防所述突变体SAMHD1的残基磷酸化;鉴定所述细胞中的RT活性;以及基于所述RT活性,将所述RT鉴定为改进的RT。

[0039] 本文公开了系统,其包括RNA或多核苷酸,所述RNA或所述多核苷酸包括间隔子、包括期望的编辑的逆转录酶模板以及引物结合位点,其中所述引物结合位点与核酸结合,所

述核酸不包括由所述间隔子靶向或结合的核酸或与由所述间隔子靶向或结合的所述核酸反向互补的核酸的区的任何部分。

[0040] 本文公开了系统,其包括:第一向导核酸,所述第一向导核酸包括:间隔子,所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补;支架,所述支架被配置成与Cas核酸酶结合;逆转录酶模板,所逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列;第一链引物结合位点,所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的不包括所述第一区的任何部分并且不包括所述第一区的反向补体的任何部分的区结合;以及GPS区,所述GPS区与第二向导核酸上的GPS结合位点杂交。本文公开了系统,其包括:第一向导核酸,所述第一向导核酸包括:间隔子,所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补;支架,所述支架被配置成与Cas核酸酶结合;逆转录酶模板,所逆转录酶模板编码要插入到所述靶核酸中的序列;以及第一链引物结合位点,所述第一链引物结合位点与所述靶核酸的不包括所述第一区的任何部分并且不包括所述第一区的反向补体的任何部分的区结合。一些方面包含GPS区,其与第二向导核酸上的GPS结合位点杂交。一些方面包含所述第二向导核酸。所述第二向导核酸可以包含所述GPS结合位点。在一些方面,所述第二向导核酸包括第二间隔子,所述第二间隔子与所述靶核酸的另一个区反向互补。所述第二向导核酸可以使所述引物结合位点接近基因组瓣或与所述基因组瓣接触。

[0041] 通过引用并入

[0042] 本说明书中提及的所有出版物、专利以及专利申请通过引用并入本文,其程度如同每个单独的出版物、专利或专利申请被专门地且单独地指示为通过引用并入。

附图说明

[0043] 本公开的新颖特征在所附权利要求中具体阐述。通过参考阐述了说明性实施例的以下详细说明,将获得对本公开的特征和优点的更好理解,在所述实施例中利用了本公开的原理,并且在其附图中:

[0044] 图1示出了包括nCas9和莫洛尼氏白血病病毒RT(“mlvRT”)的融合的Cas9切口酶(nCas9)逆转录酶(RT)构建体(“nCas9-mlvRT”)以及分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体(“mlvRT分割拼接体”)的编辑效率。分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体包括位于离散多肽链上的nCas9-LZ1(SEQ ID NO:1,NLS-SpCas9(H840A)-NLS-EE12RR345L(亮氨酸拉链))和LZ2-mlvRT(SEQ ID NO:2,RR12EE345L(亮氨酸拉链)-mlvRTv(nCas9-mlvRT(D200N、L603W、T306K、W313F、T330P)-NLS)。nCas9-LZ1包括SpCas9(SEQ ID NO:32)和C末端亮氨酸拉链(SEQ ID NO:23),所述C末端亮氨酸拉链与包括mlvRT(SEQ ID NO:13)和N末端亮氨酸拉链(SEQ ID NO:24)的LZ2-mlvRT通过亮氨酸拉链异二聚化。nCas9-mlvRT构建体的示意图在顶部提供。

[0045] 图2示出了融合的nCas9-RT构建体(“nCas9-mlvRT”)以及包括nCas9和与逆转录酶(SEQ ID NO:27)融合的mcp肽的分割nCas9和mcp-mlvRT构建体(“mcp-mlvRTv”)的编辑效率。mcp肽与MS2 RNA发夹相互作用。用不同向导RNA(gRNA)构建体对分割nCas9和mcp-mlvRT构建体的效率进行了测试,所述不同gRNA构建体包含gRNA2.0(SEQ ID NO:31)、具有长MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:28,“gRNA-1xlongMS2”)、具有短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:29,“gRNA-1xshortMS2”)或具有两个短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:30,“gRNA-2xshortMS2”)。

[0046] 图3示出了包括具有增加的转录进行性的经修饰的逆转录酶的不同分割nCas9-RT构建体的编辑效率。对构建体进行了测试，所述构建体包括nCas9和来自嗜热脂肪地芽孢杆菌(GsI-IICRT，SEQ ID NO:3)、直肠真杆菌(ErRT，SEQ ID NO:4)的逆转录酶以及来自R2多蛋白的氨基酸116-1016(R2(116-1016)、SEQ ID NO:7)。GsI-IICRT逆转录酶(“拼接RT”)的示意图被示出为与图1和图2中使用的mlvRT逆转录酶相比较。

[0047] 图4A展示了用于使用本公开的经工程化的gRNA(“拼接向导”)进行基因组编辑的方法。与gRNA复合的nCas9-RT构建体通过gRNA的间隔子与靶位点杂交被再募集到靶核酸的靶位点。nCas9在靶位点处对靶核酸的链造切口。gRNA的第一链引物结合位点与瓣在切口的5’处杂交。RT使用gRNA的逆转录酶模板区作为模板从瓣的3’端开始聚合。第二链引物(“第2链引物”)在gRNA的3’端处与新合成的DNA链的3’端杂交。4-200bp第二链引物区充当用于合成第二DNA链的RNA引物。RT使用新合成的DNA链作为模板从gRNA的3’端开始聚合。gRNA的3’端上的核酶在第二链引物序列的3’处切割gRNA。新合成的双链DNA可以在切口的位点处并入到靶核酸中。

[0048] 图4B示出了nCas9-RT构建体使用pegRNA或拼接向导gRNA的编辑效率。pegRNA和拼接向导gRNA的示意图在左侧示出。此测定中使用了融合的nCas9-mlvRTv构建体。

[0049] 图5A示出了具有不同gRNA的融合的nCas9-RT构建体(“nCas9-mlvRTv”)的编辑效率，所述不同gRNA包括定位在第一链引物结合位点的5’端的3’方向的6nt、36nt或55nt处(“距切口的nt”)的长度为20个核苷酸(nt)、40nt或60nt的第二链引物(SSP)。缺乏第二链引物的gRNA作为对照进行了测试。所有gRNA序列都包括HDV核酶(SEQ ID NO:25)。

[0050] 图5B示出了具有不同gRNA的nCas9-RT(“nCas9-R2(116-1016)”)的编辑效率，所述不同gRNA包括定位在第一链引物结合位点的5’端的3’方向的6nt、36nt或55nt处(“距切口的nt”)的长度为20个核苷酸(nt)、40nt或60nt的第二链引物(SSP)。缺乏第二链引物的gRNA作为对照进行了测试。

[0051] 图6展示了使用具有nCas9-RT的两个gRNA系统进行基因组编辑的四个示意图。在两个向导各自产生经编辑的链的两个单向导系统中(上部左侧)，每个gRNA与不同nCas9结合，并且两个gRNA各自包括逆转录酶模板区。在第二向导对相对链造切口的两个单向导系统中(上部右侧)，每个gRNA与不同nCas9结合，并且gRNA中的仅一个gRNA包括逆转录酶模板区。在两个向导各自产生编辑的双向导复合物系统中(底部左侧)，第一gRNA的间隔子与第一nCas9结合，第二gRNA的间隔子与第二nCas9结合，第一gRNA的支架与第二nCas9结合，并且第二gRNA的支架与第一nCas9结合；并且两个gRNA各自包括逆转录酶模板区和引物结合位点(PBS)区。在第二向导对相对链造切口的双向导复合物系统中(底部左侧)，第一gRNA的间隔子与第一nCas9结合，第二gRNA的间隔子与第二nCas9结合，第一gRNA的支架与第二nCas9结合，并且第二gRNA的支架与第一nCas9结合；并且gRNA中的仅一个gRNA包括逆转录酶模板区。

[0052] 图7展示了用于提高基因编辑的效率的方法。第二向导对相对链造切口的两个单向导系统或第二向导对相对链造切口的双向导复合物系统，相对链上的切口促进新合成的DNA并入到靶核酸中。第二向导产生与第一新合成链中的区反向互补的瓣。第一合成链充当用于第二链合成的模板。

[0053] 图8A展示了包括用于通过在3’延长向导RNA内产生反向互补区加速引物结合位点

和瓣杂交的速率的Velcro区的gRNA。Velcro区包括定位在逆转录酶模板区的5'处的与gRNA的位于第一链引物结合位点的5'处的区反向互补的5个至200个核苷酸。

[0054] 图8B展示了包括用于通过在3'延长向导RNA内产生反向互补区加速引物结合位点和瓣杂交的速率的Velcro区的gRNA。Velcro区包括定位在第一链引物结合位点的3'处的与逆转录酶模板区的区反向互补的5个至100个核苷酸。

[0055] 图9A示出了nCas9-LZ1和LZ2-mlvRTv构建体在如图8A和图8B中所展示的包括Velcro区的gRNA构建体的情况下的编辑效率。使用缺乏Velcro区(“无Velcro”)、定位在逆转录酶模板区的5'处的空位长度为1nt、5nt或10nt的15nt Velcro区(“V1”,如图8A所展示的)或定位在第一链引物结合位点的3'处的长度为10nt或20nt的Velcro区(“V2”,如图8B所展示的)的gRNA对编辑效率进行了比较。gRNA含有107个核苷酸RT模板和13个核苷酸引物结合位点。进行了编辑使得ATCC序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸突变为CATA。

[0056] 图9B示出了nCas9-LZ1和LZ2-R2(116-1016)构建体在如图8A和图8B中所展示的包括Velcro区的gRNA构建体的情况下的编辑效率。使用缺乏Velcro区(“无Velcro”)、定位在逆转录酶模板区的5'处的空位长度为1nt、5nt或10nt的介于Velcro结合位点的结束与引物结合位点的开始之间的15nt Velcro区(“V1”,如图8A所展示的)或定位在第一链引物结合位点的3'处的长度为10nt或20nt的Velcro区(“V2”,如图8B所展示的)的gRNA对编辑效率进行了比较。

[0057] 图10示出了如图7中展示的两个gRNA系统的编辑效率。编码蓝色荧光蛋白(BFP)的靶核酸被编辑成引入终止密码子。细胞中缺乏BFP荧光表明成功编辑。测量了仅细胞(无gRNA)、单独gRNA(缺乏3'延伸的gRNA 2、不具有短线的gRNA 1、具有短线的gRNA 1)和两个gRNA(不具有短线的gRNA 1加上gRNA 2以及具有短线的gRNA 1和gRNA 2)的编辑效率,如通过对BFP为负的细胞的百分比(“BFP-%”)测量的。

[0058] 图11A示出了先导编辑器2系统(“PE2”,顶部)、分割先导编辑器2系统(“分割PE2”,中间)和具有两个亮氨酸拉链的分割拼接体构建体(“分割拼接体”,底部)的结构域布置。右侧为分割拼接体构建体的结构示意图,其包括由两个亮氨酸拉链(LZ1和LZ2)连接的与向导核酸复合的Cas9切口酶(nCas9)和逆转录酶(RT)。分割拼接体分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体包括位于离散多肽链上的nCas9-LZ1(SEQ ID NO:1,NLS-SpCas9(H840A)-NLS-EE12RR345L(亮氨酸拉链))和LZ2-mlvRT(SEQ ID NO:2,RR12EE345L(亮氨酸拉链)-mlvRTv(nCas9-mlvRT(D200N、L603W、T306K、W313F、T330P)-NLS)。

[0059] 图11B示出了图11A中展示的具有不同gRNA的构建体的编辑效率。以被编辑成将BFP转化为GFP的细胞的百分比为单位(GFP+%)测量了编辑效率。用不同向导RNA(gRNA)构建体测试了编辑效率,所述不同gRNA构建体包含gRNA 2.0(SEQ ID NO:31)、具有长MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:28,“gRNA-1xlongMS2”)、具有短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:29,“gRNA-1xshortMS2”)或具有两个短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:30,“gRNA-2xshortMS2”)。

[0060] 图12A展示了不具有(左侧)或具有(中间和右侧)用于加速引物结合位点(PBS)与靶核酸的瓣杂交的速率的Velcro区的gRNA构建体。在V1布置中,Velcro区可以定位在gRNA的5'端处或附近并且可以与gRNA的区在引物结合位点的5'处杂交(“Velcro V1”,中间)。在V2布置中,Velcro区可以定位在引物结合位点的3'处并且可以与gRNA的区在5'端处或附近杂交(“Velcro V2”,右侧)。

[0061] 图12B展示了图12A中提供的gRNA构建体的预测的三维结构。缺乏Velcro区的gRNA在左侧示出，包括Velcro V1区或Velcro V2区的gRNA分别在中间图和右图中示出。

[0062] 图12C示出了具有129个核苷酸RT模板和13个核苷酸引物结合位点以及20个核苷酸Velcro区的gRNA的编辑效率。进行了编辑使得ATG序列，即切口的3'处的起始65个核苷酸突变为CAT。将原始gRNA("原始编码")或再编码有位于gRNA延伸的RT模板区中的用于去除二级结构的沉默突变的gRNA("再编码的")的编辑效率进行了比较。

[0063] 图12D示出了具有不同长度的Velcro序列的gRNA的编辑效率。每个gRNA以5'到3'的次序含有RT模板、引物结合位点和Velcro区，如左侧的示意图中所示。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比(GFP+%)为单位进行了测量。gRNA具有129个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点。进行了编辑使得ATG序列，即切口的3'处的起始65个核苷酸突变为CAT。

[0064] 图13A展示了pegRNA和包括Velcro区和第2链引物的拼接gRNA的示意图(顶部)以及使用拼接gRNA进行基因组编辑的方法(底部)。与gRNA复合的nCas9-RT构建体通过gRNA的间隔子与靶位点杂交被再募集到靶核酸的靶位点。nCas9在靶位点处对靶核酸的链造切口。gRNA的第一链引物结合位点与瓣在切口的5'处杂交。RT使用gRNA的逆转录酶模板区作为模板从瓣的3'端开始聚合。第二链引物("第2链引物")在gRNA的3'端处与新合成的DNA链的3'端杂交。4-200bp第二链引物区充当用于合成第二DNA链的RNA引物。RT使用新合成的DNA链作为模板从gRNA的3'端开始聚合。gRNA的3'端上的核酶在第二链引物序列的3'处切割gRNA。新合成的双链DNA可以在切口的位点处并入到靶核酸中。

[0065] 图13B示出了不同长度并且在距切口位点的不同距离处杂交的gRNA第二链引物(SSP)的编辑效率。对定位在距切口6个、36个或55个核苷酸处的20个、40个或60个核苷酸(nt)长的第二链引物进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。

[0066] 图13C示出了不具有Velcro区或第二链引物("无velcro、无SSP")、具有19个核苷酸Velcro区("19nt velcro")或具有19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物两者("19nt velcro、20nt SSP")的gRNA的编辑效率。

[0067] 图14A示出了对mlvRT逆转录酶中的突变进行的筛选的结果和其对编辑效率的影响。突变是在含有五个点突变(D200N、1603W、T330P、T306K和W313F，SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如，SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有Y8H、P51L、S56A、S67R、E69K、Q84A、F155Y、T197A、H204R、T246E、N249D、E286R、Q291I、R301L、E302K、F309N、M320L、L435G、D524A、D524G、D524N、E562D、K571R、D583N、Y586S、H594Q、H638G、D653N、T664N或L671P单个点突变(分别为SEQ ID NO:41-SEQ ID NO:70)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑：使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、1个核苷酸空位、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列，即切口的3'处的起始2个核苷酸，突变为CATA。突变速率数据以平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差示出。

[0068] 图14B示出了对mlvRT逆转录酶中的突变的组合进行的筛选的结果和其对编辑效率的影响。突变是在含有五个点突变(D200N、1603W、T330P、T306K和W313F，SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如，SEQ ID NO:14)的mlvRT构

建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有T197A和D653N;T197A和T664N;T197A和L671P;T197A、D653N、T664N和L671P;或P51L、S67R、T197A、H204R、L435G、D524A、D653N、T664N和L671P(分别为SEQ ID NO:71-SEQ ID NO:75)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。

[0069] 图15A展示了增加dNTP在细胞中提高编辑效率的可用性的方法。在缺乏CDK1的非分裂细胞中,非磷酸化的SAMHD1切割dNTP,这增加了细胞中的可用dNTP。在分裂细胞中,CDK1使SAMHD1磷酸化,从而防止SAMHD1切割dNTP并且引起dNTP在细胞中的可用性增加。SAMHD1(T592A)中的单点突变通过CDK1防止SAMHD1磷酸化,从而引起在组成上有活性的SAMHD1和dNTP在细胞中的低可用性。使用了T592A突变体SAMHD1以在图15B、图15D和图15E中示出的测定中诱导低dNTP环境。Vpx的添加抑制SAMHD1,从而使dNTP在细胞中的可用性增加。

[0070] 图15B示出了mlvRT逆转录酶构建体在存在或不存在在组成上有活性的SAMHD1(SAMHD1(T592A))的情况下降低dNTP在细胞中的可用性的编辑效率。突变是在含有五个点突变(D200N、l603W、T330P、T306K和W313F,SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如,SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有Q221R;V223A;V223M;Q221R和V223A;或Q221R和V223M(SEQ ID NO:76-SEQ ID NO:80)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。

[0071] 图15C示出了mlvRT逆转录酶构建体的编辑效率。突变是在含有五个点突变(D200N、l603W、T330P、T306K和W313F,SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如,SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有V223A;V223M;Q221R和V223A;或Q221R和V223M(SEQ ID NO:77-SEQ ID NO:80)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有129个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸,突变为CAT。

[0072] 图15D示出了mlvRT逆转录酶在存在或不存在在组成上有活性的SAMHD1(SAMHD1(T592A))的情况下降低dNTP在细胞中的可用性并且在具有或不具有Vpx(SEQ ID NO:82)的情况下抑制SAMHD1的编辑效率。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。

[0073] 图15E示出了mlvRT逆转录酶在存在或不存在在组成上有活性的SAMHD1(SAMHD1(T592A))的情况下降低dNTP在细胞中的可用性并且在具有或不具有Vpx(SEQ ID NO:82)的情况下抑制SAMHD1的编辑效率。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行

测量。如下进行编辑:使用具有129个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸,突变为CAT。

[0074] 图15F示出了VPX^{RH2-1}和SAMHD1(T592A)与RW2I的共表达完全逆转了通过表达不具有VPX的SAMHD1(T592A)引起的编辑效率的降低。

[0075] 图16示出了针对切口活性进行修饰并且通过亮氨酸拉链与逆转录酶连接的Cas9构建体的编辑效率。酿脓链球菌Cas9("SpCas9")构建体含有用于产生Cas9切口酶(nCas9)的H840A突变。在D1079C、S1173C或D1180C处将半胱氨酸残基引入到Cas9切口酶中,以使Cas9能够分割成用于表达为外显肽-内含肽融合的分割内含肽Cas9(iCas9)。含有H840A和D1079C(SEQ ID NO:85,具有亮氨酸拉链)、H840A和S1173C(SEQ ID NO:86,具有亮氨酸拉链)、或H840A和D1180C(SEQ ID NO:87,具有亮氨酸拉链)点突变并且与mlvRT5M(SEQ ID NO:40,具有亮氨酸拉链)连接的亮氨酸拉链Cas9构建体进行了测试。含有H840A突变但不含有另外的半胱氨酸(SEQ ID NO:84,具有亮氨酸拉链)的与mlvRT5M(SEQ ID NO:40,具有亮氨酸拉链)连接的Cas9切口酶用作对照。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。

[0076] 图17A示出了针对切口活性进行修饰、与逆转录酶融合并且表达为两个外显肽-内含肽融合蛋白的分割内含肽Cas9(iCas9)S1173C构建体的编辑效率。nCas9-RT构建体的N末端区表达为nCas9(1-1172)-Npu N内含肽(SEQ ID NO:90),并且nCas9-RT构建体的C末端区表达为Npu C内含肽-nCas9(1173-1368以及S1173C)-mlvRT5M(SEQ ID NO:91)。分割内含肽Cas9-RT构建体(右侧条)的编辑效率与亮氨酸拉链分割Cas9构建体(SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,左侧条)的编辑效率进行了比较。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。

[0077] 图17B示出了针对切口活性进行修饰、与逆转录酶融合并且表达为两个外显肽-内含肽融合蛋白的分割内含肽Cas9(iCas9)S1173C构建体的编辑效率。nCas9-RT构建体的N末端区表达为nCas9(1-1172)-Npu N内含肽(SEQ ID NO:90),并且nCas9-RT构建体的C末端区表达为Npu C内含肽-nCas9(1173-1368以及S1173C)-mlvRT5M(SEQ ID NO:91)。分割内含肽Cas9-RT构建体(右侧条)的编辑效率与亮氨酸拉链分割Cas9构建体(SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,左侧条)的编辑效率进行了比较。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸,突变为CAT。

[0078] 图18示出了亮氨酸拉链Cas9-RT构建体在存在包括HDV核酶(左侧条)或tRNA(右侧条)的gRNA情况下在gRNA的紧接着所述第二链引物的3'的3'端处的编辑效率。亮氨酸拉链Cas9-RT构建体表达为nCas9-LZ1(SEQ ID NO:1)和LZ2-mlvRT5M(SEQ ID NO:2)并且通过亮氨酸拉链连接。tRNA具有与SEQ ID NO:94(GGTCCCATGGTGTAATGGTTAGCACTCTGGACTTTGAATC

CAGCGATCCGAGTTCAAATCTCGGTGGGACCT)相对应的序列。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区、20个核苷酸第二链引物和第二链引物的3'处的HDV核酶或tRNA的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。

[0079] 图19A示出了一些精确编辑构建体能够装配在AAV中或不能够装配在AAV内。先导编辑器2(PE2)和分割PE2两者可以利用与莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶五突变体(pentamutant)(mlvRT5M)融合的可以由大到以至于不能够包装到AAV中的ORF编码的切口Cas9(nCas9)。开发了可以利用AAV递送nCas9和mlvRT5M的架构,所述nCas9和mlvRT5M各自由两个各自小于AAV的承载能力的ORF编码。Rewriter a1(RWa1)可以利用nCas9、与mlvRT5M融合的MS2外被蛋白(MCP)肽和包括MCP肽可以特异性结合的MS2发夹的gRNA。RWb1可以利用异二聚化亮氨酸拉链来共定位nCas9和mlvRT5M。RWc1可以利用可以用Npu内含肽分割以使用各自装配在AAV中的ORF产生nCas9-mlvRT5M蛋白的新颖突变体nCas9。RWd1可以在没有任何经工程化的募集组分的情况下共表达nCas9和mlvRT5M。

[0080] 图19B示出了包括一些编辑构建体的细胞中的GFP表达。测试nCas9的与Npu N末端内含肽(其与和nCas9的C末端片段融合的Npu C末端内含肽配对)融合的包括提供内含肽催化的半胱氨酸取代和mlvRT5M的N末端片段的群组揭示了使Ser1173CysnCas9-mlvRT5M突变体在残基1172与1173(nCas9(1-1172)-NpuN与nCas9(1173-1368;S1173C)-mlvRT5M)之间分割产生了为PE2的编辑效率的至少约2倍的编辑效率。

[0081] 图19C示出了包括一些编辑构建体的细胞中的GFP表达。将RWa1、RWb1和RWc1与标准gRNA支架共转染均产生高40%的编辑效率。40%以上的编辑效率是用与RTT-PBS-MS2 gRNA延伸架构配对的RW1M和实现了50%以上的编辑的RW1L两者实现的。不含有MS2发夹的gRNA与nCas9和MCP-mlvRT5M构建体共表达产生了相比于包含MS2发夹(RWd1)的gRNA大约相同的编辑效率。

[0082] 图19D示出了包括乩一些编辑构建体转导的细胞中的GFP表达。用包装到两个单独AAV2构建体中的RWc1以每个病毒$2.8x10^5$的MOI转导表达BFP的HEK293细胞产生了74.8%GFP+细胞。突变速率数据以平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差示出。

[0083] 图20A示出了酶和向导RNA的一些空间朝向。RTT的逆转录在一些情况是可能仅在PBS与基因组瓣杂交之后才启动。在RTT的5'处插入与RTT的3'区(GPS V1)杂交的序列或在PBS的3'处插入与RTT的5'部分(GPS V2)杂交的序列可以将PBS再定向为更接近基因组瓣。

[0084] 图20B示出了包括一些编辑构建体的细胞中的GFP表达。RWb1和包括107-nt RTT的向导RNA产生了14%GFP+细胞,这显著低于使用更短13-nt RTT实现的38%。添加20-nt GPS V2(RWb2)使编辑效率提高到约27%。

[0085] 图20C示出了包括一些编辑构建体的细胞中的GFP表达。使用129-nt模板从切口的位点65-nt安装3-nt突变通过并入GPS V2增加了4倍。

[0086] 图21示出了包括一些编辑构建体的细胞中的GFP表达。可以同时使用Velcro和SSP,从而产生约41%编辑(Rewriter 3.2)。在SSP的末端3-nt与第一合成链不互补时提供的SSP被取消的效率提高。突变速率数据以平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差示出。*=P<0.05;双侧学生t检验。

[0087] 图22示出了相比于SSP之后的HDV核酶在SSP之后并入人谷氨酸tRNA引起了编辑效

率的在统计上显著的提高。突变速率数据以平均值±来自三个非生物依赖性样品的一个标准偏差示出。*＝P<0.05;双侧学生t检验。

[0088] 图23示出了SAMHD1p-与Rewriter 3.0共表达显著降低了在距切口65-nt处安装突变的效率。VPXROD的另外共表达使编辑效率恢复到在不存在SAMHD1p-的情况下观察到的效率的78％。突变速率数据为平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差。

[0089] 图24为示出了在细胞中一起表达的各个编辑组分的编辑效率的图。

[0090] 图25A为示出了使用Rewrite构建体的编辑效率的图表。

[0091] 图25B和25C展示了关于使用向导RNA进行的一些实验的信息。

[0092] 图25D展示了用RW2I和gRNA转染HEK293T以安装2298T>C突变未在间隔子的计算机预测的脱靶位点中的前五个脱靶位点处引入突变。

[0093] 图25E展示了将RTT修饰为包含破坏polyA轨道的沉默2307A>G突变消除了腺嘌呤的不期望插入。

[0094] 图25F展示了筛选另外的RTT长度使编辑效率提高到41.6％。

[0095] 图25G展示了编码RTT中将破坏间隔子的PAM序列的沉默突变使安装2298T>C突变的效率加倍。

[0096] 图26示出了Velcro(也被称为GPS)在向导核酸中的示例构型。

[0097] 图27示出了一些编辑系统的组分。

[0098] 图28示出了使用一些编辑系统组分获得的编辑效率。

[0099] 图29A-29F示出了使用一些编辑系统之后核碱基的读段％。

[0100] 图30示出了一些编辑系统的组分。

[0101] 图31A示出了在用本文所述的一些编辑组分处理之后具有突变的读段的％。

[0102] 图31B示出了野生型细胞中具有突变的读段的％。

[0103] 图32示出了双向导系统。

[0104] 图33示出了双向导系统的编辑效率。

具体实施方式

[0105] 本文公开了用于使用CRISPR-Cas系统进行精确且高效的基因组编辑的方法和组合物。包括与脱氨酶连接的Cas9切口酶(nCas9)的基于Cas9的碱基编辑器可以限于进行转换突变(例如,A至G或C至T)。包括与逆转录酶(RT)(例如,莫洛尼氏白血病病毒RT)连接的nCas9的其它基于Cas9的编辑器(例如,“先导编辑器”)可以限于小插入、缺失或单核苷酸变化。本文提供了Cas切口酶和逆转录酶构建体、经工程化的向导核酸和使用其以改进基因组编辑的效率、多样性、精度和可递送性的方法。

[0106] 本文所述的方法和组合物可以包含对Cas9和RT进行分割、二聚化或共表达。Cas9和RT的分割、二聚化或共表达可以实现AAV包装。Cas9和RT的分割、二聚化或共表达可以提高编辑效率。

[0107] 本文描述了AAV可递送精度编辑组分。一些实施例包含递送Cas9组分和RT组分的AAV颗粒。提供了用于利用AAV递送Cas+RT系统的各个实例。提供是实例可以克服得到用于装配在典型AAV承载能力内的精度编辑组分(例如,约4.5kb)的难度。

[0108] 还提供了改进编辑效率的突变,如点突变或插入突变。例如,包含了Cas切口酶或

RT(例如,点突变或插入突变)。一些实施例包含用于用氨基酸突变进行基因组编辑的mlvRT。

[0109] 切口Cas9和逆转录酶

[0110] 本文提供了组合物,其包括Cas切口酶。本文提供了组合物,其包括逆转录酶。本文提供了组合物,其包括Cas切口酶和逆转录酶。Cas切口酶和逆转录酶的至少一部分可以包含在单独的多肽链中。Cas切口酶和逆转录酶可以完全位于单独的多肽链中。一些实施例包含Cas切口酶的功能片段。一些实施例包含逆转录酶的功能片段。

[0111] Cas切口酶和逆转录酶可以形成Cas-逆转录酶异二聚体。Cas-逆转录酶异二聚体可以包含第一异二聚体结构域。所述第一异二聚体结构域可以与Cas切口酶融合。Cas-逆转录酶异二聚体可以包含第二异二聚体结构域。所述第二异二聚体结构域可以与逆转录酶融合。第一异二聚体结构域可以与第二异二聚体结构域结合。此结合可以形成Cas-逆转录酶异二聚体。第一异二聚体结构域可以包括亮氨酸拉链。第二异二聚体结构域可以包括亮氨酸拉链。除了亮氨酸拉链之外,第一异二聚体结构域或第二异二聚体结构域可以包括异二聚体结构域,例如本文所述的SpyCatcher或SpyTag部分。

[0112] 本文提供了经工程化的构建体,其包括Cas可编程核酸酶。Cas可编程核酸酶可以包括Cas9可编程核酸酶。本文提供了经工程化的构建体,其包括Cas切口酶。Cas可编程核酸酶可以包含Cas切口酶。Cas切口酶可以包括Cas9切口酶(nCas9)。Cas9可编程核酸酶可以包括nCas9。Cas切口酶可以通过使Cas9核酸酶结构域突变产生。Cas切口酶可以产生单链断裂而非双链断裂。

[0113] 本文提供了经工程化的构建体,其包括逆转录酶(RT)。本文提供了经工程化的构建体,其包括Cas切口酶和RT。本文提供了经工程化的构建体,其包括Cas9切口酶和RT。nCas9可以在靶核酸的靶位点处引入单链断裂(SSB)。逆转录酶可以催化要插入在靶位点处的序列的逆转录。在一些实施例中,nCas9-RT构建体可以与nCas9-RT构建体融合。融合的nCas9-RT构建体在单独的多肽链中可以包括nCas9和逆转录酶。在一些实施例中,nCas9-RT构建体可以是分割nCas9-RT构建体。分割nCas9-RT构建体在第一多肽链中可以包括nCas9并且在第二多肽链中可以包括逆转录酶。分割nCas9-RT构建体的nCas9和逆转录酶在共表达时可以形成异二聚体。在一些实施例中,第一二聚化结构域可以位于nCas9的N末端。在一些实施例中,与第一二聚化结构域二聚化的第二二聚化结构域可以位于逆转录酶的C末端。在一些实施例中,第一二聚化结构域可以位于nCas9的C末端。在一些实施例中,与第一二聚化结构域二聚化的第二二聚化结构域可以位于逆转录酶的N末端。第一二聚化结构域可以包括亮氨酸拉链、FKBP、FRB、钙调神经磷酸酶A、CyP-Fas、GyrB、GAI、GID1、SNAP标签、Halo标签、Bcl-xL、Fab或LOV结构域。第二二聚化结构域可以包括亮氨酸拉链、FKBP、FRB、钙调神经磷酸酶A、CyP-Fas、GyrB、GAI、GID1、SNAP标签、Halo标签、Bcl-xL、Fab或LOV结构域。二聚化可以被诱导或可以是自发的。二聚化可以被化学或光学诱导。SEQ ID NO:1提供了在C末端处包括亮氨酸拉链的nCas9的实例。SEQ ID NO:2提供了在N末端处包括亮氨酸拉链的逆转录酶的实例。

[0114] 在一些实施例中,本公开的构建体可以包括核定位信号(NLS)。本文所述的组合物可以包括与Cas切口酶融合的核定位信号。在一些实施例中,与NLS融合的Cas切口酶包括与SEQ ID NO:138至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、

至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的序列。本文所述的组合物可以包括与RT融合的核定位信号。在一些实施例中，与NLS融合的RT包括与SEQ ID NO:95至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的序列。

[0115] 逆转录酶可以包括来自非长末端重复逆转座元件的结构域。非长末端重复逆转座元件可以与Cas切口酶的一部分融合。逆转录酶可以包括来自细菌II组内含子的序列。细菌II组内含子可以与Cas切口酶的一部分融合。逆转录酶可以包括来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的结构域。来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的结构域可以与Cas切口酶的一部分融合。

[0116] 二聚化可以使用SpyTag/SpyCatcher或相关系统实现。例如，RT可以与SpyTag部分缀合，并且Cas切口酶可以与SpyCatcher部分缀合。可替代地，Cas切口酶可以与SpyTag部分缀合，并且RT可以与SpyCatcher部分缀合。使用SpyTag/SpyCatcher系统的二聚化可以包含二聚化的分子之间的共价键(例如，Cas切口酶可以通过SpyTag和SpyCatcher部分与RT共价缀合)。与SpyTag或SpyCatcher部分缀合的Cas切口酶可以在第一AAV中提供。与SpyCatcher或SpyTag部分缀合的RT可以在第二AAV中提供。

[0117] 各种逆转录酶与本公开的组合物和方法一致。如本文公开的逆转录酶可以为嗜热脂肪地芽孢杆菌RT(GsI-IICRT，SEQ ID NO:3)、直肠真杆菌RT(ErRT，SEQ ID NO:4)、marathon RT(SEQ ID NO:5)、BmR2RT(SEQ ID NO:6)、来自R2多蛋白的氨基酸116-1016(R2(116-1016)、SEQ ID NO:7)、BmR2en-RT(SEQ ID NO:8)、humanL1RT(SEQ ID NO:9)、humanL1en-RT(SEQ ID NO:10)、murineL1RT(SEQ ID NO:11)、ltrA(SEQ ID NO:12)、mlvRT5M(SEQ ID NO:13)、mlvRT5M(SEQ ID NO:40)、mlvRT(SEQ ID NO:14)、XMRV3VP35RT(SEQ ID NO:15)、galvRT(SEQ ID NO:16)、sfvRT(SEQ ID NO:17)、foamvRT(SEQ ID NO:18)、HIVP66(SEQ ID NO:19)、HIVP51(SEQ ID NO:20)、rsvAlpha(SEQ ID NO:21)或rsvBeta(SEQ ID NO:22)。本公开的转录酶可以包含N末端甲硫氨酸，或者本公开的转录酶可能缺乏N末端甲硫氨酸。例如，逆转录酶可以具有与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8-SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80中的任一项相对应的去除了N末端甲硫氨酸的序列。在另一实例中，逆转录酶可以具有与SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:13-SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:19-SEQ ID NO:22中的任一项相对应的N末端添加了甲硫氨酸的序列。逆转录酶可以包括与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80中的任一项具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、至少99.5％、100％序列同一性或其间的任何百分比的序列或其片段。

[0118] 本文公开了组合物，其包括逆转录酶，所述逆转录酶具有与SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80中的任一项具有至少80％序列同一性的序列、其片段。逆转录酶或其片段可以与Cas切口酶融合。一些实施例包含一种组合物，其包括逆转录酶，所述逆转录酶包括来自非长末端重复逆转座元件的结构域，所述逆转录酶可以与Cas切口酶融合。一些实施例包含一种逆转录酶，其包括来自细菌II组内含子的序列，所述逆转录酶可以与Cas切口酶融合。一些实施例包含一种逆转录酶，其包括来自逆转录病毒gag-pol多蛋白的结构域，所述逆转录酶可以与Cas切口酶融合。逆转录酶可以被截短。

[0119] 公开了优化受限的dNTP条件下基因组编辑效率的方法。所述方法可以包含用莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)或其变体进行基因组编辑。本文所述的RT，如mlvRT可以

包含如点突变等突变。所述点突变可以位于逆转录酶的位置221处。所述mlvRT或其变体可以包括位于位置221处的点突变。位于位置221处的所述点突变可以包括Q221R。所述点突变可以位于逆转录酶的位置223处。所述mlvRT或其变体可以包括位于位置223处的点突变。位于位置223处的所述点突变可以包括V223A。位于位置223处的所述点突变可以包括V223M。

[0120] 一些实施例包含一种优化基因组编辑效率的方法，所述方法包括用莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT)进行基因组编辑，所述mlvRT被修饰成提高其在低dNTP浓度下的催化效率。例如，mlvRT可以被修饰成降低其对dNTP的Km。

[0121] 本公开的逆转录酶可以包括一个或多个突变。例如，逆转录酶可以包括相对于参考逆转录酶序列(例如，SEQ ID NO:81)的一个或多个突变。在一些实施例中，逆转录酶中的点突变可以提高Cas9-RT构建体相对于缺乏点突变的参考序列的编辑效率。逆转录酶可以包括与D200N、1603W、T330P、T306K、W313F、Y8H、P51L、S56A、S67R、E69K、Q84A、F155Y、T197A、H204R、T246E、N249D、E286R、Q291I、R301L、E302K、F309N、M320L、L435G、D524A、D524G、D524N、E562D、K571R、D583N、Y586S、H594Q、H638G、D653N、T664N、L671P、Q221R、V223A、V223M或其组合相对应的相对于SEQ ID NO:81的一个或多个突变。逆转录酶可以包括位于氨基酸位置Q84、L139、Q221、V223、T664、L671、D524、P51或S67处的一个或多个突变(例如，点突变)。逆转录酶可以包括与Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T664N、L671P、D524A、P51L或S67R相对应的一个或多个突变(例如，点突变)。一个或多个突变可以与SEQ ID NO:81或本文鉴定的另一个序列相关。一个或多个突变可以与和SEQ ID NO:81或本文鉴定的另一个序列至少75％相同、至少80％相同、至少85％相同、至少86％相同、至少87％相同、至少88％相同、至少89％相同、至少90％相同、至少91％相同、至少92％相同、至少93％相同、至少94％相同、至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列相关。在一些实施例中，逆转录酶可以包括与D200N、1603W、T330P、T306K和W313F(例如，SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:40)相对应的突变。在一些实施例中，逆转录酶可以包括与D200N、1603W、T330P、T306K和W313F相对应的突变和一个或多个另外的突变(例如，SEQ ID NO:41-SEQ ID NO:80)。

[0122] RT可以包含图14B中包含的一个或多个突变。例如，RT可以包含位于位置51、67、84、139、197、204、435、524、653、664或671或其组合处的突变。RT可以包含位于位置P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524或其组合处的突变。RT可以包含位于位置的51、67、84、139、197、204、435、524、653、664和671处的突变。突变可以包含至少一个点突变。至少一个点突变可以位于P51L、S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T197A、D653N、T664N、L671P、L435G、H204R或D524A或其组合处。RT可以包含位于位置51处的突变。位于位置51处的突变可以包含P51L。RT可以包含位于位置67处的突变。位于位置67处的突变可以包含S67R。RT可以包含位于位置84处的突变。位于位置84处的突变可以包含Q84A。RT可以包含位于位置139处的突变。位于位置139处的突变可以包含L139P。RT可以包含位于位置197处的突变。位于位置197处的突变可以包含T197A。RT可以包含位于位置204处的突变。位于位置204处的突变可以包含H204R。RT可以包含位于位置435处的突变。位于位置435处的突变可以包含L435G。RT可以包含位于位置524处的突变。位于位置524处的突变可以包含D524A。RT可以包含位于位置653处的突变。位于位置653处的突变可以包含D653N。RT可以包含位于位置664处的突变。位于位置664处的突变可以包含T664N。RT可以包

含位于位置671处的突变。位于位置671处的突变可以包含L671P。RT可以包含所述突变中的例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个突变。RT可以包含mlvRT。RT可以包含mlvRT5M。具有一个或多个突变的RT可以包括关于本文提供的RT序列的一个或多个突变。一个或多个突变可以提高本文所述的组合物关于不具有一个或多个突变的组合物的编辑效率。突变可以为或可以包含插入突变。逆转录酶包括紧挨着P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524或其组合的上游(例如,在氨基端方向上)的插入突变。逆转录酶包括紧挨着P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524或其组合的下游(例如,在羧基端方向上)的插入突变。插入突变可以包括本文公开的用于点突变的氨基酸的插入,其中所述点突变是到氨基酸的突变。

[0123] 在一些实施例中,逆转录酶具有位于位置P51、S67、Q84、L139、T197、D200、H204、Q221、V223、T306、W313、T330、L435、D524、D653、T664、L671或L600或其组合处的点突变。在一些实施例中,逆转录酶具有位于位置P51、S67、Q84、L139、Q221、V223、T197、D653、T664、L671、L435、H204或D524或其组合处的点突变。在一些实施例中,逆转录酶具有位于位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671或其组合处的点突变。

[0124] 在一些实施例中,逆转录酶具有包括P51L、S67R、Q84A、L139P、T197A、D200N、H204R、Q221R、V223A、V223M、T306K、W313F、T330P、L435G、D524A、D653N、T664N、L671P或L603W或其组合的点突变。在一些实施例中,逆转录酶具有包括P51L、S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T197A、D653N、T664N、L671P、L435G、H204R或D524A或其组合的点突变。在一些实施例中,逆转录酶具有包括S67R、Q84A、L139P、Q221R、V223A、V223M、T664N、L671P或D524A或其组合的点突变。

[0125] 本公开的逆转录酶可以包括环区(例如,2a环或3a环)。本公开的逆转录酶可以转录20个或更多个、40个或更多个、45个或更多个、50个或更多个、60个或更多个、81个或更多个、100个或更多个、500个或更多个、1000个或更多个、2000个或更多个、3000个或更多个、4000个或更多个、5000个或更多个、6000个或更多个、7000个或更多个、8000个或更多个、9000个或更多个或10,000个或更多个核苷酸的编辑序列。本公开的逆转录酶可以转录至多约20个、至多约40个、至多约45个、至多约50个、至多约60个、至多约81个、至多约100个、至多约500个、至多约1000个、至多约2000个、至多约3000个、至多约4000个、至多约5000个、至多约6000个、至多约7000个、至多约8000个、至多约9000或至多约10,000个核苷酸的编辑序列。本公开的逆转录酶可以转录20个到10,000个核苷酸的编辑序列。

[0126] 本公开的逆转录酶可以具有增加的进行性。进行性可以由单个结合事件中的逆转录酶催化的多个磷酸二酯键确定。进行性可以与天然逆转录酶进行比较。逆转录酶可以包括相比于mlvRT增加的进行性。具有增加的进行性的逆转录酶可以在靶核酸的靶位点处编辑更长序列。例如,具有增加的进行性的逆转录酶可以增加可编程核酸酶的编辑窗口长度。相比于mlvRT,逆转录酶可以编辑靶序列中更长窗口长度。具有增加的进行性的逆转录酶可以包括插入序列。在一些实施例中,增加进行性的插入可以插入到结构域2与3之间或结构域3与4之间的逆转录酶中。具有增加的进行性的逆转录酶可以包括缺失。例如,具有增加的进行性的逆转录酶可能缺乏RNA酶结构域或者可能缺乏连接结构域。具有增加的进行性的逆转录酶可以在单个结合事件中催化20个或更多个、40个或更多个、45个或更多个、50个或更多个、60个或更多个、81个或更多个、100个或更多个、500个或更多个、1000个或更多个、

2000个或更多个、3000个或更多个、4000个或更多个、5000个或更多个、6000个或更多个、7000个或更多个、8000个或更多个、9000个或更多个或10,000个或更多个磷酸二酯键。具有增加的进行性的逆转录酶可以在单个结合事件中催化至多约20个、至多约40个、至多约45个、至多约50个、至多约60个、至多约81个、至多约100个、至多约500个、至多约1000个、至多约2000个、至多约3000个、至多约4000个、至多约5000个、至多约6000个、至多约7000个、至多约8000个、至多约9000或至多约10,000个磷酸二酯键。

[0127] 在一些实施例中,相比于mlvRT,逆转录酶在靶核酸的靶位点处编辑更长序列。逆转录酶可以增加可编程核酸酶的编辑窗口长度。在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶可以包括插入序列。在一些实施例中,插入在结构域2与3之间或结构域3与4之间插入到在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶中。在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶可以包括缺失。例如,在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶可能缺乏RNA酶结构域或可能缺乏连接结构域。在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶可以在单个结合事件中催化20个或更多个、40个或更多个、45个或更多个、50个或更多个、60个或更多个、81个或更多个、100个或更多个、500个或更多个、1000个或更多个、2000个或更多个、3000个或更多个、4000个或更多个、5000个或更多个、6000个或更多个、7000个或更多个、8000个或更多个、9000个或更多个或10,000个或更多个磷酸二酯键。在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶可以在单个结合事件中催化至多约20个、至多约40个、至多约45个、至多约50个、至多约60个、至多约81个、至多约100个、至多约500个、至多约1000个、至多约2000个、至多约3000个、至多约4000个、至多约5000个、至多约6000个、至多约7000个、至多约8000个、至多约9000或至多约10,000个磷酸二酯键。在一些实施例中,在靶位点处编辑更长序列的逆转录酶还具有如本文所述的增加的进行性。

[0128] 本公开的逆转录酶可以为小逆转录酶。相比于较大逆转录酶,小逆转录酶可以具有到细胞的改进的递送。相比于mlvRT,逆转录酶可以包括到细胞的改进的递送。相比于较大逆转录酶,小逆转录酶可以具有在细胞中改进的表达。小逆转录酶可以包括不多于约400个、不多于约420个、不多于约427个、不多于约440个、不多于约450个、不多于约500个、不多于约550个、不多于约560个、不多于约599个、不多于约600个、不多于约650个、不多于约677个、不多于约682个、不多于约700个、不多于约750个、不多于约761个、不多于约762个、不多于约800个、不多于约850个、不多于约900个、不多于约901个、不多于约950个、不多于约1000个、不多于约1100个、不多于约1114个、不多于约1200个、不多于约1275个、不多于约1281个或不多于约1300个氨基酸残基。本公开的构建体可以包括小逆转录酶、二聚化区、定位区或其组合。小逆转录酶可以具有增加的进行性、在靶位点处编辑更长序列或其组合。

[0129] 相比于莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶,本公开的逆转录酶可以具有降低的免疫原性。具有降低的免疫原性的逆转录酶也可以是小逆转录酶,可以具有增加的进行性、在靶位点处编辑更长序列或其任何组合。

[0130] 本文公开了组合物,其包括Cas切口酶或Cas9可编程核酸酶。与本公开一致的Cas切口酶或Cas9可编程核酸酶的实例包含SpCas9(SEQ ID NO:32)、SaCas9(SEQ ID NO:33)、CjCas9(SEQ ID NO:34)、GeoCas9(SEQ ID NO:35)、HpaCas9(SEQ ID NO:36)和NmeCas9(SEQ ID NO:37)。在一些实施例中,Cas切口酶包括与SEQ ID NO:32-37至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的序列。本公开的Cas9可编程核酸酶可以包括相对于天然Cas9可编程核酸酶的突变、插

入、缺失或截短。

[0131] Cas切口酶可以包含突变。突变可以实现或改进内含肽催化。突变可以为插入突变。突变可以为点突变。Cas切口酶可以包含半胱氨酸点突变。半胱氨酸点突变可以位于Cas切口酶的C末端一半中。本文所述的Cas9可以包含位于Cas9的C末端一半中的半胱氨酸点突变。半胱氨酸点突变可以位于Cas切口酶的氨基酸位置574之后的任何地方。突变可以位于酿脓链球菌Cas9切口酶中。半胱氨酸点突变可以包括S1173。半胱氨酸点突变可以包括D1079。半胱氨酸点突变可以包括D1180。

[0132] Cas9切口酶(酿脓链球菌Cas9切口酶)可以包含点突变。点突变可以实现内含肽催化。点突变可以改进内含肽催化。在一些实施例中,点突变包括半胱氨酸点突变、丝氨酸点突变、苏氨酸点突变或丙氨酸点突变。在一些实施例中,点突变包括半胱氨酸点突变。在一些实施例中,点突变包括丝氨酸点突变。在一些实施例中,点突变包括苏氨酸点突变。在一些实施例中,点突变包括丙氨酸点突变。在一些实施例中,点突变位于D1079处。在一些实施例中,点突变位于D1125处。在一些实施例中,点突变位于D1130处。在一些实施例中,点突变位于G1133处。在一些实施例中,点突变位于A1140处。在一些实施例中,点突变位于I1168处。在一些实施例中,点突变位于S1173处。在一些实施例中,点突变位于D1180处。在一些实施例中,点突变位于G1186处。在一些实施例中,点突变位于L1203处。在一些实施例中,点突变位于R1212处。在一些实施例中,点突变位于酿脓链球菌Cas9的D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212处。

[0133] Cas9切口酶(酿脓链球菌Cas9切口酶)可以包含插入突变。插入突变可以实现内含肽催化。插入突变可以改进内含肽催化。在一些实施例中,插入突变包括半胱氨酸插入突变、丝氨酸插入突变、苏氨酸插入突变或丙氨酸插入突变。在一些实施例中,插入突变包括半胱氨酸插入突变。在一些实施例中,插入突变包括丝氨酸插入突变。在一些实施例中,插入突变包括苏氨酸插入突变。在一些实施例中,插入突变包括丙氨酸插入突变。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1079处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1125处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1130处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1133处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1140处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1168处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1173处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1180处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1186处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1203处。在一些实施例中,插入突变位于氨基酸位置1212处。在一些实施例中,插入突变紧位于酿脓链球菌Cas9的D1079、D1125、D1130、G1133、A1140、I1168、S1173、D1180、G1186、L1203或R1212之前。

[0134] Cas切口酶可以包括SEQ ID NO:85-SEQ ID NO:87或SEQ ID NO:90-SEQ ID NO:92中的任一项的序列。在一些实施例中,Cas切口酶包括与SEQ ID NO:85-SEQ ID NO:87或SEQ ID NO:90-SEQ ID NO:92至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的序列。Cas切口酶可以表达为两个或更多个段。半胱氨酸点突变可以位于Cas切口酶的C末端部分的N末端处。第一段可以包括SEQ ID NO:90的序列。

[0135] 本文公开了组合物,其包括Cas切口酶和逆转录酶,所述Cas切口酶和逆转录酶不包含异二聚化结构域。例如,Cas切口酶和逆转录酶可以不被工程化成异二聚化。而且又,

Cas切口酶和逆转录酶可以异二聚化并且在没有所述工程化或异二聚化结构域的情况下进行核酸编辑。Cas切口酶和逆转录酶可以包含单独的多肽链。

[0136] 本文公开了组合物，其包括Cas切口酶和逆转录酶或编码所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一个多核苷酸，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一部分包含在至少2个单独的多肽链中，其中所述至少2个单独的多肽链包括包含异二聚体结构域的彼此结合的单独的多肽链。单独的多肽链可以包含融合蛋白，所述融合蛋白包括异二聚体结构域。异二聚体结构域可以与单独的多肽链融合。异二聚体结构域可以与单独的多肽链的氨基端或羧基端融合。异二聚体结构域可以包含亮氨酸拉链。异二聚体结构域可以包含PDZ结构域。异二聚体结构域可以包含链霉亲和素。异二聚体结构域可以包含链霉亲和素结合蛋白。异二聚体结构域可以包含折叠体结构域。异二聚体结构域可以包含疏水多肽。异二聚体结构域可以包含抗体。异二聚体结构域可以包含旋钮、孔、亮氨酸拉链、卷曲螺旋或能够形成静电相互作用的极性氨基酸残基。异二聚体结构域可以包含IgM(MHD2)或IgE(EHD2)的重链结构域2(CH2)、免疫球蛋白Fc区、IgG或IgA的重链结构域3(CH3)、IgM或IgE的重链结构域4(CH4)、Fab、Fab_2、亮氨酸拉链基序、芽孢杆菌RNA酶-解淀粉芽孢杆菌二聚体、微型抗体或ZIP微型抗体中的任一种。异二聚体结构域可以包含纤维蛋白折叠体结构域。异二聚体结构域可以包含亮氨酸拉链、折叠体结构域、片段X、胶原蛋白结构域、2G12 IgG同源二聚体、线粒体抗病毒信号传导蛋白CARD丝、心脏受磷蛋白跨膜五聚体、甲状旁腺激素二聚化结构域、型糖蛋白A跨膜、HIV Gp41三聚结构域或HPV45癌蛋白E7 C末端二聚体结构域。异二聚体结构域可以包含Fc结构域。异二聚体结构域可以包含亮氨酸拉链结构域、PSD95-Dlgl-zo-1(PDZ)结构域、链霉亲和素、链霉亲和素结合蛋白(SBP)、mTOR的FKBP结合结构域(FRB)、亲环素-Fas融合蛋白(CyP-Fas)、钙调神经磷酸酶A(CNA)和FK506结合蛋白(FKBP)、Snap标签、Halo标签、PYL或ABI。异二聚体结构域可以包含本文所述的异二聚体结构域的结合片段。

[0137] 使用内含肽技术表达分割Cas9构建体

[0138] 在一些实施例中，Cas9构建体(例如，Cas9-RT)可以以分割构建体的形式作为与一个或多个内含肽融合的一个或多个外显肽表达。内含肽技术可以用于通过使蛋白质表达为两个或更多个较短肽段(外显肽)来将较大蛋白质递送到细胞中。每个外显肽可以表达为与内含肽(例如，Npu C内含肽或Npu N内含肽)的融合。内含肽可以自动催化两个或更多个外显肽的融合并且可以自动催化从其对应外显肽切除内含肽。结果可以是包括与第二外显肽融合并且缺乏内含肽的第一外显肽的蛋白质复合物。内含肽可以定位在外显肽的N末端，或者内含肽可以定位在外显肽的C末端。外显肽可以包括半胱氨酸残基，所述半胱氨酸残基被定位成邻近内含肽(例如，位于外显肽的C末端处，其中内含肽与外显肽的C末端融合)。Cas切口酶可以表达为两个或更多个段。Cas切口酶段中的第一段可以包括Cas切口酶的N末端部分。Cas切口酶的第一段可以包括第一内含肽。Cas切口酶的第二段可以包括Cas切口酶的C末端部分。Cas切口酶的第二段可以包括第二内含肽。内含肽可以与Cas切口酶的N末端部分的C末端融合。内含肽可以与Cas切口酶的C末端部分的N末端融合。

[0139] 编码外显肽-内含肽融合的核酸序列可以装配到递送载体(例如，腺相关病毒(AAV)载体)中。在一些实施例中，编码与内含肽融合的肽段外显肽的载体可以递送到细胞。在一些实施例中，外显肽-内含肽融合可以在细胞中表达。第一外显肽-内含肽融合肽可以与一个或多个另外的外显肽-内含肽融合肽融合，并且内含肽可以被切除以产生缺乏内含

肽的大蛋白构建体。在一些实施例中，蛋白质可以包括用于引入半胱氨酸残基以促进外显肽融合和内含肽切除的点突变。在一些实施例中，本公开的Cas9-RT可以表达为两个或更多个外显肽-内含肽融合肽。在一些实施例中，本公开的Cas9(例如，SEQ ID NO:32-SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:84-SEQ ID NO:87)可以与本公开的逆转录酶(例如，SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:40-SEQ ID NO:80)结合表达为用于产生Cas9-RT融合的两个或更多个外显肽-内含肽融合肽。例如，Cas9-RT可以表达为包括nCas9(1-1172)-Npu N内含肽的第一Cas9-RT外显肽-融合和包括Npu C内含肽-nCas9(1173-1368)-mlvRT5M的第二Cas9-RT外显肽-融合。nCas9(1-1172)可以与切口Cas9的残基1-1172(例如，SEQ ID NO:84-SEQ ID NO:87中的任一项的残基1-1172)相对应。nCas9(1173-1368)可以与切口Cas9的其中半胱氨酸位于位置1173处的残基1173-1368(例如，SEQ ID NO:86的残基1-1172)相对应。mlvRT5M可以与包括5个点突变(例如，SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:40)的逆转录酶相对应。段可以包括SEQ ID NO:91的序列。段可以包括与Cas切口酶融合的逆转录酶(例如，Cas切口酶的C末端部分)。逆转录酶可以包括与Cas切口酶的C末端部分的C末端融合的N末端。所述逆转录酶可以包括mlvRT或其变体。

[0140] 向导核酸

[0141] 本文提供了将可编程核酸酶(例如，nCas9)导向到靶核酸的向导核酸(例如，gRNA)。本公开的向导核酸可以促进要插入到靶核酸的靶位点中的核酸序列的合成。本公开的向导核酸可以促进核酸序列在靶核酸的靶位点处的编辑。

[0142] 在一些实施例中，本公开的向导核酸可以包括：间隔子，所述间隔子与靶核酸的第一区反向互补；支架，所述支架被配置成与Cas切口酶结合；逆转录酶模板(RTT)，所述逆转录酶模板编码要并入到靶核酸中的序列；第一链引物结合位点，所述第一链引物结合位点与靶核酸的第二区反向互补；第二链引物，所述第二链引物包括逆转录酶模板的区的序列；或其组合。在一些实施例中，靶核酸的第一区位于靶核酸的第一链上，并且靶核酸的第二区位于靶核酸的第二链上。在一些实施例中，靶核酸的第一区的全部或一部分与靶核酸的第二区的全部或一部分反向互补。在一些实施例中，第一链引物结合位点被配置成与靶核酸的第二区杂交。在一些实施例中，逆转录酶模板被配置成充当用于从靶核酸的第二区的3’端进行逆转录的模板。在一些实施例中，第二链引物被配置成充当用于从与逆转录酶模板反向互补的模板进行转录的引物。在一些实施例中，第一合成链可以是用于从第二链引物合成第二链的模板。

[0143] 本公开的向导核酸可以包括RTT。这样，插入的核酸序列可以具有位于PAM中的突变。这可以防止已经插入的核酸序列再编辑。RTT可以包括破坏前间隔子邻近基序(PAM)序列的修饰。RTT可以包括破坏一个或多个PAM序列的两个或更多个修饰。修饰可以包括与PAM序列部分互补的序列。修饰可以包括与PAM序列的错配。PAM序列可以在靶核酸中被破坏。在破坏之前，靶核酸可以包含天然存在的PAM序列。PAM序列可以包括2-6碱基对核酸序列。PAM序列的实例为5’-NGG-3’。PAM序列的其它实例包含5’-TTTN-3’或5’-YTN-3’。这些PAM序列中的任何序列都可以在RTT中进行修饰。此类修饰的一些实例可以包含插入、缺失或点突变。PAM序列可以被Cas切口酶识别。经修饰的或破坏的PAM序列在一些情况下不可以被Cas切口酶识别。修饰可以包括破坏或消除基因组中的PAM的序列。

[0144] 逆转录酶模板可以包括破坏基因组中的单核苷酸轨道的修饰。修饰可以包括与单

核苷酸轨道部分互补的序列。修饰可以包括与单核苷酸轨道的失配。逆转录酶模板可以包括破坏基因组中的一个或多个单核苷酸轨道的两个或更多个修饰。修饰可以包括破坏或消除基因组中的单核苷酸轨道的序列。向导核酸可以包括逆转录酶模板中消除靶核酸中的同一碱基的至少4个连续核苷酸的一个或多个轨道的一个或多个修饰。

[0145] 靶核酸可以包含polyA轨道或长polyA轨道。RTT可以包含长polyA轨道。在RTT中引入用于破坏polyA轨道的修饰可以改进编辑效率。在一些实施例中,RTT进一步包括消除或修饰为同一核苷酸碱基的至少4个连续核苷酸的轨道的一个或多个修饰。逆转录酶模板中的一个或多个修饰可以消除靶核酸中的同一碱基的连续核苷酸(例如,至少4个连续核苷酸)的一个或多个轨道。RTT可以包括消除4个或更多个连续A核苷酸的修饰。RTT可以包括消除4个或更多个连续T核苷酸的修饰。RTT可以包括消除4个或更多个连续G核苷酸的修饰。RTT可以包括消除4个或更多个连续C核苷酸的修饰。RTT可以包括消除4个或更多个连续U核苷酸的修饰。RTT可以包括消除3个或更多个连续核苷酸的修饰,其中所述3个或更多个连续核苷酸均包括彼此同一核碱基。RTT可以包括消除4个或更多个连续核苷酸的修饰,其中所述4个或更多个连续核苷酸均包括彼此同一核碱基。RTT可以包括消除5个或更多个连续核苷酸的修饰,其中所述5个或更多个连续核苷酸均包括彼此同一核碱基。RTT可以包括消除6个或更多个连续核苷酸的修饰,其中所述6个或更多个连续核苷酸均包括彼此同一核碱基。RTT可以包括消除7个或更多个连续核苷酸的修饰,其中所述7个或更多个连续核苷酸均包括彼此同一核碱基。RTT可以包括消除8个或更多个连续核苷酸的修饰,其中所述8个或更多个连续核苷酸均包括彼此同一核碱基。RTT可以包括消除包含同一碱基的5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个连续核苷酸的修饰。RTT可以包括将一行中的包含同一碱基的4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个连续核苷酸修饰成不再包括一行中的包含同一碱基的连续核苷酸的修饰。

[0146] 修饰可以包括关于未经修饰的向导核酸的突变。突变可以为沉默突变。在一些情况下,突变不是沉默突变。

[0147] 向导核酸可以包括与其自身在向导核酸上的另一个区结合以改进基因编辑的区。本公开的向导核酸可以包括Velcro区。Velcro区可以包括向导核酸的与向导核酸的被称为“Velcro结合位点”区的另一个区结合的区。例如,Velcro区可以包括向导核酸的与向导核酸的另一个区结合以改进基因编辑的区。Velcro区与Velcro结合位点的结合可以改变向导核酸的结构。向导核酸通过Velcro区与Velcro结合位点的结合的改变的结构可以改进基因编辑。向导核酸可以包括gRNA定位系统(GPS)。Velcro区或GPS可以与gRNA的区(例如,Velcro结合位点或GPS结合位点)杂交。Velcro区或GPS可以与逆转录酶模板的区杂交。“Velcro”和“GPS”可以互换使用。例如,“Velcro区”可以被称为“GPS区”或反之亦然,或者“Velcro结合位点”可以被称为“GPS结合位点”或反之亦然。Velcro区可以与逆转录酶模板区的区杂交。包括Velcro区的gRNA可以包含第二链引物。包括Velcro区的gRNA可以包括间隔子、支架区、Velcro区、RT模板、SSP、核酶或其组合。例如,包括Velcro区的gRNA可以包括间隔子、支架区、Velcro区、RT模板、SSP和核酶。包括Velcro区的gRNA可以包括间隔子、支架区、RT模板、Velcro区、SSP、核酶或其组合。例如,包括Velcro区的gRNA可以包括间隔子、支架区、RT模板、Velcro区、SSP和核酶。包括Velcro区的gRNA可以包括间隔子、支架区、RT模板、Velcro区、SSP、核酶或引物结合位点(PBS)或其组合。例如,包括Velcro区的gRNA可以包

括间隔子、支架区、RT模板、Velcro区、SSP、核酶和PBS。包括Velcro区的gRNA的实例在图8A和图8B以及图12A和图12B中示出。Velcro区可以促进要在靶位点处插入到靶核酸中的核酸序列的逆转录。

[0148] 包括GPS区的向导核酸可以包括向导RNA。包括GPS区的向导核酸可以包括向导核酸而非向导RNA。包括GPS结合位点的向导核酸可以包括向导RNA。包括GPS结合位点的向导核酸可以包括向导核酸而非向导RNA。

[0149] Velcro区可以是合成的。Velcro结合位点可以是合成的。Velcro区和Velcro结合位点可以插入到gRNA中。例如,合成Velcro结合位点可以在gRNA中的RT模板的5'处被包含在gRNA中。

[0150] 在一些实施例中,本文公开了Velcro区或Velcro结合位点。在一些实施例中,核酸包括Velcro区。在一些实施例中,一个或多个病毒载体(例如,腺病毒)包括包含Velcro区的核酸。在一些实施例中,细胞包括包含Velcro区的核酸。在一些实施例中,向导核酸包括Velcro区。Velcro区可以与Velcro结合位点杂交。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%或至少75%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少50%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少60%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少70%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少80%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区至少90%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区100%反向互补。在一些实施例中,逆转录酶模板区包括Velcro结合位点。在一些实施例中,Velcro结合位点为引物结合位点(例如,第一链引物结合位点或第二链引物结合位点)的3'。在一些实施例中,Velcro结合位点为引物结合位点的5'。在一些实施例中,Velcro区为逆转录酶模板的3'。在一些实施例中,Velcro区为逆转录酶模板的5'。在一些实施例中,Velcro区为支架的5'。在一些实施例中,Velcro区为支架的3'。在一些实施例中,支架与靶核酸(例如,CFTR核酸、USH2A核酸、ABCA4核酸、ATP7B核酸或HTT核酸)互补。在一些实施例中,合成Velcro序列插入在支架与RTT之间,所述RTT与和在PBS之后插入的合成Velcro结合位点反向互补的序列结合。在一些实施例中,Velcro区与另一个Velcro区结合。在一些实施例中,Velcro区与向导核酸的不是间隔子序列的PAM近侧20个核苷酸的区杂交。

[0151] 在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区部分反向互补。完全互补性在一些情况下可以有助于截短的AAV基因组,因此引入一些凸起或完全互补性可以帮助保留GPS的益处而不会破坏包装。AAV基因组包装在一些实例中可以被二级结构破坏。GPS可以引入破坏性二级结构。因此,降低GPS与GPS结合位点之间的互补性程度提供了消除GPS对AAV包装的破坏的途径。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区小于50%、小于55%、小于60%、小于65%、小于70%、小于75%、小于80%、小于85%、小于90%、小于91%、小于92%、小于93%、小于94%、小于95%、小于96%、小于97%、小于98%、小于99%或小于100%反向互补。在一些实施例中,Velcro结合位点与Velcro区小于80%、小于85%、小于90%、小于

91％、小于92％、小于93％、小于94％、小于95％、小于96％、小于97％、小于98％、小于99％或小于100％反向互补。在一些实施例中，Velcro结合位点与Velcro区小于70％反向互补。在一些实施例中，Velcro结合位点与Velcro区小于80％反向互补。在一些实施例中，Velcro结合位点与Velcro区小于90％反向互补。一些实施例包含由本文公开的任何两个百分比限定的一系列反向互补性。

[0152] Velcro区的非限制性示例性构型在图26中示出。GPS区可以呈位于向导核酸内的任何构型。GPS区可以位于向导核酸的5'端处。GPS区可以位于间隔子的5'处。GPS区可以位于间隔子的5'处并且邻近间隔子。GPS区可以位于支架的5'处。GPS区可以位于支架的5'处并且邻近支架。GPS区可以位于RTT的5'处。GPS区可以位于RTT的5'处并且邻近RTT。GPS区可以位于PBS的5'处。GPS区可以位于PBS的5'处并且邻近PBS。GPS区可以位于向导核酸的3'端处。GPS区可以位于间隔子的3'处。GPS区可以位于间隔子的3'处并且邻近间隔子。GPS区可以位于支架的3'处。GPS区可以位于支架的3'处并且邻近支架。GPS区可以位于RTT的3'处。GPS区可以位于RTT的3'处并且邻近RTT。GPS区可以位于PBS的3'处。GPS区可以位于PBS的3'处并且邻近PBS。GPS区位于支架内。GPS区可以位于RTT内。GPS区可以位于PBS内。一些实施例包含第二GPS区。第二GPS区可以位于前述位置中的任何位置处。第二GPS区可以与第二GPS结合位点杂交。GPS区可以与第二GPS区杂交。

[0153] GPS区可以包括一定长度的核苷酸。例如，GPS区的长度可以为5-100个核苷酸或者长度可以为约5-100个核苷酸。GPS区的长度可以为10-50个核苷酸或长度可以为约10-50个核苷酸。GPS区可以包含5个、10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、50个、55个、60个、65个、70个、75个、80个、85个、90个、95个或100个或更多个核苷酸或由前述数量中的任何两个数量限定的核苷酸的范围。GPS区可以包含至少5个、至少10个、至少15个、至少20个、至少25个、至少30个、至少35个、至少40个、至少45个、至少50个、至少55个、至少60个、至少65个、至少70个、至少75个、至少80个、至少85个、至少90个、至少95个或至少100个核苷酸。在一些情况下，GPS区包含不多于5个、不多于10个、不多于15个、不多于20个、不多于25个、不多于30个、不多于35个、不多于40个、不多于45个、不多于50个、不多于55个、不多于60个、不多于65个、不多于70个、不多于75个、不多于80个、不多于85个、不多于90个、不多于95个或不多于100个核苷酸。GPS区可以为20个核苷酸长。GPS区可以为约20个核苷酸长。

[0154] GPS区可以与GPS结合位点杂交。GPS区可以与GPS结合位点互补。GPS区可以与GPS结合位点100％互补。GPS区可以与GPS结合位点至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％互补。GPS区可以与GPS结合位点小于50％、小于60％、小于70％、小于80％、小于85％、小于90％、小于91％、小于92％、小于93％、小于94％、小于95％、小于96％、小于97％、小于98％或小于99％互补。

[0155] GPS区可以与GPS结合位点的一部分至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％互补。所述部分可以包括至少5个、至少10个、至少15个、至少20个、至少25个、至少30个、至少35个、至少40个、至少45个、至少50个、至少55个、至少60个、至少65个、至少70个、至少75个、至少80个、至少85个、至少90个、至少95个或至少100个核苷酸。所述部分可以包括少于5个、少于10个、少于15个、少于20个、少于25个、少于30

个、少于35个、少于40个、少于45个、少于50个、少于55个、少于60个、少于65个、少于70个、少于75个、少于80个、少于85个、少于90个、少于95个或少于100个核苷酸。

[0156] GPS区可以与GPS结合位点的一部分(或第二部分)小于50％、小于60％、小于70％、小于80％、小于85％、小于90％、小于91％、小于92％、小于93％、小于94％、小于95％、小于96％、小于97％、小于98％、小于99％或100％互补。所述部分(或第二部分)可以包括至少5个、至少10个、至少15个、至少20个、至少25个、至少30个、至少35个、至少40个、至少45个、至少50个、至少55个、至少60个、至少65个、至少70个、至少75个、至少80个、至少85个、至少90个、至少95个或至少100个核苷酸。所述部分(或第二部分)可以包括少于5个、少于10个、少于15个、少于20个、少于25个、少于30个、少于35个、少于40个、少于45个、少于50个、少于55个、少于60个、少于65个、少于70个、少于75个、少于80个、少于85个、少于90个、少于95个或少于100个核苷酸。

[0157] 在一些实例中,GPS区与GPS结合位点的5-10个核苷酸互补。在一些实例中,GPS区与GPS结合位点的5-10个核苷酸至少80％互补。在一些实例中,GPS区与GPS结合位点的11-100个核苷酸互补。在一些实例中,GPS区与GPS结合位点的11-100个核苷酸至少80％互补。

[0158] 在一些实施例中,本公开的gRNA可以包括自切割核酶,例如图13A中所示。在一些实施例中,gRNA的第二链引物区可以包括与区定位在第一合成链上的模板区的100％序列互补性。在一些实施例中,第二链引物的转录可以在gRNA的3'端和第二链引物的3'处产生poly-U序列(例如,UUUUU)。紧接着第二链引物的3'存在poly-U序列可以抑制第二链引物的功能。核酶序列可以包含在gRNA中以预防紧接着第二链引物的3'形成poly-U序列。核酶可以自动催化地从gRNA切割掉其自身。在一些实施例中,核酶可以定位在第二链引物的3'处。定位在第二链引物的3'处的核酶可以自动催化地从gRNA切割其自身,从而留下没有poly-U序列的完整第二链引物。第二链引物的3'处包含核酶(例如,HDV核酶)可以在未紧挨着第二链引物的3'形成抑制第二链引物功能的poly-U序列的情况下实现第二链引物与模板的100％互补性。在一些实施例中,包括自切割核酶的gRNA可以具有定位在第二链引物的3'处的自切割核酶序列。在一些实施例中,核酶(例如,HDV核酶)可以在自动催化切割核酶之后在gRNA的3'端处留下2'3'环状磷酸酯。2'3'环状磷酸酯可以抑制第二链引物的功能。2'3'环状磷酸酯可以使用多核苷酸激酶转化成3'羟基。在一些实施例中,多核苷酸激酶为表达gRNA的细胞中存在的内源多核苷酸激酶。在一些实施例中,多核苷酸激酶是异源表达的。

[0159] 在一些实施例中,tRNA可以与代替核酶的gRNA融合以防止紧挨着第二链引物的3'形成poly-U序列。在一些实施例中,tRNA可以定位在第二链引物的3'处。RNA酶P酶可以从gRNA序列的其余部分切割tRNA。在一些实施例中,RNA酶P可以从第二链引物的3'端切割tRNA,从而在第二链引物的3'端处留下3'羟基。在一些实施例中,RNA酶P为表达gRNA的细胞中存在的内源RNA酶P。在一些实施例中,RNA酶P是异源表达的。在一些实施例中,包括tRNA的gRNA可以具有定位在第二链引物的3'处的tRNA序列。tRNA可以具有与被RNA酶P识别的任何tRNA相对应的序列。在一些实施例中,tRNA可以包括SEQ ID NO:94的序列。

[0160] 向导核酸可以包含间隔子。间隔子可以与靶核酸的第一区反向互补。向导核酸可以包含支架。支架可以与Cas切口酶结合。向导核酸可以包含逆转录酶模板。逆转录酶模板可以编码要插入到靶核酸中的序列。向导核酸可以包含第一链引物结合位点。第一链引物结合位点可以与靶核酸的第二区反向互补。向导核酸可以包括第二链引物。第二链引物可

以包含逆转录酶模板的区的序列。

[0161] 在一些实施例中，本文公开了向导核酸，其包括支架。支架可以与核酸酶结合。支架可以与Cas核酸酶结合。支架可以与切口酶结合。支架可以与Cas切口酶结合。支架可以与酿脓链球菌Cas9核酸酶结合。支架可以与酿脓链球菌Cas9切口酶结合。支架可以包含支架核酸序列。支架核酸序列可以包含SEQ ID NO:139的序列。支架核酸序列可以包含与SEQ ID NO:139的序列至少75％相同、至少80％相同、至少85％相同、至少90％相同或至少95％相同的序列。

[0162] 在一些实施例中，本文公开了向导核酸(例如，gRNA)。向导核酸可以包括延伸。延伸可以位于向导核酸的5'端处。延伸可以位于向导核酸的3'端处。向导核酸可以包括包含延伸的支架。延伸可以位于支架的3'端上。延伸可以包括逆转录酶模板。延伸可以包括引物结合位点。延伸可以含有逆转录酶模板和引物结合位点。延伸的引物结合位点可以与由核酸酶或切口酶产生的基因组瓣杂交。延伸可以使用Velcro区定向。延伸可以使用Velcro结合位点定向。延伸可以使用Velcro区和Velcro结合位点定向。延伸可以包括Velcro区。Velcro区(以及例如，Velcro区与Velcro结合位点的结合)可以将引物结合位点空间定向到靠近基因组瓣。延伸可以包括Velcro结合区。向导核酸可以包含延伸之外的Velcro区向导核酸可以包含延伸之外的Velcro结合区。

[0163] 靶核酸的第一区可以位于靶核酸的第一链上。靶核酸的第二区可以位于靶核酸的第二链上。靶核酸的第一区的全部可以与靶核酸的第二区的全部反向互补。靶核酸的第一区的全部可以与靶核酸的第二区的一部分反向互补。靶核酸的第一区的一部分可以与靶核酸的第二区的全部反向互补。靶核酸的第一区的一部分可以与靶核酸的第二区的一部分反向互补。

[0164] 向导核酸可以包括可切割序列。可切割序列可以位于向导核酸的3'端处。可切割序列可以位于向导核酸的5'端处。可切割序列可以包括核酶可切割序列。可切割序列可以包括tRNA可切割序列。gRNA可以包含自切割核酶，如HDV核酶。核酶可以为第二链引物(SPP)的3'。tRNA(例如，人谷氨酸tRNA)可以在SPP之后代替核酶并入，并且相比于利用核酶，这可以更加提高编辑效率。

[0165] 第一链引物结合位点可以与靶核酸的第二区杂交。逆转录酶模板可以充当用于逆转录的模板。逆转录可以从靶核酸的第二区的3'端开始。第二链引物可以充当用于从模板转录的引物。模板可以与逆转录酶模板反向互补。第一合成链可以充当用于从第二链引物合成第二链的模板。

[0166] 第二链引物(SPP)可以包含在gRNA中。SPP的长度可以为约10-30个或约15-25个核苷酸。SPP的长度可以为约20个核苷酸。包含例如20个核苷酸的SPP可以提高编辑效率(例如提高2x或提高约20％到约40％)。SPP的长度可以为20个、40个或60个核苷酸或长度由核苷酸的前述数量中的任何数量限定的核苷酸的范围。一些实施例包含具有期望的编辑的与第一链互补的核酸(例如，DNA)链。这可以允许RT使用第一链作为模板。SPP的末端3个核苷酸可以与第一链互补。SPP可以与第一链的位于编辑位点的3'处的部分杂交。SPP可以被编码成移除二级结构，并由此提高编辑效率。

[0167] 本文所述的组合物可以包含第一向导核酸。组合物可以包含第二向导核酸。第二向导核酸可以包括本文所述的向导核酸。第一向导核酸可以与第一Cas切口酶结合。第二向

导核酸可以与第二Cas切口酶结合。第一向导核酸的第一间隔子可以与第一Cas切口酶结合。第二向导核酸的第二间隔子可以与第二Cas切口酶结合。第一向导核酸的第一支架可以与第二Cas切口酶结合。第二向导核酸的第二支架可以与第一Cas切口酶结合。第一向导核酸可以包括第一接头。第二向导核酸可以包括第二接头。第一接头可以与第二接头杂交。

[0168] 向导核酸可以包含gRNA 2.0。向导核酸可以包含13个核苷酸PBS。向导核酸可以包含10-15个核苷酸PBS。向导核酸可以包含13个核苷酸RTT。向导核酸可以包含10-15个核苷酸RTT。相比于靶核酸,RTT可以编码突变。

[0169] 在一些实施例中,本文公开了第一向导核酸和第二向导核酸。在一些实施例中,第一向导核酸包括逆转录酶模板(RTT)。在一些实施例中,第二向导核酸包括逆转录酶模板。第一向导核酸和第二向导核酸的逆转录酶模板可以至少部分互补。在一些实施例中,第二向导核酸的逆转录酶模板的一部分与第一向导核酸的逆转录酶模板的一部分互补。在一些实施例中,第二向导核酸的逆转录酶模板与第一向导核酸的逆转录酶模板的一部分互补。在一些实施例中,第二向导核酸的逆转录酶模板的一部分与第一向导核酸的逆转录酶模板互补。在一些实施例中,第二向导核酸的逆转录酶模板与第一向导核酸的逆转录酶模板互补。在一些实施例中,第二向导核酸的逆转录酶模板与所述第一向导核酸的逆转录酶模板的至少一部分互补(或至少部分互补)。第一向导核酸和第二向导核酸的逆转录酶模板可以包含重叠双延伸的fRNA(ODEG),其中第二gRNA的逆转录酶模板的一部分与第一gRNA的逆转录酶模板的一部分反向互补。互补的部分可以包含至少5个核酸、至少10个核酸、至少20个核酸、至少30个核酸、至少40个核酸、至少50个核酸、至少60个核酸、至少70个核酸、至少80个核酸、至少90个核酸、至少100个核酸或更多个核酸。互补的部分在一些实例中可以包含不多于5个核酸、不多于10个核酸、不多于20个核酸、不多于30个核酸、不多于40个核酸、不多于50个核酸、不多于60个核酸、不多于70个核酸、不多于80个核酸、不多于90个核酸、不多于100核酸或更少核酸。

[0170] 向导核酸可以包括gRNA定位系统(GPS)。GPS可以包含与向导核酸的一部分结合的RNA序列。这可以使PBS与gRNA的5'端紧密接近。GPS的RNA序列的长度可以为10个、15个、20个、25个或更多个核苷酸或长度由前述整数中的任何两个整数限定的核苷酸的范围。使用GPS的益处可以包含提高使用长RTT(例如,至少20个、50个或100个核苷酸的RTT)时的编辑效率。

[0171] GPS的RNA序列的长度可以为约20个核苷酸。GPS的RNA序列可以与RTT的一部分杂交。RTT的GPS的RNA序列与其杂交的一部分的长度可以为10个、15个、20个、25个或更多个核苷酸或长度由前述整数中的任何两个整数限定的核苷酸的范围。RTT的GPS的RNA序列与其杂交的一部分可以为约20个核苷酸。RTT的GPS的RNA序列与其杂交的一部分可以被设计成与GPS相同或大约相同的长度,或反之亦然。

[0172] GPS可以包含1版GPS。向导核酸可以包含插入在RTT的5'处的RNA序列。RNA序列可以与RTT杂交。RNA序列可以与RTT的3'区杂交。

[0173] GPS可以包含2版本GPS。向导核酸可以包含插入在PBS的3'处的RNA序列。RNA序列可以与RTT杂交。RNA序列可以与RTT的5'部分杂交。

[0174] 在一些情况下,向导核酸包括一个向导核酸或一种类型的向导核酸。在一些情况下,向导核酸包括仅一个向导核酸或仅一种类型的向导核酸。在一些情况下,向导核酸包括

多于一个向导核酸或多于一种类型的向导核酸。在一些情况下,向导核酸包括两个向导核酸或两种类型的向导核酸。在一些情况下,向导核酸包括仅两种向导核酸或仅两种类型的向导核酸。

[0175] 本公开的一些方面包含单向导核酸系统。在一些情况下,单向导核酸系统可以产生含有期望的编辑的不高效替代不含有编辑的原始基因组链的瓣。用于促进延伸的瓣到基因组中的杂交的组合物或方法可以将延伸的瓣的3'端锚定在其旨在替代的基因组链附近。GPS辅助的越过gRNA(GARG)可以实现这一点。GARG可以锚定延伸的瓣。GARG可以锚定延伸的瓣的3'端。在一些实施例中,向导核酸包括GARG。

[0176] GARG的实例在图32中示出。图32示出了GARG,其包含间隔子以及引物结合位点,所述间隔子靶向靶核酸的第一区,所述引物结合位点与基因组的第二区杂交,所述第二区由被称为GPS募集向导(GRG)的不同向导靶向。GARG含有GPS组分,所述GPS组分被设计成与作为GRG的一部分的GPS结合位点杂交。在一些实施例中,向导核酸包括GRG。一些实施例包括一种系统,所述系统包含GARG和GRG。系统可以包含其它基因编辑组分,如本文所述的那些。

[0177] 向导核酸可以包括GARG。GARG可以包含间隔子。GARG的间隔子可以与靶核酸的第一区结合。GARG的间隔子可以与靶核酸的第一区反向互补。GARG可以包含RTT。RTT可以编码要插入到靶核酸中的序列。GARG可以包含支架。支架可以与Cas核酸酶结合或可以被配置成与Cas核酸酶结合。GARG可以包含引物结合位点(例如,第一引物结合位点)。GARG的引物结合位点可以与靶核酸的不包含由间隔子靶向或结合的核酸或与由间隔子靶向或结合的所述核酸反向互补的核酸的区的任何部分的区结合。GARG的引物结合位点可以与靶核酸的不包括与GARG的间隔子互补的靶核酸的第一区的任何部分并且不包括第一区的反向补体的任何部分的区结合。GARG的引物结合位点可以与靶核酸的第二区结合。GARG的引物结合位点可以与靶核酸的第二区反向互补。GARG可以包含GRG结合位点。GRG结合位点可以与第二向导核酸结合(其中GARG包括第一向导核酸)。第二向导核酸可以包括GRG。GRG结合位点可以与GRG结合。GRG结合位点可以与GRG的一部分反向互补。GRG的与GRG结合位点反向互补的部分可以被称为GARG结合部分。GARG可以包括GPS区。GRG结合位点可以为GPS区。GRG可以包括GPS结合位点。GARG结合部分可以为GPS结合位点。第二向导核酸可以使引物结合位点与基因组瓣接近。第二向导核酸可以使引物结合位点与基因组瓣接触。第二向导核酸可以使引物结合位点与基因组瓣紧密接近。包含GPS区和GPS结合位点可以将GARG的端部拉动到其可以与基因组瓣结合的地方。GARG可以由如DNA等核酸编码。GARG的组分中的任何组分可以包含在GRG中。GRG可以由如DNA等核酸编码。GARG和GRG由同一核酸或由单独的核酸编码。GARG或编码GARG的核酸可以被如AAV等病毒颗粒涵盖。GRG或编码GRG的核酸可以被如AAV等病毒颗粒涵盖。GARG和GRG被同一病毒颗粒或被单独的病毒颗粒涵盖。

[0178] 一些实施例包含双向导系统。双向导系统可以包括GARG和GRG。一些实施例包含一种组合物,其包括GARG和GRG。一些实施例包含一种使用GARG和GRG的方法或一种利用GARG和GRG进行基因编辑的方法。

[0179] 一些实施例包含一种基因编辑方法,其包括向细胞施用GARG和GRG。一些实施例包含一种基因编辑方法,其包括向细胞施用表达GARG和GRG的一个或多个核酸。一些实施例包含一种基因编辑方法,其包括向细胞表达GARG和GRG。一些实施例包含一种基因编辑方法,其包括向包括GRG的细胞表达或施用GARG。一些实施例包含一种基因编辑方法,其包括向包

括GARG的细胞表达或施用GRG。一些实施例包含一种基因编辑方法，其包括在包括基因编辑酶的细胞中表达GARG或GRG。一些实施例包含一种基因编辑方法，其包括在包括基因编辑酶的细胞中表达GARG和GRG。一些实施例包含一种基因编辑方法，其包括向包括基因编辑酶的细胞施用GARG或GRG。一些实施例包含一种基因编辑方法，其包括向包括基因编辑酶的细胞施用GARG和GRG。所述施用可以是向包括所述细胞的受试者施用。

[0180] 在一些方面，本文公开了组合物或系统，所述组合物或系统包括RNA(或多核苷酸)，所述RNA包括间隔子、包括期望的编辑的逆转录酶模板和引物结合位点，其中所述引物结合位点与由单独RNA靶向的核酸结合。本文公开了系统，其包括RNA或多核苷酸，所述RNA或所述多核苷酸包括间隔子、包括期望的编辑的逆转录酶模板以及引物结合位点，其中所述引物结合位点与核酸结合，所述核酸不包括由所述间隔子靶向或结合的核酸或与由所述间隔子靶向或结合的所述核酸反向互补的核酸的区的任何部分。

[0181] 用于基因组编辑的组合物

[0182] 本公开的组合物可以促进靶核酸在靶位点处的高效编辑。本公开的组合物可以包括向导核酸、nCas9和逆转录酶。本公开的组合物可以包括编码向导核酸、nCas9、逆转录酶或其组合的序列。nCas9和逆转录酶可以是融合的nCas9-RT构建体。nCas9和逆转录酶可以是分割nCas9-RT构建体。本公开的组合物可以引入到包括靶核酸的细胞中，由此编辑所述靶核酸。在一些实施例中，编码组合物的一种或多种组分的序列(例如，质粒)可以引入到包括靶核酸的细胞中。组合物的一种或多种组分可以在细胞中表达。在一些实施例中，本公开的组合物可以包括第一向导核酸、第一nCas9、第一逆转录酶、第二向导核酸、第二nCas9和第二逆转录酶。在一些实施例中，第一向导核酸与第一nCas9结合，并且第二向导核酸与第二nCas9结合。在一些实施例中，第一向导核酸的第一间隔子与第一nCas9结合，第二向导核酸的第二间隔子与第二nCas9结合，第一向导核酸的第一支架与第二nCas9结合，并且第二向导核酸的第二支架与第一nCas9结合。在一些实施例中，第一向导核酸包括第一接头，并且第二向导核酸包括第二接头。在一些实施例中，第一接头与第二接头杂交。

[0183] 包括第一向导核酸和第二向导核酸的组合物可以促进序列的合成或编辑。包括第一向导核酸和第二向导核酸的组合物可以促进靶核酸在靶位点处的编辑。包括第一向导核酸和第二向导核酸的组合物可以为两个单向导系统。包括第一向导核酸和第二向导核酸的组合物可以为双向导系统。在两个单向导系统中，每个gRNA与不同nCas9结合，并且两个gRNA各自包括逆转录酶模板区。在双向导系统中，每个gRNA可以与不同nCas9结合。在两个单向导系统中，gRNA中的仅一个gRNA可以包括逆转录酶模板区。在两个单向导系统中，第二向导可以对相对链造切口。在双向导系统中，gRNA中的仅一个gRNA可以包括逆转录酶模板区。在双向导系统中，第二向导可以对相对链造切口。在双向导复合物中，第一gRNA的间隔子可以与第一nCas9结合，第二gRNA的间隔子可以与第二nCas9结合，第一gRNA的支架可以与第二nCas9结合，并且第二gRNA的支架可以与第一nCas9结合。

[0184] 向导核酸可以与Cas切口酶形成复合物。向导核酸可以与逆转录酶形成复合物。在复合物形成时，Cas切口酶可以在靶核酸中的靶位点处引入单链断裂。

[0185] 靶核酸的一些非限制性实例包含囊性纤维化跨膜传导调节因子(CFTR)核酸、usherin(USH2A)核酸、ATP结合盒式亚家族A成员4(ABCA4)核酸、威尔逊病蛋白(Wilson disease protein)(ATP7B)核酸或亨廷顿蛋白(Huntingtin,HTT)核酸。在一些实施例中，靶

核酸包括CFTR基因。在一些实施例中，靶核酸包括USH2A基因。在一些实施例中，靶核酸包括ABCA4基因。在一些实施例中，靶核酸包括ATP7B基因。在一些实施例中，靶核酸包括HTT基因。

[0186] 本文公开了组合物，其包括Cas切口酶、逆转录酶和向导核酸。第一多肽可以包括Cas切口酶。第二多肽可以包括逆转录酶。向导核酸可以与Cas切口酶结合。向导核酸可以与逆转录酶结合。

[0187] RT可以包括MS2外被蛋白(MCP)肽。在一些情况下，RT不包含MS2外被蛋白(MCP)肽。例如，组合物可以包含RWa1。向导核酸可以包括MS2发夹。在一些情况下，向导核酸不包含MS2发夹。MCP肽可以与MS2发夹在向导核酸中结合。MS2发夹可以位于gRNA支架与RTT之间。这可以使RT与gRNA紧密接近以进行编辑。使用MCP肽和MS2发夹的益处是将RT和Cas切口酶(或其一部分)分开，并且允许其装配在AAV载体内。MCP肽和MS2发夹可能不是必须的。在转染到细胞中时，包含MCP肽或MS2发夹的组合物可以具有的编辑效率为例如至少约3％或4％。在转染到细胞中时，包含MCP肽或MS2发夹的组合物可以具有的编辑效率为例如至少约10％或15％。

[0188] RT和Cas切口酶可以包含亮氨酸拉链。例如，组合物可以包含RWb1。在转染到细胞中时，包含亮氨酸拉链的组合物可以具有的编辑效率为例如至少约35％或40％。在转导到细胞中时，包含亮氨酸拉链的组合物可以具有的编辑效率为例如至少约3％或4％。使用亮氨酸拉链的益处是将RT和Cas切口酶(或其一部分)分开，并且允许其装配在AAV载体内。然而，亮氨酸拉链可能不是必须的。

[0189] RT或Cas切口酶可以例如使用内含肽分割而分割。在一些情况下，RT和Cas切口酶不是使用内含肽分割而分割的。使用内含肽分割的实例为RWc1。分割可以介于Cas切口酶的残基1172与1173之间。在转染到细胞中时，使用分割RT或Cas切口酶的组合物可以具有的编辑效率为例如至少约25％或30％。使用RWc1或相似分割方法的益处可以允许如调节元件等另外的核苷酸序列有更多空间，所述另外核苷酸序列可以被允许利用编码RT或Cas切口酶的核酸序列来装配在AAV载体内。例如，分割方法可以使另外的核苷酸序列的多约500个、600个或700个(或由前述整数中的任何整数限定的范围)核苷酸装配在AAV内。

[0190] RT或Cas切口酶可以是单独的并且未结合在一起。使用未结合的RT和Cas切口酶的实例为RWd1。

[0191] 本公开的组合物可以包括蛋白质复合物或编码蛋白质复合物的序列。蛋白质复合物可以包括保护性蛋白质复合物。蛋白质复合物可以防止向导核酸脱氨基或降解。例如，保护性复合物可以为人Orf1p(SEQ ID NO:38)或鼠Orf1p(SEQ ID NO:39)。

[0192] 本文公开了提高基因组编辑效率的方法。所述方法可以包含向细胞递送Orf1p。所述细胞可以表达本文所述的组合物或向导核酸。

[0193] 本文公开了核酸，其包括编码本文所述的组合物或向导核酸的核苷酸序列。本文公开了病毒载体，其包括核酸。本文公开了细胞，其包括本文所述的组合物。本文公开了细胞，其包括本文所述的核酸。本文公开了细胞，其包括本文所述的向导核酸。本文公开了细胞，其包括本文所述的病毒载体。细胞可以为原核细胞。细胞可以为真核细胞。

[0194] 一些实施例包含通过增加dNTP浓度，如细胞中的dNTP浓度来提高基因组编辑效率的方法。抑制SAMHD1可以增加dNTP浓度。施用dNTP可以增加细胞中的dNTP浓度。一些实施例

包含提高基因组编辑效率的方法，所述方法包括抑制细胞中的SAMHD1。一些实施例包含提高基因组编辑效率的方法，所述方法包括向受试者或细胞施用dNTP。

[0195] 在一些实施例中，本公开的组合物可以包括用于提高本公开的Cas9构建体(例如，分割Cas9-RT构建体)的编辑效率的蛋白质、编码所述蛋白质的核酸或非编码核酸。在一些实施例中，用于提高Cas9构建体的编辑效率的蛋白质、编码所述蛋白质的核酸或非编码核酸可以包括抑制SAMHD1的dNTP切割活性的蛋白质或核酸或编码蛋白质的抑制SAMHD1的dNTP切割活性的核酸。例如，抑制SAMHD1的dNTP切割活性的核酸可以包括使SAMHD1转录物降解的微小RNA。

[0196] 一些实施例包含相对于基线dNTP浓度增加细胞中的dNTP浓度。在一些实施例中，相对于基线dNTP测量结果，dNTP浓度增加了5％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％或更多或前述百分比中的任何两个百分比限定的百分比的范围。在一些实施例中，相对于基线dNTP测量结果，dNTP浓度增加的了至少5％、至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％。在一些实施例中，相对于基线dNTP测量结果，dNTP浓度增加了不多于5％、不多于10％、不多于15％、不多于20％、不多于25％、不多于30％、不多于40％、不多于50％、不多于60％、不多于70％、不多于80％、不多于90％、不多于100％。

[0197] 在各个方面，低dNTP浓度包括的dNTP浓度为0.5微摩尔、0.6微摩尔、0.7微摩尔、0.8微摩尔、0.9微摩尔、1.0微摩尔或1.1微摩尔或由前述dNTP浓度中的任何两种浓度限定的范围。在各个方面，低dNTP浓度包括的dNTP浓度为约0.5微摩尔、约0.6微摩尔、约0.7微摩尔、约0.8微摩尔、约0.9微摩尔、约1.0微摩尔或约1.1微摩尔或由前述dNTP浓度中的任何两种浓度限定的范围。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约1.1微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约1.0微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约0.9微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约0.8微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约0.7微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约0.6微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括低于约0.5微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括高于约0.9微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括高于约0.8微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括高于约0.7微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括高于约0.6微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括高于约0.5微摩尔的dNTP浓度。在各个方面，低dNTP浓度包括高于约0.4微摩尔的dNTP浓度。

[0198] 在各个方面，本公开提供了一种提高具有低脱氧核苷三磷酸(dNTP)浓度并且包括DNA聚合酶的细胞中的基因编辑效率的方法，所述方法包括：相对于基线dNTP浓度增加所述细胞中的所述dNTP浓度。在各个方面，增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括抑制所述细胞中的脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶。在各个方面，所述脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶包括含SAM结构域和HD结构域的蛋白质1(SAMHD1)。在各个方面，抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与Vpx蛋白接触或在所述细胞中表达所述Vpx蛋白。在各个方面，抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与BGLF4蛋白接触或在所述细胞中表达所述BGLF4蛋白。在各个方面，抑制SAMHD1包括使编码所述SAMHD1的mRNA与和所述mRNA杂交的微小RNA或siRNA接触或在所述细胞中表达所述微小RNA或siRNA。在各个方面，抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与小分子SAMHD1抑制剂接触。在各个方面，增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞施用dNTP。在各个方

面,向所述细胞施用dNTP细胞包括向包括所述细胞的受试者施用dNTP。在各个方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞施用核苷或核苷酸。所述核苷或所述核苷酸可以包含脱氧核苷(dN)、脱氧核苷单磷酸(dNMP)或核苷三磷酸(NTP)。在一些情况下,所述核苷或所述核苷酸不是dNTP或不包含dNTP。在各个方面,向所述细胞施用核苷或核苷酸包括向包括所述细胞的受试者施用所述核苷或所述核苷酸。在各个方面,所述施用为口服或通过注射。在各个方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞递送dNTP合成酶。在各个方面,所述dNTP合成酶包括激酶。在各个方面,所述激酶包括核苷激酶、脱氧核苷激酶、脱氧核苷单磷酸激酶或脱氧核苷二磷酸激酶。在各个方面,所述DNA聚合酶包括逆转录酶。所述DNA聚合酶可以适于基因编辑。所述DNA聚合酶可以为基因编辑聚合酶。所述DNA聚合酶可以为重组DNA聚合酶。一些实施例包含将所述DNA聚合酶引入到所述细胞中。一些实施例包含在所述细胞中表达所述DNA聚合酶。在各个方面,所述细胞包括或进一步包括Cas9可编程核酸酶、向导核酸或其组合。一些实施例包含将所述Cas9可编程核酸酶引入到所述细胞中或在所述细胞中表达所述Cas9可编程核酸酶。一些实施例包含将所述向导核酸引入到所述细胞中或在所述细胞中表达所述向导核酸。所述Cas9可编程核酸酶可以是所述DNA聚合酶的一部分或可以与所述DNA聚合酶缔合。在各个方面,所述低dNTP浓度包括非分裂细胞中存在的dNTP浓度。在各个方面,所述低dNTP浓度小于激活的外周血单核细胞中存在的dNTP浓度。在各个方面,所述低dNTP浓度包括低于1微摩尔的dNTP浓度。在各个方面,所述增加所述dNTP浓度包括相对于基线dNTP测量结果将所述dNTP浓度增加至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%或更多。在各个方面,所述dNTP浓度包括脱氧腺苷三磷酸(dATP)浓度、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)浓度、脱氧鸟苷三磷酸(dGTP)浓度或脱氧胸苷三磷酸(dTTP)浓度或其任何组合。

[0199] 在各个方面,本公开提供了一种提高具有低脱氧核苷三磷酸(dNTP)浓度的细胞中的基因编辑效率的方法,所述方法包括:增加所述细胞中的所述dNTP浓度,其中所述细胞包括Cas9可编程核酸酶、逆转录酶和向导核酸。在各个方面,本公开提供了一种提高具有低脱氧核苷三磷酸(dNTP)浓度的细胞中的基因编辑效率的方法,所述方法包括:使所述细胞与被修饰成用于在所述低dNTP浓度下进行高效催化的基因编辑酶接触或在所述细胞中表达所述基因编辑酶。在一些方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括抑制所述细胞中的SAMHD1。在一些方面,抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与Vpx蛋白接触或在所述细胞中表达所述Vpx蛋白。在一些方面,抑制SAMHD1包括使编码所述SAMHD1的mRNA与和所述mRNA杂交的微小RNA或siRNA接触或在所述细胞中表达所述微小RNA或siRNA。在一些方面,抑制SAMHD1包括使所述SAMHD1与小分子SAMHD1抑制剂接触。在一些方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞施用dNTP。在一些方面,增加所述细胞中的所述dNTP浓度包括向所述细胞递送dNTP合成酶。在一些方面,所述dNTP合成酶包括脱氧核苷二磷酸(dNDP)激酶。在一些方面,所述基因编辑酶包括Cas9可编程核酸酶或逆转录酶。在一些方面,所述逆转录酶通过在位置Q84、L139、Q221、V223、T664或L671处引入点突变进行修饰。在一些实施例中,所述方法进一步包括测量所述dNTP浓度。一些实施例包含在增加dNTP浓度之后测量所述dNTP浓度,以及确定相对于基线dNTP浓度的增加。

[0200] 一些实施例包含获得定dNTP浓度的所述增加。一些实施例包含测量所述dNTP浓

度。在一些实施例中,所述dNTP浓度使用如吸光度测定、比色测定或酶联免疫吸附测定等测定测量。一些实施例包含测量基线dNTP浓度。在一些实施例中,基线dNTP浓度使用如吸光度测定、比色测定或酶联免疫吸附测定等测定测量。

[0201] 本文公开了提高基因组编辑效率的方法。所述方法可以包含抑制细胞中的SAMHD1。所述细胞可以表达Cas9可编程核酸酶。所述细胞可以表达Cas切口酶。所述细胞可以表达逆转录酶。所述细胞可以表达向导核酸。抑制SAMHD1的实例可以包含用如小分子SAMHD1抑制剂等SAMHD1抑制剂处理所述细胞。抑制SAMHD1的实例可以包含在所述细胞中针对SAMHD1表达微小RNA。

[0202] 用于提高编辑效率的蛋白质可以为Vpx蛋白(例如,SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83或SEQ ID NO:93)。Vpx在一些实例中为慢病毒蛋白。Vpx在一些实例中为免疫缺陷病毒(SIV)蛋白,所述SIV蛋白可以用于提高编辑效率(例如,通过抑制SAMHD1)。Vpx蛋白可以通过增加细胞中的dNTP的可用性来提高Cas9-RT构建体的编辑效率。例如,Vpx蛋白可以抑制SAMHD1的dNTP切割活性,由此增加细胞中的dNTP的可用性。在一些实施例中,Vpx蛋白可以在细胞中与本公开的Cas9-RT构建体共表达。相比于不存在Vpx蛋白的Cas9-RT构建体,与Vpx蛋白一起表达的Cas9-RT构建体可以具有提高的编辑效率。Vpx肽可以为Hiv2-rod Vpx(例如,SEQ ID NO:82)。在一些实施例中,Vpx蛋白可以表达为其自身的编码序列。在一些实施例中,Vpx蛋白可以在同一编码序列中表达为逆转录酶。例如,Vpx蛋白可以在同一编码序列中表达为通过p2a自切割肽(例如,SEQ ID NON:83)分开的逆转录酶。在一些实施例中,Vpx蛋白可以为Vpx RH-2-1D8蛋白(例如,SEQ ID NO:93)。在一些实施例中,Vpx蛋白可以在同一编码序列中表达为Cas9蛋白。抑制SAMHD1可以包括在细胞中表达Vpx蛋白。

[0203] 本文公开了提高基因组编辑效率的方法,所述方法包括在细胞中表达Vpx蛋白。所述细胞可以表达本文所述的组合物。所述细胞可以表达本文所述的向导核酸。

[0204] 一些实施例包含通过抑制如SAMHD1等脱氧核苷三磷酸三磷酸水解酶(dNTP酶)增加细胞中的dNTP浓度或改进基因编辑的方法。一些实施例涉及一种用于抑制SAMHD1的组合物。Vpx蛋白可以用于抑制SAMHD1。BGLF4蛋白可以用于抑制SAMHD1。BGLF4可以使SAMHD1磷酸化并且由此抑制SAMHD1的dNTP酶活性。BGLF4在一些实例中为爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus,EBV)编码的蛋白激酶。EBV编码的蛋白激酶可以用于提高编辑效率(例如,通过抑制SAMHD1)。用于抑制SAMHD1的组合物可以包含小分子SAMHD1抑制剂。小分子SAMHD1抑制剂可以包括pppCH2dU或其盐。小分子SAMHD1抑制剂可以包括dGMPNPP或其盐。

[0205] 本文公开了通过增加细胞中的核苷或核苷酸(例如,dNTP)的浓度来提高基因组编辑效率的方法。所述细胞可以表达Cas9可编程核酸酶。所述细胞可以表达Cas切口酶。所述细胞可以表达逆转录酶。所述细胞可以表达向导核酸。增加细胞中的dNTPs的浓度的实例包括向细胞递送核苷酸或核苷。增加细胞中的核苷或核苷酸的浓度可以包含向所述细胞递送核苷或核苷酸。核苷酸或核苷然后可以在所述细胞中转化成dNTP。递送核苷或核苷酸可以包含口服递送或注射核苷或核苷酸到dNTP的转化可以通过由内源激酶进行的磷酸化或合成,例如通过内源补救通路进行。方法可以包括向细胞递送核苷酸或核苷,从而相比于未接受核苷酸或核苷的细胞,使所述细胞中的dNTP的浓度增加。细胞中的dNTP的浓度增加可以使包括如本文公开的组合物的细胞中的编辑效率提高。

[0206] 本文公开了方法,所述方法包含使用SAMHD1过表达来筛选在受限的dNTP浓度下更

好操作的RT突变体。还公开了用于筛选或鉴定细胞中的改进的RT的方法，所述细胞被修饰成过表达SAMHD1或SAMHD1的不可磷酸化的突变体。一些实施例包含在细胞中过表达SAMHD1。一些实施例包含在细胞中表达突变体SAMHD1，所述突变体SAMHD1已突变成防止突变体SAMHD1的残基磷酸化。一些实施例包含鉴定细胞中的RT活性。一些实施例包含基于RT活性将RT鉴定为改进的RT。一些实施例包含一种用于筛选或鉴定改进的逆转录酶(RT)的方法，所述方法包括：在细胞中过表达SAMHD1或表达突变体SAMHD1，所述突变体SAMHD1已突变成预防所述突变体SAMHD1的残基磷酸化；鉴定所述细胞中的RT活性；以及基于所述RT活性，将所述RT鉴定为改进的RT。

[0207] 用于递送精度编辑组分的AAV和方法

[0208] 本文描述了如Cas切口酶、逆转录酶(RT)或向导RNA(gRNA)等精度编辑组分。切口酶和RT可以由多核苷酸编码。多核苷酸可以通过AAV递送。编码切口酶和RT的多核苷酸可以被工程化成装配在AAV内。本文提供了用于将切口酶和RT工程化成装配在AAV内的实例。例如，切口酶和RT可以被工程化成二聚化。切口酶和RT可以共表达。切口酶可以使用内含肽系统分割。切口酶的一部分可以与RT组合为融合蛋白。示例性二聚化、共表达和分割内含肽系统的目的是能够使用包括4.5kb承载能力的AAV递送基因组编辑组分。

[0209] 图24示出了当在HEK293T-BFP细胞中用不包含ms2发夹的gRNA共转染表达nCas9和mcp-mlvRT5m的质粒时，实现了相同的BFP到GFP编辑效率。因此，未融合的且非二聚化nCas9和逆转录酶在同一细胞中的共表达可能引起编辑。因此NLS-nCas9(SEQ ID NO:138)和mlvRT5m-NLS(SEQ ID NO:95)可以从单独的AAV表达以实现高效编辑。因此，未融合的且非二聚化Cas切口酶和逆转录酶在同一细胞中的共表达可能引起编辑。因此Cas切口酶和RT可以从单独的AAV共表达以实现高效编辑。同样，已被工程化成二聚化的Cas切口酶和RT可以从单独的AAV共表达以实现高效编辑。

[0210] Cas切口酶和RT可以由多核苷酸编码。Cas切口酶和RT可以由2个单独的多核苷酸编码，或者一个多核苷酸的一部分可以包含在另一个多核苷酸(例如，本文所述的)中。一个或多个AAV可以包括多核苷酸。所述Cas切口酶和所述RT的至少一部分可以涵盖或包含在单独的AAV内。Cas切口酶和RT的一部分可以涵盖或包含在单独的AAV内。Cas切口酶和RT的全部可以涵盖或包含在单独的AAV内。

[0211] 在一些情况下，包含了一种组合物，其包含Cas切口酶和逆转录酶，其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶的至少一部分包含在单独的多肽链中，并且其中所述Cas切口酶和所述逆转录酶形成Cas-逆转录酶异二聚体。单独的多肽链可以由单独的多核苷酸编码。单独的多核苷酸可以包含在如AAV等单独的病毒载体中。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的2个。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个或至少10个。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的不多于2个、不多于3个、不多于4个、不多于5个、不多于6个、不多于7个、不多于8个、不多于9或不多于10个。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的不多于2个。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的不多于3个。单独的多核苷酸可以分裂成单独的病毒载体中的不多于4个。

[0212] 单独的多核苷酸可以短到足以装配在单独的AAV基因组内(例如，每个在约4500bp

以下)。例如,单独的多核苷酸可以各自为约图19A中描述的大小。单独的多核苷酸可以各自小于或不大于约图19A中描述的大小。单独的多核苷酸可以各自小于或不大于图19A中描述的大小的约10%、小于或大于所述大小。单独的多核苷酸可以各自小于约4500bp。单独的多核苷酸可以包含多核苷酸大小的范围,如包含图19A中的任何大小的范围或包含约图19A中描述的大小的范围。

[0213] 在一些情况下,AAV包含第一AAV。第一AAV可以包含第一多核苷酸,所述第一多核苷酸可以编码Cas或Cas组分,如本文所述的Cas切口酶。AAV可以包含第二AAV,所述第二AAV可以包含第二多核苷酸,所述第二多核苷酸编码如本文所述的RT等RT。

[0214] AAV的实例可以包含AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-DJ、AAV-DJ/8、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-retro、AAV-PHP.B、AAV8-PHP.eB或AAV-PHP.S或其组合。AAV的实例可以包含血清型,如AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11或AAV12。AAV的实例可以包含拟型,如AAV-DJ、AAV-DJ/8、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-retro、AAV-PHP.B、AAV8-PHP.eB或AAV-PHP.S。

[0215] AAV可以包括AAV基因组。AAV基因组可以包括pCMV-NLS-nSpCas9(1-1172)-NpuN-cMycNLS-48pA或其组分的任何组合。包括pCMV-NLS-nSpCas9(1-1172)-NpuN-cMycNLS-48pA的AAV基因组可以包含SEQ ID NO:142的序列。AAV基因组可以包含与SEQ ID NO:142的序列至少75%相同、至少80%相同、至少85%相同、至少90%相同或至少95%相同的序列。

[0216] AAV基因组可以包括pCMV-NpuC-nSpCas9(1173-1368;S1173C)-mlvRT14M-SV40NLS-P2A-VPXrh21-48pA-pU6-ush2a-gRNA或其组分的任何组合。包括pCMV-NpuC-nSpCas9(1173-1368;S1173C)-mlvRT14M-SV40 NLS-P2A-VPXrh21-48pA-pU6-ush2a-gRNA的AAV基因组可以包含SEQ ID NO:143的序列。AAV基因组可以包含与SEQ ID NO:143的序列至少75%相同、至少80%相同、至少85%相同、至少90%相同或至少95%相同的序列。AAV可以用于治疗尤塞氏综合症(Usher syndrome)或恢复USH2A突变体。AAV可以施用于患有尤塞氏综合症的受试者。

[0217] 在向受试者施用AAV之后,可以测量或评估受试者体内的基因组编辑。在向一个或多个细胞施用AAV之后,可以测量或评估一个或多个细胞中的基因组编辑。基因组编辑可以通过测序测量或评估。基因组编辑可以通过测定测量或评估。测定可以包括测量或鉴定受试者或细胞中的经编辑的基因组。测定可以包括测量或鉴定来自受试者或细胞中的经编辑的基因组的RNA所得物。测定可以包括测量或鉴定来自受试者或细胞中的经编辑的基因组的蛋白质所得物。测定的一些实例包含杂交测定、免疫测定、比色测定、荧光测定或质谱法。

[0218] 一些实施例包含用于在靶基因座处引入DNA分子的核苷酸序列的一个或多个变化的方法,所述方法包括:使所述接触DNA分子与可编程核酸酶和向导核酸接触,所述向导核酸将所述可编程核酸酶靶向到所述靶基因座。可编程核酸酶可以与逆转录酶形成复合物。

[0219] 使用精度编辑组分进行处理的方法

[0220] 一些实施例包含使用本文所述的方法或组合物治疗遗传病。例如,一些实施例包含施用一个或多个核酸,所述一个或多个核酸包括或编码本文所述的基因编辑组分。例如,可以使用病毒载体来递送施用的核酸。

[0221] 施用可以包含注射。施用可以包含施用包括核酸的组合物。施用可以包含施用包括病毒载体的组合物。组合物可以包括药物组合物。组合物可以包括药物组合物。药物组合

物可以包含如水、缓冲液或盐水溶液等载体。药物组合物可以包含脂质体。

[0222] 施用可以是施用于有需要的受试者。例如，施用可以是施用于具有遗传病的受试者。受试者可以为脊椎动物。受试者可以为哺乳动物。受试者可以为人。在一些实施例中，施用校正受试者的疾病引起的基因突变。在一些实施例中，施用校正受试者的细胞中的疾病引起的基因突变。

[0223] 遗传病的一些非限制性实例包含腺苷酸脱氨酶缺乏、α-1抗胰蛋白酶缺乏、囊性纤维化、肌肉营养不良(例如，杜兴氏肌肉营养不良(Duchenne muscular dystrophy))、半乳糖血、血色沉着病、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、枫糖尿症、马凡综合征(Marfan syndrome)、神经纤维瘤病(例如，1型)、先天性厚甲、苯丙酮尿症、重症综合性免疫缺陷、镰状细胞病、斯-李-奥综合征(Smith-Lemli-Opitz syndrome)或泰-萨二氏病(Tay-Sachs disease)。在一些实施例中，遗传病包括囊性纤维化、斯特格氏病(Stargardt disease)、尤塞氏综合症或亨廷顿氏病。在一些实施例中，遗传病包括囊性纤维化。在一些实施例中，遗传病包括斯特格氏病。在一些实施例中，遗传病包括尤塞氏综合症。在一些实施例中，遗传病包括亨廷顿氏病。在一些实施例中，遗传病包括多基因病，如心脏病、高血压、阿耳滋海默氏病(Alzheimer's disease)、关节炎、糖尿病、癌症或肥胖症。

[0224] 没有双链断裂的情况下的AAV可递送精度编辑

[0225] 综述

[0226] 精确编辑基因组的能力对健康、农业或生物科学具有深渊影响，并且精确基因组编辑可以治愈遗传病。尽管CRISPR核酸酶已经使靶向双链断裂的能力大众化，但是产生精确序列改变由于在有毒的双链断裂(DSB)的位点处施用外来同源DNA进行同源性定向修复(HDR)而变得困难。先导编辑器已在不依赖于HDR的情况下实现了多样精度编辑，但可以利用大到以至于不能够利用基因递送媒剂腺相关病毒(AAV)来递送的组分，可以具有有限的编辑窗口长度，可以使两个链断裂以实现有限编辑或者在非分裂细胞中可以具有有限的效率。在此这些限制已利用一组被称为Rewriter的工具得以克服。Rewriter的分割系统可以提供四种模块化架构以在两个AAV基因组内递送基因编辑组分。Rewriter的经优化的逆转录酶和向导RNA定位系统(GPS)可以在仅产生一个单链断裂的情况下提高编辑效率和编辑窗口长度。最后，Rewriter的抗限制因子促进了非分裂细胞中的编辑。Rewriter在65个核苷酸的窗口内实现了75％编辑，这是迄今为止在哺乳动物细胞中在不产生DSB的情况下靶向的多核苷酸变化的最高效率。最后，开发了在没有可检测到的脱靶突变的情况下精确编辑通常在具有遗传性耳聋和失明的患者体内突变的基因组位点的Rewriter组分。

[0227] 本文描述了用于在没有同源性定向修复或双链断裂的情况下使用Rewriter进行多样化、高效且精确基因组编辑的组合物和方法，所述Rewriter是利用经工程化的Cas9切口酶来靶向经优化的逆转录酶以使用向导RNA定位系统(GPS)、第二链引物和在非分裂细胞中提供高效编辑的抗限制因子合成与基因组相邻的限定的双链DNA的双AAV可递送系统。Rewriter安装复杂序列变化，在65个核苷酸的窗口内效率高达54％。此系统的益处是其可以用于校正引起如囊性纤维化或尤塞氏综合症等遗传病的突变。校正尤塞氏综合症中的遗传缺陷可以用于预防或治疗耳聋或失明。Rewriter的安全、效率、精度和多样性可以用于治疗疾病、改进食品并推进基础生物研究。

[0228] 引言

[0229] CRISPR核酸酶可以提供用于在基因组DNA中产生靶向双链断裂的直接方法。然而，精确改变基因组靶标的序列已由于同源性定向的修复、双链断裂的毒性和递送同源供体DNA的挑战而变得困难。DSB可能导致延伸超过靶基因的长且不准确的缺失并且可能导致整个染色体的去除。另外，编码基因组编辑器的载体自身可以无意地在DSB的位点处成一体。最后，即使单个DSB也可能激活p53通路，这可能导致细胞凋亡。CRISPR导向的核苷酸脱氨酶或碱基编辑器可以避免双链断裂并且可以不依赖于同源性定向修复，而且还可以限于进行所有取代的子集并且可以引起基因组和转录组脱靶突变。先导编辑可以是用于在Cas9切割位点的前间隔子邻近基序(PAM)近侧处将插入、缺失和复杂序列变化安装在30个核苷酸(nt)窗口内的更精确且多样化的方法。先导编辑器(PE)可以包含产生基因组瓣的切口酿脓链球菌Cas9(nSpCas9)，所述基因组瓣可以与引物结合位点(PBS)在CRISPR向导RNA(gRNA)的3'延伸中杂交。包括五个点突变(mlvRT5M)的与nSpCas9融合的莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶可以利用基因组瓣作为引物以合成DNA链，所述DNA链包括根据RT模板(RTT)的序列进行的期望的编辑，所述期望的编辑也包含在gRNA的3'延伸中。编辑效率可以通过表达对另一个链造切口的第二gRNA而提高。不幸的是，PE总体上太大以至于不能用腺相关病毒(AAV)递送。另外，PE可能遭受非分裂细胞的效率限制，可能在对两个链造切口时产生无意插入或缺失或可以具有可以限制致病突变的数量的短编辑窗口长度，所述致病突变可能与单个构建体相关并且可能需要PAM在编辑位点附近可用。本文所述的为基因编辑系统，所述基因编辑系统在一些实例中被称为Rewriter，其可以在分裂细胞和非分裂细胞中在不产生双链断裂的情况下相比于先导编辑器在较大窗口内并且以较高的效率安装任何类型的突变。这可以使用利用AAV递送的组分完成。

[0230] 装配在AAV内的精度编辑器

[0231] 尽管先导编辑器和分割内含肽先导编辑器可以在靶位点处安装许多类型的突变，但其编码序列单独可能太大以至于无法装配到AAV的4.5千碱基(kb)承载能力中(图19A)。为了提供利用可以在少到两个AAV基因组内递送的组分进行精度编辑的益处，开发了Rewriter a1("RWa1"或"RW1M")。RWa1可以包含与和mlvRT5M融合的MS2外被蛋白(MCP)肽和包括MCP肽可以与其特异性结合的MS2发夹的gRNA共表达的nCas9。RW1M可以将MS2发夹并入到通过nSpCas9结合的gRNA中以再募集与mlvRT5M融合的MS2结合肽(MBP)。RW1M可以允许在一个AAV中递送nSpCas9并且在另一个AAV中递送MBP-mlvRT5M和gRNA(图27)。

[0232] 如图27所示，包括PE2的编辑系统可以包含与含有5个点突变的莫洛尼氏白血病病毒逆转录酶(mlvRT5M)融合的切口Cas9(nCas9)。PE2中使用的向导RNA可以包含在含有逆转录酶模板(RTT)序列和引物结合位点(PBS)序列的支架序列的3'端上的延伸。nCas9可以首先对非靶向链造切口，这可以释放与PBS杂交的基因组瓣。mlvRT5M然后可以通过逆转录RTT来延伸基因组瓣。包括分割PE2的编辑系统可以利用Npu分割内含肽来表达催化地拼接在一起以形成nCas9-mlvRT5M融合蛋白的两个ORF。包括Rewriter 1M(RW1M)的编辑系统可以利用nCas9、与mlvRT5M融合的MS2结合肽(MBP)和含有MBP与其特异性结合的MS2发夹的gRNA(图27：左侧：MS2发夹可以插入在gRNA支架内；中间：MS2发夹可以插入在gRNA支架与RTT之间；右侧：MS2发夹可以插入在PBS之后)。包括RW1L的编辑系统可以利用异二聚化亮氨酸拉链来使nCas9和mlvRT5M共区域化。包括RW1I的编辑系统可以利用可以通过Npu内含肽分割的新颖突变体nCas9以使用ORF产生各自装配在AAV内的nCas9-mlvRT5M蛋白。包括RW1N的编

辑系统可以在没有任何经工程化的募集组分的情况下共表达nCas9和mlvRT5M。

[0233] 精度编辑效率是使用稳定表达BFP的HEK293细胞系确定的，所述BFP可以通过安装特异性3个核苷酸(nt)突变被编辑成GFP。表达第一蛋白质组分(nSpCas9)的质粒、表达第二蛋白质组分(MBP-mlvRT5M)的第二质粒和表达gRNA的第三质粒被瞬时共转染成HEK293细胞系。相比于PE2的19％，表达RWa1(nCas9和MCP-mlvRT5M)的质粒与gRNA 2.0共转染产生了3.7％GFP+细胞，所述gRNA 2.0在Cas9结合支架内包含MS2发夹插入，用编码旨在去除PAM位点并安装GFP突变的+2ATGG至CATA突变的13-nt PBS和13-nt RTT进一步修饰(图11B)。更靠近基因组瓣的位点和PBS插入MS2发夹可以促进由再募集的MBP-mlvRT5M启动逆转录。RWa1的编辑效率通过将MS2发夹插入在未经修饰的gRNA支架与RTT之间提高了15.5％。

[0234] Rewriter b1(“RWb1”或“RW1L”)可以是用于在两个AAV基因组内递送编辑组分的替代方法。编辑组分可以包含与亮氨酸拉链(nSpCas9-LZ1)融合的nCas9，所述亮氨酸拉链与和mlvRT5M的N末端融合的另一个亮氨酸拉链(LZ2-mlvRT5M)异二聚化(图19A)。表达RWb1(nSpCas9-LZ1和LZ2-mlvRT5M)的质粒和包括编码+2ATGG至CATA突变的13-nt PBS和13-nt RTT的gRNA 2.0共转染产生了38％GFP+细胞(图11B)。如图11B所示，与PE2和gRNA 2.0共转染的HEK293细胞产生了19％的编辑效率，所述gRNA2.0可以在Cas9结合支架内含有MS2发夹插入，编码旨在去除PAM位点并安装GFP突变的+2ATGG至CATA突变的13-nt PBS和13-nt RTT进一步修饰。具有同一gRNA的RWa1产生了3.7％GFP+细胞。RWa1的编辑效率通过将MS2发夹插入在未经修饰的gRNA支架与RTT之间提高了15.5％。RWb1和包括编码+2ATGG至CATA突变的13-nt PBS和13-nt RTT的gRNA 2.0构建体产生了38％GFP+细胞。开发了RW1L作为用于在两个AAV基因组内递送编辑组分的替代设计。RW1L可以包括与亮氨酸拉链17(nSpCas9-LZ1)融合的nSpCas9，所述亮氨酸拉链与和mlvRT5M的N末端融合的互补亮氨酸拉链(LZ2-mlvRT5M)异二聚化。为了与RW1M进行直接比较，用含有gRNA2.0支架的同一gRNA对RW1L进行了初始测试，所述支架被构造成用于RW1M(但是gRNA2.0中的MS2发夹不一定预期与RW1L的组分相互作用)。

[0235] 尽管RWa1和RWb1可以各自包含位于允许进行AAV包装的大小约束内的两个多肽，但nSpCas9和nSpCas9-LZ1开放阅读框(ORF)的大小可以限制可以被包含以控制表达的调节元件的长度。在一些实例中，由于可能需要半胱氨酸作为Npu C末端外显肽的第一残基，分割先导编辑器2可以包含用于使nSpCas9-mlvRT5M在Cys574处分割成两个片段的内含肽，大多数C末端半胱氨酸位于nSpCas9中。认为如果可以在nSpCas9的残基700与1250之间引入适当的内含肽侧接序列，则可以在两个重组AAV基因组内用相比于RWa1和RWb1可以另外允许的更多的调节元件空间来编码具有两个包括内含肽的ORF的经修饰的nSpCas9-mlvRT5M融合蛋白。对编码nSpCas9的与Npu N末端内含肽(其与和nSpCas9的C末端片段融合的Npu C末端内含肽配对)融合的包括半胱氨酸取代(其在一些实例中提供内含肽催化)和mlvRT5M的N末端片段的构建体的群组进行了测试。在残基1172与1173(nCas9(1-1172)-NpuN与nCas9(1173-1368;S1173C)-mlvRT5M;命名为“RWc1”或“RW1I”)之间分割Ser1173Cys nSpCas9-mlvRT5M突变体产生了相比于PE2约2倍的编辑效率(29％对15％，图19B)。

[0236] 使用标准gRNA支架，RWa1、RWb1和RWc1均被发现产生高于40％的编辑效率(图19C)。令人惊讶的是，不含有MS2发夹的gRNA与nCas9和MCP-mlvRT5M构建体共表达产生了相比于包含MS2发夹的gRNA大约相同的编辑效率，这示出RT与nCas9的位点的募集或融合可以

不总是必须的或仅共表达nCas9和RT就可以产生高效编辑。未主动募集mlvRT的构建体被称为Rewriter d1(“RWd1”或“RW1N”)。在AAV递送的上下文中,可以使用RWc1,因为其可以容纳调节元件的高达大约670nt。用包装到两个单独AAV2构建体中的RWc1以每个病毒2.8x10^5的MOI转导表达BFP的HEK293细胞产生了74.8%GFP+细胞(图19D)。

[0237] 为了证明Rewriter的AAV介导的递送,将RW1I的容纳584-nt CMV启动子的N末端蛋白质组分包装到AAV2载体中,同时将RW1I的C末端蛋白质组分(还被CMV启动子驱动)和将BFP转化成由U6启动子驱动的GFP的gRNA两者包装到单独AAV2载体中。以每个病毒2.8x105VG/细胞的MOI对BFP表达HEK293细胞的同时AAV共转导产生了74.8%GFP+细胞。

[0238] 结果表明RW1M、RW1L、RW1I或RW1N在不同gRNA之间可以具有不同编辑效率,因此一些实施例包含筛选几个用于利用给定gRNA使效率最大化的架构。RW1I可以提供调节元件在两个AAV基因组上的大多数空间,而RW1L和RW1N可以在第二AAV基因组中容纳多个gRNA。尽管在使用质粒转染时RW1N令人惊讶地提供了与其它架构类似的编辑效率,但这可能需要蛋白质组分的足够高的细胞内浓度来消除对主动募集的可能需要。因此,RW1N不可以提供替代递送策略的高编辑效率以及在一些情况下表达水平。

[0239] RNA延伸再定向

[0240] 向导RNA延伸的空间再定向可以提高编辑效率或窗口长度。增加编辑窗口长度可以允许筛选用于高效编辑给定突变的更多gRNA或者可以用单个gRNA校正更多致病突变。另外,先导编辑器3b可以通过表达与由RT产生的序列结合并且对相对链造切口的第二gRNA来提高编辑效率,由此避免RT合成的编辑的切口介导的错配修复。先导编辑器3b方法在一些实例中可以限于在先导编辑器的有限编辑窗口长度内具有PAM位点的靶位点。增加编辑窗口长度可能需要增加RTT的长度。假设Rewriter和PE编辑效率可能受到使用较长RTT时PBS和基因组瓣杂交的速率。还预测到,如果RTT的长度可以增加,则降低可能在gRNA支架的一部分的逆转录的效率方面受到影响,这可能不利地导致支架模板化序列不期望地插入到基因组中。设计了在此被称为gRNA定位系统(GPS)的RNA组分,其可以被引入到gRNA的3’延伸中以将PBS空间定向成接近基因组瓣,无论RTT的长度如何。GPS 1版(V1)可以包含插入在RTT的5’处的可以与RTT的3’区杂交的RNA序列,和/或GPS 2版(V2)可以为插入在PBS的3’处的可以与RTT的5’部分杂交的RNA序列(图20A)。计算性RNA折叠分析预测GPS V1和V2将如预期的使PBS更靠近gRNA的3’延伸的5’端(图12B)。RNA折叠分析预测GPS V1和V2可以改变gRNA的3’延伸的结构以使PBS更靠近gRNA支架。

[0241] GPS也可以被称为Velcro。同样,Velcro可以被称为GPS。GPS可以包含Velcro或Velcro的组分。Velcro可以包含GPS或GPS的组分。

[0242] RWb1和包括107-nt RTT的向导RNA的共转染产生了14%GFP+细胞,这显著低于使用更短13-nt RTT实现的38%,并且因此确认了增加RTT长度以加宽编辑窗口可以降低编辑效率。添加20-nt GPS V2将编辑效率提高到27.4%。GPS V1将编辑效率从14%提高到24.8%。GPS V1可以用于引起GPS序列的逆转录和基因组插入。在PBS的3’处使用20-nt GPS V2将编辑效率提高到27.4%并且不具有用于GPS序列的基因组插入的潜力。GPS V2继续进行,并且使用GPS V2组分的Rewriter系统可以被称为“Rewriter 2.0”或者可以用“g”表示(例如:“RW1I_g”)。接下来,发现使用129-nt模板从切口的位点65-nt安装3-nt突变通过并入GPS V2增加了4倍(图20B)。进行此编辑的效率通过再编码RTT以去除可以在维持靶位点

的氨基酸序列的同时抑制逆转录的二级结构提高到21％。最后，产生了一组各种长度和结合位点的GPS，并且与RTT的前20-nt杂交的20-nt GPS在组中产生了最高编辑效率(图12D)。与RTT的前20-nt杂交的20-nt GPS在一组不同长度和结合位点的GPS V2之中产生了最高编辑效率。突变速率数据以平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差示出。

[0243] 第二链合成

[0244] 接下来，假设了编辑效率可以进一步通过合成DNA的包括期望的编辑的与第一合成链互补的第二链而提高。引入了第二链引物(SSP)。SSP可以允许逆转录酶使用第一合成链作为模板以进行第二链合成(图13A)。SSP可以插入到3'gRNA延伸的3'末端中。SSP可以与第一合成链的为编辑位点的3'的一部分杂交。在PBS与瓣杂交并且第一链被逆转录之后，SSP可以与第一合成链杂交，从而允许逆转录酶使用第一合成链作为模板以进行第二链合成。

[0245] SSP可以与第一合成链的为编辑位点的3'的一部分杂交。为了使从SSP的开始到gRNA的3'端的区与第一合成链互补，在SSP的3'处引入了自切割丁型肝炎病毒(HDV)核酶。首先测试了SSP是否可以改进PE2的编辑效率。发现20-nt SSP比40-nt或60-nt SSP表现更好(图13B)。20-nt SSP比40-nt和60-nt SSP表现更好。相比于无SSP，掺入在距切口位点至多6-nt和36-nt处杂交的20-nt SSP使编辑效率大约加倍。在距切口位点至多55-nt处杂交的20-nt SSP未改进编辑效率。预测到这是由于RTT的更远侧部分的逆转录的效率较低，由此限制了SSP结合位点的可用性。利用此SSP技术的系统被命名为Rewriter 3.0。然后发现，SSP可以在Velcro之后使用Rewriter 2.0插入以进一步提高编辑效率，从而产生约41％编辑(Rewriter 3.2;图21)。还证明了在SSP的末端3-nt与第一合成链不互补时提供的SSP被取消的效率提高。

[0246] 由于HDV核酶可以在3'末端上留下2'3'环状磷酸酯，并且逆转录可以使用3'羟基来启动从引物进行的合成，因此如人多核苷酸激酶等内源酶可以将2'3'环状磷酸酯转化成3'羟基。预测到，在SSP之后并入tRNA以代替HDV核酶可能引起在tRNA的RNA酶P切割之后3'羟基的更快速产生。并入人谷氨酸tRNA使编辑效率在统计上显著提高到50.9％。在距切口65-nt处进行编辑的效率通过再编码RTT以去除可以在维持靶位点的氨基酸序列的同时抑制逆转录的二级结构而略微提高。

[0247] 对mlvRT进行工程化

[0248] 通过将突变引入到PE1的被报道改进体外逆转录酶活性的mlvRT中开发了PE2。PE2中使用的mlvRT可以通过并入增加进行性、热稳定性、底物亲和力或调节RNA酶H活性的突变来改进。因此，筛选了mlvRT中可以改进体外mlvRT活性的31个突变(图14A)。五个突变在编辑方面具有在统计上显著的提高。对mlvRT5M的顶部上的这些突变的组合的影响进行了测试以确定编辑效率的潜在提高。通过将9个突变添加到mlvRT5M，编辑效率从mlvRT5M的约43％提高到mlvRT14M的约54％(图14B)。并入mlvRT14M的系统可以被称为“Rewriter 4”或“Rewriter 2”(例如：“RW2I_g”)。

[0249] 克服低dNTP浓度

[0250] 使用如PE或Rewriter的一些实施例等逆转录酶使DNA聚合的基因组编辑器可以使用dNTP作为底物。因此可想象的是相比于培养中的快速分裂细胞的编辑，非分裂或缓慢分裂细胞(如视网膜和肺中)的低dNTP浓度特性可能构成障碍。SAMHD1为可以控制细胞dNTP浓

度的三磷酸水解酶。在非分裂细胞中，SAMHD1可以使dNTP水解。在循环细胞中，周期蛋白依赖性激酶1(CDK1)可以使SAMHD磷酸化。这可以抑制dNTP水解。这可以产生更高dNTP浓度。SAMHD1 T592A突变体(“SAMHD1^{p-}”或“SAMHD1(T592A)”)在一些实例中可以不被磷酸化，并且因此可以耗竭dNTP池，无论CDK1是否存在。VPX可以是由HIV-2表达以特异性靶向SAMHD1以降解的小蛋白。预测到HEK293T细胞中的非分裂和缓慢分裂细胞的较低dNTP浓度可以通过表达SAMHD1^{p-}来建模(图15A)。

[0251] 图15B示出了将Rewriter 3.2(其还可以被称为“RW1L_g”)与SAMHD1^{p-}共转染将编辑效率降低了2.7倍，从而支持dNTP浓度在一些实例中可能受到对基因组编辑的限制的想法。在SAMHD1(T592A)共表达时，编辑效率降低了2.7倍。到mlvRT5M的几个突变在存在SAMHD1(T592A)的情况下恢复了某种编辑效率。一些突变可以降低mlvRT对dNTP的K_m。将一些此类突变引入到Rewriter中在远离切口2-nt处存在SAMHD1^{p-}的情况下恢复了一些编辑效率。确认了这些突变之一V223A未降低效率。并入V223A的构建体被命名为Rewriter 5.0(图15C)。将V223A突变引入到mlvRT5M中未降低在距切口65-nt处安装编辑的效率(Rewriter 5)。

[0252] 作为用于提高非分裂和缓慢分裂细胞中的编辑效率的互补方法，采用了VPX。VPX可以为小HIV-2蛋白。VPX可以特异性靶向SAMHD1以降解。VPX^{ROD}(来自ROD HIV-2分离物)和SAMHD1^{p-}的共表达完全逆转了通过在不具有VPX的情况下表达SAMHD1^{p-}引起的编辑效率的降低(图15D)。编辑效率的SAMHD1^{p-}诱导的降低在距切口65-nt处安装突变时甚至更显著。接近零的效率可能是由于每次dNTP并入的DNA合成效率的复合降低引起的。VPX^{ROD}的共表达将编辑效率恢复到在未表达SAMHD1^{p-}的情况下观察到的效率的78％(Rewriter 5.1)。

[0253] 在存在SAMHD1^{p-}的情况下从HIV-2临床分离物RH2-1(VPX^{RH2-1})中鉴定出完全恢复了在距切口65-nt处安装突变的效率的VPX的变体(Rewriter 5.2;图15E)。图15E中的突变速率数据以平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差示出。VPX^{RH2-1}在使SAMHD1(T592A)与RW2I和可以在距切口2-nt处安装突变从而产生64％编辑效率的gRNA(图15F)以及与RW2I_g和在距切口65-nt处安装突变的gRNA(图23)共表达时还胜过VPX^{ROD}。并入VPX^{RH2-1}的Rewriter系统可以用“_v”(例如：“RW2I_gv”)命名。

[0254] 增加dNTP的浓度可以是用于提高细胞中的编辑效率的互补方法。方法可以包括向细胞递送核苷酸或核苷，从而相比于未接受核苷酸或核苷的细胞，使所述细胞中的dNTP的浓度增加。细胞中的dNTP的浓度增加可以使包括如本文公开的组合物的细胞中的编辑效率提高。在一些情况下，将dNTP施用于受试者(例如，包括所述细胞的受试者)。在一些实施例中，将dNTP施用于细胞包括将dNTP施用于包括所述细胞的受试者。施用dNTP可以包含口服施用。施用dNTP可以通过注射。

[0255] 校正囊性纤维化突变或其它疾病突变

[0256] 用于囊性纤维化的小分子疗法已示出小于完全的汗水卤化物的功能恢复、肺部并发症速率和用力呼气量。另外，CFTR基因中的大多数囊性纤维化(CF)引起的突变可能不可通过这些小分子治疗。将CFTR基因的功能性拷贝递送到受影响的细胞可以治疗任何CF患者，无论CF患者的CFTR基因型如何。然而，用于治疗CF的基因疗法方法已受到CFTR表达的瞬时和合成调节以及AAV的有限包装能力的限制，这可能需要使用显示出不完全活性的截短的CFTR。与CFTR编辑相关的一些数据在图29B和图29C中示出。

[0257] 作为替代方案，编辑CF引起的突变以恢复受其天然调节元件控制的CFTR活性可以提供长期且潜在治愈的疗法。如此，本文所述的方法和组合物的一些实施例可以用于治疗CF。一些实施例包含向有需要的受试者(例如，患有CF的受试者)施用编码本文所述的被配置成校正突变体CFTR基因的基因组编辑组分的一个或多个多核苷酸或如腺病毒等包括所述一个或多个多核苷酸的一个或多个病毒。此类组分的实例包含向导RNA，所述向导RNA包括间隔子，所述间隔子与CFTR核酸的区反向互补。间隔子包含SEQ ID NO:96的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:96至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:97的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:97至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:98的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:98至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:99的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:99至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:100的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:100至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:101的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:101至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:102的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:102至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:103的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:103至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:104的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:104至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:105的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:105至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。在一些实施例中，施用改进受试者的CF的治疗参数。

[0258] 表1-间隔子

[0259]

间隔子名称（基因.突变.数量）	序列	编辑效率
CFTR.F508del.1	SEQ ID NO: 96	6.81%
CFTR.F508del.2	SEQ ID NO: 97	
CFTR.F508del.3	SEQ ID NO: 98	

[0260]

CFTR.R553X.1	SEQ ID NO: 99	13.30%
CFTR.G542X.NAG.1	SEQ ID NO: 100	
CFTR.G542X.NAG.2	SEQ ID NO: 101	
CFTR.G542X.NAG.3	SEQ ID NO: 102	
CFTR.W1282X.1	SEQ ID NO: 103	18.47%
CFTR.W1282X.2	SEQ ID NO: 104	
CFTR.W1282X.3	SEQ ID NO: 105	
USH2A.1	SEQ ID NO: 106	41%
USH2A.2	SEQ ID NO: 107	
ABCA4.G1961E.1	SEQ ID NO: 108	37.2%
ABCA4.G1961E.2	SEQ ID NO: 109	23.3%
ABCA4.G863A.1	SEQ ID NO: 110	
ABCA4.G863A.2	SEQ ID NO: 111	22.45%
ATP7B.H1069Q.1	SEQ ID NO: 112	26.7%
ATP7B.H1069Q.2	SEQ ID NO: 113	10.37%
ATP7B.R778L.1	SEQ ID NO: 114	
ATP7B.R778L.2	SEQ ID NO: 115	
HTT.NAG.1	SEQ ID NO: 116	25%
HTT.2	SEQ ID NO: 117	
HTT.3	SEQ ID NO: 118	
HTT.4	SEQ ID NO: 119	

[0261] 同样，本文所述的方法和组合物的一些实施例可以用于治其它疾病。编辑疾病引起的突变以恢复靶基因中的正确序列可以提供用于患有疾病的受试者的长期且潜在治愈疗法。一些实施例包含向有需要的受试者(例如，患有疾病的受试者)施用编码本文所述的被配置成校正突变体靶基因的基因组编辑组分的一个或多个多核苷酸或如腺病毒等包括所述一个或多个多核苷酸的一个或多个病毒。此类组分的实例包含向导RNA，所述向导RNA包括间隔子，所述间隔子与靶核酸的区反向互补。一些此类间隔子包含在表1中。间隔子可以包含与表1中的间隔子至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或100％相同的核酸序列或互补序列。在一些情况下，间隔子包含类似序列，但包含U来代替T。在一些实施例中，施用改进受试者的疾病的治疗参数。

[0262] 本文所述的方法和组合物的一些实施例可以用于治疗尤塞氏综合症。编辑尤塞氏综合症引起的突变以恢复USH2A可以提供用于患有尤塞氏综合症的受试者的长期且潜在治愈疗法。一些实施例包含向有需要的受试者(例如，患有尤塞氏综合症的受试者)施用编码本文所述的被配置成校正突变体USH2A基因的基因组编辑组分的一个或多个多核苷酸或如腺病毒等包括所述一个或多个多核苷酸的一个或多个病毒。此类组分的实例包含向导RNA，所述向导RNA包括间隔子，所述间隔子与USH2A核酸的区反向互补。间隔子包含SEQ ID NO:106的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:106至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:107的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:107至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的核酸序列。在一些实施例中，施用改进受试者的尤塞氏综合症的治疗参数。在一些实施例中，基因组编辑组分校正图25B中示出的突变。与USH2A编辑相关的一些数据在图29A中示出。

[0263] 使用了USH2A.1间隔子来产生图25A和图25B中的数据。对于图25A中的数据，用

RW2I使用PBS、RTT或GPS的各个序列对HEK293T细胞进行了转染。编辑效率以具有预期的2298T>C突变的读段的百分比为单位展示。15-nt PBS、52-nt RTT和20-nt GPS产生了22%编辑。还在表1中包含编辑效率的情况下进行了类似实验。对于图25B中的数据，由15-nt PBS、52-nt RTT、20-nt GPS构建体产生的最频繁的突变体等位基因含有在RTT中编码的2298T>C和2316C>A突变(18.8%)两者。另外7.1%的读段由单独的2316C>A PAM破坏性突变或单独的靶标2298T>C突变表示。在靶序列内沿poly-A轨道还检测到低频率的腺嘌呤插入。示出的数据包含平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差。

[0264] 本文所述的方法和组合物的一些实施例可以用于治疗斯特格氏病。编辑斯特格氏病引起的突变以恢复ABCA4可以提供用于患有斯特格氏病的受试者的长期且潜在治愈疗法。一些实施例包含向有需要的受试者(例如，患有斯特格氏病的受试者)施用编码本文所述的被配置成校正突变体ABCA4基因的基因组编辑组分的一个或多个多核苷酸或如腺病毒等包括所述一个或多个多核苷酸的一个或多个病毒。此类组分的实例包含向导RNA，所述向导RNA包括间隔子，所述间隔子与ABCA4核酸的区反向互补。间隔子包含SEQ ID NO:108的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:108至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:109的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:109至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:110的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:110至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:111的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:111至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。在一些实施例中，施用改进受试者的斯特格氏病的治疗参数。与ABCA4编辑相关的一些数据在图29D-29F中示出。

[0265] 本文所述的方法和组合物的一些实施例可以用于治疗威尔逊病。编辑威尔逊病引起的突变以恢复ATP7B可以提供用于患有威尔逊病的受试者的长期且潜在治愈疗法。一些实施例包含向有需要的受试者(例如，患有威尔逊病的受试者)施用编码本文所述的被配置成校正突变体ATP7B基因的基因组编辑组分的一个或多个多核苷酸或如腺病毒等包括所述一个或多个多核苷酸的一个或多个病毒。此类组分的实例包含向导RNA，所述向导RNA包括间隔子，所述间隔子与ATP7B核酸的区反向互补。间隔子包含SEQ ID NO:112的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:112至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:113的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:113至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:114的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:114至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:115的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:115至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。在一些实施例中，施用改进受试者的威尔逊病的治疗参数。

[0266] 本文所述的方法和组合物的一些实施例可以用于治疗亨廷顿氏病。编辑亨廷顿氏病引起的突变以恢复HTT可以提供用于患有亨廷顿氏病的受试者的长期且潜在治愈疗法。一些实施例包含向有需要的受试者(例如，患有亨廷顿氏病的受试者)施用编码本文所述的被配置成校正突变体HTT基因的基因组编辑组分的一个或多个多核苷酸或如腺病毒等包括

所述一个或多个多核苷酸的一个或多个病毒。此类组分的实例包含向导RNA,所述向导RNA包括间隔子,所述间隔子与HTT核酸的区反向互补。间隔子包含SEQ ID NO:116的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:116至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:117的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:117至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:118的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:118至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。间隔子包含SEQ ID NO:119的核酸序列。间隔子可以包含与SEQ ID NO:119至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的核酸序列。在一些实施例中,施用改进受试者的亨廷顿氏病的治疗参数。

[0267] 本文公开了向导核酸,所述向导核酸包含延伸。延伸可以包含用于编辑HTT的延伸核酸序列。用于编辑HTT的延伸核酸序列可以包含SEQ ID NO:140的序列。用于编辑HTT的延伸核酸序列可以包含与SEQ ID NO:140的序列至少75%相同、至少80%相同、至少85%相同、至少90%相同或至少95%相同的序列。延伸可以包含GPS区。延伸可以不包含GPS区。包含GPS区的延伸的延伸序列的实例包含在SEQ ID NO:141中。用于编辑HTT的延伸核酸序列可以包含SEQ ID NO:141的序列。用于编辑HTT的延伸核酸序列可以包含与SEQ ID NO:141的序列至少75%相同、至少80%相同、至少85%相同、至少90%相同或至少95%相同的序列。

[0268] 再写入尤塞氏综合症基因

[0269] 尤塞氏综合症可以是组合耳聋和视力丧失的最常见遗传来源。尽管听力辅助和耳部植入物可以治疗一些尤塞氏患者的耳聋,但其视力丧失当前是不可治疗的。引起尤塞氏综合症的可能最常见的突变为USH2A基因中的单核苷酸缺失,即2299delG。Rewriter可以提供用于为患有尤塞氏综合症的患者提供治愈治疗的方法,因为涉及功能性USH2A的递送的基因疗法可能以其它方式受超出典型AAV的USH2A cDNA大小(15.6kb)和慢病毒包装能力的阻碍,并且碱基编辑器可能另外不能够进行核苷酸插入。

[0270] 提供了用于在USH2A中再写入2299G区的组分。通过对在RTT中距切口23-nt处进行编码的2298T>C沉默突变的安装进行定量确定了野生型HEK293T细胞中的编辑效率。尽管2299G是由RTT编码的,但还包含了2298T>C作为代理突变,因为野生型HEK293T细胞已经含有2299G。还编码了在RTT中距切口5-nt处的2316C>APAM禁用沉默突变,所述突变旨在防止nSpCas9在实现预期编辑之后继续对靶位点造切口。

[0271] 通过在RW2I系统中使用15-nt PBS、52-nt RTT和20-nt GPS实现了二十二%编辑(图25A)。对于图25A中的数据,用RW2I使用PBS、RTT或GPS的不同序列对HEK293T细胞进行了转染。编辑效率以具有预期的2298T>C突变的读段的百分比为单位展示。15-nt PBS、52-nt RTT和20-nt GPS产生了22%编辑。

[0272] 测试了9-nt、11-nt、13-nt和15-nt的PBS长度,评估了32-nt、34-nt、36-nt、52-nt和56-nt的RTT长度,并且52-nt和56-nt RTT构建体中包含20-nt GPS。不包含GPS的所有构建体产生了6.3%以下的编辑,同时相比之下,具有52-nt RTT和20-nt GPS的构建体在从9-nt PBS的大约6.5%到15-nt PBS的22%的增加的情况下得到最高编辑效率。这些结果表明GPS可以显著改进在离切口的位点近至23-nt引入编辑的效率。对间隔子的计算机预测的脱

靶基因组位点中的前五个脱靶位点进行了深度测序,并且未检测到通过转染Rewriter组分引入的编辑。

[0273] 接下来,对通过15-nt PBS、52-nt RTT和20-nt GPS构建体产生的等位基因变体的类型进行了分析,并且发现最频繁的变体含有2298T>C和2316C>A突变(18.8%)两者以及之后的仅2316C>A突变(3.9%)以及然后仅2298T>C突变(3.2%)(图25B)。图25B示出了由15-nt PBS、52-nt RTT、20-nt GPS构建体产生的最频繁的突变体等位基因包含在RTT中编码的2298T>C和2316C>A突变(18.8%)。另外7.1%的读段由单独的2316C>APAM破坏性突变或单独的靶标2298T>C突变表示。在靶序列内沿poly-A轨道还检测到低频率的腺嘌呤插入。一些另外方面的一些数据在图28中示出。

[0274] 编码RTT中破坏PAM的突变可以提高编辑效率。编码RTT中破坏PAM的突变可以提高编辑精度。发现通过编码RTT中将破坏PAM位点的序列提高了编辑效率并且减少了不期望缺失(图25C和图25G)。

[0275] 无可检测到的通过nSpCas9或支架序列插入事件产生的插入缺失,这可能是由于先导编辑器。除了分别0.4%和0.2%的频率下的预期2298T>C和2316C>A突变之外,在逆转录的区中鉴定出含有腺嘌呤插入的两个等位基因。腺嘌呤插入中的每个腺嘌呤插入位于poly-A轨道的端部处,这潜在地表明RT介导的基因组编辑方法可以在RNA模板的单核苷酸轨道上合成罕见移码突变。发现用沉默2307A>G突变破坏RTT中的polyA轨道之一消除了腺嘌呤在所述polyA轨道中的不期望插入(图25E)。还发现通过将RTT长度增加到54-nt,2298T>C编辑效率提高到41.6%(图25F)。最后,发现不包含沉默pam破坏性2316C>A突变将进行2298T>C编辑的效率降低了2倍(图25G)。图25A-25G中的任何图中示出的图形数据包含平均值±来自三个生物非依赖性样品的一个标准偏差;NS=不显著(P<0.05;双侧学生t检验);并且ND=未检测到。

[0276] 如图25E和图30中所示,突变可以在RTT中被编码成破坏连续核苷酸(例如,4+连续核苷酸)的轨道。在含有同一碱基的至少4个连续核苷酸的轨道上观察到不期望插入。还认为逆转录酶在这些单核苷酸轨道上进行了相对于其在RTT中的模板序列很少的插入。还发现通过将用于破坏单核苷酸轨道的突变并入到同一碱基的不多于3个连续核苷酸的轨道中,不再检测到不期望插入。如图25E中的实例中示出的,在未在RTT的polyA轨道中编码沉默2307A>G突变的情况下,几乎0.5%的读段在位置2305处含有不期望A插入。不期望插入用在RTT的polyA轨道中包含沉默2307A>G突变的RTT未监测到不期望插入,同一碱基消除了未在RTT中编码的不期望的编辑。

[0277] 尤塞氏综合症数据的一些亮点包含:GPS将编辑效率改进了约4倍,未观察到脱靶效应,未进行到USH2A的不期望突变,并且实现了40%以上的编辑效率。

[0278] 图31A-31B示出了在htt基因中实现了将三核苷酸精确缩短了一个重复序列,这证明了本文所述的一些系统和方法对治疗如亨廷顿氏病等疾病的适用性。

[0279] 讨论

[0280] 如Rewriter等编辑系统可以包括用于在给定Cas9靶位点的大约70-nt内引入核苷酸取代、插入、缺失或复杂序列变化的靶向且高效技术。另外,将Rewriter包装在AAV内的能力保证实现安全且组织特异性的递送以治疗各种遗传病。

[0281] 精度基因组编辑在传统上依赖于产生DSB,所述DSB在一些情况下为甚至可以引起

整个染色体丢失的基因毒性病变。Rewriter可以通过仅产生一个单链切口,即通常相对无害的修饰来避免与一些DSB相关联的安全担忧。另外,Rewriter的可递送性和安全性可能不以效率为代价,因为实现了高达64%编辑,这是迄今为止报告的在没有产生DSB的情况下人细胞中的靶向多核苷酸编辑的最高效率。

[0282] GPS可以包含Rewriter平台中的可以通过控制gRNA延伸的三级结构的改进编辑效率和窗口长度的新颖组分。GPS可以缓解需要与编辑的位点紧密相邻的PAM的约束并且可以实现用单个构建体校正多个致病突变。例如,导致视力丧失的第二最常见USH2A突变可以为2276G>T,这可以距最常见的突变2299delG 23-nt。一些实施例包含使用能够用这些突变之一治疗患者的gRNA。

[0283] 筛选mlvRT突变体导致对更高效的mlvRT14M的鉴定,从而突出进一步优化此组分的潜力。可以用BFP到GFP转化测定以汇集格式对mlvRT14M突变体的无偏文库进行筛选以改进编辑。筛选低dNTP浓度的RT的文库通过SAMHD1(T592A)的过表达可以鉴定对dNTP具有足够低的K_M的变体以消除对VPX的可能需要以编辑非分裂细胞。

[0284] 非分裂细胞中的精确编辑已是在传统上显著的挑战。本文提供的使用VPX以抵消在由SAMHD1引起的编辑方面的约束的结果提供了用于编辑如光感受器和神经元等临床上相关的有丝分裂后细胞或构成许多器官的缓慢分裂细胞的途径。给定将SAMHD1鉴定为编辑的潜在限制因素,可以对SAMHD1抑制性小分子进行评估以提供细胞dNTP浓度的瞬时增加。

[0285] 由于在AAV递送时可以在没有产生DSB的情况下在人细胞的基因组中精确产生靶向复杂序列变化的第一系统,可以使用Rewriter来推进功能性基因组研究并治疗人类疾病。

[0286] 方法

[0287] 一般方法:使用了Q5 DNA聚合酶(新英格兰生物实验室(New England Biolabs))以进行DNA扩增。从集成DNA技术公司(Integrated DNA technologies)获得了DNA寡核苷酸。通过金门组装方法(Golden Gate assembly method)构建了构建体。使用质粒加中提试剂盒(凯杰公司(Qiagen))或ZymoPURE小提试剂盒(Zymo研究公司(Zymo Research))对用于哺乳动物细胞实验的载体进行了纯化。

[0288] 一般哺乳动物细胞培养:使HEK293T细胞(ATCC CRL-3216)在杜氏改良Eagle培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium,DMEM)加补充有10%(v/v)胎牛血清(Gibco)和抗生素抗霉菌溶液(赛默飞世尔科技公司(ThermoFisher Scientific))(DMEM+)的GlutaMAX(赛默飞世尔科技公司)中培养并传代。在37℃下用5% CO2培养细胞。

[0289] 转染:将HEK293T细胞接种在96孔多聚-d-赖氨酸涂覆的板(康宁公司(Corning))上。接种之后大约24小时,用Opti-MEM(Gibco)替代了培养基,并且根据制造商的方案用0.8ul Lipofectamine 2000(赛默飞世尔科技公司)和400总质粒DNA转染了每个细胞。在转染后6小时与8小时之间用DMEM+替代培养基。

[0290] AAV包装、收获和转导:使HEK293T细胞经受用于通过共转染三种质粒,即Rep/Cap质粒、含有腺病毒基因的辅助质粒和含有旨在用于侧接反向末端重复序列的包装的货物的转移质粒来产生AAV的三重转染方法。使用支化聚乙烯亚胺(PEI)以25,000的平均分子量(西格玛公司(Sigma)408727)进行转染。转染之后三天,收获细胞并且使用AAVpro纯化试剂盒Maxi(Takara 6666)对细胞进行纯化。通过qPCR在CFX96实时系统(Bio-Rad公司(Bio-

Rad))上使用SsoAdvanced Universal SYBR Green超混合物(Bio-Rad公司)测定经纯化的AAV原液的滴度。将BFP表达HEK293细胞与相等数量的AAV-A和AAV-B病毒颗粒共转导,并且在通过流式细胞术转导之后96-120小时测定对BFP到GFP的编辑。

[0291] 流式细胞术:转染后48小时,去除培养基并且将细胞用0.05%胰蛋白酶/EDTA(Gibco)脱离。用DMEM+使胰蛋白酶中性化,并且将悬浮的细胞置入圆底96孔板中。使用了Attune NxT流式细胞仪(赛默飞世尔科技公司)来分析每个孔30,000个细胞的荧光。

[0292] 高通量基因组DNA测序:从基因组DNA样品扩增所关注基因组位点并且在因美纳公司(Illumina)MiSeq上对所关注基因组位点进行测序。对第一轮PCR(PCR 1)使用了包括因美纳公司正向和反向衔接子的扩增引物以扩增所关注基因组区。用0.5μM每种正向和反向引物、1μl基因组DNA提取物和12.5μl Phusion U Green Multiplex PCR主混合物进行了PCR 1反应(25μl)。PCR反应如下进行:98℃持续2分钟,然后[98℃持续10秒、61℃持续20秒和72℃持续30秒]进行30次循环,之后最终72℃延伸持续2分钟。在二级PCR反应(PCR 2)中向每种样品添加唯一因美纳公司加条形码引物对。具体地,25μl给定PCR 2反应含有0.5μM每种唯一正向和反向因美纳公司加条形码引物对、1μl未经纯化的PCR 1反应混合物和12.5μl的Phusion U Green Multiplex PCR 2主混合物。加条形码PCR 2反应如下进行:98℃持续2分钟,然后[98℃持续10秒、61℃持续20秒和72℃持续30秒]进行12次循环,之后最终72℃延伸持续2分钟。在1.5%琼脂糖凝胶中通过电泳在分析上评估PCR产物。使用QIAquick凝胶提取试剂盒(凯杰公司)用1.5%琼脂糖凝胶通过电泳对PCR 2产物(通过共同扩增子汇集)进行纯化,用40μl水洗脱。通过荧光定量(Qubit,赛默飞世尔科技公司)或qPCR(KAPA文库定量试剂盒-因美纳公司,KAPA生物系统公司(KAPA Biosystems))测量DNA浓度,并且在因美纳MiSeq仪器上根据制造商的方案进行测序。使用MiSeq Reporter(因美纳公司)对测序读段进行多路复用。

[0293] 使用CRISPResso243对扩增子序列与参考序列进行比对。为了进行全先导编辑产率定量,如下计算先导编辑效率:(具有期望的编辑的不含有插入缺失的读段的数量)/(总读段的数量)的百分比。对于点突变编辑的定量,使CRISPResso2在标准模式下在“丢弃_插入缺失_读段”作用的情况下运行。然后如下明确计算用于安装点突变的先导编辑:(未丢弃的读段中的特定点突变的频率) Å~ (未丢弃的读段的数量)/(总读段)。对于插入或缺失编辑,使CRISPResso2在HDR模式下使用期望等位基因作为预期等位基因(e flag)并且在“丢弃_插入缺失_读段”作用的情况下运行。编辑产率如下计算:(HDR比对的读段的数量)/(总读段)。插入缺失产率如下计算:(包括插入缺失的读段的数量)/(总读段)。

[0294] 转染之后36小时,将细胞用0.05%胰蛋白酶脱离,旋转减慢、用PBS洗涤并且再次旋转减慢。将细胞团粒重悬在10ul QuickExtract(卢西根公司(Lucigen))中并且在65℃下温育持续6分钟。然后将样品涡旋15秒并且在98℃下温育2分钟。将10ul无核酸酶的水溶液添加到每种样品。使用4ul样品作为模板以用Q5聚合酶和含有被设计成扩增所关注基因组区的因美纳衔接子的引物进行PCR。然后在37℃用Exo-CIP(NEB)处理样品,持续1小时。用Qubit(赛默飞世尔科技公司)测量DNA浓度,并且将样品送到金唯智公司(Genewiz)以使用扩增子-EZ服务进行测序。使用了PE分析仪(http://www.rgenome.net/pe-analyzer)来分析高通量测序数据。将未用任何基因组编辑组分转导的对照样品中的最高频率变体设置为检测阈值,并且丢弃低于此频率的任何变体。安装2298T>C突变的效率明确计算为(仅含有

2298T>C突变的读段的数量+仅含有2298T>C和2316C>A突变的读段的数量)/(以高于检测阈值的频率存在的等位基因的读段的总数量)。

[0295] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术术语具有与本发明所属领域的技术人员通常所理解的相同的含义。如本说明书和所附权利要求书所用,除非上下文另有明确规定,否则单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“所述”包含多个提及物。除非另外说明,否则本文对“或”的任何参考旨在涵盖“和/或”。

[0296] 每当术语“至少”、“大于”或“大于或等于”在一系列两个或更多个数值中的第一个数值之前,术语“至少”、“大于”或“大于或等于”适用于所述一系列数值中的每个数值。例如,大于或等于1、2或3等同于大于或等于1、大于或等于2、或大于或等于3。

[0297] 每当术语“不超过”、“小于”、“小于或等于”或“至多”在一系列两个或更多个数值中的第一个数值之前时,术语“不超过”、“小于”或“小于或等于”适用于所述一系列数值中的每个数值。例如,小于或等于3、2或1等同于小于或等于3、小于或等于2、或小于或等于1。

[0298] 在值被描述为范围的情况下,应当理解,此类公开包含此类范围内所有可能的子范围的公开,以及落入此类范围内的特定数值,无论是特定数值或特定子范围是明确规定的。

[0299] 实例

[0300] 以下实例对本文所述的装置、方法、系统和试剂盒来说是说明性的且非限制性的。

[0301] 实例1

[0302] 基因组编辑效率测定

[0303] 此实例描述了基因组编辑效率测定。通过测量编辑蓝色荧光蛋白(BFP)基因以产生绿色荧光蛋白(GFP)的频率确定了基因组编辑构建体的精度编辑速率。具体地,在含有10%胎牛血清(FBS)的DMEM中将具有基因组整合的BFP基因的30,000HEK293T细胞接种在96孔经多聚-d-赖氨酸处理的板中。12-24小时之后,用opti-mem培养基代替培养基。使用了Lipofectamine 2000来转染编码基因组编辑组分的质粒。将含有总共400纳克质粒DNA的25微升opti-mem添加到含有0.8微升Lipofectamine 2000的25微升opti-mem。20分钟之后,将50微升混合物逐滴添加到含有细胞的孔。6小时之后,用含有10% FBS的DMEM代替培养基。36-60小时之后使用Attune NxT流式细胞仪测量GFP和BFP水平。

[0304] 实例2

[0305] 分割nCas9逆转录酶构建体的编辑效率

[0306] 此实例描述了分割nCas9逆转录酶构建体的编辑效率。制备了编码融合的nCas9-mlvRT或分割nCas9-RT和gRNA的质粒,并且如实例1中所述转染了所述质粒。测量每个构建体的编辑效率。图1示出了包括nCas9和莫洛尼氏白血病病毒RT(mlvRT)的融合的Cas9切口酶(nCas9)逆转录酶(RT)构建体(“nCas9-mlvRT”)以及分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体(“mlvRT分割拼接体”)的编辑效率。分割拼接体可以被称为Rewriter(例如,RWb1)或反之亦然。在一些情况下,分割拼接体可以包含Rewriter(例如,RWb1)或Rewriter组分。在一些情况下,Rewriter可以包含分割拼接体或分割拼接体组分。mlvRT分割拼接体可以为Rewriter的组分的实例(例如,RWb1)。分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体包括位于离散多肽链上的nCas9-LZ1(SEQ ID NO:1,NLS-SpCas9(H840A)-NLS-EE12RR345L(亮氨酸拉链))和LZ2-mlvRT(SEQ ID NO:2,RR12EE345L(亮氨酸拉链)-mlvRTv(nCas9-mlvRT(D200N、L603W、

T306K、W313F、T330P)-NLS)。nCas9-LZ1包括SpCas9(SEQ ID NO:32)和C末端亮氨酸拉链(SEQ ID NO:23),所述C末端亮氨酸拉链与包括mlvRT(SEQ ID NO:13)和N末端亮氨酸拉链(SEQ ID NO:24)的LZ2-mlvRT通过亮氨酸拉链异二聚化。nCas9-mlvRT构建体的示意图在附图的顶部提供。分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体示出了改进的编辑效率(约38%效率),所述改进的编辑效率为融合的nCas9-RT构建体(约21%效率)的编辑效率的几乎两倍。

[0307] 图11A示出了先导编辑器2系统("PE2",顶部)、分割先导编辑器2系统("分割PE2",中间)和具有两个亮氨酸拉链的分割拼接体构建体("分割拼接体",底部)的结构域布置。右侧为分割拼接体构建体的结构示意图,其包括由两个亮氨酸拉链(LZ1和LZ2)连接的与向导核酸复合的Cas9切口酶(nCas9)和逆转录酶(RT)。分割拼接体分割nCas9-LZ1和LZ2-mlvRT构建体包括位于离散多肽链上的nCas9-LZ1(SEQ ID NO:1,NLS-SpCas9(H840A)-NLS-EE12RR345L(亮氨酸拉链))和LZ2-mlvRT(SEQ ID NO:2,RR12EE345L(亮氨酸拉链)-mlvRTv(nCas9-mlvRT(D200N、L603W、T306K、W313F、T330P)-NLS)。

[0308] 实例3

[0309] gRNA发夹插入物对逆转录酶募集的影响

[0310] 此实例描述了gRNA发夹插入物对编辑效率的影响。制备了编码融合的nCas9-mlvRT或分割nCas9和mcp-RT和gRNA的质粒,并且如实例1中所述转染了所述质粒。在存在pegRNA的情况下测量了融合的nCas9-RT的编辑效率。在存在具有嵌入在支架(gRNA 2.0)中的发夹或具有定位在支架之后的不同长度的发夹(1xlongMS2、1xshortMS2或2xshortMS2)的三种不同gRNA的情况下测量了分割nCas9-RT的编辑效率。图2示出了融合的nCas9-RT构建体("nCas9-mlvRT")以及包括nCas9和与逆转录酶(SEQ ID NO:27)融合的mcp肽的分割nCas9和mcp-mlvRT构建体("mcp-mlvRTv")的编辑效率。mcp肽与MS2 RNA发夹相互作用。用不同向导RNA(gRNA)构建体对分割nCas9和mcp-mlvRT构建体的效率进行了测试,所述不同gRNA构建体包含gRNA2.0(SEQ ID NO:31)、具有长MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:28,"gRNA-1xlongMS2")、具有短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:29,"gRNA-1xshortMS2")或具有两个短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:30,"gRNA-2xshortMS2")。具有1xlongMS2发夹的gRNA和具有1xshortMS2发夹的gRNA示出了优于gRNA 2.0的编辑效率。

[0311] 图11B示出了图11A中展示的具有不同gRNA的构建体的编辑效率。以被编辑成将BFP转化为GFP的细胞的百分比为单位(GFP+%)测量了编辑效率。用不同向导RNA(gRNA)构建体测试了编辑效率,所述不同gRNA构建体包含gRNA 2.0(SEQ ID NO:31)、具有长MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:28,"gRNA-1xlongMS2")、具有短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:29,"gRNA-1xshortMS2")或具有两个短MS2发夹的gRNA(SEQ ID NO:30,"gRNA-2xshortMS2")。分割拼接体构建体(在此实例中为RWb1)示出了优于先导编辑器2(PE2)构建体的编辑效率。

[0312] 实例4

[0313] 逆转录酶进行性增加的分割nCas9-RT构建体

[0314] 此实例描述了逆转录酶进行性增加的分割nCas9-RT构建体。实例2中所述的分割nCas9-RT构建体被进一步工程化成增加逆转录酶聚合酶功能的进行性。具有增加的进行性的逆转录酶能够催化单个结合事件中比实例2中提供的逆转录酶更连续的磷酸二酯键的形成。增加的进行性促进了更长模板序列的逆转录并且可以实现在基因组的靶位点处对更长序列的编辑。测试了有具有增加的进行性的逆转录酶的三个分割nCas9-RT构建体的编辑效

率。

[0315] 图3示出了包括具有增加的转录进行性的经修饰的逆转录酶的不同分割nCas9-RT构建体的编辑效率。对构建体进行了测试，所述构建体包括nCas9和来自嗜热脂肪地芽孢杆菌(GsI-IICRT，SEQ ID NO:3)、直肠真杆菌(ErRT，SEQ ID NO:4)的逆转录酶以及来自R2多蛋白的氨基酸116-1016(R2(116-1016)、SEQ ID NO:7)。GsI-IICRT逆转录酶(“拼接RT”)的示意图被示出为与图1和图2中使用的mlvRT逆转录酶相比较。分割拼接体R2(116-1016)示出了包括具有测试的增加的转录进行性的经修饰的逆转录酶的三个分割nCas9和RT构建体的最高编辑效率。

[0316] 实例5

[0317] 提高单链断裂处的编辑效率的gRNA

[0318] 此实例描述了用于提高单链断裂处的编辑效率的gRNA。gRNA被设计成通过在gRNA的3’端处并入第二链引物来提高单链断裂处的编辑效率。所述第二链引物引发了使用新合成的第一链作为模板进行的第二链的合成。引发第二链合成促进了在未形成双链断裂的情况下合成的序列插入到单链断裂的位点中。形成双链断裂可以提高不期望产物形成的速率。

[0319] 图4A展示了用于使用本公开的经工程化的gRNA(“拼接向导”)进行基因组编辑的方法。在一些情况下，拼接向导可以包含Rewriter(例如，Rewriter 3.0、Rewriter 3.1或Rewriter 3.2)或Rewriter组分。在一些情况下，Rewriter可以包含拼接向导或拼接向导组分。与gRNA复合的nCas9-RT构建体通过gRNA的间隔子与靶位点杂交被再募集到靶核酸的靶位点。nCas9在靶位点处对靶核酸的链造切口。gRNA的第一链引物结合位点与瓣在切口的5’处杂交。RT使用gRNA的逆转录酶模板区作为模板从瓣的3’端开始聚合。第二链引物(“第2链引物”)在gRNA的3’端处与新合成的DNA链的3’端杂交。4-300bp第二链引物区充当用于合成第二DNA链的RNA引物。RT使用新合成的DNA链作为模板从gRNA的3’端开始聚合。gRNA的3’端上的核酶在第二链引物序列的3’处切割gRNA。新合成的双链DNA可以在切口的位点处并入到靶核酸中。

[0320] 图4B示出了nCas9-RT构建体使用pegRNA gRNA或拼接向导gRNA的编辑效率。pegRNA和拼接向导gRNA的示意图在左侧示出。相对于缺乏第二链引物的pegRNA，在拼接向导gRNA中包括第二链引物改进编辑效率。此测定中使用了融合的nCas9-mlvRTv构建体。

[0321] 在第二测定中，测试了第二链引物长度和结合位点对分割nCas9-RT构建体的编辑效率的影响。第二链引物的长度以及第二链引物的结合位置相对于单链断裂的位置有所变化。图5A示出了具有不同gRNA的融合的nCas9-RT构建体(“nCas9-mlvRTv”)的编辑效率，所述不同gRNA包括定位在第一链引物结合位点的5’端的3’方向的6nt、36nt或55nt处(“距切口的nt”)处的长度为20个核苷酸(nt)、40nt或60nt的第二链引物(SSP)。缺乏第二链引物的gRNA作为对照进行了测试。所有gRNA序列均包括hdv核酶(SEQ ID NO:25)。图5B示出了具有不同gRNA的nCas9-RT(“nCas9-R2(116-1016)”)的编辑效率，所述不同gRNA包括定位在第一链引物结合位点的5’端的3’方向的6nt、36nt或55nt处(“距切口的nt”)的长度为20个核苷酸(nt)、40nt或60nt的第二链引物(SSP)。缺乏第二链引物的gRNA作为对照进行了测试。在nCas9-mlvRTv以及nCas9和R2构建体两者的情况下，相比于具有较长第二链引物的其它gRNA，具有较短(例如，20nt)第二链引物的gRNA示出了改进的编辑效率。

[0322] 实例6

[0323] 用于改进编辑的双向导系统

[0324] 此实例描述了用于改进编辑的双向导系统。将包括靶向相对链上紧密接近的两个靶位点的两个gRNA的双向导系统引入到细胞中。每个gRNA将nCas9-RT构建体募集到相应靶位点，这促进了每个靶位点处的单链断裂。两个gRNA融合以改进递送并确保共定位到两个靶位点。

[0325] 图6展示了使用具有nCas9-RT的两个gRNA系统进行基因组编辑的四个示意图。在两个向导各自产生经编辑的链的两个单向导系统中(上部左侧)，每个gRNA与不同nCas9结合，并且两个gRNA各自包括逆转录酶模板区和引物结合位点(PBS)区。在第二向导对相对链造切口的两个单向导系统中(上部右侧)，每个gRNA与不同nCas9结合，并且gRNA中的仅一个gRNA包括逆转录酶模板区和引物结合位点(PBS)区。在两个向导各自包括逆转录酶模板区和引物结合位点(PBS)区的双向导复合物系统中(底部左侧)，第一gRNA的间隔子与第一nCas9结合，第二gRNA的间隔子与第二nCas9结合，第一gRNA的支架与第二nCas9结合，并且第二gRNA的支架与第一nCas9结合；并且两个gRNA各自包括逆转录酶模板区和引物结合位点(PBS)区。在第二向导对相对链造切口的双向导复合物系统中(底部左侧)，第一gRNA的间隔子与第一nCas9结合，第二gRNA的间隔子与第二nCas9结合，第一gRNA的支架与第二nCas9结合，并且第二gRNA的支架与第一nCas9结合；并且gRNA中的仅一个gRNA包括逆转录酶模板区。

[0326] 图7展示了用于提高基因编辑的效率的方法。第二向导对相对链造切口的两个单向导系统或第二向导对相对链造切口的双向导复合物系统，相对链上的切口促进新合成的DNA并入到靶核酸中。第二向导产生与第一新合成链中的区反向互补的瓣。第一合成链充当用于第二链合成的模板。

[0327] 通过将终止密码子引入到编码蓝色荧光蛋白的靶核酸中测量了两个gRNA系统的编辑效率。除了通过缺乏BFP荧光来鉴定成功编辑之外，如实例1中所述的进行了测定。图10示出了如图7中展示的两个gRNA系统的编辑效率。测量了仅细胞(无gRNA)、单独gRNA(缺乏3'延伸的gRNA 2、不具有短线的gRNA 1和具有短线的gRNA 1)和两个gRNA(不具有短线的gRNA 1加上gRNA 2以及具有短线的gRNA 1和gRNA 2)的编辑效率，如通过对BFP为负的细胞的百分比(“BFP-%”)测量的。相比于单独的gRNA系统，两个gRNA系统提高了编辑效率。相比于在gRNA 1中缺乏短线的两个gRNA系统，在两个gRNA系统中在gRNA 1中存在短线提高了编辑效率。

[0328] 实例7

[0329] 用于改进编辑的gRNA Velcro

[0330] 此实例描述了用于改进编辑的gRNA Velcro。包括Velcro区的gRNA通过促进gRNA与靶核酸中的在切口的5'处形成的瓣之间的相互作用改进了链形成的效率。Velcro区定位在逆转录酶模板区的5'处或第一链引物分箱位点的3'处。gRNA Velcro插入与实例2-实例5中提供的单向导系统或实例6中提供的双向导系统可相容。

[0331] 图8A展示了包括用于通过在3'延长向导RNA内产生反向互补区加速引物结合位点和瓣杂交的速率的Velcro区的gRNA。Velcro区包括定位在逆转录酶模板区的5'处的与gRNA的位于第一链引物结合位点的5'处的区反向互补的5个至200个核苷酸。图8B展示了包括用

于通过在3'延长向导RNA内产生反向互补区加速引物结合位点和瓣杂交的速率的Velcro区的gRNA。Velcro区包括定位在第一链引物结合位点的3'处的与位于逆转录酶模板区的5'处的区反向互补的5个至100个核苷酸。

[0332] 图12A展示了不具有(左侧)或具有(中间和右侧)用于加速引物结合位点(PBS)与靶核酸的瓣杂交的速率的Velcro区的gRNA构建体。在V1布置中,Velcro区可以定位在gRNA的5'端处或附近并且可以与gRNA的区在引物结合位点的5'处杂交("Velcro V1",中间)。在V2布置中,Velcro区可以定位在引物结合位点的3'处并且可以与gRNA的区在5'端处或附近杂交("Velcro V2",右侧)。

[0333] 图12B展示了图12A中提供的gRNA构建体的预测的三维结构。缺乏Velcro区的gRNA在左侧示出,包括Velcro V1区或Velcro V2区的gRNA分别在中间图和右图中示出。

[0334] 图9A示出了nCas9-LZ1和LZ2-mlvRTv构建体在如图8A和图8B中所展示的包括Velcro区的gRNA构建体的情况下的编辑效率。使用缺乏Velcro区("无Velcro")、定位在逆转录酶模板区的5'处的空位长度为1nt、5nt或10nt的15nt Velcro区("V1",如图8A所展示的)或定位在第一链引物结合位点的3'处的长度为10nt或20nt的Velcro区("V2",如图8B所展示的)的gRNA对编辑效率进行了比较。gRNA含有107个核苷酸RT模板和13个核苷酸引物结合位点。进行了编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸突变为CATA。图9B示出了nCas9-LZ1和LZ2-R2(116-1016)构建体在如图8A和图8B中所展示的包括Velcro区的gRNA构建体的情况下的编辑效率。使用缺乏Velcro区("无Velcro")、定位在逆转录酶模板区的5'处的空位长度为1nt、5nt或10nt的介于Velcro结合位点的结束与引物结合位点的开始之间的15nt Velcro区("V1",如图8A所展示的)或定位在第一链引物结合位点的3'处的长度为10nt或20nt的Velcro区("V2",如图8B所展示的)的gRNA对编辑效率进行了比较。在两个nCas9-RT构建体的情况下,包括Velcro区的某些gRNA提高了编辑效率。具体地,具有1nt空位的V1 Velcro gRNA和20nt Velcro gRNA改进了nCas9-mlvRTv构建体中的编辑效率,并且具有10nt空位的V1 Velcro gRNA和20nt V2 Velcro gRNA改进了nCas9-R2构建体中的编辑效率。

[0335] 图12C示出了具有129个核苷酸RT模板和13个核苷酸引物结合位点以及20个核苷酸Velcro区的gRNA的编辑效率。进行了编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸突变为CAT。将原始gRNA("原始编码")或再编码有位于RT模板中的用于去除二级结构的沉默突变的gRNA("再编码的")的编辑效率进行了比较。相对于原始RT模板,使用沉默突变去除二级结构改进了编辑效率。另外,使用包括Velcro区的gRNA允许在距切口位点65个核苷酸的距离处进行有效编辑。

[0336] 图12D示出了具有不同长度的Velcro序列的gRNA的编辑效率。每个gRNA以5'到3'的次序含有RT模板、引物结合位点和Velcro区,如左侧的示意图中所示。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比(GFP+%)为单位进行了测量。gRNA具有129个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点。进行了编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸突变为CAT。相比于测试的其它gRNA,具有定位在3'端处的不具有空位的20个核苷酸Velcro区的gRNA示出了更高编辑效率。

[0337] 实例8

[0338] 共递送用于改进编辑系统递送的保护性复合物

[0339] 此实例描述了用于改进本文提供的编辑系统的递送的保护性复合物的共表达。将本文提供的nCas9-RT构建体和本文提供的gRNA递送到细胞。使nCas9-RT和gRNA与编码保护性蛋白质复合物的开放阅读框序列共表达。在细胞中表达保护性蛋白质复合物，从而防止gRNA的降解或脱氨基，由此改进编辑系统的递送。开放阅读框序列为人Orf1p(SEQ ID NO:38)或鼠Orf1p(SEQ ID NO:39)。

[0340] 实例9

[0341] 利用具有Velcro区和第二链引物的gRNA改进的编辑效率

[0342] 此实例描述了利用具有Velcro区和第二链引物的gRNA改进的编辑效率。gRNA被设计成通过在gRNA的3'端处并入第二链引物并且在第二链引物的5'处并入Velcro区来提高在单链断裂处进行编辑的效率。所述第二链引物引发了使用新合成的第一链作为模板进行的第二链的合成。引发第二链合成促进了在未形成双链断裂的情况下合成的序列插入到单链断裂的位点中。Velcro区通过促进gRNA在靶核酸中的切口的5'处形成的瓣之间的相互作用改进了链形成的效率。

[0343] 图13A展示了pegRNA和包括Velcro区和第2链引物的拼接gRNA的示意图(顶部)以及使用拼接gRNA进行基因组编辑的方法(底部)。与gRNA复合的nCas9-RT构建体通过gRNA的间隔子与靶位点杂交被再募集到靶核酸的靶位点。nCas9在靶位点处对靶核酸的链造切口。gRNA的第一链引物结合位点与瓣在切口的5'处杂交。RT使用gRNA的逆转录酶模板区作为模板从瓣的3'端开始聚合。第二链引物(“第2链引物”)在gRNA的3'端处与新合成的DNA链的3'端杂交。4-200bp第二链引物区充当用于合成第二DNA链的RNA引物。RT使用新合成的DNA链作为模板从gRNA的3'端开始聚合。gRNA的3'端上的核酶在第二链引物序列的3'处切割gRNA。新合成的双链DNA可以在切口的位点处并入到靶核酸中。

[0344] 图13B示出了不同长度并且在距切口位点的不同距离处杂交的gRNA第二链引物(SSP)的编辑效率。对定位在距切口6个、36个或55个核苷酸处的20个、40个或60个核苷酸(nt)长的第二链引物进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。

[0345] 图13C示出了不具有Velcro区或第二链引物(“无velcro、无SSP”)、具有19个核苷酸Velcro区(“19nt velcro”)或具有19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物两者(“19nt velcro、20nt SSP”)的gRNA的编辑效率。相比于缺乏Velcro区和第二链引物的gRNA或含有Velcro区但不含有第二链引物的gRNA，在使用含有Velcro区和第二链引物两者的gRNA时编辑效率提高。来自单个切口的使用含有Velcro区和第二链引物两者的gRNA实现的编辑效率为54%，这高于对来自单个切口的编辑效率的50%的预测限制。

[0346] 实例10

[0347] 被工程化成提高编辑效率的逆转录酶蛋白

[0348] 此实例描述了被工程化成提高编辑效率的逆转录酶蛋白。在mlvRT构建体中进行了点突变以改进编辑效率。使用经突变的构建体测量了编辑效率。

[0349] 图14A示出了对mlvRT逆转录酶中的突变进行的筛选的结果和其对编辑效率的影响。突变是在含有五个点突变(D200N、l603W、T330P、T306K和W313F，SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如，SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有Y8H、P51L、S56A、S67R、E69K、Q84A、

F155Y、T197A、H204R、T246E、N249D、E286R、Q291I、R301L、E302K、F309N、M320L、L435G、D524A、D524G、D524N、E562D、K571R、D583N、Y586S、H594Q、H638G、D653N、T664N或L671P单个点突变(分别为SEQ ID NO:41-SEQ ID NO:70)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、1个核苷酸空位、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。相比于SEQ ID NO:40,含有Q84A(SEQ ID NO:46)、T197A(SEQ ID NO:48)、D653N(SEQ ID NO:68)、T664N(SEQ ID NO:69)或L671P(SEQ ID NO:70)的突变体示出了显著提高的编辑效率。

[0350] 图14B示出了对mlvRT逆转录酶中的突变的组合进行的筛选的结果和其对编辑效率的影响。突变是在含有五个点突变(D200N、1603W、T330P、T306K和W313F,SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如,SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有T197A和D653N;T197A和T664N;T197A和L671P;T197A、D653N、T664N和L671P;或P51L、S67R、T197A、H204R、L435G、D524A、D653N、T664N和L671P(分别为SEQ ID NO:71-SEQ ID NO:75)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。含有P51L、S67R、T197A、H204R、L435G、D524A、D653N、T664N和L671P点突变(SEQ ID NO:75)的构建体示出了测试的构建体中的最高编辑效率。

[0351] 图15C示出了mlvRT逆转录酶构建体的编辑效率。突变是在含有五个点突变(D200N、1603W、T330P、T306K和W313F,SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如,SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有V223A;V223M;Q221R和V223A;或Q221R和V223M(SEQ ID NO:77-SEQ ID NO:80)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有129个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸,突变为CAT。V223A点突变提高了在相对于切口位点的距离处的编辑效率。

[0352] 实例11

[0353] 增加dNTP提高编辑效率的可用性

[0354] 此实例描述了用于增加dNTP在细胞中提高Cas9-RT构建体的编辑效率的可用性的方法。可能促成细胞中的低编辑效率的一个因素是dNTP的有限的可用性。图15A展示了增加dNTP在细胞中提高编辑效率的可用性的方法。在缺乏CDK1的非分裂细胞中,非磷酸化的SAMHD1切割dNTP,这增加了细胞中的可用dNTP。在分裂细胞中,CDK1使SAMHD1磷酸化,从而防止SAMHD1切割dNTP并且引起dNTP在细胞中的可用性增加。SAMHD1(T592A)中的单点突变通过CDK1防止SAMHD1磷酸化,从而引起在组成上有活性的SAMHD1和dNTP在细胞中的低可用性。使用了T592A突变体SAMHD1以在图15B、图15D和图15E中示出的测定中诱导低dNTP环境。Vpx的添加抑制SAMHD1,从而使dNTP在细胞中的可用性增加。为了测试低细胞dNTP对编辑效

率的影响,使在组成上有活性的SAMHD1与Cas9-RT构建体共表达,并且测量编辑效率。

[0355] 图15B示出了mlvRT逆转录酶构建体在存在或不存在在组成上有活性的SAMHD1(SAMHD1(T592A))的情况下降低dNTP在细胞中的可用性的编辑效率。突变是在含有五个点突变(D200N、l603W、T330P、T306K和W313F,SEQ ID NO:40)的参考mlvRT构建体中进行的。相对于缺乏N末端甲硫氨酸(例如,SEQ ID NO:14)的mlvRT构建体对氨基酸残基进行计数。相对于SEQ ID NO:40对含有Q221R;V223A;V223M;Q221R和V223A;或Q221R和V223M(SEQ ID NO:76-SEQ ID NO:80)的mlvRT构建体进行了测试。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA。组成上有活性的SAMHD1的表达降低了所有测试的构建体的编辑效率。

[0356] 为了挽救表达在组成上有活性的SAMHD1的细胞中的编辑效率,还在细胞中表达Vpx肽(SEQ ID NO:82)。图15D示出了mlvRT逆转录酶在存在或不存在在组成上有活性的SAMHD1(SAMHD1(T592A))的情况下降低dNTP在细胞中的可用性并且在具有或不具有Vpx(SEQ ID NO:82)的情况下抑制SAMHD1的编辑效率。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA的位点。

[0357] 图15E示出了mlvRT逆转录酶在存在或不存在在组成上有活性的SAMHD1(SAMHD1(T592A))的情况下降低dNTP在细胞中的可用性并且在具有或不具有Vpx(SEQ ID NO:82)的情况下抑制SAMHD1的编辑效率。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有129个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸,突变为CAT。Vpx在细胞中的表达提高了表达在组成上有活性的SAMHD1的细胞和不表达在组成上有活性的SAMHD1的细胞两者中的编辑效率。另外,Vpx提高了在距缺口位点短距离(图15D)和距缺口位点长距离(图15E)的位点处的编辑效率。

[0358] 实例12

[0359] 用于分割Cas9构建体的细胞表达的内含肽

[0360] 此实例描述了使用用于Cas9构建体的细胞表达的内含肽。在第一测定中,进行了对切口Cas9(nCas9)点突变的筛选以鉴定nCas9的C末端部分中有利于半胱氨酸残基的取代的位置。在通过亮氨酸拉链连接的nCas9-RT构建体的上下文中筛选了半胱氨酸点突变。半胱氨酸在不同点处被插入到nCas9的C末端部分中以产生半胱氨酸残基朝向nCas9和逆转录酶组合序列的中间定位的构建体。半胱氨酸残基被定位成使得Cas9蛋白的从N末端直到插入的半胱氨酸的部分和Cas9蛋白的从并且包含插入的半胱氨酸到C末端加上逆转录酶的部分中的每一个小到足以在表达为内含肽融合时装配在AAV载体内。将与nCas9-RT半胱氨酸突变体连接的亮氨酸拉链的编辑效率进行比较。

[0361] 图16示出了针对切口活性进行修饰并且通过亮氨酸拉链与逆转录酶连接的Cas9构建体的编辑效率。酿脓链球菌Cas9("SpCas9")构建体含有用于产生Cas9切口酶(nCas9)的H840A突变。在D1079C、S1173C或D1180C处将半胱氨酸残基引入到Cas9切口酶中,以使

Cas9能够分割成用于表达为外显肽-内含肽融合的分割内含肽Cas9(iCas9)。含有H840A和D1079C(SEQ ID NO:85,具有亮氨酸拉链)、H840A和S1173C(SEQ ID NO:86,具有亮氨酸拉链)、或H840A和D1180C(SEQ ID NO:87,具有亮氨酸拉链)点突变并且与mlvRT5M(SEQ ID NO:40,具有亮氨酸拉链)连接的亮氨酸拉链Cas9构建体进行了测试。含有H840A突变但不含有另外的半胱氨酸(SEQ ID NO:84,具有亮氨酸拉链)的与mlvRT5M(SEQ ID NO:40,具有亮氨酸拉链)连接的Cas9切口酶用作对照。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA的位点。

[0362] 在第二测定中,利用了在第一测定中鉴定的半胱氨酸点突变以产生分割内含肽Cas9构建体。对包括表达为两个外显肽-内含肽融合的经鉴定的S1173C突变的nCas9-RT融合的编辑效率进行了测试。nCas9-RT融合含有具有S1173C点突变(SEQ ID NO:86)的与融合mlvRT5M(SEQ ID NO:40)的nCas9。融合蛋白的第一段表达为第一质粒载体中的第一内含肽融合nCas9(1-1172)-Npu N内含肽(SEQ ID NO:90),并且融合蛋白的第二段表达为在第二质粒载体中表达的第二内含肽融合Npu C内含肽-nCas9(1173-1368以及S1173C)-mlvRT5M(SEQ ID NO:91)。内含肽结构域的自动催化活性将nCas9(1-1172)外显肽与nCas9(1173-1368以及S1173C)-mlvRT5M外显肽融合并且切割Npu N(SEQ ID NO:88)和Npu C(SEQ ID NO:89)内含肽以形成融合的nCas9(S1173C)-mlvRT5M构建体(SEQ ID NO:92)。在相对于切口位点的两个位置处对分割内含肽nCas9构建体的编辑效率进行了测试。

[0363] 图17A示出了针对切口活性进行修饰、与逆转录酶融合并且表达为两个外显肽-内含肽融合蛋白的分割内含肽Cas9(iCas9)S1173C构建体的编辑效率。nCas9-RT构建体的N末端区表达为nCas9(1-1172)-Npu N内含肽(SEQ ID NO:90),并且nCas9-RT构建体的C末端区表达为Npu C内含肽-nCas9(1173-1368以及S1173C)-mlvRT5M(SEQ ID NO:91)。分割内含肽Cas9-RT构建体(右侧条)的编辑效率与亮氨酸拉链分割Cas9构建体(SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,左侧条)的编辑效率进行了比较。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列,即切口的3'处的起始2个核苷酸,突变为CATA的位点。

[0364] 图17B示出了针对切口活性进行修饰、与逆转录酶融合并且表达为两个外显肽-内含肽融合蛋白的分割内含肽Cas9(iCas9)S1173C构建体的编辑效率。nCas9-RT构建体的N末端区表达为nCas9(1-1172)-Npu N内含肽(SEQ ID NO:90),并且nCas9-RT构建体的C末端区表达为Npu C内含肽-nCas9(1173-1368以及S1173C)-mlvRT5M(SEQ ID NO:91)。分割内含肽Cas9-RT构建体(右侧条)的编辑效率与亮氨酸拉链分割Cas9构建体(SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,左侧条)的编辑效率进行了比较。编辑效率以GFP阳性的细胞的百分比为单位(GFP+%)进行测量。如下进行编辑:使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区和20个核苷酸第二链引物的gRNA对位点进行编辑使得ATG序列,即切口的3'处的起始65个核苷酸,突变为CAT。

[0365] 结果表明分割内含肽Cas9-RT融合构建体示出相比于亮氨酸拉链分割Cas9构建体强大的编辑效率。

[0366] 实例13

[0367] gRNA的用于改进编辑效率的3'修饰

[0368] 此实例描述了gRNA的用于改进编辑效率的3'修饰。可以用紧挨着第二链引物的3'的poly-U序列对具有与模板区100％互补并且定位在3'端处的第二链引物的gRNA进行转录，从而抑制引发功能。为了解决此问题，开发了具有定位在第二链引物的3'处的可切割RNA序列的gRNA以防止在第二链引物的3'端处形成poly-U序列。对具有定位在第二链引物的3'处的HDV自切割核酶或tRNA的gRNA进行了测试。

[0369] HDV自切割核酶自动催化地从gRNA的3'端切割其自身，从而留下没有poly-U序列的第二链引物。HDV核酶在第二链引物的3'端处留下抑制第二链引物的引物延伸的2'3'环状磷酸酯。内源多核苷酸激酶将2'3'环状磷酸酯转化成3'OH，以实现引物延伸。通过内源RNA酶P从第二链引物的3'端切割tRNA，从而留下没有poly-U序列和能够进行引物延伸的3'OH的第二链引物。

[0370] 图18示出了亮氨酸拉链Cas9-RT构建体在存在包括HDV核酶(左侧条)或tRNA(右侧条)的gRNA情况下在gRNA的紧接着所述第二链引物的3'的3'端处的编辑效率。亮氨酸拉链Cas9-RT构建体表达为nCas9-LZ1(SEQ ID NO:1)和LZ2-mlvRT5M(SEQ ID NO:2)并且通过亮氨酸拉链连接。tRNA具有与SEQ ID NO:94相对应的序列。如下进行编辑：使用具有85个核苷酸RT模板、13个核苷酸引物结合位点、19个核苷酸Velcro区、20个核苷酸第二链引物和第二链引物的3'处的HDV核酶或tRNA的gRNA对位点进行编辑使得ATGG序列，即切口的3'处的起始2个核苷酸，突变为CATA。

[0371] 实例14

[0372] GPS辅助的越过gRNA(GARG)和GPS再募集向导(GRG)

[0373] GPS辅助的越过gRNA(GARG)可以改进基因编辑效率，例如在单向导核酸系统将以其它方式产生含有期望的编辑的不足以替代不包含所述编辑的基因组链的瓣的情况下。GARG可以用于促进延伸的瓣到基因组中的杂交并且可以将延伸的瓣的3'端锚定在其旨在替代的基因组链附近。图33描绘了来自双向导系统的数据。两个单独的GARG进行了测试并且成功地引起哺乳动物细胞的靶核酸中的基因编辑。因此，采用包括GARG和GRG的双向导系统的方法可以引起如哺乳动物细胞等细胞中的精确基因组编辑。

[0374] 虽然已经在本文示出并描述了本公开的优选实施例，但是对本领域的普通技术人员而言应当显而易见的是此类实施例仅以举例方式提供。在不背离本公开的情况下，本领域的技术人员现在将想到许多变化、改变和替代。应理解的是，在实践本公开时可以采用在本文描述的本公开的实施例的各种替代方案。预期的是以下权利要求限定本公开的范围以及由此覆盖在这些权利要求和其等效物的范围内的方法和结构。

序列表

<110> 因特利亚治疗公司
<120> 用于定向基因组编辑的方法和组合物
<130> 56385-701.601
<140>
<141>
<150> 63/153,161
<151> 2021-02-24
<150> 63/055,829
<151> 2020-07-23
<150> 62/992,032
<151> 2020-03-19
<160> 144
<170> PatentIn 3.5版
<210> 1
<211> 1460
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 1

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

130 135 140

Ala Tyr His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu
145 150 155 160
Val Asp Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu
165 170 175
Ala His Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu
180 185 190
Asn Pro Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln
195 200 205
Thr Tyr Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val
210 215 220
Asp Ala Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg Arg Leu
225 230 235 240
Glu Asn Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly Leu Phe
245 250 255
Gly Asn Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe Lys Ser
260 265 270
Asn Phe Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asp Thr
275 280 285
Tyr Asp Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp Gln Tyr
290 295 300
Ala Asp Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile Leu Leu
305 310 315 320
Ser Asp Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro Leu Ser
325 330 335
Ala Ser Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu Thr Leu
340 345 350
Leu Lys Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys Glu Ile
355 360 365
Phe Phe Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp Gly Gly
370 375 380
Ala Ser Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu Glu Lys
385 390 395 400
Met Asp Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu Asp Leu
405 410 415
Leu Arg Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His Gln Ile
420 425 430
His Leu Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp Phe Tyr
435 440 445

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

755 760 765

Met Gly Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu

770 775 780

Asn Gln Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys

785 790 795 800

Arg Ile Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu

805 810 815

His Pro Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr

820 825 830

Tyr Leu Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile

835 840 845

Asn Arg Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe

850 855 860

Leu Lys Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys

865 870 875 880

Asn Arg Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys

885 890 895

Met Lys Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln

900 905 910

Arg Lys Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu

915 920 925

Leu Asp Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln

930 935 940

Ile Thr Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys

945 950 955 960

Tyr Asp Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu

965 970 975

Lys Ser Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys

980 985 990

Val Arg Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn

995 1000 1005

Ala Val Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu

1010 1015 1020

Ser Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys

1025 1030 1035

Met Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys

1040 1045 1050

Tyr Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile

1055 1060 1065

Thr Leu Ala Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr
1070 1075 1080
Asn Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe
1085 1090 1095
Ala Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val
1100 1105 1110
Lys Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile
1115 1120 1125
Leu Pro Lys Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp
1130 1135 1140
Trp Asp Pro Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala
1145 1150 1155
Tyr Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys
1160 1165 1170
Lys Leu Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu
1175 1180 1185
Arg Ser Ser Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys
1190 1195 1200
Gly Tyr Lys Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys
1205 1210 1215
Tyr Ser Leu Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala
1220 1225 1230
Ser Ala Gly Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser
1235 1240 1245
Lys Tyr Val Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu
1250 1255 1260
Lys Gly Ser Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu
1265 1270 1275
Gln His Lys His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu
1280 1285 1290
Phe Ser Lys Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val
1295 1300 1305
Leu Ser Ala Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln
1310 1315 1320
Ala Glu Asn Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala
1325 1330 1335
Pro Ala Ala Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg
1340 1345 1350
Tyr Thr Ser Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln

1355 1360 1365
Ser Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu
1370 1375 1380
Gly Gly Asp Gly Ser Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu
1385 1390 1395
Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg
1400 1405 1410
Leu Glu Ile Arg Ala Ala Phe Leu Arg Gln Arg Asn Thr Ala Leu
1415 1420 1425
Arg Thr Glu Val Ala Glu Leu Glu Gln Glu Val Gln Arg Leu Glu
1430 1435 1440
Asn Glu Val Ser Gln Tyr Glu Thr Arg Tyr Gly Pro Leu Gly Gly
1445 1450 1455
Gly Lys
1460

<210> 2
<211> 779
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 2

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

130 135 140

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

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

755 760 765

Ser Glu Phe Glu Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
770 775

<210> 3

<211> 420

<212> PRT

<213> 嗜热脂肪地芽孢杆菌(Geobacilus stereothermophilus)

<400> 3

Met Ala Leu Leu Glu Arg Ile Leu Ala Arg Asp Asn Leu Ile Thr Ala
1 5 10 15

Leu Lys Arg Val Glu Ala Asn Gln Gly Ala Pro Gly Ile Asp Gly Val
20 25 30

Ser Thr Asp Gln Leu Arg Asp Tyr Ile Arg Ala His Trp Ser Thr Ile
35 40 45

His Ala Gln Leu Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Pro Ala Pro Val Arg Arg
50 55 60

Val Glu Ile Pro Lys Pro Gly Gly Gly Thr Arg Gln Leu Gly Ile Pro
65 70 75 80

Thr Val Val Asp Arg Leu Ile Gln Gln Ala Ile Leu Gln Glu Leu Thr
85 90 95

Pro Ile Phe Asp Pro Asp Phe Ser Ser Ser Ser Phe Gly Phe Arg Pro
100 105 110

Gly Arg Asn Ala His Asp Ala Val Arg Gln Ala Gln Gly Tyr Ile Gln
115 120 125

Glu Gly Tyr Arg Tyr Val Val Asp Met Asp Leu Glu Lys Phe Phe Asp
130 135 140

Arg Val Asn His Asp Ile Leu Met Ser Arg Val Ala Arg Lys Val Lys
145 150 155 160

Asp Lys Arg Val Leu Lys Leu Ile Arg Ala Tyr Leu Gln Ala Gly Val
165 170 175

Met Ile Glu Gly Val Lys Val Gln Thr Glu Glu Gly Thr Pro Gln Gly
180 185 190

Gly Pro Leu Ser Pro Leu Leu Ala Asn Ile Leu Leu Asp Asp Leu Asp
195 200 205

Lys Glu Leu Glu Lys Arg Gly Leu Lys Phe Cys Arg Tyr Ala Asp Asp
210 215 220

Cys Asn Ile Tyr Val Lys Ser Leu Arg Ala Gly Gln Arg Val Lys Gln
225 230 235 240

Ser Ile Gln Arg Phe Leu Glu Lys Thr Leu Lys Leu Lys Val Asn Glu

245 250 255
Glu Lys Ser Ala Val Asp Arg Pro Trp Lys Arg Ala Phe Leu Gly Phe
260 265 270
Ser Phe Thr Pro Glu Arg Lys Ala Arg Ile Arg Leu Ala Pro Arg Ser
275 280 285
Ile Gln Arg Leu Lys Gln Arg Ile Arg Gln Leu Thr Asn Pro Asn Trp
290 295 300
Ser Ile Ser Met Pro Glu Arg Ile His Arg Val Asn Gln Tyr Val Met
305 310 315 320
Gly Trp Ile Gly Tyr Phe Arg Leu Val Glu Thr Pro Ser Val Leu Gln
325 330 335
Thr Ile Glu Gly Trp Ile Arg Arg Arg Leu Arg Leu Cys Gln Trp Leu
340 345 350
Gln Trp Lys Arg Val Arg Thr Arg Ile Arg Glu Leu Arg Ala Leu Gly
355 360 365
Leu Lys Glu Thr Ala Val Met Glu Ile Ala Asn Thr Arg Lys Gly Ala
370 375 380
Trp Arg Thr Thr Lys Thr Pro Gln Leu His Gln Ala Leu Gly Lys Thr
385 390 395 400
Tyr Trp Thr Ala Gln Gly Leu Lys Ser Leu Thr Gln Arg Tyr Phe Glu
405 410 415
Leu Arg Gln Gly
420

<210> 4
<211> 427
<212> PRT
<213> 直肠真杆菌(Eubacterium rectale)
<400> 4
Met Asp Thr Ser Asn Leu Met Glu Gln Ile Leu Ser Ser Asp Asn Leu
1 5 10 15
Asn Arg Ala Tyr Leu Gln Val Val Arg Asn Lys Gly Ala Glu Gly Val
20 25 30
Asp Gly Met Lys Tyr Thr Glu Leu Lys Glu His Leu Ala Lys Asn Gly
35 40 45
Glu Thr Ile Lys Gly Gln Leu Arg Thr Arg Lys Tyr Lys Pro Gln Pro
50 55 60
Ala Arg Arg Val Glu Ile Pro Lys Pro Asp Gly Gly Val Arg Asn Leu
65 70 75 80
Gly Val Pro Thr Val Thr Asp Arg Phe Ile Gln Gln Ala Ile Ala Gln

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

Val Ala Ile Ser Asn Lys Arg Leu Ala Ser Phe Gly Leu Ile Ser Met
405 410 415
Leu Asp Tyr Tyr Ile Glu Lys Cys Val Thr Cys
420 425

<210> 5
<211> 427
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:marathonRT序列
<400> 5

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

Ala Asp Asp Cys Ile Ile Met Val Gly Ser Glu Met Ser Ala Asn Arg
225 230 235 240
Val Met Arg Asn Ile Ser Arg Phe Ile Glu Glu Lys Leu Gly Leu Lys
245 250 255
Val Asn Met Thr Lys Ser Lys Val Asp Arg Pro Ser Gly Leu Lys Tyr
260 265 270
Leu Gly Phe Gly Phe Tyr Phe Asp Pro Arg Ala His Gln Phe Lys Ala
275 280 285
Lys Pro His Ala Lys Ser Val Ala Lys Phe Lys Lys Arg Met Lys Glu
290 295 300
Leu Thr Cys Arg Ser Trp Gly Val Ser Asn Ser Tyr Lys Val Glu Lys
305 310 315 320
Leu Asn Gln Leu Ile Arg Gly Trp Ile Asn Tyr Phe Lys Ile Gly Ser
325 330 335
Met Lys Thr Leu Cys Lys Glu Leu Asp Ser Arg Ile Arg Tyr Arg Leu
340 345 350
Arg Met Cys Ile Trp Lys Gln Trp Lys Thr Pro Gln Asn Gln Glu Lys
355 360 365
Asn Leu Val Lys Leu Gly Ile Asp Arg Asn Thr Ala Arg Arg Val Ala
370 375 380
Tyr Thr Gly Lys Arg Ile Ala Tyr Val Cys Asn Lys Gly Ala Val Asn
385 390 395 400
Val Ala Ile Ser Asn Lys Arg Leu Ala Ser Phe Gly Leu Ile Ser Met
405 410 415
Leu Asp Tyr Tyr Ile Glu Lys Cys Val Thr Cys
420 425

<210> 6
<211> 1114
<212> PRT
<213> 家蚕(Bombyx mori)
<400> 6
Met Met Ala Ser Thr Ala Leu Ser Leu Met Gly Arg Cys Asn Pro Asp
1 5 10 15
Gly Cys Thr Arg Gly Lys His Val Thr Ala Ala Pro Met Asp Gly Pro
20 25 30
Arg Gly Pro Ser Ser Leu Ala Gly Thr Phe Gly Trp Gly Leu Ala Ile
35 40 45
Pro Ala Gly Glu Pro Cys Gly Arg Val Cys Ser Pro Ala Thr Val Gly
50 55 60

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

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

Gly Lys Pro Leu Arg Gln Val Ser Cys Val Glu Arg Trp Arg Tyr Leu
690 695 700
Gly Val Asp Phe Glu Ala Ser Gly Cys Val Thr Leu Glu His Ser Ile
705 710 715 720
Ser Ser Ala Leu Asn Asn Ile Ser Arg Ala Pro Leu Lys Pro Gln Gln
725 730 735
Arg Leu Glu Ile Leu Arg Ala His Leu Ile Pro Arg Phe Gln His Gly
740 745 750
Phe Val Leu Gly Asn Ile Ser Asp Asp Arg Leu Arg Met Leu Asp Val
755 760 765
Gln Ile Arg Lys Ala Val Gly Gln Trp Leu Arg Leu Pro Ala Asp Val
770 775 780
Pro Lys Ala Tyr Tyr His Ala Ala Val Gln Asp Gly Gly Leu Ala Ile
785 790 795 800
Pro Ser Val Arg Ala Thr Ile Pro Asp Leu Ile Val Arg Arg Phe Gly
805 810 815
Gly Leu Asp Ser Ser Pro Trp Ser Val Ala Arg Ala Ala Ala Lys Ser
820 825 830
Asp Lys Ile Arg Lys Lys Leu Arg Trp Ala Trp Lys Gln Leu Arg Arg
835 840 845
Phe Ser Arg Val Asp Ser Thr Thr Gln Arg Pro Ser Val Arg Leu Phe
850 855 860
Trp Arg Glu His Leu His Ala Ser Val Asp Gly Arg Glu Leu Arg Glu
865 870 875 880
Ser Thr Arg Thr Pro Thr Ser Thr Lys Trp Ile Arg Glu Arg Cys Ala
885 890 895
Gln Ile Thr Gly Arg Asp Phe Val Gln Phe Val His Thr His Ile Asn
900 905 910
Ala Leu Pro Ser Arg Ile Arg Gly Ser Arg Gly Arg Arg Gly Gly Gly
915 920 925
Glu Ser Ser Leu Thr Cys Arg Ala Gly Cys Lys Val Arg Glu Thr Thr
930 935 940
Ala His Ile Leu Gln Gln Cys His Arg Thr His Gly Gly Arg Ile Leu
945 950 955 960
Arg His Asn Lys Ile Val Ser Phe Val Ala Lys Ala Met Glu Glu Asn
965 970 975
Lys Trp Thr Val Glu Leu Glu Pro Arg Leu Arg Thr Ser Val Gly Leu
980 985 990
Arg Lys Pro Asp Ile Ile Ala Ser Arg Asp Gly Val Gly Val Ile Val

995 1000 1005

Asp Val Gln Val Val Ser Gly Gln Arg Ser Leu Asp Glu Leu His
1010 1015 1020

Arg Glu Lys Arg Asn Lys Tyr Gly Asn His Gly Glu Leu Val Glu
1025 1030 1035

Leu Val Ala Gly Arg Leu Gly Leu Pro Lys Ala Glu Cys Val Arg
1040 1045 1050

Ala Thr Ser Cys Thr Ile Ser Trp Arg Gly Val Trp Ser Leu Thr
1055 1060 1065

Ser Tyr Lys Glu Leu Arg Ser Ile Ile Gly Leu Arg Glu Pro Thr
1070 1075 1080

Leu Gln Ile Val Pro Ile Leu Ala Leu Arg Gly Ser His Met Asn
1085 1090 1095

Trp Thr Arg Phe Asn Gln Met Thr Ser Val Met Gly Gly Gly Val
1100 1105 1110

Gly

<210> 7

<211> 901

<212> PRT

<213> 家蚕(Bombyx mori)

<400> 7

Phe Cys Glu Arg Thr Phe Ser Thr Asn Arg Gly Leu Gly Val His Lys
1 5 10 15

Arg Arg Ala His Pro Val Glu Thr Asn Thr Asp Ala Ala Pro Met Met
20 25 30

Val Lys Arg Arg Trp His Gly Glu Glu Ile Asp Leu Leu Ala Arg Thr
35 40 45

Glu Ala Arg Leu Leu Ala Glu Arg Gly Gln Cys Ser Gly Gly Asp Leu
50 55 60

Phe Gly Ala Leu Pro Gly Phe Gly Arg Thr Leu Glu Ala Ile Lys Gly
65 70 75 80

Gln Arg Arg Arg Glu Pro Tyr Arg Ala Leu Val Gln Ala His Leu Ala
85 90 95

Arg Phe Gly Ser Gln Pro Gly Pro Ser Ser Gly Gly Cys Ser Ala Glu
100 105 110

Pro Asp Phe Arg Arg Ala Ser Gly Ala Glu Glu Ala Gly Glu Glu Arg
115 120 125

Cys Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Asp Pro Ser Ala Val Gly Gln Met
130 135 140

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

450 455 460

Val Lys Val Gly Arg Gly Val Arg Gln Gly Asp Pro Leu Ser Pro Ile
465 470 475 480

Leu Phe Asn Val Val Met Asp Leu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Glu Arg
485 490 495

Val Gly Tyr Arg Leu Glu Met Glu Leu Val Ser Ala Leu Ala Tyr Ala
500 505 510

Asp Asp Leu Val Leu Leu Ala Gly Ser Lys Val Gly Met Gln Glu Ser
515 520 525

Ile Ser Ala Val Asp Cys Val Gly Arg Gln Met Gly Leu Arg Leu Asn
530 535 540

Cys Arg Lys Ser Ala Val Leu Ser Met Ile Pro Asp Gly His Arg Lys
545 550 555 560

Lys His His Tyr Leu Thr Glu Arg Thr Phe Asn Ile Gly Gly Lys Pro
565 570 575

Leu Arg Gln Val Ser Cys Val Glu Arg Trp Arg Tyr Leu Gly Val Asp
580 585 590

Phe Glu Ala Ser Gly Cys Val Thr Leu Glu His Ser Ile Ser Ser Ala
595 600 605

Leu Asn Asn Ile Ser Arg Ala Pro Leu Lys Pro Gln Gln Arg Leu Glu
610 615 620

Ile Leu Arg Ala His Leu Ile Pro Arg Phe Gln His Gly Phe Val Leu
625 630 635 640

Gly Asn Ile Ser Asp Asp Arg Leu Arg Met Leu Asp Val Gln Ile Arg
645 650 655

Lys Ala Val Gly Gln Trp Leu Arg Leu Pro Ala Asp Val Pro Lys Ala
660 665 670

Tyr Tyr His Ala Ala Val Gln Asp Gly Gly Leu Ala Ile Pro Ser Val
675 680 685

Arg Ala Thr Ile Pro Asp Leu Ile Val Arg Arg Phe Gly Gly Leu Asp
690 695 700

Ser Ser Pro Trp Ser Val Ala Arg Ala Ala Ala Lys Ser Asp Lys Ile
705 710 715 720

Arg Lys Lys Leu Arg Trp Ala Trp Lys Gln Leu Arg Arg Phe Ser Arg
725 730 735

Val Asp Ser Thr Thr Gln Arg Pro Ser Val Arg Leu Phe Trp Arg Glu
740 745 750

His Leu His Ala Ser Val Asp Gly Arg Glu Leu Arg Glu Ser Thr Arg
755 760 765

Thr Pro Thr Ser Thr Lys Trp Ile Arg Glu Arg Cys Ala Gln Ile Thr
770 775 780
Gly Arg Asp Phe Val Gln Phe Val His Thr His Ile Asn Ala Leu Pro
785 790 795 800
Ser Arg Ile Arg Gly Ser Arg Gly Arg Arg Gly Gly Gly Glu Ser Ser
805 810 815
Leu Thr Cys Arg Ala Gly Cys Lys Val Arg Glu Thr Thr Ala His Ile
820 825 830
Leu Gln Gln Cys His Arg Thr His Gly Gly Arg Ile Leu Arg His Asn
835 840 845
Lys Ile Val Ser Phe Val Ala Lys Ala Met Glu Glu Asn Lys Trp Thr
850 855 860
Val Glu Leu Glu Pro Arg Leu Arg Thr Ser Val Gly Leu Arg Lys Pro
865 870 875 880
Asp Ile Ile Ala Ser Arg Asp Gly Val Gly Val Ile Val Asp Val Gln
885 890 895
Val Val Ser Gly Gln
900

<210> 8
<211> 1114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 8

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

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

420 425 430

Met Ala Arg Gly Glu Ile Pro Glu Ile Leu Arg Gln Cys Arg Thr Val
435 440 445

Phe Val Pro Lys Val Glu Arg Pro Gly Gly Pro Gly Glu Tyr Arg Pro
450 455 460

Ile Ser Ile Ala Ser Ile Pro Leu Arg His Phe His Ser Ile Leu Ala
465 470 475 480

Arg Arg Leu Leu Ala Cys Cys Pro Pro Asp Ala Arg Gln Arg Gly Phe
485 490 495

Ile Cys Ala Asp Gly Thr Leu Glu Asn Ser Ala Val Leu Asp Ala Val
500 505 510

Leu Gly Asp Ser Arg Lys Lys Leu Arg Glu Cys His Val Ala Val Leu
515 520 525

Asp Phe Ala Lys Ala Phe Asp Thr Val Ser His Glu Ala Leu Val Glu
530 535 540

Leu Leu Arg Leu Arg Gly Met Pro Glu Gln Phe Cys Gly Tyr Ile Ala
545 550 555 560

His Leu Tyr Asp Thr Ala Ser Thr Thr Leu Ala Val Asn Asn Glu Met
565 570 575

Ser Ser Pro Val Lys Val Gly Arg Gly Val Arg Gln Gly Asp Pro Leu
580 585 590

Ser Pro Ile Leu Phe Asn Val Val Met Asp Leu Ile Leu Ala Ser Leu
595 600 605

Pro Glu Arg Val Gly Tyr Arg Leu Glu Met Glu Leu Val Ser Ala Leu
610 615 620

Ala Tyr Ala Asp Asp Leu Val Leu Leu Ala Gly Ser Lys Val Gly Met
625 630 635 640

Gln Glu Ser Ile Ser Ala Val Asp Cys Val Gly Arg Gln Met Gly Leu
645 650 655

Arg Leu Asn Cys Arg Lys Ser Ala Val Leu Ser Met Ile Pro Asp Gly
660 665 670

His Arg Lys Lys His His Tyr Leu Thr Glu Arg Thr Phe Asn Ile Gly
675 680 685

Gly Lys Pro Leu Arg Gln Val Ser Cys Val Glu Arg Trp Arg Tyr Leu
690 695 700

Gly Val Asp Phe Glu Ala Ser Gly Cys Val Thr Leu Glu His Ser Ile
705 710 715 720

Ser Ser Ala Leu Asn Asn Ile Ser Arg Ala Pro Leu Lys Pro Gln Gln
725 730 735

Arg Leu Glu Ile Leu Arg Ala His Leu Ile Pro Arg Phe Gln His Gly
740 745 750
Phe Val Leu Gly Asn Ile Ser Asp Asp Arg Leu Arg Met Leu Asp Val
755 760 765
Gln Ile Arg Lys Ala Val Gly Gln Trp Leu Arg Leu Pro Ala Asp Val
770 775 780
Pro Lys Ala Tyr Tyr His Ala Ala Val Gln Asp Gly Gly Leu Ala Ile
785 790 795 800
Pro Ser Val Arg Ala Thr Ile Pro Asp Leu Ile Val Arg Arg Phe Gly
805 810 815
Gly Leu Asp Ser Ser Pro Trp Ser Val Ala Arg Ala Ala Ala Lys Ser
820 825 830
Asp Lys Ile Arg Lys Lys Leu Arg Trp Ala Trp Lys Gln Leu Arg Arg
835 840 845
Phe Ser Arg Val Asp Ser Thr Thr Gln Arg Pro Ser Val Arg Leu Phe
850 855 860
Trp Arg Glu His Leu His Ala Ser Val Asp Gly Arg Glu Leu Arg Glu
865 870 875 880
Ser Thr Arg Thr Pro Thr Ser Thr Lys Trp Ile Arg Glu Arg Cys Ala
885 890 895
Gln Ile Thr Gly Arg Asp Phe Val Gln Phe Val His Thr His Ile Asn
900 905 910
Ala Leu Pro Ser Arg Ile Arg Gly Ser Arg Gly Arg Arg Gly Gly Gly
915 920 925
Glu Ser Ser Leu Thr Cys Arg Ala Gly Cys Lys Val Arg Glu Thr Thr
930 935 940
Ala His Ile Leu Gln Gln Cys His Arg Thr His Gly Gly Arg Ile Leu
945 950 955 960
Arg His Asn Lys Ile Val Ser Phe Val Ala Lys Ala Met Glu Glu Asn
965 970 975
Lys Trp Thr Val Glu Leu Glu Pro Arg Leu Arg Thr Ser Val Gly Leu
980 985 990
Arg Lys Pro Ala Ile Ile Ala Ser Arg Asp Gly Val Gly Val Ile Val
995 1000 1005
Asp Val Gln Val Val Ser Gly Gln Arg Ser Leu Asp Glu Leu His
1010 1015 1020
Arg Glu Lys Arg Asn Lys Tyr Gly Asn His Gly Glu Leu Val Glu
1025 1030 1035
Leu Val Ala Gly Arg Leu Gly Leu Pro Lys Ala Glu Cys Val Arg

1040 1045 1050
Ala Thr Ser Cys Thr Ile Ser Trp Arg Gly Val Trp Ser Leu Thr
1055 1060 1065
Ser Tyr Lys Glu Leu Arg Ser Ile Ile Gly Leu Arg Glu Pro Thr
1070 1075 1080
Leu Gln Ile Val Pro Ile Leu Ala Leu Arg Gly Ser His Met Asn
1085 1090 1095
Trp Thr Arg Phe Asn Gln Met Thr Ser Val Met Gly Gly Gly Val
1100 1105 1110
Gly

<210> 9
<211> 1275
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 9

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

Phe Phe Ser Ala Pro His His Thr Tyr Ser Lys Ile Asp His Ile Val
195 200 205
Gly Ser Lys Ala Leu Leu Ser Lys Cys Lys Arg Thr Glu Ile Ile Thr
210 215 220
Asn Tyr Leu Ser Asp His Ser Ala Ile Lys Leu Glu Leu Arg Ile Lys
225 230 235 240
Asn Leu Thr Gln Ser Arg Ser Thr Thr Trp Lys Leu Asn Asn Leu Leu
245 250 255
Leu Asn Asp Tyr Trp Val His Asn Glu Met Lys Ala Glu Ile Lys Met
260 265 270
Phe Phe Glu Thr Asn Glu Asn Lys Asp Thr Thr Tyr Gln Asn Leu Trp
275 280 285
Asp Ala Phe Lys Ala Val Cys Arg Gly Lys Phe Ile Ala Leu Asn Ala
290 295 300
Tyr Lys Arg Lys Gln Glu Arg Ser Lys Ile Asp Thr Leu Thr Ser Gln
305 310 315 320
Leu Lys Glu Leu Glu Lys Gln Glu Gln Thr His Ser Lys Ala Ser Arg
325 330 335
Arg Gln Glu Ile Thr Lys Ile Arg Ala Glu Leu Lys Glu Ile Glu Thr
340 345 350
Gln Lys Thr Leu Gln Lys Ile Asn Glu Ser Arg Ser Trp Phe Phe Glu
355 360 365
Arg Ile Asn Lys Ile Asp Arg Pro Leu Ala Arg Leu Ile Lys Lys Lys
370 375 380
Arg Glu Lys Asn Gln Ile Asp Thr Ile Lys Asn Asp Lys Gly Asp Ile
385 390 395 400
Thr Thr Asp Pro Thr Glu Ile Gln Thr Thr Ile Arg Glu Tyr Tyr Lys
405 410 415
His Leu Tyr Ala Asn Lys Leu Glu Asn Leu Glu Glu Met Asp Thr Phe
420 425 430
Leu Asp Thr Tyr Thr Leu Pro Arg Leu Asn Gln Glu Glu Val Glu Ser
435 440 445
Leu Asn Arg Pro Ile Thr Gly Ser Glu Ile Val Ala Ile Ile Asn Ser
450 455 460
Leu Pro Thr Lys Lys Ser Pro Gly Pro Asp Gly Phe Thr Ala Glu Phe
465 470 475 480
Tyr Gln Arg Tyr Lys Glu Glu Leu Val Pro Phe Leu Leu Lys Leu Phe
485 490 495
Gln Ser Ile Glu Lys Glu Gly Ile Leu Pro Asn Ser Phe Tyr Glu Ala

500 505 510
Ser Ile Ile Leu Ile Pro Lys Pro Gly Arg Asp Thr Thr Lys Lys Glu
515 520 525
Asn Phe Arg Pro Ile Ser Leu Met Asn Ile Asp Ala Lys Ile Leu Asn
530 535 540
Lys Ile Leu Ala Asn Arg Ile Gln Gln His Ile Lys Lys Leu Ile His
545 550 555 560
His Asp Gln Val Gly Phe Ile Pro Gly Met Gln Gly Trp Phe Asn Ile
565 570 575
Arg Lys Ser Ile Asn Val Ile Gln His Ile Asn Arg Ala Lys Asp Lys
580 585 590
Asn His Val Ile Ile Ser Ile Asp Ala Glu Lys Ala Phe Asp Lys Ile
595 600 605
Gln Gln Pro Phe Met Leu Lys Thr Leu Asn Lys Leu Gly Ile Asp Gly
610 615 620
Met Tyr Leu Lys Ile Ile Arg Ala Ile Tyr Asp Lys Pro Thr Ala Asn
625 630 635 640
Ile Ile Leu Asn Gly Gln Lys Leu Glu Ala Phe Pro Leu Lys Thr Gly
645 650 655
Thr Arg Gln Gly Cys Pro Leu Ser Pro Leu Leu Phe Asn Ile Val Leu
660 665 670
Glu Val Leu Ala Arg Ala Ile Arg Gln Glu Lys Glu Ile Lys Gly Ile
675 680 685
Gln Leu Gly Lys Glu Glu Val Lys Leu Ser Leu Phe Ala Asp Asp Met
690 695 700
Ile Val Tyr Leu Glu Asn Pro Ile Val Ser Ala Gln Asn Leu Leu Lys
705 710 715 720
Leu Ile Ser Asn Phe Ser Lys Val Ser Gly Tyr Lys Ile Asn Val Gln
725 730 735
Lys Ser Gln Ala Phe Leu Tyr Asn Asn Asn Arg Gln Thr Glu Ser Gln
740 745 750
Ile Met Gly Glu Leu Pro Phe Thr Ile Ala Ser Lys Arg Ile Lys Tyr
755 760 765
Leu Gly Ile Gln Leu Thr Arg Asp Val Lys Asp Leu Phe Lys Glu Asn
770 775 780
Tyr Lys Pro Leu Leu Lys Glu Ile Lys Glu Asp Thr Asn Lys Trp Lys
785 790 795 800
Asn Ile Pro Cys Ser Trp Val Gly Arg Ile Asn Ile Val Lys Met Ala
805 810 815

Ile Leu Pro Lys Val Ile Tyr Arg Phe Asn Ala Ile Pro Ile Lys Leu
820 825 830
Pro Met Thr Phe Phe Thr Glu Leu Glu Lys Thr Thr Leu Lys Phe Ile
835 840 845
Trp Asn Gln Lys Arg Ala Arg Ile Ala Lys Ser Ile Leu Ser Gln Lys
850 855 860
Asn Lys Ala Gly Gly Ile Thr Leu Pro Asp Phe Lys Leu Tyr Tyr Lys
865 870 875 880
Ala Thr Val Thr Lys Thr Ala Trp Tyr Trp Tyr Gln Asn Arg Asp Ile
885 890 895
Asp Gln Trp Asn Arg Thr Glu Pro Ser Glu Ile Met Pro His Ile Tyr
900 905 910
Asn Tyr Leu Ile Phe Asp Lys Pro Glu Lys Asn Lys Gln Trp Gly Lys
915 920 925
Asp Ser Leu Leu Asn Lys Trp Cys Trp Glu Asn Trp Leu Ala Ile Cys
930 935 940
Arg Lys Leu Lys Leu Asp Pro Phe Leu Thr Pro Tyr Thr Lys Ile Asn
945 950 955 960
Ser Arg Trp Ile Lys Asp Leu Asn Val Lys Pro Lys Thr Ile Lys Thr
965 970 975
Leu Glu Glu Asn Leu Gly Ile Thr Ile Gln Asp Ile Gly Val Gly Lys
980 985 990
Asp Phe Met Ser Lys Thr Pro Lys Ala Met Ala Thr Lys Asp Lys Ile
995 1000 1005
Asp Lys Trp Asp Leu Ile Lys Leu Lys Ser Phe Cys Thr Ala Lys
1010 1015 1020
Glu Thr Thr Ile Arg Val Asn Arg Gln Pro Thr Thr Trp Glu Lys
1025 1030 1035
Ile Phe Ala Thr Tyr Ser Ser Asp Lys Gly Leu Ile Ser Arg Ile
1040 1045 1050
Tyr Asn Glu Leu Lys Gln Ile Tyr Lys Lys Lys Thr Asn Asn Pro
1055 1060 1065
Ile Lys Lys Trp Ala Lys Asp Met Asn Arg His Phe Ser Lys Glu
1070 1075 1080
Asp Ile Tyr Ala Ala Lys Lys His Met Lys Lys Cys Ser Ser Ser
1085 1090 1095
Leu Ala Ile Arg Glu Met Gln Ile Lys Thr Thr Met Arg Tyr His
1100 1105 1110
Leu Thr Pro Val Arg Met Ala Ile Ile Lys Lys Ser Gly Asn Asn

1115 1120 1125
Arg Cys Trp Arg Gly Cys Gly Glu Ile Gly Thr Leu Val His Cys
1130 1135 1140
Trp Trp Asp Cys Lys Leu Val Gln Pro Leu Trp Lys Ser Val Trp
1145 1150 1155
Arg Phe Leu Arg Asp Leu Glu Leu Glu Ile Pro Phe Asp Pro Ala
1160 1165 1170
Ile Pro Leu Leu Gly Ile Tyr Pro Lys Asp Tyr Lys Ser Cys Cys
1175 1180 1185
Tyr Lys Asp Thr Cys Thr Arg Met Phe Ile Ala Ala Leu Phe Thr
1190 1195 1200
Ile Ala Lys Thr Trp Asn Gln Pro Asn Cys Pro Thr Met Ile Asp
1205 1210 1215
Trp Ile Lys Lys Met Trp His Ile Tyr Thr Met Glu Tyr Tyr Ala
1220 1225 1230
Ala Ile Lys Asn Asp Glu Phe Ile Ser Phe Val Gly Thr Trp Met
1235 1240 1245
Lys Leu Glu Thr Ile Ile Leu Ser Lys Leu Ser Gln Glu Gln Lys
1250 1255 1260
Thr Lys His Arg Ile Phe Ser Leu Ile Gly Gly Asn
1265 1270 1275

<210> 10
<211> 1275
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 10

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

85 90 95

Tyr Ile Met Val Lys Gly Ser Ile Gln Gln Glu Glu Leu Thr Ile Leu
100 105 110

Asn Ile Tyr Ala Pro Asn Thr Gly Ala Pro Arg Phe Ile Lys Gln Val
115 120 125

Leu Ser Asp Leu Gln Arg Asp Leu Asp Ser His Thr Leu Ile Met Gly
130 135 140

Asp Phe Asn Thr Pro Leu Ser Ile Leu Asp Arg Ser Thr Arg Gln Lys
145 150 155 160

Val Asn Lys Asp Thr Gln Glu Leu Asn Ser Ala Leu His Gln Thr Asp
165 170 175

Leu Ile Asp Ile Tyr Arg Thr Leu His Pro Lys Ser Thr Glu Tyr Thr
180 185 190

Phe Phe Ser Ala Pro His His Thr Tyr Ser Lys Ile Ala His Ile Val
195 200 205

Gly Ser Lys Ala Leu Leu Ser Lys Cys Lys Arg Thr Glu Ile Ile Thr
210 215 220

Asn Tyr Leu Ser Asp Ala Ser Ala Ile Lys Leu Glu Leu Arg Ile Lys
225 230 235 240

Asn Leu Thr Gln Ser Arg Ser Thr Thr Trp Lys Leu Asn Asn Leu Leu
245 250 255

Leu Asn Asp Tyr Trp Val His Asn Glu Met Lys Ala Glu Ile Lys Met
260 265 270

Phe Phe Glu Thr Asn Glu Asn Lys Asp Thr Thr Tyr Gln Asn Leu Trp
275 280 285

Asp Ala Phe Lys Ala Val Cys Arg Gly Lys Phe Ile Ala Leu Asn Ala
290 295 300

Tyr Lys Arg Lys Gln Glu Arg Ser Lys Ile Asp Thr Leu Thr Ser Gln
305 310 315 320

Leu Lys Glu Leu Glu Lys Gln Glu Gln Thr His Ser Lys Ala Ser Arg
325 330 335

Arg Gln Glu Ile Thr Lys Ile Arg Ala Glu Leu Lys Glu Ile Glu Thr
340 345 350

Gln Lys Thr Leu Gln Lys Ile Asn Glu Ser Arg Ser Trp Phe Phe Glu
355 360 365

Arg Ile Asn Lys Ile Asp Arg Pro Leu Ala Arg Leu Ile Lys Lys Lys
370 375 380

Arg Glu Lys Asn Gln Ile Asp Thr Ile Lys Asn Asp Lys Gly Asp Ile
385 390 395 400

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

705 710 715 720
Leu Ile Ser Asn Phe Ser Lys Val Ser Gly Tyr Lys Ile Asn Val Gln
725 730 735
Lys Ser Gln Ala Phe Leu Tyr Asn Asn Asn Arg Gln Thr Glu Ser Gln
740 745 750
Ile Met Gly Glu Leu Pro Phe Thr Ile Ala Ser Lys Arg Ile Lys Tyr
755 760 765
Leu Gly Ile Gln Leu Thr Arg Asp Val Lys Asp Leu Phe Lys Glu Asn
770 775 780
Tyr Lys Pro Leu Leu Lys Glu Ile Lys Glu Asp Thr Asn Lys Trp Lys
785 790 795 800
Asn Ile Pro Cys Ser Trp Val Gly Arg Ile Asn Ile Val Lys Met Ala
805 810 815
Ile Leu Pro Lys Val Ile Tyr Arg Phe Asn Ala Ile Pro Ile Lys Leu
820 825 830
Pro Met Thr Phe Phe Thr Glu Leu Glu Lys Thr Thr Leu Lys Phe Ile
835 840 845
Trp Asn Gln Lys Arg Ala Arg Ile Ala Lys Ser Ile Leu Ser Gln Lys
850 855 860
Asn Lys Ala Gly Gly Ile Thr Leu Pro Asp Phe Lys Leu Tyr Tyr Lys
865 870 875 880
Ala Thr Val Thr Lys Thr Ala Trp Tyr Trp Tyr Gln Asn Arg Asp Ile
885 890 895
Asp Gln Trp Asn Arg Thr Glu Pro Ser Glu Ile Met Pro His Ile Tyr
900 905 910
Asn Tyr Leu Ile Phe Asp Lys Pro Glu Lys Asn Lys Gln Trp Gly Lys
915 920 925
Asp Ser Leu Leu Asn Lys Trp Cys Trp Glu Asn Trp Leu Ala Ile Cys
930 935 940
Arg Lys Leu Lys Leu Asp Pro Phe Leu Thr Pro Tyr Thr Lys Ile Asn
945 950 955 960
Ser Arg Trp Ile Lys Asp Leu Asn Val Lys Pro Lys Thr Ile Lys Thr
965 970 975
Leu Glu Glu Asn Leu Gly Ile Thr Ile Gln Asp Ile Gly Val Gly Lys
980 985 990
Asp Phe Met Ser Lys Thr Pro Lys Ala Met Ala Thr Lys Asp Lys Ile
995 1000 1005
Asp Lys Trp Asp Leu Ile Lys Leu Lys Ser Phe Cys Thr Ala Lys
1010 1015 1020

Glu Thr Thr Ile Arg Val Asn Arg Gln Pro Thr Thr Trp Glu Lys
1025 1030 1035
Ile Phe Ala Thr Tyr Ser Ser Asp Lys Gly Leu Ile Ser Arg Ile
1040 1045 1050
Tyr Asn Glu Leu Lys Gln Ile Tyr Lys Lys Lys Thr Asn Asn Pro
1055 1060 1065
Ile Lys Lys Trp Ala Lys Asp Met Asn Arg His Phe Ser Lys Glu
1070 1075 1080
Asp Ile Tyr Ala Ala Lys Lys His Met Lys Lys Cys Ser Ser Ser
1085 1090 1095
Leu Ala Ile Arg Glu Met Gln Ile Lys Thr Thr Met Arg Tyr His
1100 1105 1110
Leu Thr Pro Val Arg Met Ala Ile Ile Lys Lys Ser Gly Asn Asn
1115 1120 1125
Arg Cys Trp Arg Gly Cys Gly Glu Ile Gly Thr Leu Val His Cys
1130 1135 1140
Trp Trp Asp Cys Lys Leu Val Gln Pro Leu Trp Lys Ser Val Trp
1145 1150 1155
Arg Phe Leu Arg Asp Leu Glu Leu Glu Ile Pro Phe Asp Pro Ala
1160 1165 1170
Ile Pro Leu Leu Gly Ile Tyr Pro Lys Asp Tyr Lys Ser Cys Cys
1175 1180 1185
Tyr Lys Asp Thr Cys Thr Arg Met Phe Ile Ala Ala Leu Phe Thr
1190 1195 1200
Ile Ala Lys Thr Trp Asn Gln Pro Asn Cys Pro Thr Met Ile Asp
1205 1210 1215
Trp Ile Lys Lys Met Trp His Ile Tyr Thr Met Glu Tyr Tyr Ala
1220 1225 1230
Ala Ile Lys Asn Asp Glu Phe Ile Ser Phe Val Gly Thr Trp Met
1235 1240 1245
Lys Leu Glu Thr Ile Ile Leu Ser Lys Leu Ser Gln Glu Gln Lys
1250 1255 1260
Thr Lys His Arg Ile Phe Ser Leu Ile Gly Gly Asn
1265 1270 1275

<210> 11
<211> 1281
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus sp.)
<400> 11

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

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

Glu Arg Ser Gly Ile Gln Gly Pro Tyr Leu Asn Met Ile Lys Ala Ile
625 630 635 640
Tyr Ser Lys Pro Val Ala Asn Ile Lys Val Asn Gly Glu Lys Leu Glu
645 650 655
Ala Ile Pro Leu Lys Ser Gly Thr Arg Gln Gly Cys Pro Leu Ser Pro
660 665 670
Tyr Leu Phe Asn Ile Val Leu Glu Val Leu Ala Arg Ala Ile Arg Gln
675 680 685
Gln Lys Glu Ile Lys Gly Ile Gln Ile Gly Lys Glu Glu Val Lys Ile
690 695 700
Ser Leu Phe Ala Asp Asp Met Ile Val Tyr Ile Ser Asp Pro Lys Asn
705 710 715 720
Ser Thr Arg Glu Leu Leu Asn Leu Ile Asn Ser Phe Gly Glu Val Ala
725 730 735
Gly Tyr Lys Ile Asn Ser Asn Lys Ser Met Ala Phe Leu Tyr Thr Lys
740 745 750
Asn Lys Gln Ala Glu Lys Glu Ile Trp Glu Thr Thr Pro Phe Ser Ile
755 760 765
Val Thr Asn Asn Ile Lys Tyr Leu Gly Val Thr Leu Thr Lys Glu Val
770 775 780
Lys Asp Leu Tyr Asp Lys Asn Phe Lys Ser Leu Lys Lys Glu Ile Lys
785 790 795 800
Glu Asp Leu Arg Arg Trp Lys Asp Leu Pro Cys Ser Trp Ile Gly Arg
805 810 815
Ile Asn Ile Val Lys Met Ala Ile Leu Pro Lys Ala Ile Tyr Arg Phe
820 825 830
Asn Ala Ile Pro Ile Lys Ile Pro Thr Gln Phe Phe Asn Glu Leu Glu
835 840 845
Gly Ala Ile Cys Lys Phe Val Trp Asn Asn Lys Lys Pro Arg Ile Ala
850 855 860
Lys Ser Leu Leu Lys Asp Lys Arg Thr Ser Gly Gly Ile Thr Met Pro
865 870 875 880
Asp Leu Lys Leu Tyr Tyr Arg Ala Ile Val Ile Lys Thr Ala Trp Tyr
885 890 895
Trp Tyr Arg Asp Arg Gln Val Asp Gln Trp Asn Arg Ile Glu Asp Pro
900 905 910
Glu Met Asn Pro His Thr Tyr Gly His Leu Ile Phe Asp Lys Gly Asp
915 920 925
Lys Thr Ile Gln Trp Lys Lys Asp Ser Ile Phe Asn Asn Trp Cys Trp

930 935 940

His Asn Trp Leu Leu Ser Cys Arg Arg Met Arg Ile Asp Pro Tyr Leu

945 950 955 960

Ser Pro Cys Thr Lys Val Lys Ser Lys Trp Ile Lys Glu Leu His Ile

965 970 975

Lys Pro Glu Thr Leu Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Gly Lys Ser Leu

980 985 990

Glu Asp Met Gly Thr Gly Glu Lys Phe Leu Asn Arg Thr Ala Met Ala

995 1000 1005

Cys Ala Val Arg Ser Arg Ile Asp Lys Trp Asp Leu Met Lys Leu

1010 1015 1020

Gln Ser Phe Cys Lys Ala Lys Asp Thr Val Asn Lys Thr Lys Arg

1025 1030 1035

Pro Pro Thr Asp Trp Glu Arg Ile Phe Thr Tyr Pro Lys Ser Asp

1040 1045 1050

Arg Gly Leu Ile Ser Asn Ile Tyr Lys Glu Leu Lys Lys Val Asp

1055 1060 1065

Phe Arg Lys Ser Asn Asn Pro Ile Lys Lys Trp Gly Ser Glu Leu

1070 1075 1080

Asn Lys Glu Phe Ser Pro Glu Glu Tyr Arg Met Ala Glu Lys His

1085 1090 1095

Leu Lys Lys Cys Ser Thr Ser Leu Ile Ile Arg Glu Met Gln Ile

1100 1105 1110

Lys Thr Thr Leu Arg Phe His Leu Thr Pro Val Arg Met Ala Lys

1115 1120 1125

Ile Lys Asn Ser Gly Asp Ser Arg Cys Trp Arg Gly Cys Gly Glu

1130 1135 1140

Arg Gly Thr Leu Leu His Cys Trp Trp Glu Cys Arg Leu Val Gln

1145 1150 1155

Pro Leu Trp Lys Ser Val Trp Arg Phe Leu Arg Lys Leu Asp Ile

1160 1165 1170

Val Leu Pro Glu Asp Pro Ala Ile Pro Leu Leu Gly Ile Tyr Pro

1175 1180 1185

Glu Asp Ala Pro Thr Gly Lys Lys Asp Thr Cys Ser Thr Met Phe

1190 1195 1200

Ile Ala Ala Leu Phe Ile Ile Ala Arg Ser Trp Lys Glu Pro Arg

1205 1210 1215

Cys Pro Ser Thr Glu Glu Trp Ile Gln Lys Met Trp Tyr Ile Tyr

1220 1225 1230

Thr Met Glu Tyr Tyr Ser Ala Ile Lys Lys Asn Glu Phe Met Lys
1235 1240 1245
Phe Leu Ala Lys Trp Met Asp Leu Glu Gly Ile Ile Leu Ser Glu
1250 1255 1260
Val Thr His Ser Gln Arg Asn Ser His Asn Met Tyr Ser Leu Ile
1265 1270 1275
Ser Gly Tyr
1280

<210> 12
<211> 599
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:ltrA序列
<400> 12

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

Phe Leu Lys Ala Gly Tyr Leu Glu Asn Trp Gln Tyr His Lys Thr Tyr
195 200 205
Ser Gly Thr Pro Gln Gly Gly Ile Leu Ser Pro Leu Leu Ala Asn Ile
210 215 220
Tyr Leu His Glu Leu Asp Lys Phe Val Leu Gln Leu Lys Met Lys Phe
225 230 235 240
Asp Arg Glu Ser Pro Glu Arg Ile Thr Pro Glu Tyr Arg Glu Leu His
245 250 255
Asn Glu Ile Lys Arg Ile Ser His Arg Leu Lys Lys Leu Glu Gly Glu
260 265 270
Glu Lys Ala Lys Val Leu Leu Glu Tyr Gln Glu Lys Arg Lys Arg Leu
275 280 285
Pro Thr Leu Pro Cys Thr Ser Gln Thr Asn Lys Val Leu Lys Tyr Val
290 295 300
Arg Tyr Ala Asp Asp Phe Ile Ile Ser Val Lys Gly Ser Lys Glu Asp
305 310 315 320
Cys Gln Trp Ile Lys Glu Gln Leu Lys Leu Phe Ile His Asn Lys Leu
325 330 335
Lys Met Glu Leu Ser Glu Glu Lys Thr Leu Ile Thr His Ser Ser Gln
340 345 350
Pro Ala Arg Phe Leu Gly Tyr Asp Ile Arg Val Arg Arg Ser Gly Thr
355 360 365
Ile Lys Arg Ser Gly Lys Val Lys Lys Arg Thr Leu Asn Gly Ser Val
370 375 380
Glu Leu Leu Ile Pro Leu Gln Asp Lys Ile Arg Gln Phe Ile Phe Asp
385 390 395 400
Lys Lys Ile Ala Ile Gln Lys Lys Asp Ser Ser Trp Phe Pro Val His
405 410 415
Arg Lys Tyr Leu Ile Arg Ser Thr Asp Leu Glu Ile Ile Thr Ile Tyr
420 425 430
Asn Ser Glu Leu Arg Gly Ile Cys Asn Tyr Tyr Gly Leu Ala Ser Asn
435 440 445
Phe Asn Gln Leu Asn Tyr Phe Ala Tyr Leu Met Glu Tyr Ser Cys Leu
450 455 460
Lys Thr Ile Ala Ser Lys His Lys Gly Thr Leu Ser Lys Thr Ile Ser
465 470 475 480
Met Phe Lys Asp Gly Ser Gly Ser Trp Gly Ile Pro Tyr Glu Ile Lys
485 490 495
Gln Gly Lys Gln Arg Arg Tyr Phe Ala Asn Phe Ser Glu Cys Lys Ser

500 505 510
Pro Tyr Gln Phe Thr Asp Glu Ile Ser Gln Ala Pro Val Leu Tyr Gly
515 520 525
Tyr Ala Arg Asn Thr Leu Glu Asn Arg Leu Lys Ala Lys Cys Cys Glu
530 535 540
Leu Cys Gly Thr Ser Asp Glu Asn Thr Ser Tyr Glu Ile His His Val
545 550 555 560
Asn Lys Val Lys Asn Leu Lys Gly Lys Glu Lys Trp Glu Met Ala Met
565 570 575
Ile Ala Lys Gln Arg Lys Thr Leu Val Val Cys Phe His Cys His Arg
580 585 590
His Val Ile His Lys His Lys
595

<210> 13
<211> 677
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 13
Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys Glu
1 5 10 15
Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln Ala
20 25 30
Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro Leu
35 40 45
Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln Tyr
50 55 60
Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln Arg
65 70 75 80
Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn Thr
85 90 95
Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro Val
100 105 110
Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro Thr
115 120 125
Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His Gln
130 135 140
Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg Leu

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

Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn Pro
465 470 475 480
Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys Leu
485 490 495
Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp Gln
500 505 510
Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser Leu
515 520 525
Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu Thr
530 535 540
Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln Arg
545 550 555 560
Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly Lys
565 570 575
Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala His
580 585 590
Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu Gly
595 600 605
Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala Leu
610 615 620
Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln Lys
625 630 635 640
Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala Ala
645 650 655
Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu Ile
660 665 670
Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 14
<211> 677
<212> PRT
<213> 鼠白血病病毒(Murine leukemia virus)
<400> 14
Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu His Arg Leu His Glu Thr Ser Lys Glu
1 5 10 15
Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln Ala
20 25 30
Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro Leu
35 40 45

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

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

Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 15
<211> 677
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:XMRV3VP35RT序列
<400> 15

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

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

545 550 555 560
Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly Lys
565 570 575
Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala His
580 585 590
Val His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Leu Leu Thr Ser Glu Gly
595 600 605
Arg Glu Ile Lys Asn Lys Asn Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala Leu
610 615 620
Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln Lys
625 630 635 640
Gly Asn Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala Ala
645 650 655
Arg Glu Ala Ala Met Lys Ala Val Leu Glu Thr Ser Thr Leu Leu Ile
660 665 670
Glu Asp Ser Thr Pro
675

<210> 16
<211> 682
<212> PRT
<213> 长臂猿白血病病毒(Gibbon ape leukemia virus)
<400> 16
Val Leu Asn Leu Glu Glu Glu Tyr Arg Leu His Glu Lys Pro Val Pro
1 5 10 15
Ser Ser Ile Asp Pro Ser Trp Leu Gln Leu Phe Pro Thr Val Trp Ala
20 25 30
Glu Arg Ala Gly Met Gly Leu Ala Asn Gln Val Pro Pro Val Val Val
35 40 45
Glu Leu Arg Ser Gly Ala Ser Pro Val Ala Val Arg Gln Tyr Pro Met
50 55 60
Ser Lys Glu Ala Arg Glu Gly Ile Arg Pro His Ile Gln Lys Phe Leu
65 70 75 80
Asp Leu Gly Val Leu Val Pro Cys Arg Ser Pro Trp Asn Thr Pro Leu
85 90 95
Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro Val Gln Asp
100 105 110
Leu Arg Glu Ile Asn Lys Arg Val Gln Asp Ile His Pro Thr Val Pro
115 120 125
Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Ser Leu Pro Pro Ser Tyr Thr Trp Tyr

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

Trp Met Thr Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ser Leu Leu Leu Asn
450 455 460
Glu Arg Val Ser Phe Ala Pro Pro Ala Val Leu Asn Pro Ala Thr Leu
465 470 475 480
Leu Pro Val Glu Ser Glu Ala Thr Pro Val His Arg Cys Ser Glu Ile
485 490 495
Leu Ala Glu Glu Thr Gly Thr Arg Arg Asp Leu Glu Asp Gln Pro Leu
500 505 510
Pro Gly Val Pro Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser Phe Ile Thr Glu
515 520 525
Gly Lys Arg Arg Ala Gly Ala Pro Ile Val Asp Gly Lys Arg Thr Val
530 535 540
Trp Ala Ser Ser Leu Pro Glu Gly Thr Ser Ala Gln Lys Ala Glu Leu
545 550 555 560
Val Ala Leu Thr Gln Ala Leu Arg Leu Ala Glu Gly Lys Asn Ile Asn
565 570 575
Ile Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala His Ile His Gly
580 585 590
Ala Ile Tyr Lys Gln Arg Gly Leu Leu Thr Ser Ala Gly Lys Asp Ile
595 600 605
Lys Asn Lys Glu Glu Ile Leu Ala Leu Leu Glu Ala Ile His Leu Pro
610 615 620
Arg Arg Val Ala Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln Arg Gly Ser Asn
625 630 635 640
Pro Val Ala Thr Gly Asn Arg Arg Ala Asp Glu Ala Ala Lys Gln Ala
645 650 655
Ala Leu Ser Thr Arg Val Leu Ala Gly Thr Thr Lys Pro Gln Glu Pro
660 665 670
Ile Glu Pro Ala Gln Glu Lys Thr Arg Pro
675 680

<210> 17
<211> 761
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:sfvRT序列
<400> 17

Met Asp Pro Leu Gln Leu Leu Gln Pro Leu Glu Ala Glu Ile Lys Gly
1 5 10 15

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

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

Thr Ala Gln Leu Ala Glu Ile Ala Ala Val Glu Phe Ala Cys Lys Lys
645 650 655
Ala Leu Lys Ile Ser Gly Pro Val Leu Ile Val Thr Asp Ser Phe Tyr
660 665 670
Val Ala Glu Ser Ala Asn Lys Glu Leu Pro Tyr Trp Lys Ser Asn Gly
675 680 685
Phe Leu Asn Asn Lys Lys Lys Pro Leu Arg His Val Ser Lys Trp Lys
690 695 700
Ser Ile Ala Glu Cys Leu Gln Leu Lys Pro Asp Ile Ile Ile Met His
705 710 715 720
Glu Lys Gly His Gln Gln Pro Met Thr Thr Leu His Thr Glu Gly Asn
725 730 735
Asn Leu Ala Asp Lys Leu Ala Thr Gln Gly Ser Tyr Val Val His Cys
740 745 750
Asn Thr Thr Pro Ser Leu Asp Ala Glu
755 760

<210> 18
<211> 762
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:foamyRT序列
<400> 18

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

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

435 440 445

Leu Glu Glu Arg Leu Pro Glu Gln Arg Leu Val Ile Lys Val Asn Thr
450 455 460

Ser Pro Ser Ala Gly Tyr Val Arg Tyr Tyr Asn Glu Thr Gly Lys Lys
465 470 475 480

Pro Ile Met Tyr Leu Asn Tyr Val Phe Ser Lys Ala Glu Leu Lys Phe
485 490 495

Ser Met Leu Glu Lys Leu Leu Thr Thr Met His Lys Ala Leu Ile Lys
500 505 510

Ala Met Asp Leu Ala Met Gly Gln Glu Ile Leu Val Tyr Ser Pro Ile
515 520 525

Val Ser Met Thr Lys Ile Gln Lys Thr Pro Leu Pro Glu Arg Lys Ala
530 535 540

Leu Pro Ile Arg Trp Ile Thr Trp Met Thr Tyr Leu Glu Asp Pro Arg
545 550 555 560

Ile Gln Phe His Tyr Asp Lys Thr Leu Pro Glu Leu Lys His Ile Pro
565 570 575

Asp Val Tyr Thr Ser Ser Gln Ser Pro Val Lys His Pro Ser Gln Tyr
580 585 590

Glu Gly Val Phe Tyr Thr Asp Gly Ser Ala Ile Lys Ser Pro Asp Pro
595 600 605

Thr Lys Ser Asn Asn Ala Gly Met Gly Ile Val His Ala Thr Tyr Lys
610 615 620

Pro Glu Tyr Gln Val Leu Asn Gln Trp Ser Ile Pro Leu Gly Asn His
625 630 635 640

Thr Ala Gln Met Ala Glu Ile Ala Ala Val Glu Phe Ala Cys Lys Lys
645 650 655

Ala Leu Lys Ile Pro Gly Pro Val Leu Val Ile Thr Asp Ser Phe Tyr
660 665 670

Val Ala Glu Ser Ala Asn Lys Glu Leu Pro Tyr Trp Lys Ser Asn Gly
675 680 685

Phe Val Asn Asn Lys Lys Lys Pro Leu Lys His Ile Ser Lys Trp Lys
690 695 700

Ser Ile Ala Glu Cys Leu Ser Met Lys Pro Asp Ile Thr Ile Gln His
705 710 715 720

Glu Lys Gly Ile Ser Leu Gln Ile Pro Val Phe Ile Leu Lys Gly Asn
725 730 735

Ala Leu Ala Asp Lys Leu Ala Thr Gln Gly Ser Tyr Val Val Asn Cys
740 745 750

Asn Thr Lys Lys Pro Asn Leu Asp Ala Glu
755 760

<210> 19

<211> 560

<212> PRT

<213> 人免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus)

<400> 19

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

Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro
260 265 270
Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala
275 280 285
Leu Thr Glu Val Ile Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala
290 295 300
Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp
305 310 315 320
Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln
325 330 335
Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly
340 345 350
Lys Tyr Ala Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu
355 360 365
Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Thr Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly
370 375 380
Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr
385 390 395 400
Trp Trp Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe
405 410 415
Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu
420 425 430
Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg
435 440 445
Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asn Arg Gly Arg Gln
450 455 460
Lys Val Val Thr Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln
465 470 475 480
Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val
485 490 495
Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Gln
500 505 510
Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys
515 520 525
Glu Lys Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly
530 535 540
Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys Val Leu
545 550 555 560
<210> 20

<211> 440
<212> PRT
<213> 人免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus)
<400> 20

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

275 280 285

Leu Thr Glu Val Ile Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala
290 295 300

Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp
305 310 315 320

Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln
325 330 335

Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly
340 345 350

Lys Tyr Ala Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu
355 360 365

Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Thr Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly
370 375 380

Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr
385 390 395 400

Trp Trp Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe
405 410 415

Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu
420 425 430

Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe
435 440

<210> 21

<211> 572

<212> PRT

<213> 劳斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)

<400> 21

Thr Val Ala Leu His Leu Ala Ile Pro Leu Lys Trp Lys Pro Asp His
1 5 10 15

Thr Pro Val Trp Ile Asp Gln Trp Pro Leu Pro Glu Gly Lys Leu Val
20 25 30

Ala Leu Thr Gln Leu Val Glu Lys Glu Leu Gln Leu Gly His Ile Glu
35 40 45

Pro Ser Leu Ser Cys Trp Asn Thr Pro Val Phe Val Ile Arg Lys Ala
50 55 60

Ser Gly Ser Tyr Arg Leu Leu His Asp Leu Arg Ala Val Asn Ala Lys
65 70 75 80

Leu Val Pro Phe Gly Ala Val Gln Gln Gly Ala Pro Val Leu Ser Ala
85 90 95

Leu Pro Arg Gly Trp Pro Leu Met Val Leu Asp Leu Lys Asp Cys Phe

100 105 110

Phe Ser Ile Pro Leu Ala Glu Gln Asp Arg Glu Ala Phe Ala Phe Thr
115 120 125

Leu Pro Ser Val Asn Asn Gln Ala Pro Ala Arg Arg Phe Gln Trp Lys
130 135 140

Val Leu Pro Gln Gly Met Thr Cys Ser Pro Thr Ile Cys Gln Leu Val
145 150 155 160

Val Gly Gln Val Leu Glu Pro Leu Arg Leu Lys His Pro Ser Leu Cys
165 170 175

Met Leu His Tyr Met Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Ser Ser His Asp
180 185 190

Gly Leu Glu Ala Ala Gly Glu Glu Val Ile Ser Thr Leu Glu Arg Ala
195 200 205

Gly Phe Thr Ile Ser Pro Asp Lys Val Gln Arg Glu Pro Gly Val Gln
210 215 220

Tyr Leu Gly Tyr Lys Leu Gly Ser Thr Tyr Val Ala Pro Val Gly Leu
225 230 235 240

Val Ala Glu Pro Arg Ile Ala Thr Leu Trp Asp Val Gln Lys Leu Val
245 250 255

Gly Ser Leu Gln Trp Leu Arg Pro Ala Leu Gly Ile Pro Pro Arg Leu
260 265 270

Met Gly Pro Phe Tyr Glu Gln Leu Arg Gly Ser Asp Pro Asn Glu Ala
275 280 285

Arg Glu Trp Asn Leu Asp Met Lys Met Ala Trp Arg Glu Ile Val Arg
290 295 300

Leu Ser Thr Thr Ala Ala Leu Glu Arg Trp Asp Pro Ala Leu Pro Leu
305 310 315 320

Glu Gly Ala Val Ala Arg Cys Glu Gln Gly Ala Ile Gly Val Leu Gly
325 330 335

Gln Gly Leu Ser Thr His Pro Arg Pro Cys Leu Trp Leu Phe Ser Thr
340 345 350

Gln Pro Thr Lys Ala Phe Thr Ala Trp Leu Glu Val Leu Thr Leu Leu
355 360 365

Ile Thr Lys Leu Arg Ala Ser Ala Val Arg Thr Phe Gly Lys Glu Val
370 375 380

Asp Ile Leu Leu Leu Pro Ala Cys Phe Arg Glu Asp Leu Pro Leu Pro
385 390 395 400

Glu Gly Ile Leu Leu Ala Leu Lys Gly Phe Ala Gly Lys Ile Arg Ser
405 410 415

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

<210> 22
<211> 859
<212> PRT
<213> 劳斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)
<400> 22

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

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

420 425 430

Leu Lys Val Arg Val Thr Asp His Pro Val Pro Gly Pro Thr Val Phe
435 440 445

Thr Asp Ala Ser Ser Ser Thr His Lys Gly Val Val Val Trp Arg Glu
450 455 460

Gly Pro Arg Trp Glu Ile Lys Glu Ile Ala Asp Leu Gly Ala Ser Val
465 470 475 480

Gln Gln Leu Glu Ala Arg Ala Val Ala Met Ala Leu Leu Leu Trp Pro
485 490 495

Thr Thr Pro Thr Asn Val Val Thr Asp Ser Ala Phe Val Ala Lys Met
500 505 510

Leu Leu Lys Met Gly Gln Glu Gly Val Pro Ser Thr Ala Ala Ala Phe
515 520 525

Ile Leu Glu Asp Ala Leu Ser Gln Arg Ser Ala Met Ala Ala Val Leu
530 535 540

His Val Arg Ser His Ser Glu Val Pro Gly Phe Phe Thr Glu Gly Asn
545 550 555 560

Asp Val Ala Asp Ser Gln Ala Thr Phe Gln Ala Tyr Pro Leu Arg Glu
565 570 575

Ala Lys Asp Leu His Thr Ala Leu His Ile Gly Pro Arg Ala Leu Ser
580 585 590

Lys Ala Cys Asn Ile Ser Met Gln Gln Ala Arg Glu Val Val Gln Thr
595 600 605

Cys Pro His Cys Asn Ser Ala Pro Ala Leu Glu Ala Gly Val Asn Pro
610 615 620

Arg Gly Leu Gly Pro Leu Gln Ile Trp Gln Thr Asp Phe Thr Leu Glu
625 630 635 640

Pro Arg Met Ala Pro Arg Ser Trp Leu Ala Val Thr Val Asp Thr Ala
645 650 655

Ser Ser Ala Ile Val Val Thr Gln His Gly Arg Val Thr Ser Val Ala
660 665 670

Val Gln His His Trp Ala Thr Ala Ile Ala Val Leu Gly Arg Pro Lys
675 680 685

Ala Ile Lys Thr Asp Asn Gly Ser Cys Phe Thr Ser Lys Ser Thr Arg
690 695 700

Glu Trp Leu Ala Arg Trp Gly Ile Ala His Thr Thr Gly Ile Pro Gly
705 710 715 720

Asn Ser Gln Gly Gln Ala Met Val Glu Arg Ala Asn Arg Leu Leu Lys
725 730 735

Asp Arg Ile Arg Val Leu Ala Glu Gly Asp Gly Phe Met Lys Arg Ile
740 745 750
Pro Thr Ser Lys Gln Gly Glu Leu Leu Ala Lys Ala Met Tyr Ala Leu
755 760 765
Asn His Phe Glu Arg Gly Glu Asn Thr Lys Thr Pro Ile Gln Lys His
770 775 780
Trp Arg Pro Thr Val Leu Thr Glu Gly Pro Pro Val Lys Ile Arg Ile
785 790 795 800
Glu Thr Gly Glu Trp Glu Lys Gly Trp Asn Val Leu Val Trp Gly Arg
805 810 815
Gly Tyr Ala Ala Val Lys Asn Arg Asp Thr Asp Lys Val Ile Trp Val
820 825 830
Pro Ser Arg Lys Val Lys Pro Asp Ile Thr Gln Lys Asp Glu Val Thr
835 840 845
Lys Lys Asp Glu Ala Ser Pro Leu Phe Ala Gly
850 855

<210> 23
<211> 47
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 23
Leu Glu Ile Arg Ala Ala Phe Leu Arg Gln Arg Asn Thr Ala Leu Arg
1 5 10 15
Thr Glu Val Ala Glu Leu Glu Gln Glu Val Gln Arg Leu Glu Asn Glu
20 25 30
Val Ser Gln Tyr Glu Thr Arg Tyr Gly Pro Leu Gly Gly Gly Lys
35 40 45

<210> 24
<211> 47
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 24
Leu Glu Ile Glu Ala Ala Phe Leu Glu Arg Glu Asn Thr Ala Leu Glu
1 5 10 15
Thr Arg Val Ala Glu Leu Arg Gln Arg Val Gln Arg Leu Arg Asn Arg

20 25 30

Val Ser Gln Tyr Arg Thr Arg Tyr Gly Pro Leu Gly Gly Gly Lys

35 40 45

<210> 25

<211> 72

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸

<400> 25

ggccggcatg gtcccagcct cctcgctggc gccggctggg caacatgctt cggcatggcg 60

aatgggacac ag 72

<210> 26

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸

<400> 26

gctgaagcac tgcacgccat gtttaagagc tatgctggaa acagcatagc aagtttaaat 60

aaggctagtc cgttatcaac ttgaaaaagt ggcaccgagt cggtgctgaa ggcgagggcg 120

atgccaccta cggcaagctg accctgaagt tcatctgcac caccggcaag ctgccggtgc 180

cctggcccac cctcgtgacc accctgacat acggcgtgca gtgcttcacc ctcgtgacca 240

ccctgaggcc ggcatggtcc cagcctcctc gctggcgccg gctgggcaac atgcttcggc 300

atggcgaatg ggacacag 318

<210> 27

<211> 866

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 27

Met Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys Lys

1 5 10 15

Arg Lys Val Ala Ser Asn Phe Thr Gln Phe Val Leu Val Asp Asn Gly

20 25 30

Gly Thr Gly Asp Val Thr Val Ala Pro Ser Asn Phe Ala Asn Gly Ile

35 40 45

Ala Glu Trp Ile Ser Ser Asn Ser Arg Ser Gln Ala Tyr Lys Val Thr

50 55 60

Cys Ser Val Arg Gln Ser Ser Ala Gln Asn Arg Lys Tyr Thr Ile Lys
65 70 75 80

Val Glu Val Pro Lys Gly Ala Trp Arg Ser Tyr Leu Asn Met Glu Leu
85 90 95

Thr Ile Pro Ile Phe Ala Thr Asn Ser Asp Cys Glu Leu Ile Val Lys
100 105 110

Ala Met Gln Gly Leu Leu Lys Asp Gly Asn Pro Ile Pro Ser Ala Ile
115 120 125

Ala Ala Asn Ser Gly Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser
130 135 140

Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Ser
145 150 155 160

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr
165 170 175

Arg Leu His Glu Thr Ser Lys Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr
180 185 190

Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly
195 200 205

Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser
210 215 220

Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu
225 230 235 240

Gly Ile Lys Pro His Ile Gln Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val
245 250 255

Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro
260 265 270

Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys
275 280 285

Arg Val Glu Asp Ile His Pro Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu
290 295 300

Ser Gly Leu Pro Pro Ser His Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys
305 310 315 320

Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe
325 330 335

Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr
340 345 350

Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn
355 360 365

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

675 680 685
Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala
690 695 700
Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu
705 710 715 720
Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln
725 730 735
Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser
740 745 750
Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg
755 760 765
Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu
770 775 780
Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile
785 790 795 800
Ile His Cys Pro Gly His Gln Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly
805 810 815
Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr
820 825 830
Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu Ile Glu Asn Ser Ser Pro Ser Gly Gly
835 840 845
Ser Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Pro Lys Lys Lys Arg
850 855 860
Lys Val
865

<210> 28
<211> 157
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 28
gctgaagcac tgcacgccat gtttaagagc tatgctggaa acagcatagc aagtttaaat 60
aaggctagtc cgttatcaac ttgaaaaagt ggcaccgagt cggtgcgcgc acatgaggat 120
cacccatgtg caccctgaca tacggcgtgc agtgctt 157
<210> 29
<211> 182
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 29
gctgaagcac tgcacgccat gtttaagagc tatgctggaa acagcatagc aagtttaaat 60
aaggctagtc cgttatcaac ttgaaaaagt ggcaccgagt cggtgcgcgc acatgaggat 120
cacccatgtg cgcgcacatg aggatcaccc atgtgcaccc tgacatacgg cgtgcagtgc 180
tt 182
<210> 30
<211> 166
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 30
gctgaagcac tgcacgccat gtttaagagc tatgctggaa acagcatagc aagtttaaat 60
aaggctagtc cgttatcaac ttgaaaaagt ggcaccgagt cggtgcggcc aacatgagga 120
tcacccatgt ctgcagggcc accctgacat acggcgtgca gtgctt 166
<210> 31
<211> 182
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 31
gctgaagcac tgcacgccat gttttagagc taggccaaca tgaggatcac ccatgtctgc 60
agggcctagc aagttaaaat aaggctagtc cgttatcaac ttggccaaca tgaggatcac 120
ccatgtctgc agggccaagt ggcaccgagt cggtgcaccc tgacatacgg cgtgcagtgc 180
tt 182
<210> 32
<211> 1368
<212> PRT
<213> 酿脓链球菌(Streptococcus pyogenes)
<400> 32
Met Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Asp Ile Gly Thr Asn Ser Val
1 5 10 15
Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro Ser Lys Lys Phe
20 25 30
Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys Lys Asn Leu Ile
35 40 45

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

355 360 365

Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu Glu Lys Met Asp

370 375 380

Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu Asp Leu Leu Arg

385 390 395 400

Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His Gln Ile His Leu

405 410 415

Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp Phe Tyr Pro Phe

420 425 430

Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Thr Phe Arg Ile

435 440 445

Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser Arg Phe Ala Trp

450 455 460

Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp Asn Phe Glu Glu

465 470 475 480

Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile Glu Arg Met Thr

485 490 495

Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu Pro Lys His Ser

500 505 510

Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys Val Lys

515 520 525

Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly Glu Gln

530 535 540

Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys Val Thr

545 550 555 560

Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys Phe Asp

565 570 575

Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser Leu Gly

580 585 590

Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe Leu Asp

595 600 605

Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr Leu Thr

610 615 620

Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr Tyr Ala

625 630 635 640

His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg Arg Tyr

645 650 655

Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile Arg Asp

660 665 670

Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe
675 680 685
Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
690 695 700
Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705 710 715 720
His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
725 730 735
Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
740 745 750
Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln
755 760 765
Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
770 775 780
Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785 790 795 800
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
805 810 815
Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
820 825 830
Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp His Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
835 840 845
Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
850 855 860
Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865 870 875 880
Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
885 890 895
Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
900 905 910
Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
915 920 925
Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
930 935 940
Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
945 950 955 960
Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
965 970 975
Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val

980 985 990

Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe

995 1000 1005

Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala

1010 1015 1020

Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe

1025 1030 1035

Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala

1040 1045 1050

Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu

1055 1060 1065

Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val

1070 1075 1080

Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr

1085 1090 1095

Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys

1100 1105 1110

Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro

1115 1120 1125

Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val

1130 1135 1140

Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys

1145 1150 1155

Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser

1160 1165 1170

Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys

1175 1180 1185

Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu

1190 1195 1200

Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly

1205 1210 1215

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

1220 1225 1230

Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser

1235 1240 1245

Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys

1250 1255 1260

His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys

1265 1270 1275

Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290
Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305
Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320
Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335
Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350
Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365

<210> 33
<211> 1053
<212> PRT
<213> 金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)
<400> 33

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

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

485 490 495

Arg Asn Arg Gln Thr Asn Glu Arg Ile Glu Glu Ile Ile Arg Thr Thr

500 505 510

Gly Lys Glu Asn Ala Lys Tyr Leu Ile Glu Lys Ile Lys Leu His Asp

515 520 525

Met Gln Glu Gly Lys Cys Leu Tyr Ser Leu Glu Ala Ile Pro Leu Glu

530 535 540

Asp Leu Leu Asn Asn Pro Phe Asn Tyr Glu Val Asp His Ile Ile Pro

545 550 555 560

Arg Ser Val Ser Phe Asp Asn Ser Phe Asn Asn Lys Val Leu Val Lys

565 570 575

Gln Glu Glu Asn Ser Lys Lys Gly Asn Arg Thr Pro Phe Gln Tyr Leu

580 585 590

Ser Ser Ser Asp Ser Lys Ile Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Lys His Ile

595 600 605

Leu Asn Leu Ala Lys Gly Lys Gly Arg Ile Ser Lys Thr Lys Lys Glu

610 615 620

Tyr Leu Leu Glu Glu Arg Asp Ile Asn Arg Phe Ser Val Gln Lys Asp

625 630 635 640

Phe Ile Asn Arg Asn Leu Val Asp Thr Arg Tyr Ala Thr Arg Gly Leu

645 650 655

Met Asn Leu Leu Arg Ser Tyr Phe Arg Val Asn Asn Leu Asp Val Lys

660 665 670

Val Lys Ser Ile Asn Gly Gly Phe Thr Ser Phe Leu Arg Arg Lys Trp

675 680 685

Lys Phe Lys Lys Glu Arg Asn Lys Gly Tyr Lys His His Ala Glu Asp

690 695 700

Ala Leu Ile Ile Ala Asn Ala Asp Phe Ile Phe Lys Glu Trp Lys Lys

705 710 715 720

Leu Asp Lys Ala Lys Lys Val Met Glu Asn Gln Met Phe Glu Glu Lys

725 730 735

Gln Ala Glu Ser Met Pro Glu Ile Glu Thr Glu Gln Glu Tyr Lys Glu

740 745 750

Ile Phe Ile Thr Pro His Gln Ile Lys His Ile Lys Asp Phe Lys Asp

755 760 765

Tyr Lys Tyr Ser His Arg Val Asp Lys Lys Pro Asn Arg Glu Leu Ile

770 775 780

Asn Asp Thr Leu Tyr Ser Thr Arg Lys Asp Asp Lys Gly Asn Thr Leu

785 790 795 800

Ile Val Asn Asn Leu Asn Gly Leu Tyr Asp Lys Asp Asn Asp Lys Leu
805 810 815
Lys Lys Leu Ile Asn Lys Ser Pro Glu Lys Leu Leu Met Tyr His His
820 825 830
Asp Pro Gln Thr Tyr Gln Lys Leu Lys Leu Ile Met Glu Gln Tyr Gly
835 840 845
Asp Glu Lys Asn Pro Leu Tyr Lys Tyr Tyr Glu Glu Thr Gly Asn Tyr
850 855 860
Leu Thr Lys Tyr Ser Lys Lys Asp Asn Gly Pro Val Ile Lys Lys Ile
865 870 875 880
Lys Tyr Tyr Gly Asn Lys Leu Asn Ala His Leu Asp Ile Thr Asp Asp
885 890 895
Tyr Pro Asn Ser Arg Asn Lys Val Val Lys Leu Ser Leu Lys Pro Tyr
900 905 910
Arg Phe Asp Val Tyr Leu Asp Asn Gly Val Tyr Lys Phe Val Thr Val
915 920 925
Lys Asn Leu Asp Val Ile Lys Lys Glu Asn Tyr Tyr Glu Val Asn Ser
930 935 940
Lys Cys Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Leu Lys Lys Ile Ser Asn Gln Ala
945 950 955 960
Glu Phe Ile Ala Ser Phe Tyr Asn Asn Asp Leu Ile Lys Ile Asn Gly
965 970 975
Glu Leu Tyr Arg Val Ile Gly Val Asn Asn Asp Leu Leu Asn Arg Ile
980 985 990
Glu Val Asn Met Ile Asp Ile Thr Tyr Arg Glu Tyr Leu Glu Asn Met
995 1000 1005
Asn Asp Lys Arg Pro Pro Arg Ile Ile Lys Thr Ile Ala Ser Lys
1010 1015 1020
Thr Gln Ser Ile Lys Lys Tyr Ser Thr Asp Ile Leu Gly Asn Leu
1025 1030 1035
Tyr Glu Val Lys Ser Lys Lys His Pro Gln Ile Ile Lys Lys Gly
1040 1045 1050

<210> 34
<211> 984
<212> PRT
<213> 空肠弯曲菌(Campylobacter jejuni)
<400> 34

Met Ala Arg Ile Leu Ala Phe Asp Ile Gly Ile Ser Ser Ile Gly Trp
1 5 10 15

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

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

Arg Tyr Ile Ala Arg Leu Val Leu Asn Tyr Thr Lys Asp Tyr Leu Asp
645 650 655
Phe Leu Pro Leu Ser Asp Asp Glu Asn Thr Lys Leu Asn Asp Thr Gln
660 665 670
Lys Gly Ser Lys Val His Val Glu Ala Lys Ser Gly Met Leu Thr Ser
675 680 685
Ala Leu Arg His Thr Trp Gly Phe Ser Ala Lys Asp Arg Asn Asn His
690 695 700
Leu His His Ala Ile Asp Ala Val Ile Ile Ala Tyr Ala Asn Asn Ser
705 710 715 720
Ile Val Lys Ala Phe Ser Asp Phe Lys Lys Glu Gln Glu Ser Asn Ser
725 730 735
Ala Glu Leu Tyr Ala Lys Lys Ile Ser Glu Leu Asp Tyr Lys Asn Lys
740 745 750
Arg Lys Phe Phe Glu Pro Phe Ser Gly Phe Arg Gln Lys Val Leu Asp
755 760 765
Lys Ile Asp Glu Ile Phe Val Ser Lys Pro Glu Arg Lys Lys Pro Ser
770 775 780
Gly Ala Leu His Glu Glu Thr Phe Arg Lys Glu Glu Glu Phe Tyr Gln
785 790 795 800
Ser Tyr Gly Gly Lys Glu Gly Val Leu Lys Ala Leu Glu Leu Gly Lys
805 810 815
Ile Arg Lys Val Asn Gly Lys Ile Val Lys Asn Gly Asp Met Phe Arg
820 825 830
Val Asp Ile Phe Lys His Lys Lys Thr Asn Lys Phe Tyr Ala Val Pro
835 840 845
Ile Tyr Thr Met Asp Phe Ala Leu Lys Val Leu Pro Asn Lys Ala Val
850 855 860
Ala Arg Ser Lys Lys Gly Glu Ile Lys Asp Trp Ile Leu Met Asp Glu
865 870 875 880
Asn Tyr Glu Phe Cys Phe Ser Leu Tyr Lys Asp Ser Leu Ile Leu Ile
885 890 895
Gln Thr Lys Asp Met Gln Glu Pro Glu Phe Val Tyr Tyr Asn Ala Phe
900 905 910
Thr Ser Ser Thr Val Ser Leu Ile Val Ser Lys His Asp Asn Lys Phe
915 920 925
Glu Thr Leu Ser Lys Asn Gln Lys Ile Leu Phe Lys Asn Ala Asn Glu
930 935 940
Lys Glu Val Ile Ala Lys Ser Ile Gly Ile Gln Asn Leu Lys Val Phe

945 950 955 960
Glu Lys Tyr Ile Val Ser Ala Leu Gly Glu Val Thr Lys Ala Glu Phe
965 970 975
Arg Gln Arg Glu Asp Phe Lys Lys
980

<210> 35
<211> 1087
<212> PRT
<213> 嗜热脂肪地芽孢杆菌(Geobacilus stereothermophilus)
<400> 35
Met Arg Tyr Lys Ile Gly Leu Asp Ile Gly Ile Thr Ser Val Gly Trp
1 5 10 15
Ala Val Met Asn Leu Asp Ile Pro Arg Ile Glu Asp Leu Gly Val Arg
20 25 30
Ile Phe Asp Arg Ala Glu Asn Pro Gln Thr Gly Glu Ser Leu Ala Leu
35 40 45
Pro Arg Arg Leu Ala Arg Ser Ala Arg Arg Arg Leu Arg Arg Arg Lys
50 55 60
His Arg Leu Glu Arg Ile Arg Arg Leu Val Ile Arg Glu Gly Ile Leu
65 70 75 80
Thr Lys Glu Glu Leu Asp Lys Leu Phe Glu Glu Lys His Glu Ile Asp
85 90 95
Val Trp Gln Leu Arg Val Glu Ala Leu Asp Arg Lys Leu Asn Asn Asp
100 105 110
Glu Leu Ala Arg Val Leu Leu His Leu Ala Lys Arg Arg Gly Phe Lys
115 120 125
Ser Asn Arg Lys Ser Glu Arg Ser Asn Lys Glu Asn Ser Thr Met Leu
130 135 140
Lys His Ile Glu Glu Asn Arg Ala Ile Leu Ser Ser Tyr Arg Thr Val
145 150 155 160
Gly Glu Met Ile Val Lys Asp Pro Lys Phe Ala Leu His Lys Arg Asn
165 170 175
Lys Gly Glu Asn Tyr Thr Asn Thr Ile Ala Arg Asp Asp Leu Glu Arg
180 185 190
Glu Ile Arg Leu Ile Phe Ser Lys Gln Arg Glu Phe Gly Asn Met Ser
195 200 205
Cys Thr Glu Glu Phe Glu Asn Glu Tyr Ile Thr Ile Trp Ala Ser Gln
210 215 220
Arg Pro Val Ala Ser Lys Asp Asp Ile Glu Lys Lys Val Gly Phe Cys

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

His Asp Ile Val Lys Phe Lys Leu Trp Ser Glu Gln Asn Gly Arg Cys
545 550 555 560
Ala Tyr Ser Leu Gln Pro Ile Glu Ile Glu Arg Leu Leu Glu Pro Gly
565 570 575
Tyr Val Glu Val Asp His Val Ile Pro Tyr Ser Arg Ser Leu Asp Asp
580 585 590
Ser Tyr Thr Asn Lys Val Leu Val Leu Thr Arg Glu Asn Arg Glu Lys
595 600 605
Gly Asn Arg Ile Pro Ala Glu Tyr Leu Gly Val Gly Thr Glu Arg Trp
610 615 620
Gln Gln Phe Glu Thr Phe Val Leu Thr Asn Lys Gln Phe Ser Lys Lys
625 630 635 640
Lys Arg Asp Arg Leu Leu Arg Leu His Tyr Asp Glu Asn Glu Glu Thr
645 650 655
Glu Phe Lys Asn Arg Asn Leu Asn Asp Thr Arg Tyr Ile Ser Arg Phe
660 665 670
Phe Ala Asn Phe Ile Arg Glu His Leu Lys Phe Ala Glu Ser Asp Asp
675 680 685
Lys Gln Lys Val Tyr Thr Val Asn Gly Arg Val Thr Ala His Leu Arg
690 695 700
Ser Arg Trp Glu Phe Asn Lys Asn Arg Glu Glu Ser Asp Leu His His
705 710 715 720
Ala Val Asp Ala Ala Ile Val Ala Cys Thr Thr Pro Ser Asp Ile Ala
725 730 735
Lys Val Thr Ala Phe Tyr Gln Arg Arg Glu Gln Asn Lys Glu Leu Ala
740 745 750
Lys Lys Thr Glu Pro His Phe Pro Gln Pro Trp Pro His Phe Ala Asp
755 760 765
Glu Leu Arg Ala Arg Leu Ser Lys His Pro Lys Glu Ser Ile Lys Ala
770 775 780
Leu Asn Leu Gly Asn Tyr Asp Asp Gln Lys Leu Glu Ser Leu Gln Pro
785 790 795 800
Val Phe Val Ser Arg Met Pro Lys Arg Ser Val Thr Gly Ala Ala His
805 810 815
Gln Glu Thr Leu Arg Arg Tyr Val Gly Ile Asp Glu Arg Ser Gly Lys
820 825 830
Ile Gln Thr Val Val Lys Thr Lys Leu Ser Glu Ile Lys Leu Asp Ala
835 840 845
Ser Gly His Phe Pro Met Tyr Gly Lys Glu Ser Asp Pro Arg Thr Tyr

850 855 860
Glu Ala Ile Arg Gln Arg Leu Leu Glu His Asn Asn Asp Pro Lys Lys
865 870 875 880
Ala Phe Gln Glu Pro Leu Tyr Lys Pro Lys Lys Asn Gly Glu Pro Gly
885 890 895
Pro Val Ile Arg Thr Val Lys Ile Ile Asp Thr Lys Asn Gln Val Ile
900 905 910
Pro Leu Asn Asp Gly Lys Thr Val Ala Tyr Asn Ser Asn Ile Val Arg
915 920 925
Val Asp Val Phe Glu Lys Asp Gly Lys Tyr Tyr Cys Val Pro Val Tyr
930 935 940
Thr Met Asp Ile Met Lys Gly Ile Leu Pro Asn Lys Ala Ile Glu Pro
945 950 955 960
Asn Lys Pro Tyr Ser Glu Trp Lys Glu Met Thr Glu Asp Tyr Thr Phe
965 970 975
Arg Phe Ser Leu Tyr Pro Asn Asp Leu Ile Arg Ile Glu Leu Pro Arg
980 985 990
Glu Lys Thr Val Lys Thr Ala Ala Gly Glu Glu Ile Asn Val Lys Asp
995 1000 1005
Val Phe Val Tyr Tyr Lys Thr Ile Asp Ser Ala Asn Gly Gly Leu
1010 1015 1020
Glu Leu Ile Ser His Asp His Arg Phe Ser Leu Arg Gly Val Gly
1025 1030 1035
Ser Arg Thr Leu Lys Arg Phe Glu Lys Tyr Gln Val Asp Val Leu
1040 1045 1050
Gly Asn Ile Tyr Lys Val Arg Gly Glu Lys Arg Val Gly Leu Ala
1055 1060 1065
Ser Ser Ala His Ser Lys Thr Gly Glu Thr Val Arg Pro Leu Gln
1070 1075 1080
Ser Thr Arg Asp
1085
<210> 36
<211> 1052
<212> PRT
<213> 副流感嗜血杆菌(Haemophilus parainfluenzae)
<400> 36
Met Glu Asn Lys Asn Leu His Tyr Ile Leu Gly Leu Asp Leu Gly Ile
1 5 10 15
Ala Ser Val Gly Trp Ala Val Val Glu Ile Asp Glu Lys Glu Asn Pro

20 25 30

Leu Arg Leu Ile Asp Val Gly Val Arg Thr Phe Glu Arg Ala Glu Thr
35 40 45

Gln Lys Gly Glu Ser Leu Ala Leu Ser Arg Arg Ser Ala Arg Ser Ala
50 55 60

Arg Arg Leu Thr Gln Arg Arg Val Ala Arg Leu Lys Lys Ala Lys Arg
65 70 75 80

Leu Leu Lys Ser Glu Asn Ile Leu Leu Ser Thr Asp Glu Arg Leu Pro
85 90 95

His Gln Val Trp Gln Leu Arg Val Glu Gly Leu Asp Arg Lys Leu Glu
100 105 110

Arg Gln Glu Trp Ala Ala Val Leu Leu His Leu Ile Lys His Arg Gly
115 120 125

Tyr Leu Ser Gln Arg Lys Asn Glu Ser Lys Ser Glu Asn Lys Glu Leu
130 135 140

Gly Ala Leu Leu Ser Gly Val Ala Ser Asn His Glu Leu Leu Gln Gln
145 150 155 160

Ala Thr Tyr Arg Thr Pro Ala Glu Leu Ala Val Lys Lys Phe Glu Val
165 170 175

Glu Glu Gly His Ile Arg Asn Gln Gln Gly Ala Tyr Thr His Thr Phe
180 185 190

Ser Arg Leu Asp Leu Leu Ala Glu Met Glu Leu Leu Phe Ser Arg Gln
195 200 205

Gln His Phe Gly Asn Pro Phe Ala Ser Glu Lys Leu Leu Glu Asn Leu
210 215 220

Thr Ala Leu Leu Met Trp Gln Lys Pro Ala Leu Ser Gly Glu Asp Ile
225 230 235 240

Leu Lys Met Leu Gly Lys Cys Thr Phe Glu Asp Glu Tyr Lys Ala Ala
245 250 255

Lys Asn Thr Tyr Thr Ala Glu Arg Phe Val Trp Ile Thr Lys Leu Asn
260 265 270

Asn Leu Arg Ile Gln Glu Asn Gly Leu Glu Arg Ala Leu Ser Asp Asn
275 280 285

Glu Arg Leu Met Leu Ile Glu Gln Pro Tyr Glu Lys Ala Lys Leu Thr
290 295 300

Tyr Ala Gln Val Arg Ser Ile Leu Asn Leu Ser Asp Asp Ala Ile Phe
305 310 315 320

Lys Gly Val Arg Tyr Ser Gly Glu Asp Lys Lys Ala Ile Glu Thr Lys
325 330 335

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

645 650 655
Arg Asn Leu Asn Asp Thr Arg Tyr Val Ala Arg Phe Leu Cys Asn Phe
660 665 670
Ile Ala Asp Asn Met His Leu Thr Gly Glu Gly Lys Arg Lys Val Phe
675 680 685
Ala Ser Asn Gly Gln Ile Thr Ala Leu Leu Arg Arg Arg Trp Gly Leu
690 695 700
Ala Lys Ser Arg Glu Asp Asn Asp Arg His His Ala Leu Asp Ala Val
705 710 715 720
Leu Val Ala Cys Ser Thr Val Ala Met Gln Gln Lys Ile Thr Arg Phe
725 730 735
Val Arg Phe Lys Ala Gly Asp Val Phe Thr Gly Glu Arg Ile Asp Arg
740 745 750
Glu Thr Gly Glu Ile Ile Pro Leu His Phe Pro Thr Pro Trp Gln Phe
755 760 765
Phe Lys Gln Glu Val Glu Ile Arg Ile Phe Ser Asp Asn Pro Lys Leu
770 775 780
Glu Leu Glu Asn Arg Leu Pro Asp Arg Pro Gln Ala Asn His Glu Phe
785 790 795 800
Val Gln Pro Leu Phe Val Ser Arg Met Pro Thr Arg Lys Met Thr Gly
805 810 815
Gln Gly His Met Glu Thr Val Lys Ser Ala Lys Arg Leu Asn Glu Gly
820 825 830
Ile Ser Met Ile Lys Met Pro Leu Thr Lys Leu Lys Leu Lys Asp Leu
835 840 845
Glu Leu Met Val Asn Arg Glu Arg Glu Lys Asp Leu Tyr Asp Ala Leu
850 855 860
Lys Thr Arg Leu Glu Ala Phe Asn Asp Asp Pro Ala Lys Ala Phe Ala
865 870 875 880
Glu Pro Phe Met Lys Lys Gly Gly Ala Ile Val Lys Ser Val Arg Val
885 890 895
Glu Gln Val Gln Lys Ser Gly Val Leu Val Arg Gln Gly Asn Gly Val
900 905 910
Ala Asp Asn Ala Ser Met Val Arg Val Asp Val Phe Thr Lys Asp Gly
915 920 925
Lys Tyr Phe Leu Val Pro Ile Tyr Thr Trp Gln Val Ala Lys Gly Ile
930 935 940
Leu Pro Asn Lys Ala Val Ile Gln Gly Lys Asp Glu Glu Asp Trp Glu
945 950 955 960

Asp Ile Asp Asp Ala Thr Phe Gln Phe Ser Leu His Pro Asn Asp Leu
965 970 975
Ile Ser Val Lys Thr Lys Lys Asp Glu Phe Leu Gly Tyr Phe Asn Gly
980 985 990
Leu Asn Arg His Thr Gly Gly Ile Asn Ile Arg Thr His Asp Leu Glu
995 1000 1005
Lys Ser Lys Gly Lys Gln Gly Ile Phe Glu Gly Ile Gly Val Lys
1010 1015 1020
Ile Ala Leu Ser Phe Glu Lys Tyr Gln Ile Asp Glu Leu Gly Lys
1025 1030 1035
Asn Ile Arg Leu Cys Lys Pro Ser Lys Arg Gln Pro Val Arg
1040 1045 1050

<210> 37
<211> 1082
<212> PRT
<213> 脑膜炎奈瑟菌(Neisseria meningitidis)
<400> 37

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

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

485 490 495
Ser Pro Ala Arg Ile His Ile Glu Thr Ala Arg Glu Val Gly Lys Ser
500 505 510
Phe Lys Asp Arg Lys Glu Ile Glu Lys Arg Gln Glu Glu Asn Arg Lys
515 520 525
Asp Arg Glu Lys Ala Ala Ala Lys Phe Arg Glu Tyr Phe Pro Asn Phe
530 535 540
Val Gly Glu Pro Lys Ser Lys Asp Ile Leu Lys Leu Arg Leu Tyr Glu
545 550 555 560
Gln Gln His Gly Lys Cys Leu Tyr Ser Gly Lys Glu Ile Asn Leu Gly
565 570 575
Arg Leu Asn Glu Lys Gly Tyr Val Glu Ile Asp His Ala Leu Pro Phe
580 585 590
Ser Arg Thr Trp Asp Asp Ser Phe Asn Asn Lys Val Leu Val Leu Gly
595 600 605
Ser Glu Asn Gln Asn Lys Gly Asn Gln Thr Pro Tyr Glu Tyr Phe Asn
610 615 620
Gly Lys Asp Asn Ser Arg Glu Trp Gln Glu Phe Lys Ala Arg Val Glu
625 630 635 640
Thr Ser Arg Phe Pro Arg Ser Lys Lys Gln Arg Ile Leu Leu Gln Lys
645 650 655
Phe Asp Glu Asp Gly Phe Lys Glu Arg Asn Leu Asn Asp Thr Arg Tyr
660 665 670
Val Asn Arg Phe Leu Cys Gln Phe Val Ala Asp Arg Met Arg Leu Thr
675 680 685
Gly Lys Gly Lys Lys Arg Val Phe Ala Ser Asn Gly Gln Ile Thr Asn
690 695 700
Leu Leu Arg Gly Phe Trp Gly Leu Arg Lys Val Arg Ala Glu Asn Asp
705 710 715 720
Arg His His Ala Leu Asp Ala Val Val Val Ala Cys Ser Thr Val Ala
725 730 735
Met Gln Gln Lys Ile Thr Arg Phe Val Arg Tyr Lys Glu Met Asn Ala
740 745 750
Phe Asp Gly Lys Thr Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Val Leu His Gln
755 760 765
Lys Thr His Phe Pro Gln Pro Trp Glu Phe Phe Ala Gln Glu Val Met
770 775 780
Ile Arg Val Phe Gly Lys Pro Asp Gly Lys Pro Glu Phe Glu Glu Ala
785 790 795 800

Asp Thr Pro Glu Lys Leu Arg Thr Leu Leu Ala Glu Lys Leu Ser Ser
805 810 815
Arg Pro Glu Ala Val His Glu Tyr Val Thr Pro Leu Phe Val Ser Arg
820 825 830
Ala Pro Asn Arg Lys Met Ser Gly Gln Gly His Met Glu Thr Val Lys
835 840 845
Ser Ala Lys Arg Leu Asp Glu Gly Val Ser Val Leu Arg Val Pro Leu
850 855 860
Thr Gln Leu Lys Leu Lys Asp Leu Glu Lys Met Val Asn Arg Glu Arg
865 870 875 880
Glu Pro Lys Leu Tyr Glu Ala Leu Lys Ala Arg Leu Glu Ala His Lys
885 890 895
Asp Asp Pro Ala Lys Ala Phe Ala Glu Pro Phe Tyr Lys Tyr Asp Lys
900 905 910
Ala Gly Asn Arg Thr Gln Gln Val Lys Ala Val Arg Val Glu Gln Val
915 920 925
Gln Lys Thr Gly Val Trp Val Arg Asn His Asn Gly Ile Ala Asp Asn
930 935 940
Ala Thr Met Val Arg Val Asp Val Phe Glu Lys Gly Asp Lys Tyr Tyr
945 950 955 960
Leu Val Pro Ile Tyr Ser Trp Gln Val Ala Lys Gly Ile Leu Pro Asp
965 970 975
Arg Ala Val Val Gln Gly Lys Asp Glu Glu Asp Trp Gln Leu Ile Asp
980 985 990
Asp Ser Phe Asn Phe Lys Phe Ser Leu His Pro Asn Asp Leu Val Glu
995 1000 1005
Val Ile Thr Lys Lys Ala Arg Met Phe Gly Tyr Phe Ala Ser Cys
1010 1015 1020
His Arg Gly Thr Gly Asn Ile Asn Ile Arg Ile His Asp Leu Asp
1025 1030 1035
His Lys Ile Gly Lys Asn Gly Ile Leu Glu Gly Ile Gly Val Lys
1040 1045 1050
Thr Ala Leu Ser Phe Gln Lys Tyr Gln Ile Asp Glu Leu Gly Lys
1055 1060 1065
Glu Ile Arg Pro Cys Arg Leu Lys Lys Arg Pro Pro Val Arg
1070 1075 1080

<210> 38
<211> 338
<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 38

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

290 295 300

Asp Phe Val Thr Thr Arg Pro Ala Leu Lys Glu Leu Leu Lys Glu Ala
305 310 315 320

Leu Asn Met Glu Arg Asn Asn Arg Tyr Gln Pro Leu Gln Asn His Ala
325 330 335

Lys Met

<210> 39

<211> 357

<212> PRT

<213> 小家鼠(Mus sp.)

<400> 39

Met Ala Lys Gly Lys Arg Lys Asn Pro Thr Asn Arg Asn Gln Asp His
1 5 10 15

Ser Pro Ser Ser Glu Arg Ser Thr Pro Thr Pro Pro Ser Pro Gly His
20 25 30

Pro Asn Thr Thr Glu Asn Leu Asp Pro Asp Leu Lys Thr Phe Leu Met
35 40 45

Met Met Ile Glu Asp Ile Lys Lys Asp Phe His Lys Ser Leu Lys Asp
50 55 60

Leu Gln Glu Ser Thr Ala Lys Glu Leu Gln Ala Leu Lys Glu Lys Gln
65 70 75 80

Glu Asn Thr Ala Lys Gln Val Met Glu Met Asn Lys Thr Ile Leu Glu
85 90 95

Leu Lys Gly Glu Val Asp Thr Ile Lys Lys Thr Gln Ser Glu Ala Thr
100 105 110

Leu Glu Ile Glu Thr Leu Gly Lys Arg Ser Gly Thr Ile Asp Ala Ser
115 120 125

Ile Ser Asn Arg Ile Gln Glu Met Glu Glu Arg Ile Ser Gly Ala Glu
130 135 140

Asp Ser Ile Glu Asn Ile Asp Thr Thr Val Lys Glu Asn Thr Lys Cys
145 150 155 160

Lys Arg Ile Leu Thr Gln Asn Ile Gln Val Ile Gln Asp Thr Met Arg
165 170 175

Arg Pro Asn Leu Arg Ile Ile Gly Ile Asp Glu Asn Glu Asp Phe Gln
180 185 190

Leu Lys Gly Pro Ala Asn Ile Phe Asn Lys Ile Ile Glu Glu Asn Phe
195 200 205

Pro Asn Ile Lys Lys Glu Met Pro Met Ile Ile Gln Glu Ala Tyr Arg
210 215 220

Thr Pro Asn Arg Leu Asp Gln Lys Arg Asn Ser Ser Arg His Ile Ile
225 230 235 240
Ile Arg Thr Thr Asn Ala Leu Asn Lys Asp Arg Ile Leu Lys Ala Val
245 250 255
Arg Glu Lys Gly Gln Val Thr Tyr Lys Gly Arg Pro Ile Arg Ile Thr
260 265 270
Pro Asp Phe Ser Pro Glu Thr Met Lys Ala Arg Arg Ala Trp Thr Asp
275 280 285
Val Ile Gln Thr Leu Arg Glu His Lys Cys Gln Pro Arg Leu Leu Tyr
290 295 300
Pro Ala Lys Leu Ser Ile Thr Ile Asp Gly Glu Thr Lys Val Phe His
305 310 315 320
Asp Lys Thr Lys Phe Thr Gln Tyr Leu Ser Thr Asn Pro Ala Leu Gln
325 330 335
Arg Ile Ile Thr Glu Lys Lys Gln Tyr Lys Asp Gly Asn His Ala Leu
340 345 350
Glu Gln Pro Arg Lys
355

<210> 40
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 40
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

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

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu

595 600 605

Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala

610 615 620

Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln

625 630 635 640

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala

645 650 655

Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro

675

<210> 41

<211> 678

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 41

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

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

610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 42
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 42
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Leu Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110
Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125
Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140
Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160
Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175
Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly

180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu

195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val

210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly

225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser

245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr

260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr

275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe

290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu

305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn

325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu

340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu

355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln

370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu

385 390 395 400

Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala Ala

405 410 415

Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 43
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 43

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

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

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

<210> 44
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 44

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

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

565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 45
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 45
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Lys Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110
Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125
Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His

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

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu
450 455 460
Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn
465 470 475 480
Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys
485 490 495
Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 46
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 46

Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15

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

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

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 47
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 47

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

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

515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 48
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 48
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn

85 90 95

Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125

Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140

Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160

Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175

Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly
180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Ala Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu
195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val
210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser
245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr
260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr
275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe
290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu
305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn
325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu
340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu
355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln
370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu
385 390 395 400

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

<210> 49
<211> 678
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 49

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

275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe

290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu

305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn

325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu

340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu

355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln

370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu

385 390 395 400

Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala Ala

405 410 415

Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 50
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 50

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

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

465 470 475 480
Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys
485 490 495
Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 51
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 51
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro

35 40 45

Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60

Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80

Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95

Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125

Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140

Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160

Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175

Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly
180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu
195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val
210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asp Leu Gly Tyr Arg Ala Ser
245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr
260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr
275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe
290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu
305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn
325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu
340 345 350

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

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 52
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 52

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

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

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 53
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 53
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

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

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu

595 600 605

Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala

610 615 620

Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln

625 630 635 640

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala

645 650 655

Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro

675

<210> 54

<211> 678

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 54

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

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

610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 55
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 55
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110
Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125
Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140
Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160
Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175
Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly

180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu

195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val

210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly

225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser

245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr

260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr

275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Lys Phe

290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu

305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn

325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu

340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu

355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln

370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu

385 390 395 400

Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala Ala

405 410 415

Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 56
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 56

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

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

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

<210> 57
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 57

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

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

565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 58
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 58
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110
Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125
Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His

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

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu
450 455 460
Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn
465 470 475 480
Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys
485 490 495
Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 59
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 59
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15

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

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

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 60
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 60

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

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

515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 61
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 61
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn

85 90 95

Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125

Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140

Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160

Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175

Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly
180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu
195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val
210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser
245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr
260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr
275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe
290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu
305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn
325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu
340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu
355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln
370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu
385 390 395 400

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

<210> 62
<211> 678
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 62

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

275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe

290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu

305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn

325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu

340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu

355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln

370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu

385 390 395 400

Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala Ala

405 410 415

Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Asp Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 63
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 63

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

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

465 470 475 480
Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys
485 490 495
Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Arg Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 64
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 64
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro

35 40 45

Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60

Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80

Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95

Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125

Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140

Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160

Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175

Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly
180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu
195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val
210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser
245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr
260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr
275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe
290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu
305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn
325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu
340 345 350

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

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 65
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 65

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

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

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Ser Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 66
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 66
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

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

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile Gln Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu

595 600 605

Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala

610 615 620

Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln

625 630 635 640

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala

645 650 655

Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro

675

<210> 67

<211> 678

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 67

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

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

610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly Gly Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 68
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 68
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110
Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125
Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140
Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160
Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175
Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly

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

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asn Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 69
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 69
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60

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

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

<210> 70
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 70

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

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

565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Pro
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 71
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 71
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110
Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125
Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His

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

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu
450 455 460
Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn
465 470 475 480
Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys
485 490 495
Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asn Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 72
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 72
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15

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

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

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Asn Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 73
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 73

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

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

515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Pro
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 74
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 74
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn

85 90 95

Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125

Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140

Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160

Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175

Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly
180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Ala Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu
195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val
210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser
245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr
260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr
275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe
290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu
305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn
325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu
340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu
355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln
370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu
385 390 395 400

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

<210> 75
<211> 678
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 75

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

275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe

290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu

305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn

325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu

340 345 350

Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu

355 360 365

Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln

370 375 380

Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu

385 390 395 400

Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala Ala

405 410 415

Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro

420 425 430

Leu Val Ile Gly Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Ala Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asn Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Asn Pro Asp Thr Ser Thr Leu Pro
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 76
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 76

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

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

465 470 475 480
Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys
485 490 495
Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp
500 505 510
Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser
515 520 525
Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
530 535 540
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 77
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 77
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro

35 40 45

Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60

Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80

Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95

Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro
115 120 125

Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His
130 135 140

Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg
145 150 155 160

Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro
165 170 175

Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly
180 185 190

Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu
195 200 205

Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Ala
210 215 220

Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser
245 250 255

Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr
260 265 270

Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr
275 280 285

Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe
290 295 300

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu
305 310 315 320

Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn
325 330 335

Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu
340 345 350

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

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 78
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 78

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

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

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln
545 550 555 560
Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly
565 570 575
Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala
580 585 590
His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu
595 600 605
Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala
610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 79
<211> 678
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 79
Met Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys
1 5 10 15
Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln
20 25 30
Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro
35 40 45
Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
50 55 60
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln
65 70 75 80
Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn
85 90 95
Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro
100 105 110

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

420 425 430

Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro

435 440 445

Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu

450 455 460

Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn

465 470 475 480

Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys

485 490 495

Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp

500 505 510

Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser

515 520 525

Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu

530 535 540

Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln

545 550 555 560

Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly

565 570 575

Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala

580 585 590

His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu

595 600 605

Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala

610 615 620

Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln

625 630 635 640

Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala

645 650 655

Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu

660 665 670

Ile Glu Asn Ser Ser Pro

675

<210> 80

<211> 678

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成多肽

<400> 80

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

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

610 615 620
Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln
625 630 635 640
Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala
645 650 655
Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu
660 665 670
Ile Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 81
<211> 677
<212> PRT
<213> 鼠白血病病毒(Murine leukemia virus)
<400> 81
Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys Glu
1 5 10 15
Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln Ala
20 25 30
Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro Leu
35 40 45
Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln Tyr
50 55 60
Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln Arg
65 70 75 80
Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn Thr
85 90 95
Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro Val
100 105 110
Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro Thr
115 120 125
Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His Gln
130 135 140
Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg Leu
145 150 155 160
His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro Glu
165 170 175
Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly Phe
180 185 190
Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asp Glu Ala Leu His Arg Asp Leu Ala

195 200 205

Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val Asp

210 215 220

Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly Thr

225 230 235 240

Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser Ala

245 250 255

Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr Leu

260 265 270

Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr Val

275 280 285

Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe Leu

290 295 300

Gly Thr Ala Gly Phe Cys Arg Leu Trp Ile Pro Gly Phe Ala Glu Met

305 310 315 320

Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Thr Gly Thr Leu Phe Asn Trp

325 330 335

Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala Leu Leu

340 345 350

Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe Glu Leu

355 360 365

Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr Gln Lys

370 375 380

Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys Leu Asp

385 390 395 400

Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala Ala Ile

405 410 415

Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro Leu

420 425 430

Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro Pro

435 440 445

Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu Leu

450 455 460

Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn Pro

465 470 475 480

Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys Leu

485 490 495

Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp Gln

500 505 510

Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser Leu
515 520 525
Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu Thr
530 535 540
Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln Arg
545 550 555 560
Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly Lys
565 570 575
Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala His
580 585 590
Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Ile Leu Thr Ser Glu Gly
595 600 605
Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala Leu
610 615 620
Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln Lys
625 630 635 640
Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala Ala
645 650 655
Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu Ile
660 665 670
Glu Asn Ser Ser Pro
675

<210> 82
<211> 112
<212> PRT
<213> 人免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus) 2
<400> 82
Met Thr Asp Pro Arg Glu Thr Val Pro Pro Gly Asn Ser Gly Glu Glu
1 5 10 15
Thr Ile Gly Glu Ala Phe Ala Trp Leu Asn Arg Thr Val Glu Ala Ile
20 25 30
Asn Arg Glu Ala Val Asn His Leu Pro Arg Glu Leu Ile Phe Gln Val
35 40 45
Trp Gln Arg Ser Trp Arg Tyr Trp His Asp Glu Gln Gly Met Ser Glu
50 55 60
Ser Tyr Thr Lys Tyr Arg Tyr Leu Cys Ile Ile Gln Lys Ala Val Tyr
65 70 75 80
Met His Val Arg Lys Gly Cys Thr Cys Leu Gly Arg Gly His Gly Pro
85 90 95

Gly Gly Trp Arg Pro Gly Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gly Leu Val
100 105 110

<210> 83
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 83

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

<210> 84
<211> 1368
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 84

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

35 40 45

Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu Ala Thr Arg Leu
50 55 60

Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys Asn Arg Ile Cys
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys Val Asp Asp Ser
85 90 95

Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu Glu Asp Lys Lys
100 105 110

His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp Glu Val Ala Tyr
115 120 125

His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu Val Asp
130 135 140

Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu Ala His
145 150 155 160

Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu Asn Pro
165 170 175

Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln Thr Tyr
180 185 190

Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val Asp Ala
195 200 205

Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg Arg Leu Glu Asn
210 215 220

Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly Leu Phe Gly Asn
225 230 235 240

Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe Lys Ser Asn Phe
245 250 255

Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asp Thr Tyr Asp
260 265 270

Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp Gln Tyr Ala Asp
275 280 285

Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile Leu Leu Ser Asp
290 295 300

Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro Leu Ser Ala Ser
305 310 315 320

Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu Thr Leu Leu Lys
325 330 335

Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys Glu Ile Phe Phe
340 345 350

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

660 665 670

Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe

675 680 685

Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe

690 695 700

Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu

705 710 715 720

His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly

725 730 735

Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly

740 745 750

Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln

755 760 765

Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile

770 775 780

Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro

785 790 795 800

Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu

805 810 815

Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg

820 825 830

Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys

835 840 845

Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg

850 855 860

Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys

865 870 875 880

Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys

885 890 895

Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp

900 905 910

Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr

915 920 925

Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp

930 935 940

Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser

945 950 955 960

Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg

965 970 975

Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
980 985 990
Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe
995 1000 1005
Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala
1010 1015 1020
Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe
1025 1030 1035
Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala
1040 1045 1050
Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu
1055 1060 1065
Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val
1070 1075 1080
Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr
1085 1090 1095
Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys
1100 1105 1110
Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro
1115 1120 1125
Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
1130 1135 1140
Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
1145 1150 1155
Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
1160 1165 1170
Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185
Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200
Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215
Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230
Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
1235 1240 1245
Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
1250 1255 1260
His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys

1265 1270 1275
Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290
Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305
Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320
Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335
Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350
Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365

<210> 85
<211> 1368
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 85

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

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

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

770 775 780
Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785 790 795 800
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
805 810 815
Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
820 825 830
Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
835 840 845
Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
850 855 860
Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865 870 875 880
Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
885 890 895
Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
900 905 910
Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
915 920 925
Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
930 935 940
Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
945 950 955 960
Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
965 970 975
Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
980 985 990
Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe
995 1000 1005
Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala
1010 1015 1020
Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe
1025 1030 1035
Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala
1040 1045 1050
Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu
1055 1060 1065
Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Cys Phe Ala Thr Val
1070 1075 1080

Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr
1085 1090 1095
Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys
1100 1105 1110
Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro
1115 1120 1125
Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
1130 1135 1140
Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
1145 1150 1155
Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
1160 1165 1170
Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185
Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200
Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215
Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230
Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
1235 1240 1245
Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
1250 1255 1260
His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys
1265 1270 1275
Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290
Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305
Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320
Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335
Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350
Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365
<210> 86

<211> 1368
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 86

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

260 265 270

Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp Gln Tyr Ala Asp

275 280 285

Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile Leu Leu Ser Asp

290 295 300

Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro Leu Ser Ala Ser

305 310 315 320

Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu Thr Leu Leu Lys

325 330 335

Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys Glu Ile Phe Phe

340 345 350

Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp Gly Gly Ala Ser

355 360 365

Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu Glu Lys Met Asp

370 375 380

Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu Asp Leu Leu Arg

385 390 395 400

Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His Gln Ile His Leu

405 410 415

Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp Phe Tyr Pro Phe

420 425 430

Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Thr Phe Arg Ile

435 440 445

Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser Arg Phe Ala Trp

450 455 460

Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp Asn Phe Glu Glu

465 470 475 480

Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile Glu Arg Met Thr

485 490 495

Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu Pro Lys His Ser

500 505 510

Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys Val Lys

515 520 525

Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly Glu Gln

530 535 540

Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys Val Thr

545 550 555 560

Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys Phe Asp

565 570 575

Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser Leu Gly
580 585 590
Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe Leu Asp
595 600 605
Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr Leu Thr
610 615 620
Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr Tyr Ala
625 630 635 640
His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg Arg Tyr
645 650 655
Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile Arg Asp
660 665 670
Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe
675 680 685
Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
690 695 700
Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705 710 715 720
His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
725 730 735
Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
740 745 750
Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln
755 760 765
Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
770 775 780
Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785 790 795 800
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
805 810 815
Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
820 825 830
Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
835 840 845
Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
850 855 860
Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865 870 875 880
Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys

885 890 895
Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
900 905 910
Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
915 920 925
Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
930 935 940
Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
945 950 955 960
Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
965 970 975
Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
980 985 990
Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe
995 1000 1005
Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala
1010 1015 1020
Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe
1025 1030 1035
Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala
1040 1045 1050
Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu
1055 1060 1065
Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val
1070 1075 1080
Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr
1085 1090 1095
Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys
1100 1105 1110
Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro
1115 1120 1125
Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
1130 1135 1140
Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
1145 1150 1155
Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Cys
1160 1165 1170
Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185

Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200
Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215
Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230
Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
1235 1240 1245
Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
1250 1255 1260
His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys
1265 1270 1275
Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290
Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305
Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320
Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335
Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350
Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365

<210> 87
<211> 1368
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 87

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

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

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

Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
690 695 700
Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705 710 715 720
His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
725 730 735
Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
740 745 750
Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln
755 760 765
Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
770 775 780
Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785 790 795 800
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
805 810 815
Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
820 825 830
Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
835 840 845
Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
850 855 860
Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865 870 875 880
Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
885 890 895
Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
900 905 910
Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
915 920 925
Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
930 935 940
Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
945 950 955 960
Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
965 970 975
Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
980 985 990
Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe

995 1000 1005

Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala
1010 1015 1020

Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe
1025 1030 1035

Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala
1040 1045 1050

Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu
1055 1060 1065

Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val
1070 1075 1080

Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr
1085 1090 1095

Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys
1100 1105 1110

Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro
1115 1120 1125

Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
1130 1135 1140

Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
1145 1150 1155

Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
1160 1165 1170

Phe Glu Lys Asn Pro Ile Cys Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185

Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200

Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215

Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230

Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
1235 1240 1245

Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
1250 1255 1260

His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys
1265 1270 1275

Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290

Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305
Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320
Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335
Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350
Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365

<210> 88
<211> 102
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:Npu N内含肽序列
<400> 88

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

<210> 89
<211> 35
<212> PRT
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:Npu C内含肽序列
<400> 89

Ile Lys Ile Ala Thr Arg Lys Tyr Leu Gly Lys Gln Asn Val Tyr Asp

1 5 10 15
Ile Gly Val Glu Arg Asp His Asn Phe Ala Leu Lys Asn Gly Phe Ile
20 25 30
Ala Ser Asn
35
<210> 90
<211> 1292
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 90
Met Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys Lys
1 5 10 15
Arg Lys Val Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Asp Ile Gly Thr Asn
20 25 30
Ser Val Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro Ser Lys
35 40 45
Lys Phe Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys Lys Asn
50 55 60
Leu Ile Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu Ala Thr
65 70 75 80
Arg Leu Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys Asn Arg
85 90 95
Ile Cys Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys Val Asp
100 105 110
Asp Ser Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu Glu Asp
115 120 125
Lys Lys His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp Glu Val
130 135 140
Ala Tyr His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu
145 150 155 160
Val Asp Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu
165 170 175
Ala His Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu
180 185 190
Asn Pro Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln
195 200 205
Thr Tyr Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val

210 215 220

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

His Ser Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys
530 535 540
Val Lys Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly
545 550 555 560
Glu Gln Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys
565 570 575
Val Thr Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys
580 585 590
Phe Asp Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser
595 600 605
Leu Gly Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe
610 615 620
Leu Asp Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr
625 630 635 640
Leu Thr Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr
645 650 655
Tyr Ala His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg
660 665 670
Arg Tyr Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile
675 680 685
Arg Asp Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp
690 695 700
Gly Phe Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu
705 710 715 720
Thr Phe Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp
725 730 735
Ser Leu His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys
740 745 750
Lys Gly Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val
755 760 765
Met Gly Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu
770 775 780
Asn Gln Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys
785 790 795 800
Arg Ile Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu
805 810 815
His Pro Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr
820 825 830
Tyr Leu Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile

835 840 845

Asn Arg Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe

850 855 860

Leu Lys Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys

865 870 875 880

Asn Arg Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys

885 890 895

Met Lys Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln

900 905 910

Arg Lys Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu

915 920 925

Leu Asp Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln

930 935 940

Ile Thr Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys

945 950 955 960

Tyr Asp Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu

965 970 975

Lys Ser Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys

980 985 990

Val Arg Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn

995 1000 1005

Ala Val Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu

1010 1015 1020

Ser Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys

1025 1030 1035

Met Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys

1040 1045 1050

Tyr Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile

1055 1060 1065

Thr Leu Ala Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr

1070 1075 1080

Asn Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe

1085 1090 1095

Ala Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val

1100 1105 1110

Lys Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile

1115 1120 1125

Leu Pro Lys Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp

1130 1135 1140

Trp Asp Pro Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala
1145 1150 1155
Tyr Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys
1160 1165 1170
Lys Leu Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu
1175 1180 1185
Arg Ser Cys Leu Ser Tyr Glu Thr Glu Ile Leu Thr Val Glu Tyr
1190 1195 1200
Gly Leu Leu Pro Ile Gly Lys Ile Val Glu Lys Arg Ile Glu Cys
1205 1210 1215
Thr Val Tyr Ser Val Asp Asn Asn Gly Asn Ile Tyr Thr Gln Pro
1220 1225 1230
Val Ala Gln Trp His Asp Arg Gly Glu Gln Glu Val Phe Glu Tyr
1235 1240 1245
Cys Leu Glu Asp Gly Ser Leu Ile Arg Ala Thr Lys Asp His Lys
1250 1255 1260
Phe Met Thr Val Asp Gly Gln Met Leu Pro Ile Asp Glu Ile Phe
1265 1270 1275
Glu Arg Glu Leu Asp Leu Met Arg Val Asp Asn Leu Pro Asn
1280 1285 1290

<210> 91
<211> 953
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 91

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

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

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

Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn Pro Ala
725 730 735
Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys Leu Asp
740 745 750
Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp Gln Pro
755 760 765
Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser Leu Leu
770 775 780
Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu Thr Glu
785 790 795 800
Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala Gln Arg Ala
805 810 815
Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu Gly Lys Lys
820 825 830
Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr Ala His Ile
835 840 845
His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp Leu Thr Ser Glu Gly Lys
850 855 860
Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys Ala Leu Phe
865 870 875 880
Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His Gln Lys Gly
885 890 895
His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala Ala Arg
900 905 910
Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu Ile Glu
915 920 925
Asn Ser Ser Pro Ser Gly Gly Ser Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu
930 935 940
Phe Glu Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
945 950

<210> 92
<211> 2108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 92
Met Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys Lys
1 5 10 15

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

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

Leu Thr Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr
645 650 655
Tyr Ala His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg
660 665 670
Arg Tyr Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile
675 680 685
Arg Asp Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp
690 695 700
Gly Phe Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu
705 710 715 720
Thr Phe Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp
725 730 735
Ser Leu His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys
740 745 750
Lys Gly Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val
755 760 765
Met Gly Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu
770 775 780
Asn Gln Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys
785 790 795 800
Arg Ile Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu
805 810 815
His Pro Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr
820 825 830
Tyr Leu Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile
835 840 845
Asn Arg Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe
850 855 860
Leu Lys Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys
865 870 875 880
Asn Arg Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys
885 890 895
Met Lys Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln
900 905 910
Arg Lys Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu
915 920 925
Leu Asp Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln
930 935 940
Ile Thr Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys

945 950 955 960
Tyr Asp Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu
965 970 975
Lys Ser Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys
980 985 990
Val Arg Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn
995 1000 1005
Ala Val Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu
1010 1015 1020
Ser Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys
1025 1030 1035
Met Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys
1040 1045 1050
Tyr Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile
1055 1060 1065
Thr Leu Ala Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr
1070 1075 1080
Asn Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe
1085 1090 1095
Ala Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val
1100 1105 1110
Lys Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile
1115 1120 1125
Leu Pro Lys Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp
1130 1135 1140
Trp Asp Pro Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala
1145 1150 1155
Tyr Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys
1160 1165 1170
Lys Leu Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu
1175 1180 1185
Arg Ser Cys Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys
1190 1195 1200
Gly Tyr Lys Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys
1205 1210 1215
Tyr Ser Leu Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala
1220 1225 1230
Ser Ala Gly Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser
1235 1240 1245

Lys Tyr Val Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu
1250 1255 1260
Lys Gly Ser Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu
1265 1270 1275
Gln His Lys His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu
1280 1285 1290
Phe Ser Lys Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val
1295 1300 1305
Leu Ser Ala Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln
1310 1315 1320
Ala Glu Asn Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala
1325 1330 1335
Pro Ala Ala Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg
1340 1345 1350
Tyr Thr Ser Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln
1355 1360 1365
Ser Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu
1370 1375 1380
Gly Gly Asp Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr
1385 1390 1395
Pro Glu Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Leu Asn
1400 1405 1410
Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys Glu Pro Asp
1415 1420 1425
Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln Ala Trp
1430 1435 1440
Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro Leu
1445 1450 1455
Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln
1460 1465 1470
Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile
1475 1480 1485
Gln Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro
1490 1495 1500
Trp Asn Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp
1505 1510 1515
Tyr Arg Pro Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu
1520 1525 1530
Asp Ile His Pro Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly

1535 1540 1545

Leu Pro Pro Ser His Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp

1550 1555 1560

Ala Phe Phe Cys Leu Arg Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe

1565 1570 1575

Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu

1580 1585 1590

Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu

1595 1600 1605

Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu Ala Asp Phe Arg Ile Gln

1610 1615 1620

His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val Asp Asp Leu Leu Leu

1625 1630 1635

Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly Thr Arg Ala Leu

1640 1645 1650

Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser Ala Lys Lys

1655 1660 1665

Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr Leu Leu

1670 1675 1680

Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr Val

1685 1690 1695

Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe

1700 1705 1710

Leu Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala

1715 1720 1725

Glu Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu

1730 1735 1740

Phe Asn Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys

1745 1750 1755

Gln Ala Leu Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr

1760 1765 1770

Lys Pro Phe Glu Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys

1775 1780 1785

Gly Val Leu Thr Gln Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala

1790 1795 1800

Tyr Leu Ser Lys Lys Leu Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro

1805 1810 1815

Cys Leu Arg Met Val Ala Ala Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala

1820 1825 1830

Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln Pro Leu Val Ile Leu Ala Pro His
1835 1840 1845
Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln Pro Pro Asp Arg Trp Leu Ser
1850 1855 1860
Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala Leu Leu Leu Asp Thr Asp
1865 1870 1875
Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu Asn Pro Ala Thr Leu
1880 1885 1890
Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn Cys Leu Asp Ile
1895 1900 1905
Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr Asp Gln Pro
1910 1915 1920
Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser Ser Leu
1925 1930 1935
Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Ala Val Thr Thr Glu
1940 1945 1950
Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala
1955 1960 1965
Gln Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala
1970 1975 1980
Glu Gly Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe
1985 1990 1995
Ala Thr Ala His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Trp
2000 2005 2010
Leu Thr Ser Glu Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu
2015 2020 2025
Ala Leu Leu Lys Ala Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile
2030 2035 2040
His Cys Pro Gly His Gln Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly
2045 2050 2055
Asn Arg Met Ala Asp Gln Ala Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu
2060 2065 2070
Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu Ile Glu Asn Ser Ser Pro Ser
2075 2080 2085
Gly Gly Ser Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Pro Lys
2090 2095 2100
Lys Lys Arg Lys Val
2105

<210> 93

<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 93

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

<210> 94
<211> 72
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 94

ggtcccatgg tgtaatggtt agcactctgg actttgaatc cagcgatccg agttcaaatc 60
tcggtgggac ct 72

<210> 95
<211> 698
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 95

Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu Tyr Arg Leu His Glu Thr Ser Lys Glu
1 5 10 15
Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro Gln Ala

20 25 30

Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala Pro Leu
35 40 45

Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys Gln Tyr
50 55 60

Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile Gln Arg
65 70 75 80

Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp Asn Thr
85 90 95

Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg Pro Val
100 105 110

Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His Pro Thr
115 120 125

Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser His Gln
130 135 140

Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu Arg Leu
145 150 155 160

His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp Pro Glu
165 170 175

Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln Gly Phe
180 185 190

Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asn Glu Ala Leu His Arg Asp Leu Ala
195 200 205

Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Val Asp
210 215 220

Asp Leu Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln Gly Thr
225 230 235 240

Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala Ser Ala
245 250 255

Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly Tyr Leu
260 265 270

Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu Thr Val
275 280 285

Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu Phe Leu
290 295 300

Gly Lys Ala Gly Phe Cys Arg Leu Phe Ile Pro Gly Phe Ala Glu Met
305 310 315 320

Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Pro Gly Thr Leu Phe Asn Trp
325 330 335

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

645 650 655

Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu Leu Ile
660 665 670

Glu Asn Ser Ser Pro Ser Gly Gly Ser Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser
675 680 685

Glu Phe Glu Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
690 695

<210> 96
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 96
tctgtatcta tattcatcat 20

<210> 97
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 97
accattaaag aaaatatcat 20

<210> 98
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 98
ggagaactgg agccttcaga 20

<210> 99
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 99
gaaggtggaa tcacactgag 20

<210> 100
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 100
cttgctcgtt gacctccact 20
<210> 101
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 101
gtttgcagag aaagacaata 20
<210> 102
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 102
aggacatctc caagtttgca 20
<210> 103
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 103
cacctgtggt atcactccaa 20
<210> 104
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 104

caataacttt gcaacagtga 20

<210> 105

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸

<400> 105

gaaggagaaa tccagatcga 20

<210> 106

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸

<400> 106

ggtgtcacac tgaagtcctt 20

<210> 107

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸

<400> 107

aattctgcaa tcctcactct 20

<210> 108

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸

<400> 108

aggcacctcc agcccagcag 20

<210> 109

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸

<400> 109
gcagagtacc cacctctcca 20
<210> 110
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 110
tcttgtagaa gaaagtacca 20
<210> 111
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 111
aagaaagtac caaggaagtg 20
<210> 112
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 112
ttggtgactg ccacgcccaa 20
<210> 113
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 113
tctggctgtg gtggggactg 20
<210> 114
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 114
ctctttgtgt tcattgccct 20
<210> 115
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 115
ttgccaagtg ttccagccac 20
<210> 116
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 116
agtccctcaa gtccttccag 20
<210> 117
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 117
gaccctggaa aagctgatga 20
<210> 118
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 118
ggcggctgag gaagctgagg 20
<210> 119
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 119
ggcggcggct gaggaagctg 20
<210> 120
<211> 57
<212> DNA
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:参考序列
<400> 120
ctctgggcag tgtgagtgca aaaaagaagc caaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 121
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 121
ctctgggcag tgcgagtgca aaaaagaagc aaaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 122
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 122
ctctgggcag tgtgagtgca aaaaagaagc aaaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 123
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 123
ctctgggcag tgcgagtgca aaaaagaagc caaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 124
<211> 58
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 124
ctctgggcag tgcgagtgca aaaaagaagc aaaaaggact tcagtgtgac acctgcag 58
<210> 125
<211> 58
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 125
ctctgggcag tgcgagtgca aaaaaagaag caaaaggact tcagtgtgac acctgcag 58
<210> 126
<211> 57
<212> DNA
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:参考序列
<400> 126
ctctgggcag tgtgagtgca aaaaagaagc caaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 127
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 127
ctctgggcag tgcgagtgca aaaaagaagc aaaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 128
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 128
ggtgtcacac tgaagtcctt 20
<210> 129
<211> 20

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 129
aattctgcaa tcctcactct 20
<210> 130
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 130
gaaggtggaa tcacactgag 20
<210> 131
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 131
aagaaagtac caaggaagtg 20
<210> 132
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 132
aggcacctcc agcccagcag 20
<210> 133
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 133
gcagagtacc cacctctcca 20
<210> 134

<211> 57
<212> DNA
<213> 未知(Unknown)
<220>
<223> 未知的说明:参考序列
<400> 134
ctctgggcag tgtgagtgca aaaaagaagc caaaggactt cagtgtgaca cctgcag 57
<210> 135
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 135
ctctgggcag tgcgagtgca aaaaagaagc aaaag 35
<210> 136
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 136
ctctgggcag tgcgagtgca agaaagaagc aaaag 35
<210> 137
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 137
agtccctcaa gtccttccag 20
<210> 138
<211> 1386
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多肽
<400> 138
Met Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys Lys

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

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

625 630 635 640
Leu Thr Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr
645 650 655
Tyr Ala His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg
660 665 670
Arg Tyr Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile
675 680 685
Arg Asp Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp
690 695 700
Gly Phe Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu
705 710 715 720
Thr Phe Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp
725 730 735
Ser Leu His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys
740 745 750
Lys Gly Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val
755 760 765
Met Gly Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu
770 775 780
Asn Gln Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys
785 790 795 800
Arg Ile Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu
805 810 815
His Pro Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr
820 825 830
Tyr Leu Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile
835 840 845
Asn Arg Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe
850 855 860
Leu Lys Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys
865 870 875 880
Asn Arg Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys
885 890 895
Met Lys Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln
900 905 910
Arg Lys Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu
915 920 925
Leu Asp Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln
930 935 940

Ile Thr Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys
945 950 955 960
Tyr Asp Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu
965 970 975
Lys Ser Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys
980 985 990
Val Arg Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn
995 1000 1005
Ala Val Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu
1010 1015 1020
Ser Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys
1025 1030 1035
Met Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys
1040 1045 1050
Tyr Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile
1055 1060 1065
Thr Leu Ala Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr
1070 1075 1080
Asn Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe
1085 1090 1095
Ala Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val
1100 1105 1110
Lys Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile
1115 1120 1125
Leu Pro Lys Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp
1130 1135 1140
Trp Asp Pro Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala
1145 1150 1155
Tyr Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys
1160 1165 1170
Lys Leu Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu
1175 1180 1185
Arg Ser Ser Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys
1190 1195 1200
Gly Tyr Lys Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys
1205 1210 1215
Tyr Ser Leu Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala
1220 1225 1230
Ser Ala Gly Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser

1235 1240 1245
Lys Tyr Val Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu
1250 1255 1260
Lys Gly Ser Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu
1265 1270 1275
Gln His Lys His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu
1280 1285 1290
Phe Ser Lys Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val
1295 1300 1305
Leu Ser Ala Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln
1310 1315 1320
Ala Glu Asn Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala
1325 1330 1335
Pro Ala Ala Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg
1340 1345 1350
Tyr Thr Ser Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln
1355 1360 1365
Ser Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu
1370 1375 1380
Gly Gly Asp
1385

<210> 139
<211> 86
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 139
gtttaagagc tatgctggaa acagcatagc aagtttaaat aaggctagtc cgttatcaac 60
ttgaaaaagt ggcaccgagt cggtgc 86
<210> 140
<211> 113
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 140
agcggctgtg cctgcggcgg cggctgagga agctgaggag gcggcggcgg cggcggcggc 60
ggtggcggct gttgctgttg ctgctgttgc tggaaggact tgagggattt ttt 113

<210> 141
<211> 133
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 141
agcggctgtg cctgcggcgg cggctgagga agctgaggag gcggcggcgg cggcggcggc 60
ggtggcggct gttgctgttg ctgctgttgc tggaaggact tgagggaccg ccgcaggcac 120
agccgctttt ttt 133
<210> 142
<211> 4570
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 142
gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60
catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgccca 120
acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaatagga 180
ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240
aagtgtatca tatgccaagt acgccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgcct 300
ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat 360
tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg cgtggatagc 420
ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg agtttgtttt 480
ggcaccaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccca ttgacgcaaa 540
tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctctctgg ctaactaccg 600
gtgccaccat gaaacggaca gccgacggaa gcgagttcga gtcaccaaag aagaagcgga 660
aagtcgacaa gaagtacagc atcggcctgg acatcggcac caactctgtg ggctgggccg 720
tgatcaccga cgagtacaag gtgcccagca agaaattcaa ggtgctgggc aacaccgacc 780
ggcacagcat caagaagaac ctgatcggag ccctgctgtt cgacagcggc gaaacagccg 840
aggccacccg gctgaagaga accgccagaa gaagatacac cagacggaag aaccggatct 900
gctatctgca agagatcttc agcaacgaga tggccaaggt ggacgacagc ttcttccaca 960
gactggaaga gtccttcctg gtggaagagg ataagaagca cgagcggcac cccatcttcg 1020
gcaacatcgt ggacgaggtg gcctaccacg agaagtaccc caccatctac cacctgagaa 1080
agaaactggt ggacagcacc gacaaggccg acctgcggct gatctatctg gccctggccc 1140
acatgatcaa gttccggggc cacttcctga tcgagggcga cctgaacccc gacaacagcg 1200
acgtggacaa gctgttcatc cagctggtgc agacctacaa ccagctgttc gaggaaaacc 1260
ccatcaacgc cagcggcgtg gacgccaagg ccatcctgtc tgccagactg agcaagagca 1320

gacggctgga aaatctgatc gcccagctgc ccggcgagaa gaagaatggc ctgttcggaa 1380
acctgattgc cctgagcctg ggcctgaccc ccaacttcaa gagcaacttc gacctggccg 1440
aggatgccaa actgcagctg agcaaggaca cctacgacga cgacctggac aacctgctgg 1500
cccagatcgg cgaccagtac gccgacctgt ttctggccgc caagaacctg tccgacgcca 1560
tcctgctgag cgacatcctg agagtgaaca ccgagatcac caaggccccc ctgagcgcct 1620
ctatgatcaa gagatacgac gagcaccacc aggacctgac cctgctgaaa gctctcgtgc 1680
ggcagcagct gcctgagaag tacaaagaga ttttcttcga ccagagcaag aacggctacg 1740
ccggctacat tgacggcgga gccagccagg aagagttcta caagttcatc aagcccatcc 1800
tggaaaagat ggacggcacc gaggaactgc tcgtgaagct gaacagagag gacctgctgc 1860
ggaagcagcg gaccttcgac aacggcagca tcccccacca gatccacctg ggagagctgc 1920
acgccattct gcggcggcag gaagattttt acccattcct gaaggacaac cgggaaaaga 1980
tcgagaagat cctgaccttc cgcatcccct actacgtggg ccctctggcc aggggaaaca 2040
gcagattcgc ctggatgacc agaaagagcg aggaaaccat caccccctgg aacttcgagg 2100
aagtggtgga caagggcgct tccgcccaga gcttcatcga gcggatgacc aacttcgata 2160
agaacctgcc caacgagaag gtgctgccca agcacagcct gctgtacgag tacttcaccg 2220
tgtataacga gctgaccaaa gtgaaatacg tgaccgaggg aatgagaaag cccgccttcc 2280
tgagcggcga gcagaaaaag gccatcgtgg acctgctgtt caagaccaac cggaaagtga 2340
ccgtgaagca gctgaaagag gactacttca agaaaatcga gtgcttcgac tccgtggaaa 2400
tctccggcgt ggaagatcgg ttcaacgcct ccctgggcac ataccacgat ctgctgaaaa 2460
ttatcaagga caaggacttc ctggacaatg aggaaaacga ggacattctg gaagatatcg 2520
tgctgaccct gacactgttt gaggacagag agatgatcga ggaacggctg aaaacctatg 2580
cccacctgtt cgacgacaaa gtgatgaagc agctgaagcg gcggagatac accggctggg 2640
gcaggctgag ccggaagctg atcaacggca tccgggacaa gcagtccggc aagacaatcc 2700
tggatttcct gaagtccgac ggcttcgcca acagaaactt catgcagctg atccacgacg 2760
acagcctgac ctttaaagag gacatccaga aagcccaggt gtccggccag ggcgatagcc 2820
tgcacgagca cattgccaat ctggccggca gccccgccat taagaagggc atcctgcaga 2880
cagtgaaggt ggtggacgag ctcgtgaaag tgatgggccg gcacaagccc gagaacatcg 2940
tgatcgaaat ggccagagag aaccagacca cccagaaggg acagaagaac agccgcgaga 3000
gaatgaagcg gatcgaagag ggcatcaaag agctgggcag ccagatcctg aaagaacacc 3060
ccgtggaaaa cacccagctg cagaacgaga agctgtacct gtactacctg cagaatgggc 3120
gggatatgta cgtggaccag gaactggaca tcaaccggct gtccgactac gatgtggacg 3180
ctatcgtgcc tcagagcttt ctgaaggacg actccatcga caacaaggtg ctgaccagaa 3240
gcgacaagaa ccggggcaag agcgacaacg tgccctccga agaggtcgtg aagaagatga 3300
agaactactg gcggcagctg ctgaacgcca agctgattac ccagagaaag ttcgacaatc 3360
tgaccaaggc cgagagaggc ggcctgagcg aactggataa ggccggcttc atcaagagac 3420
agctggtgga aacccggcag atcacaaagc acgtggcaca gatcctggac tcccggatga 3480
acactaagta cgacgagaat gacaagctga tccgggaagt gaaagtgatc accctgaagt 3540
ccaagctggt gtccgatttc cggaaggatt tccagtttta caaagtgcgc gagatcaaca 3600
actaccacca cgcccacgac gcctacctga acgccgtcgt gggaaccgcc ctgatcaaaa 3660

agtaccctaa gctggaaagc gagttcgtgt acggcgacta caaggtgtac gacgtgcgga 3720
agatgatcgc caagagcgag caggaaatcg gcaaggctac cgccaagtac ttcttctaca 3780
gcaacatcat gaacttttc aagaccgaga ttaccctggc caacggcgag atccggaagc 3840
ggcctctgat cgagacaaac ggcgaaaccg gggagatcgt gtgggataag ggccgggatt 3900
ttgccaccgt gcggaaagtg ctgagcatgc cccaagtgaa tatcgtgaaa aagaccgagg 3960
tgcagacagg cggcttcagc aaagagtcta tcctgcccaa gaggaacagc gataagctga 4020
tcgccagaaa gaaggactgg gaccctaaga agtacggcgg cttcgacagc cccaccgtgg 4080
cctattctgt gctggtggtg gccaaagtgg aaaagggcaa gtccaagaaa ctgaagagtg 4140
tgaaagagct gctggggatc accatcatgg aaagaagctg cctgtcctac gagacagaga 4200
tcctgacagt ggagtatggc ctgctgccaa tcggcaagat cgtggagaag aggatcgagt 4260
gtaccgtgta ctctgtggat aacaatggca acatctatac acagcccgtg gcacagtggc 4320
acgatagggg agagcaggag gtgttcgagt attgcctgga ggacggcagc ctgatcaggg 4380
caaccaagga ccacaagttc atgacagtgg atggccagat gctgcccatc gacgagattt 4440
tcgagcggga gctggacctg atgagagtgg ataacctgcc taatccagct gcgaaaagag 4500
tgaaactcga ttaataagaa ttcaataaaa gatctttatt ttcattagat ctgtgtgttg 4560
gtttttgtg 4570

<210> 143
<211> 4483
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成多核苷酸
<400> 143

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60
catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgccca 120
acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga 180
ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240
aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgcct 300
ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat 360
tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg cgtggatagc 420
ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg agtttgtttt 480
ggcaccaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccca ttgacgcaaa 540
tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctggttta gtgaaccgtc 600
agatccgcta gagatccgcg gccgctaata cgactcacta tagggagagc cgccaccatg 660
atcaagattg ctacacggaa atacctggga aagcagaacg tgtacgacat cggcgtggag 720
cgggatcaca acttcgccct gaagaatggc tttatcgcca gcaattgttt cgagaagaat 780
cccatcgact ttctggaagc caagggctac aaagaagtga aaaaggacct gatcatcaag 840
ctgcctaagt actccctgtt cgagctggaa aacggccgga agagaatgct ggcctctgcc 900
ggcgaactgc agaagggaaa cgaactggcc ctgccctcca aatatgtgaa cttcctgtac 960

ctggccagcc actatgagaa gctgaagggc tcccccgagg ataatgagca gaaacagctg 1020
tttgtggaac agcacaagca ctacctggac gagatcatcg agcagatcag cgagttctcc 1080
aagagagtga tcctggccga cgctaatctg gacaaagtgc tgtccgccta caacaagcac 1140
cgggataagc ccatcagaga gcaggccgag aatatcatcc acctgtttac cctgaccaat 1200
ctgggagccc ctgccgcctt caagtacttt gacaccacca tcgaccggaa gaggtacacc 1260
agcaccaaag aggtgctgga cgccaccctg atccaccaga gcatcaccgg cctgtacgag 1320
acacggatcg acctgtctca gctgggaggt gacggcagcg agacaccagg aacaagcgag 1380
tcagcaacac cagagagcag tggcggcagc agcggcggca gcagcaccct aaatatagaa 1440
gatgagtatc ggctacatga gacctcaaaa gagccagatg tttctctagg gtccacatgg 1500
ctgtctgatt ttcctcaggc ctgggcggaa accgggggca tgggactggc agttcgccaa 1560
gctcctctga tcatactcct gaaagcaacc tctacccccg tgtccataaa acaatacccc 1620
atgcgccaag aagccagact ggggatcaag ccccacatac agagactgtt ggaccaggga 1680
atactggtac cctgccagtc cccctggaac acgcccctgc tacccgttaa gaaaccaggg 1740
actaatgatt ataggcctgt ccaggatctg agagaagtca acaagcgggt ggaagacatc 1800
caccccaccg tgcccaaccc ttacaacctc ttgagcgggc tcccaccgtc ccaccagtgg 1860
tacactgtgc ttgatttaaa ggatgccttt ttctgcctga gactccaccc caccagtcag 1920
cctctcttcg cctttgagtg gagagatcca gagatgggaa tctcaggaca attgacctgg 1980
accagactcc cacagggttt caaaaacagt cccgctctgt ttaatgaggc actgcggaga 2040
gacctagcag acttccggat ccagcaccca gacttgatcc tgctacagta cgtggatgac 2100
ttactgctgg ccgccacttc tgagctagac tgccaacaag gtactcgggc cctgttacaa 2160
accctaggga acctcgggta tcgggcctcg gccaagaaag cccaaatttg ccagaaacag 2220
gtcaagtatc tggggtatct tctaaaagag ggtcagagat ggctgactga ggccagaaaa 2280
gagactgtga tggggcagcc tactccgaag acccctcgac aactaaggga gttcctaggg 2340
aaggcaggct tctgtcgcct cttcatccct gggtttgcag aaatggcagc ccccctgtac 2400
cctctcacca aaccggggac tctgtttaat tggggcccag accaacaaaa ggcctatcaa 2460
gaaatcaagc aagctcttct aactgcccca gccctggggt tgccagattt gactaagccc 2520
tttgaactct ttgtcgacga gaagcagggc tacgccaaag gtgtcctaac gcaaaaactg 2580
ggaccttggc gtcggccggt ggcctacctg tccaaaaagc tagacccagt agcagctggg 2640
tggcccccct gcctacggat ggtagcagcc attgccgtac tgacaaagga tgcaggcaag 2700
ctaaccatgg gacagccact agtcattggc gccccccatg cagtagaggc actagtcaaa 2760
caaccccccg accgctggct ttccaacgcc cggatgactc actatcaggc cttgcttttg 2820
gacacggacc gggtccagtt cggaccggtg gtagccctga acccggctac gctgctccca 2880
ctgcctgagg aagggctgca acacaactgc cttgatatcc tggccgaagc ccacggaacc 2940
cgacccgacc taacggacca gccgctccca gacgccgacc acacctggta cacggccgga 3000
agcagtctct tacaagaggg acagcgtaag gcgggagctg cggtgaccac cgagaccgag 3060
gtaatctggg ctaaagccct gccagccggg acatccgctc agcgggctga actgatagca 3120
ctcacccagg ccctaaagat ggcagaaggt aagaagctaa atgtttatac tgatagccgt 3180
tatgcttttg ctactgccca tatccatgga gaaatataca gaaggcgtgg gtggctcaca 3240
tcagaaggca aagagatcaa aaataaagac gagatcttgg ccctactaaa agccctcttt 3300

ctgcccaaaa gacttagcat aatccattgt ccaggacatc aaaagggaca cagcgccgag 3360
gctagaggca accggatggc taaccaagcg gcccgaaagg cagccatcac agagaaccca 3420
gacacctcta ccctccccat agaaaattca tcaccctctg gcggctcaaa aagaaccgcc 3480
gacggcagcg aattcgagcc caagaagaag aggaaagtcg gaagcggagg atccggcgca 3540
acaaacttct ctctgctgaa acaagccgga gatgtcgaag agaatcctgg accgggaagc 3600
ggaatggccg atccacgaga aatcatccca cctggaaaca gtggagagga gacagttggt 3660
gaagccttcg catggctgga aagaacggtt gaggctatta atcgagaagc ggtcaatcac 3720
ttgccgcgcg aactcatctt tcaagtgtgg caacgatcct ggcggtattg gcacgacgaa 3780
caaggcatga gttctagtta tacaaaatac agatatctct gtctcatgca gaaagccatg 3840
tttatccact tcaccagagg ctgcacatgt ctcgggggcg gacacggacc aggtggatgg 3900
ggccctggac caccacctcc tccaccacct ggacttgttt aagaattcaa taaaagatct 3960
ttattttcat tagatctgtg tgttggtttt ttgtgaacca aaaaaaaaat tctgcaatcc 4020
tcactctgtc acactgaagt ccttttgctt ctttttttgca ctcgcactgc ccagagtgag 4080
gattgcagaa tttgcaccga ctcggtgcca ctttttcaag ttgataacgg actagcctta 4140
tttaaacttg ctatgctgtt tccagcatag ctcttaaaca aggacttcag tgtgacaccg 4200
gtgtttcgtc ctttccacaa gatatataaa gccaagaaat cgaaatactt tcaagttacg 4260
gtaagcatat gatagtccat tttaaaacat aattttaaaa ctgcaaacta cccaagaaat 4320
tattactttc tacgtcacgt attttgtact aatatctttg tgtttacagt caaattaatt 4380
ctaattatct ctctaacagc cttgtatcgt atatgcaaat atgaaggaat catgggaaat 4440
aggccctctt cctgcccgac cttggtaccg gatccagtcg act 4483

<210> 144
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的说明:合成寡核苷酸
<400> 144
caccctcgtg accaccctga 20

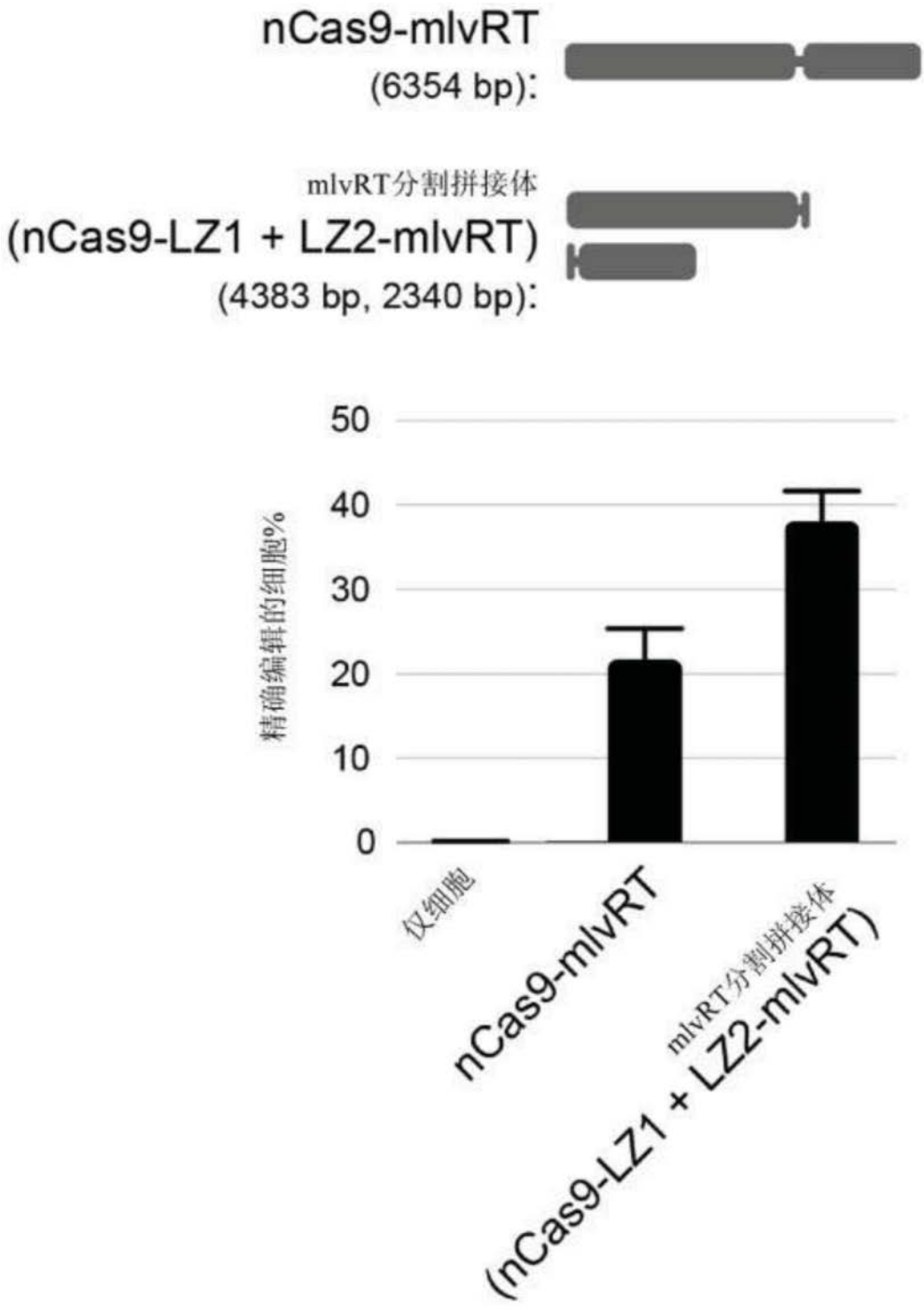

nCas9-mlvRT
(6354 bp):
mlvRT分割拼接体
(nCas9-LZ1 + LZ2-mlvRT)
(4383 bp, 2340 bp):
精确编辑的细胞%
50
40
30
20
10
0
仅细胞
nCas9-mlvRT
mlvRT分割拼接体
(nCas9-LZ1 + LZ2-mlvRT)

图1

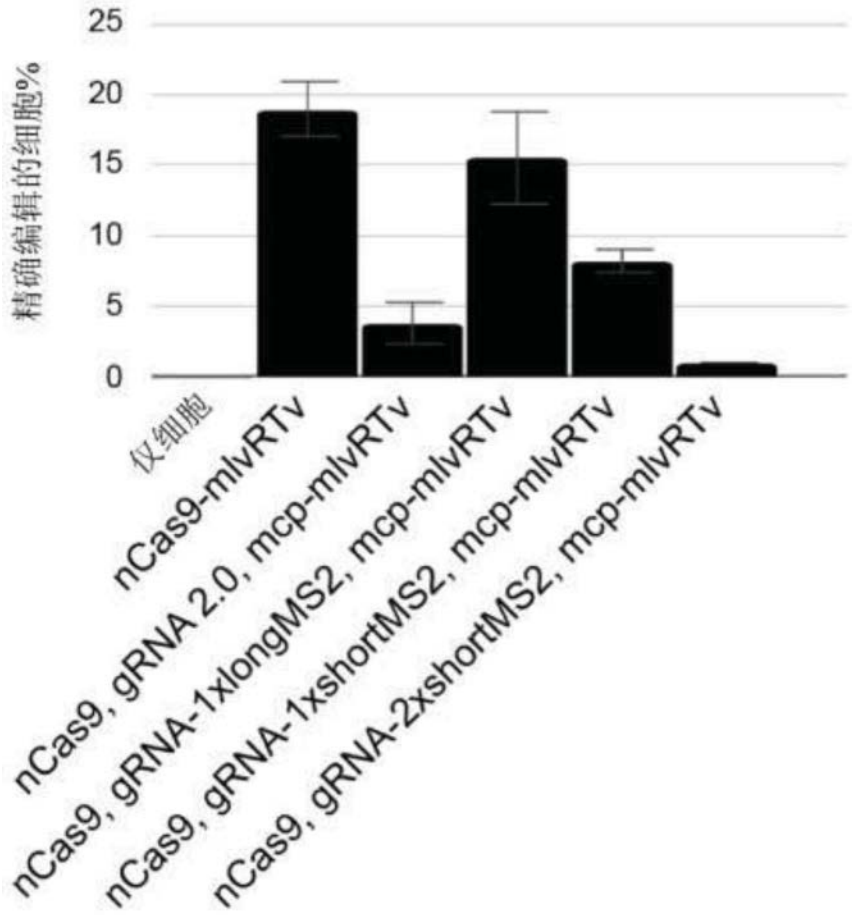

精确编辑的细胞%
25
20
15
10
5
0
仅细胞
nCas9-mlvRTv
nCas9, gRNA 2.0, mcp-mlvRTv
nCas9, gRNA-1xlongMS2, mcp-mlvRTv
nCas9, gRNA-1xshortMS2, mcp-mlvRTv
nCas9, gRNA-2xshortMS2, mcp-mlvRTv

图2

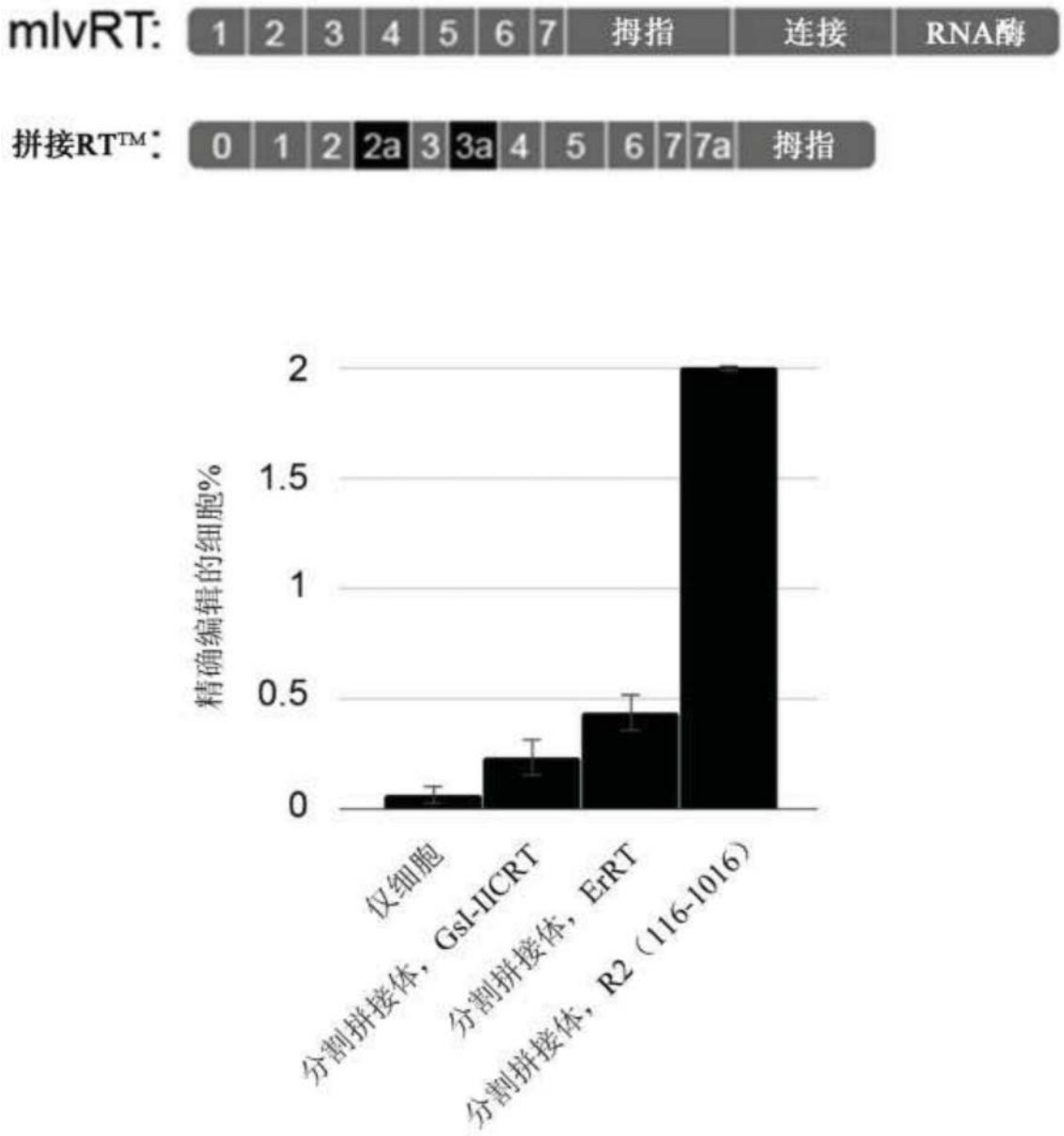

mlvRT:
1
2
3
4
5
6
7
拇指
连接
RNA酶
拼接RT™:
0
1
2
2a
3
3a
4
5
6
7
7a
拇指
精确编辑的细胞%
2
1.5
1
0.5
0
仅细胞
分割拼接体，GsI-IICRT
分割拼接体，EtRT
分割拼接体，R2（116-1016）

图3

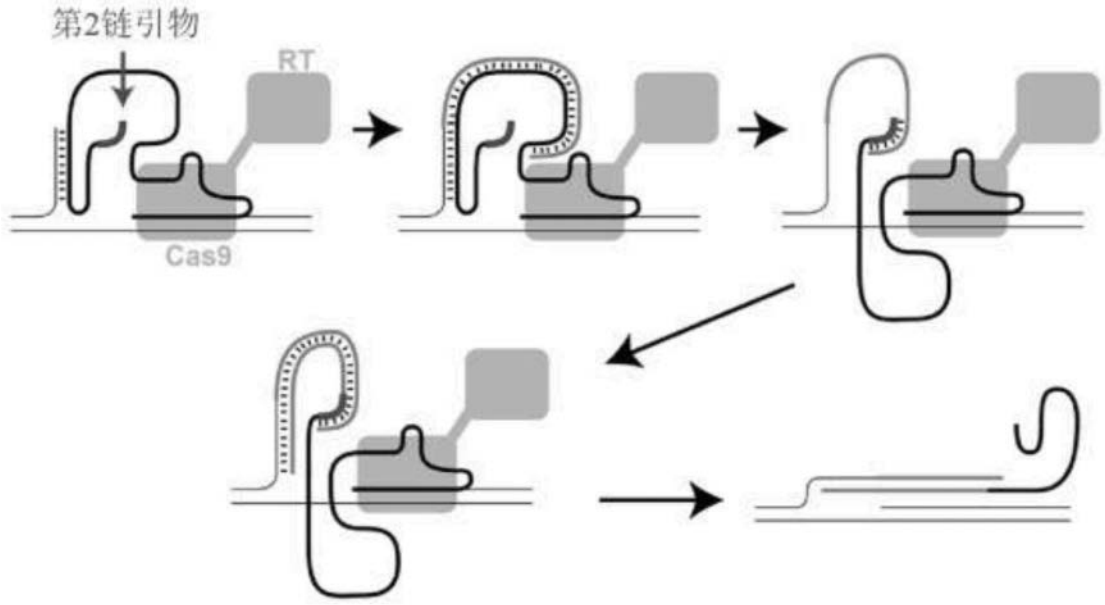

第2链引物
RT
Cas9

图4A

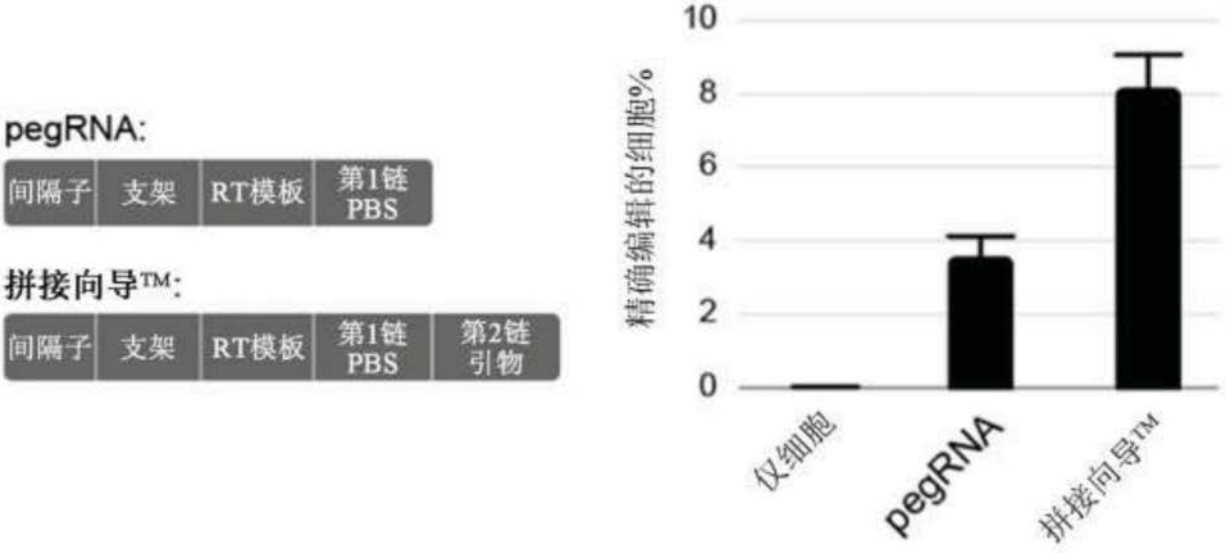

pegRNA:
间隔子
支架
RT模板
第1链PBS
拼接向导™:
间隔子
支架
RT模板
第1链PBS
第2链引物
精确编辑的细胞%
10
8
6
4
2
0
仅细胞
pegRNA
拼接向导™

图4B

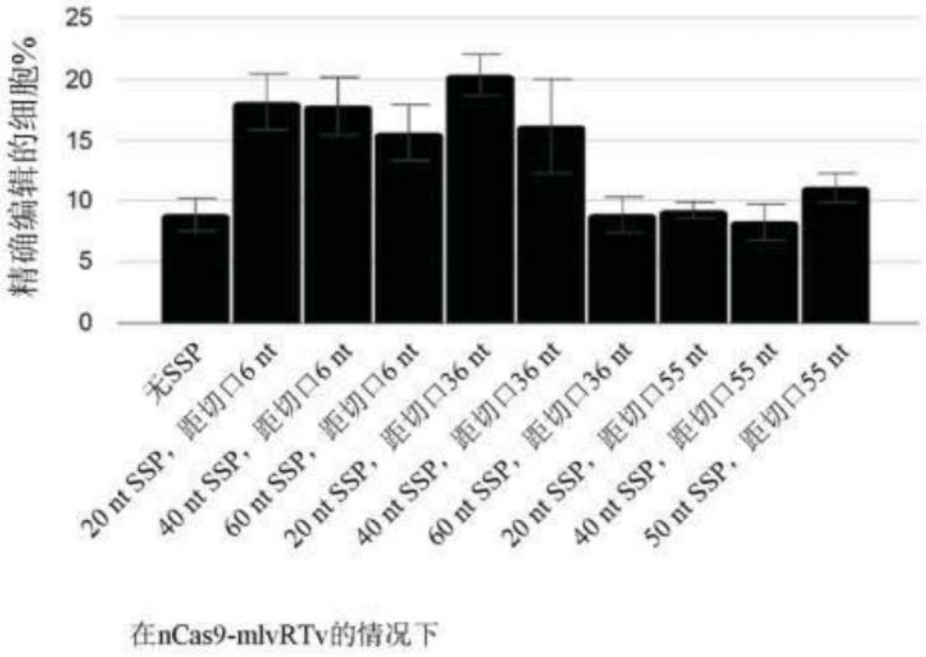

精确编辑的细胞%
25
20
15
10
5
0
无SSP
20 nt SSP，距切口6 nt
40 nt SSP，距切口6 nt
60 nt SSP，距切口6 nt
20 nt SSP，距切口36 nt
40 nt SSP，距切口36 nt
60 nt SSP，距切口36 nt
20 nt SSP，距切口55 nt
40 nt SSP，距切口55 nt
50 nt SSP，距切口55 nt
在nCas9-mlvRTv的情况下

图5A

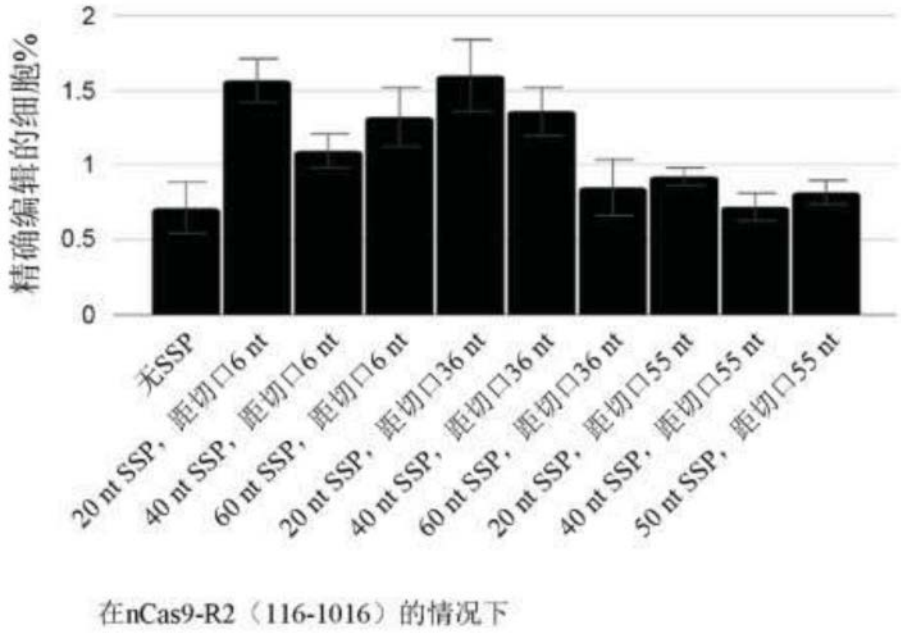

精确编辑的细胞%
2
1.5
1
0.5
0
无SSP
20 nt SSP，距切口6 nt
40 nt SSP，距切口6 nt
60 nt SSP，距切口6 nt
20 nt SSP，距切口36 nt
40 nt SSP，距切口36 nt
60 nt SSP，距切口36 nt
20 nt SSP，距切口55 nt
40 nt SSP，距切口55 nt
50 nt SSP，距切口55 nt
在nCas9-R2（116-1016）的情况下

图5B

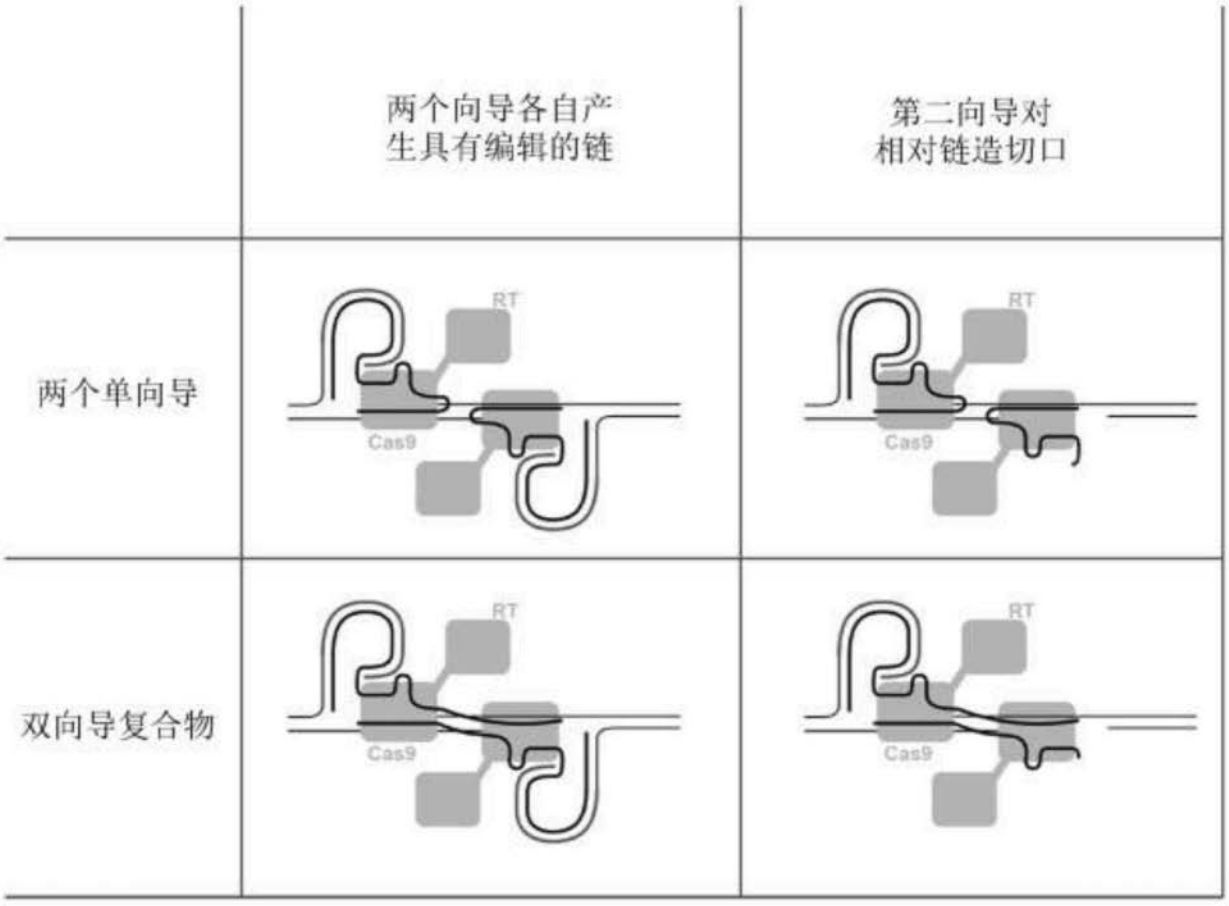

两个向导各自产生具有编辑的链
第二向导对相对链造切口
两个单向导
双向导复合物
RT
Cas9
RT
Cas9
RT
Cas9
RT
Cas9

图6

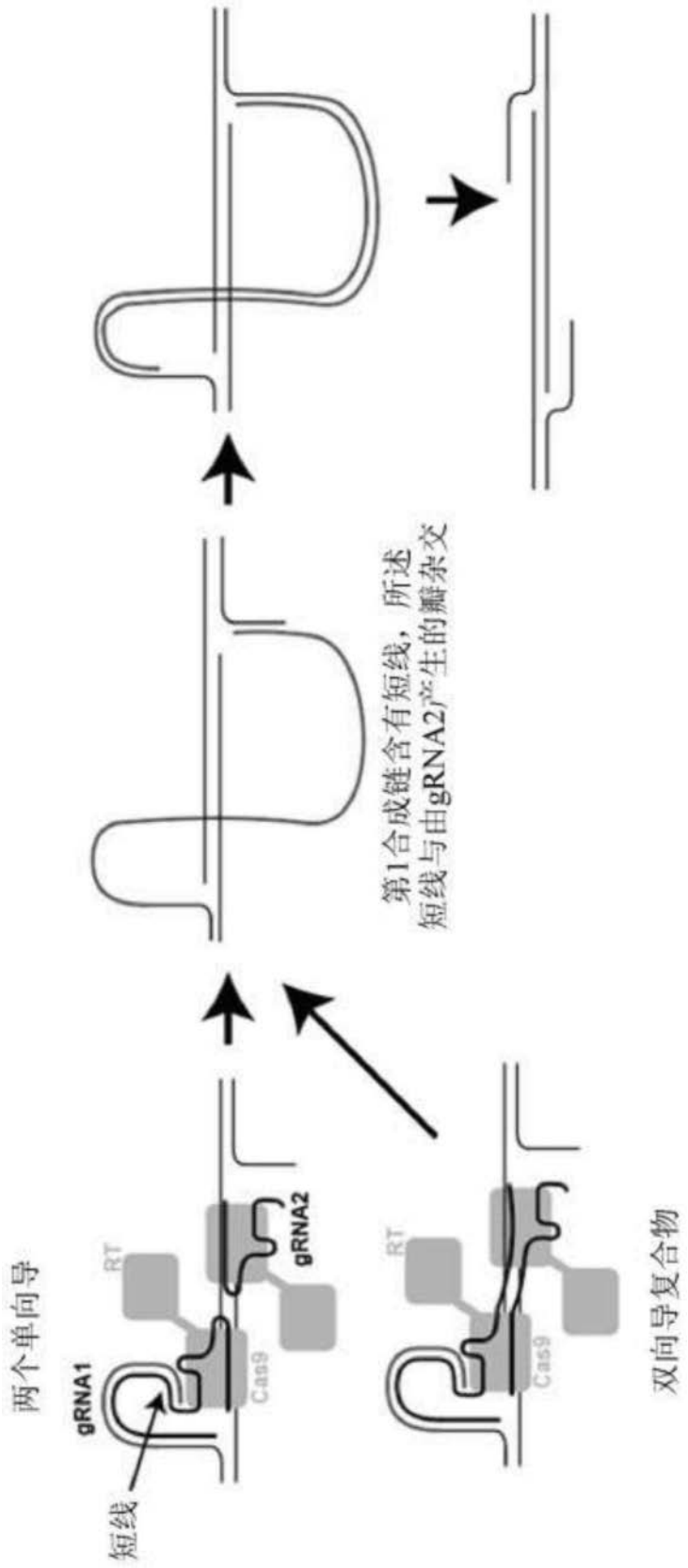

两个单向导
gRNA1
短线
RT
Cas9
gRNA2
第1合成链含有短线，所述
短线与由gRNA2产生的黏杂交
RT
Cas9
双向导复合物

图7

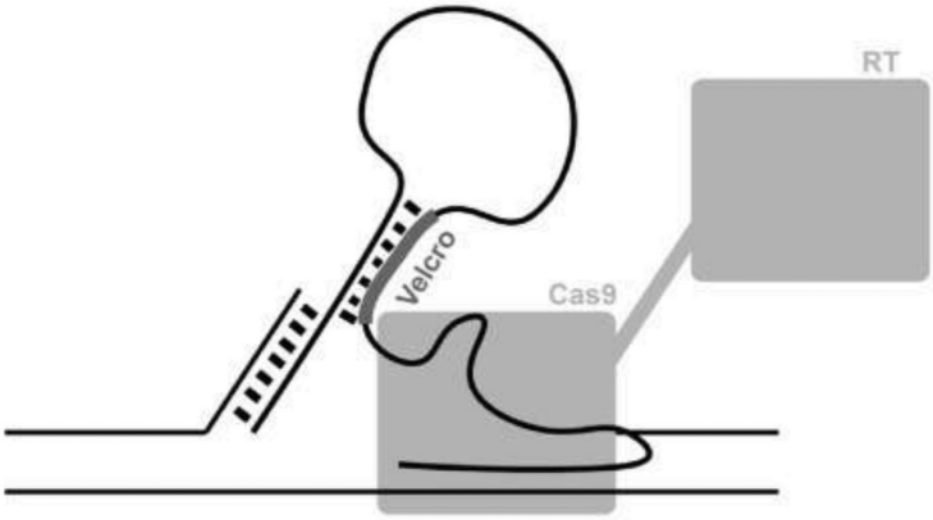


图8A

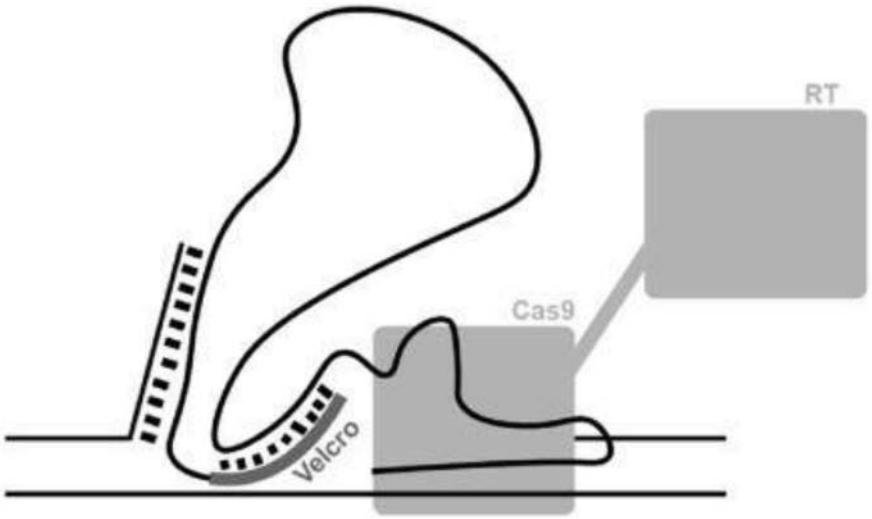
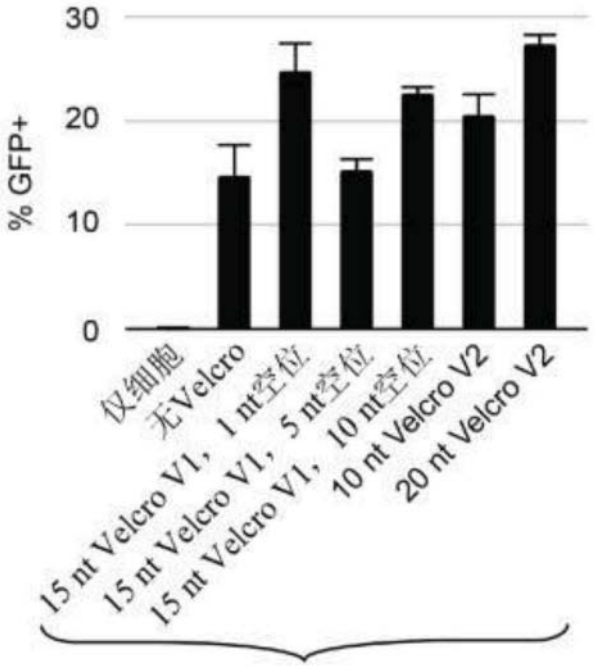
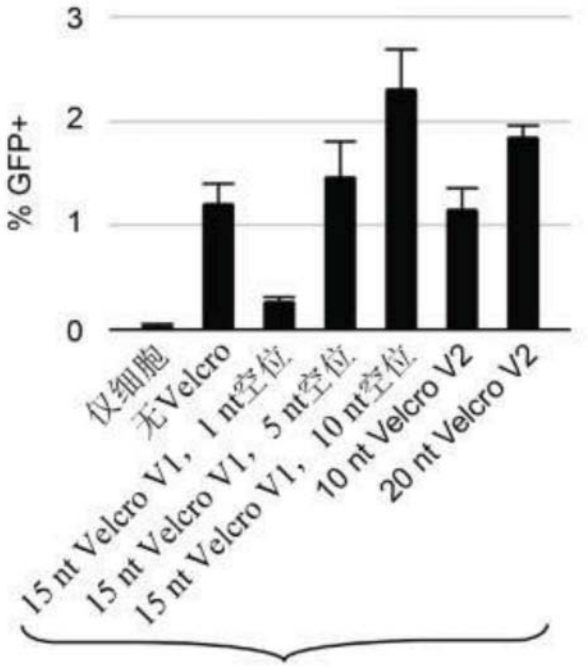


图8B



在nCas9-LZ1和LZ2-mlvRTv的情况下

图9A



在nCas9-LZ1和LZ2-R2（116-1016）的情况下

图9B

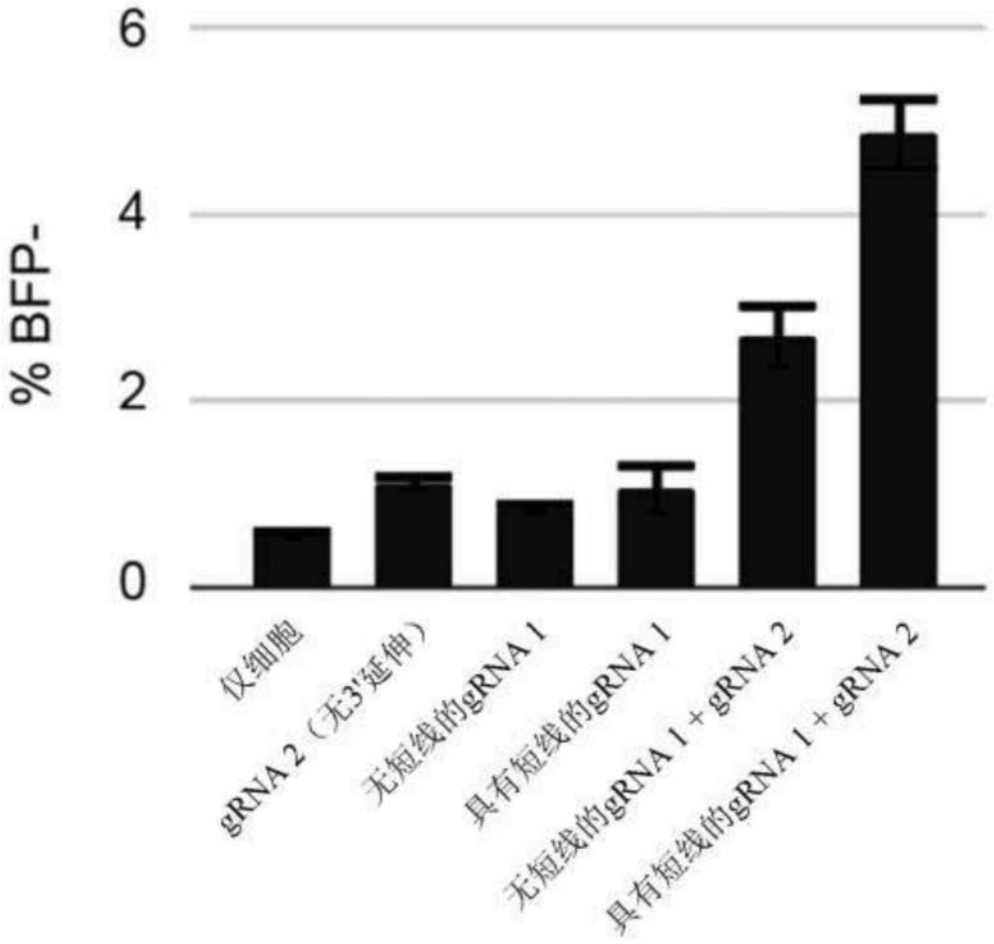

6
4
2
0
% BFP-
仅细胞
gRNA 2（无3'延伸）
无短线的gRNA 1
具有短线的gRNA 1
无短线的gRNA 1 + gRNA 2
具有短线的gRNA 1 + gRNA 2

图10

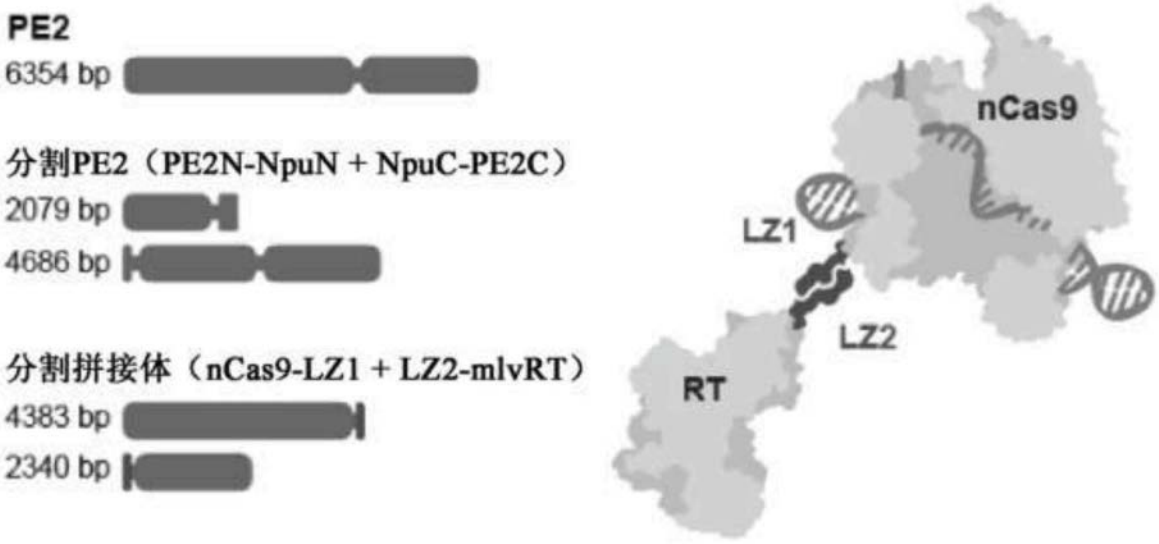

PE2
6354 bp
分割PE2（PE2N-NpuN + NpuC-PE2C）
2079 bp
4686 bp
分割拼接体（nCas9-LZ1 + LZ2-mlvRT）
4383 bp
2340 bp
nCas9
LZ1
LZ2
RT

图11A

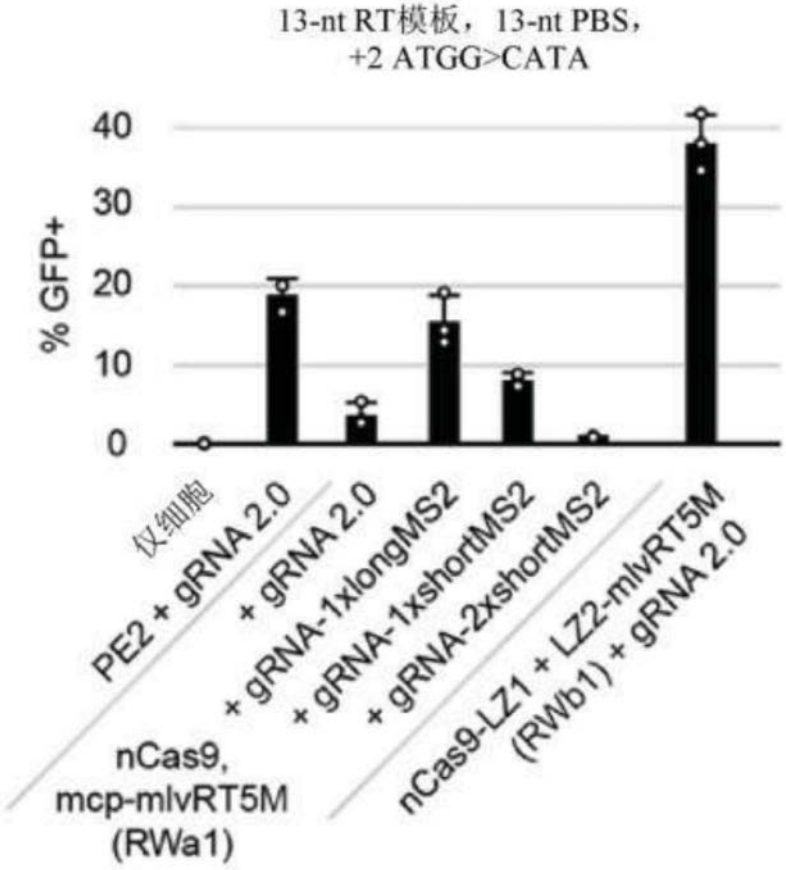

13-nt RT模板，13-nt PBS，
+2 ATGG>CATA
% GFP+
40
30
20
10
0
仅细胞
PE2 + gRNA 2.0
+ gRNA 2.0
+ gRNA-1xlongMS2
+ gRNA-1xshortMS2
+ gRNA-2xshortMS2
nCas9-LZ1 + LZ2-mlvRT5M (RWb1) + gRNA 2.0
nCas9, mcp-mlvRT5M (RWa1)

图11B

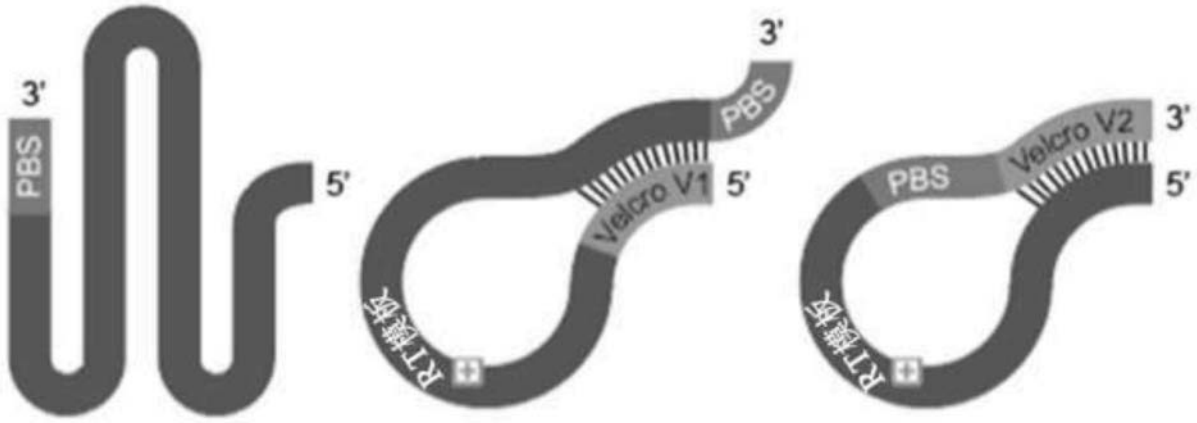

3'
PBS
5'
3'
PBS
Velcro V1
5'
RT模板
3'
PBS
Velcro V2
5'
RT模板

图12A

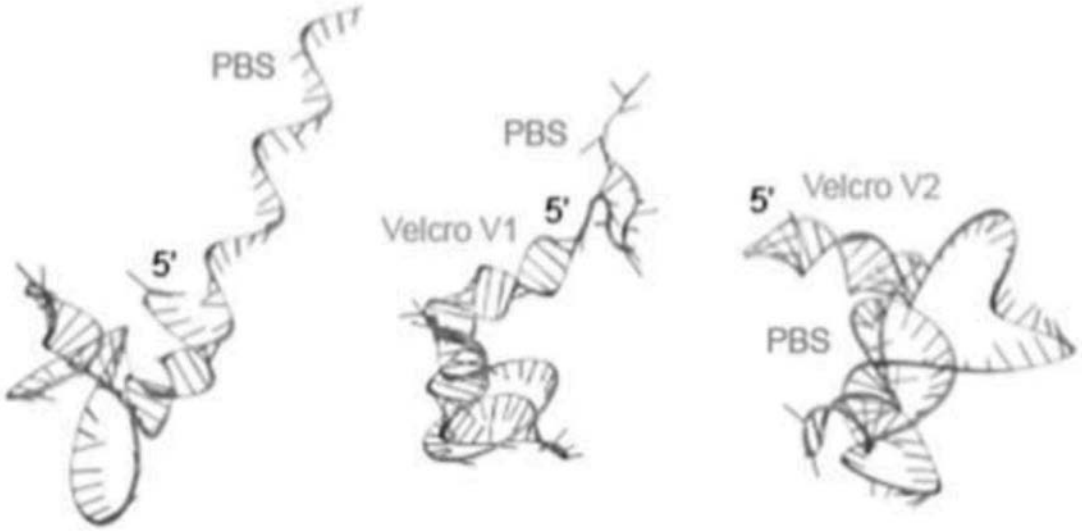

PBS
5'
PBS
Velcro V1
5'
5'
Velcro V2
PBS

图12B

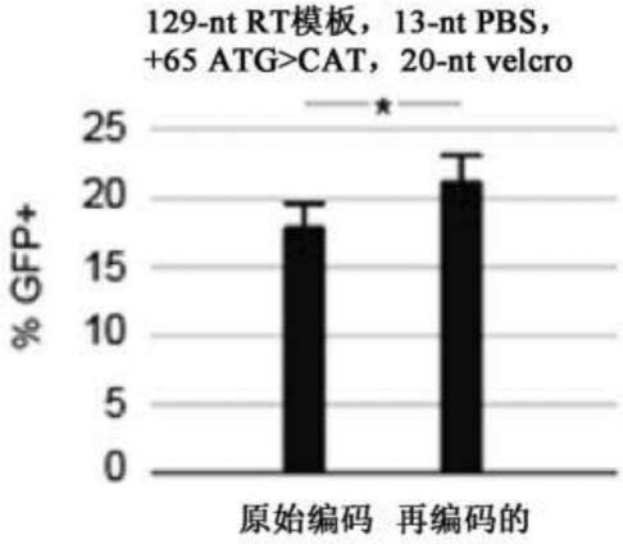

129-nt RT模板，13-nt PBS，
+65 ATG>CAT，20-nt velcro
% GFP+
25
20
15
10
5
0
原始编码
再编码的

图12C

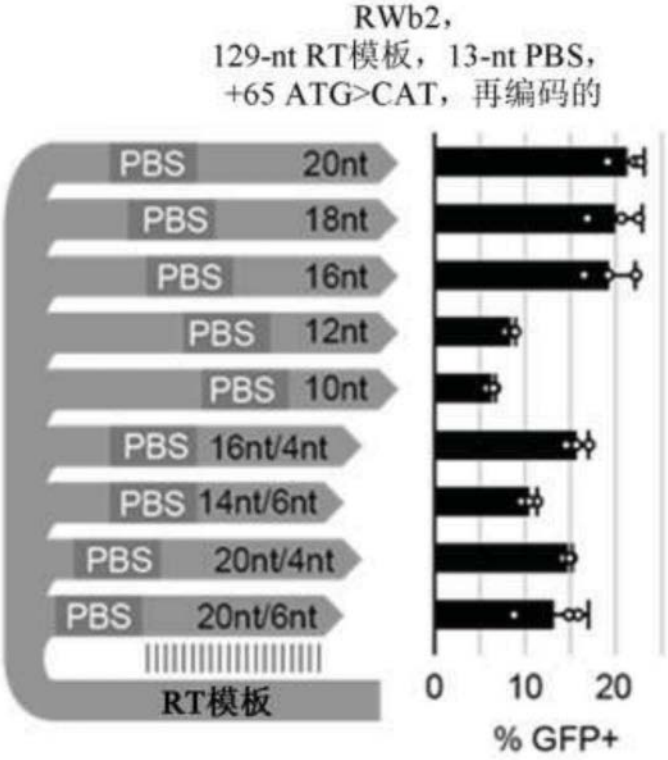

RWb2，
129-nt RT模板，13-nt PBS，
+65 ATG>CAT，再编码的
PBS 20nt
PBS 18nt
PBS 16nt
PBS 12nt
PBS 10nt
PBS 16nt/4nt
PBS 14nt/6nt
PBS 20nt/4nt
PBS 20nt/6nt
RT模板
0
10
20
% GFP+

图12D

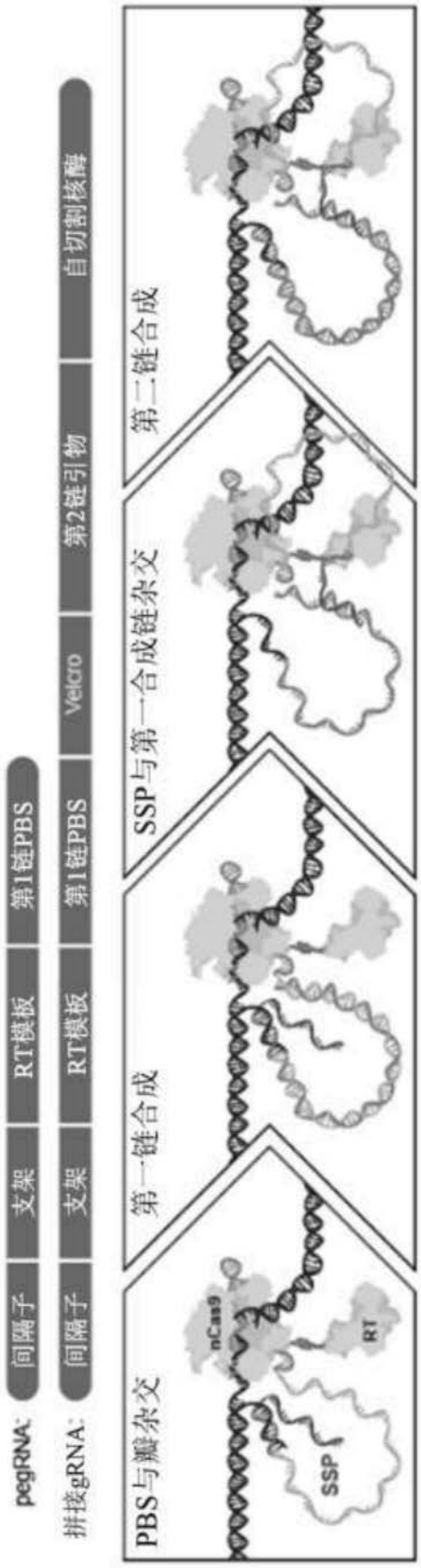

pegRNA:
间隔子
支架
RT模板
第1链PBS
拼接gRNA:
间隔子
支架
RT模板
第1链PBS
Velcro
第2链引物
自切割核酶
PBS与瓣杂交
第一链合成
SSP与第一合成链杂交
第二链合成
nCas9
SSP
RT

图13A

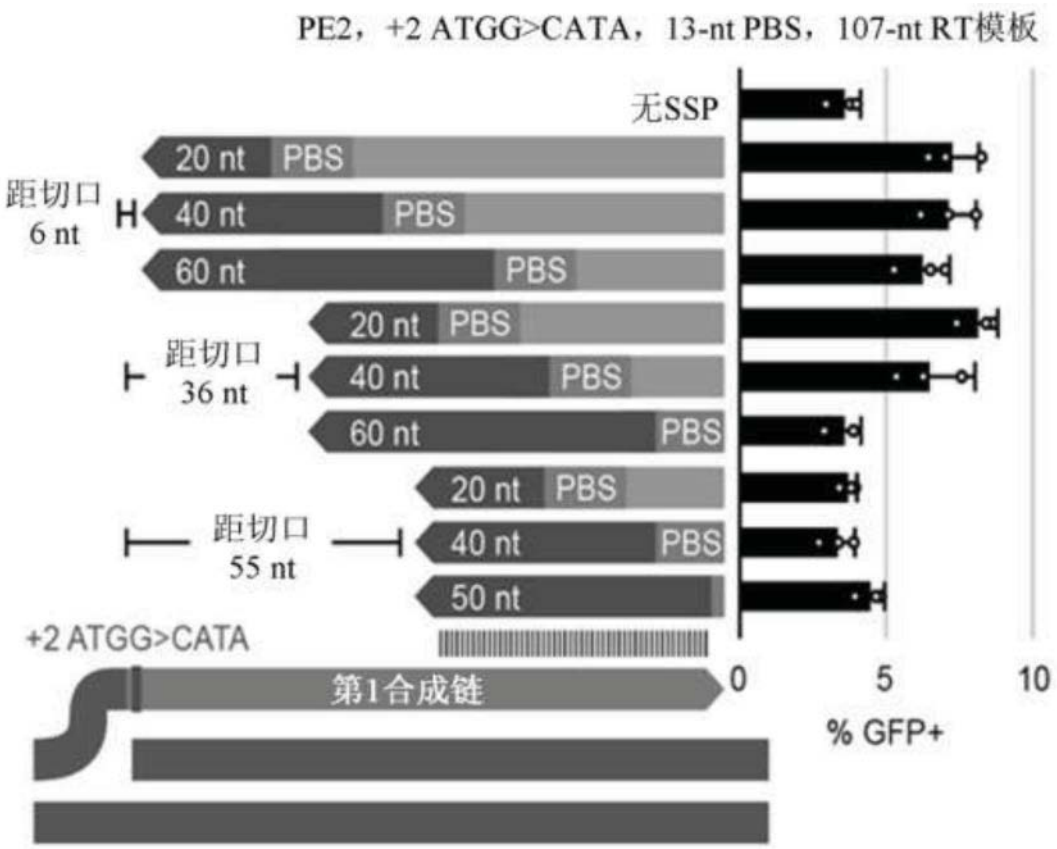

PE2，+2 ATGG>CATA，13-nt PBS，107-nt RT模板
无SSP
20 nt PBS
距切口
6 nt
40 nt PBS
60 nt PBS
20 nt PBS
距切口
36 nt
40 nt PBS
60 nt PBS
20 nt PBS
距切口
55 nt
40 nt PBS
50 nt
+2 ATGG>CATA
第1合成链
0
5
10
% GFP+

图13B

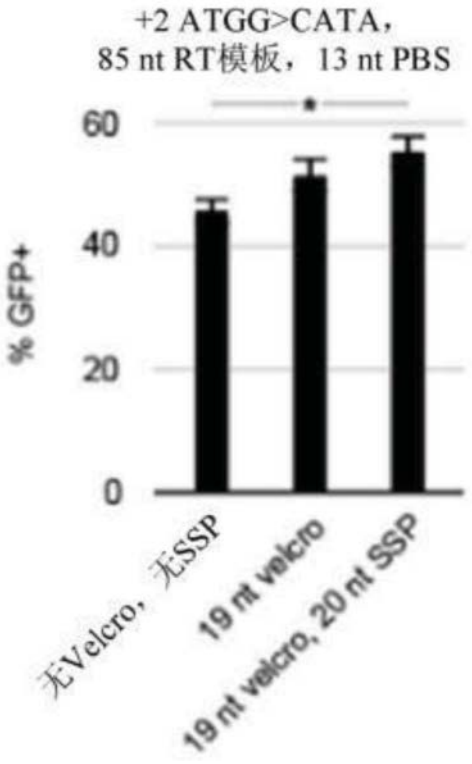

+2 ATGG>CATA，
85 nt RT模板，13 nt PBS
60
40
20
0
% GFP+
无Velcro，无SSP
19 nt velcro
19 nt velcro, 20 nt SSP

图13C

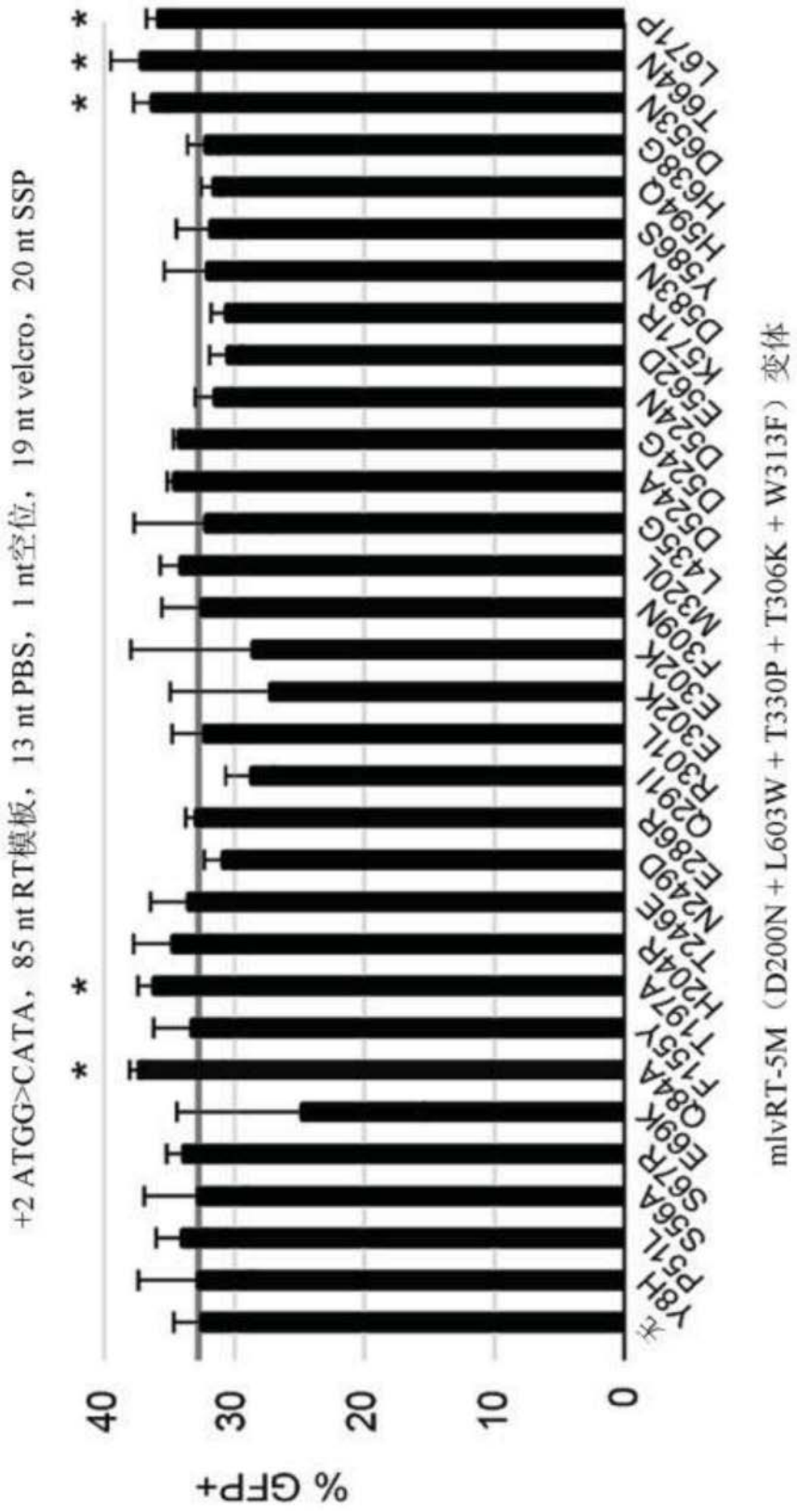

+2 ATGG>CATA，85 nt RT模板，13 nt PBS，1 nt空位，19 nt velcro，20 nt SSP
% GFP+
0
10
20
30
40
*
*
*
*
*
*
wt
Y8H
P51L
S56A
S67R
E69K
Q84A
F155Y
T197A
H204R
T246E
N249D
E286R
Q291I
R301L
E302K
E302K
F309N
M320L
L435G
D524A
D524G
D524N
E562D
K571R
D583N
Y586S
H594Q
H638G
D653N
T664N
L671P
mlvRT-5M（D200N + L603W + T330P + T306K + W313F）变体

图14A

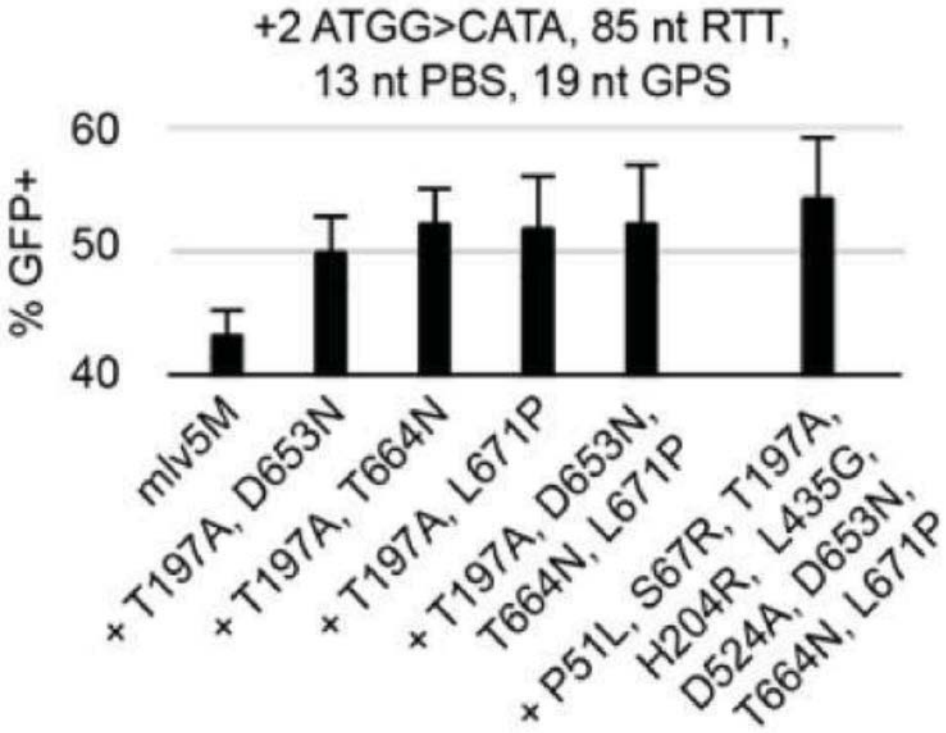

+2 ATGG>CATA, 85 nt RTT,
13 nt PBS, 19 nt GPS
% GFP+
60
50
40
mlv5M
+ T197A, D653N
+ T197A, T664N
+ T197A, L671P
+ T197A, D653N, T664N, L671P
+ P51L, S67R, T197A, H204R, L435G, D524A, D653N, T664N, L671P

图14B

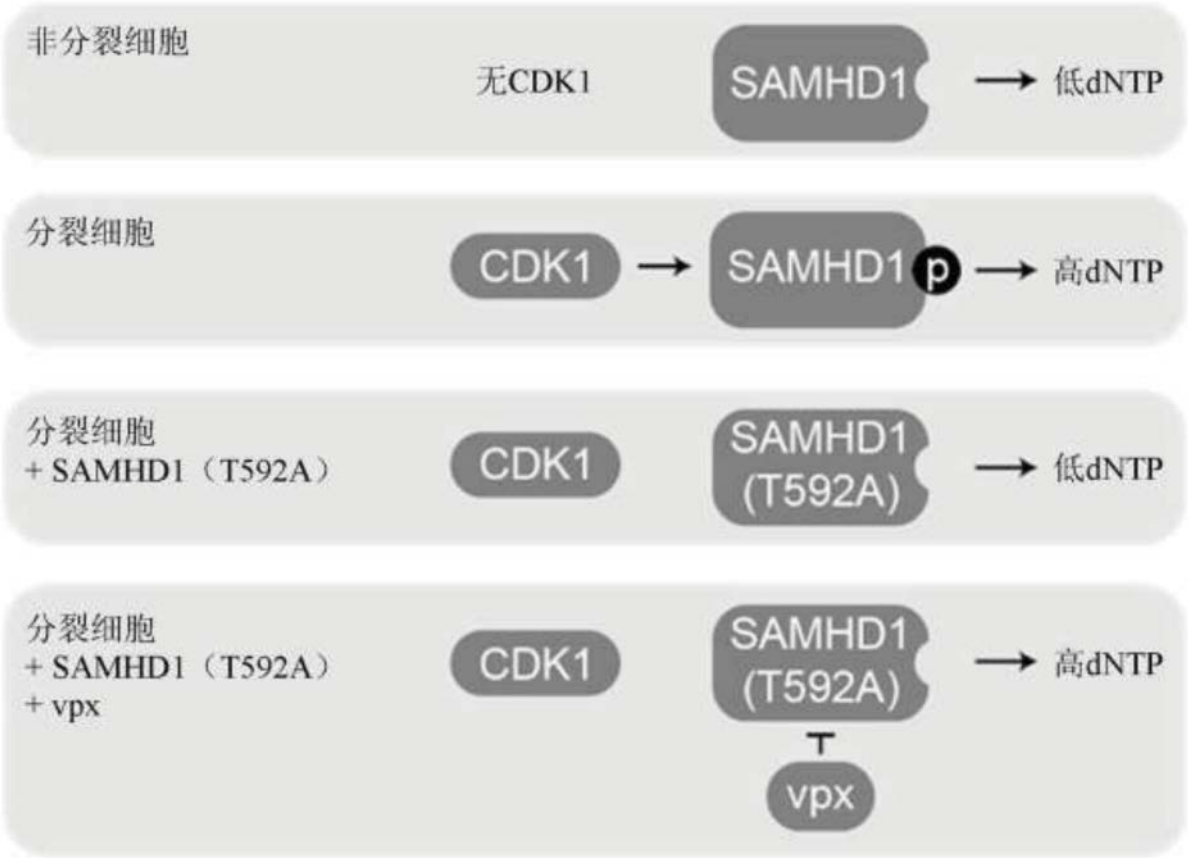

非分裂细胞
无CDK1
SAMHD1
低dNTP
分裂细胞
CDK1
SAMHD1 p
高dNTP
分裂细胞
+ SAMHD1（T592A）
CDK1
SAMHD1 (T592A)
低dNTP
分裂细胞
+ SAMHD1（T592A）
+ vpx
CDK1
SAMHD1 (T592A)
vpx
高dNTP

图15A

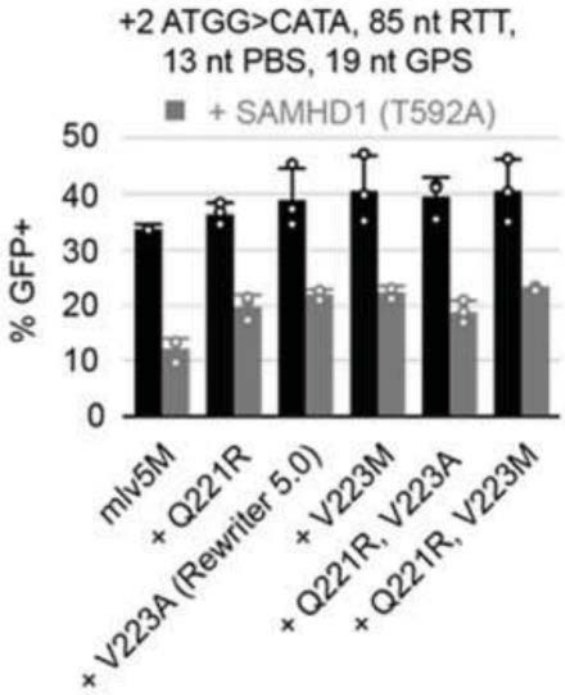

+2 ATGG>CATA, 85 nt RTT,
13 nt PBS, 19 nt GPS
+ SAMHD1 (T592A)
% GFP+
50
40
30
20
10
0
mlv5M
+ Q221R
+ V223A (Rewriter 5.0)
+ V223M
+ Q221R, V223A
+ Q221R, V223M

图15B

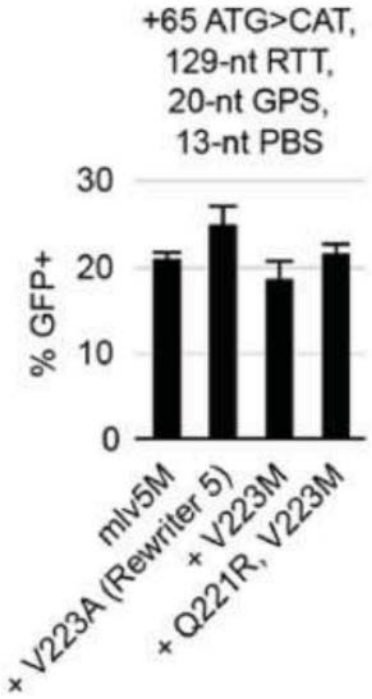

+65 ATG>CAT,
129-nt RTT,
20-nt GPS,
13-nt PBS
30
20
10
0
% GFP+
mlv5M
+ V223A (Rewriter 5)
+ V223M
+ Q221R, V223M

图15C

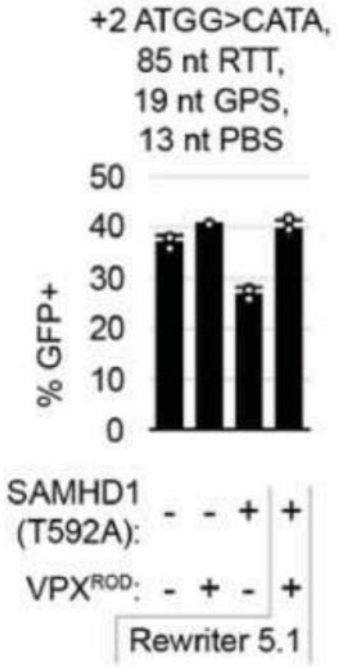

+2 ATGG>CATA,
85 nt RTT,
19 nt GPS,
13 nt PBS
50
40
30
20
10
0
% GFP+
SAMHD1 (T592A): - - + +
VPX^ROD: - + - +
Rewriter 5.1

图15D

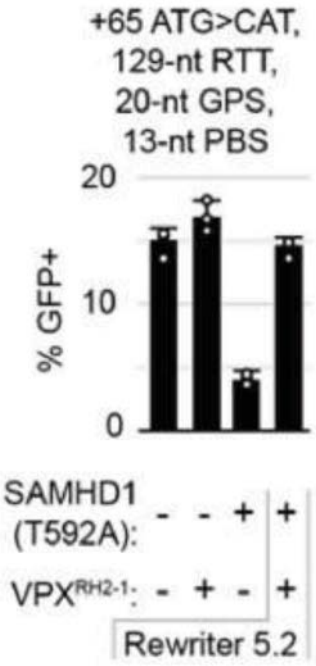

+65 ATG>CAT,
129-nt RTT,
20-nt GPS,
13-nt PBS
20
10
0
% GFP+
SAMHD1
(T592A):
- - + +
VPXRH2-1:
- + - +
Rewriter 5.2

图15E

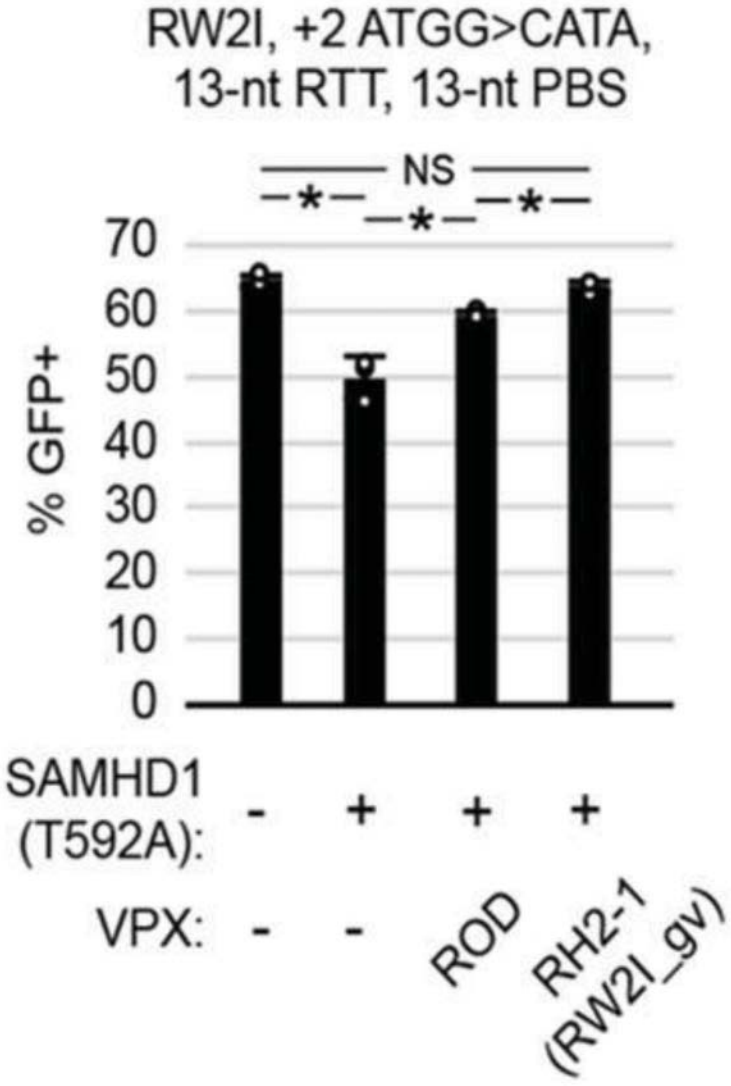

RW2I, +2 ATGG>CATA,
13-nt RTT, 13-nt PBS
NS
*
*
*
70
60
50
40
30
20
10
0
% GFP+
SAMHD1
(T592A):
-
+
+
+
VPX:
-
-
ROD
RH2-1
(RW2I_gv)

图15F

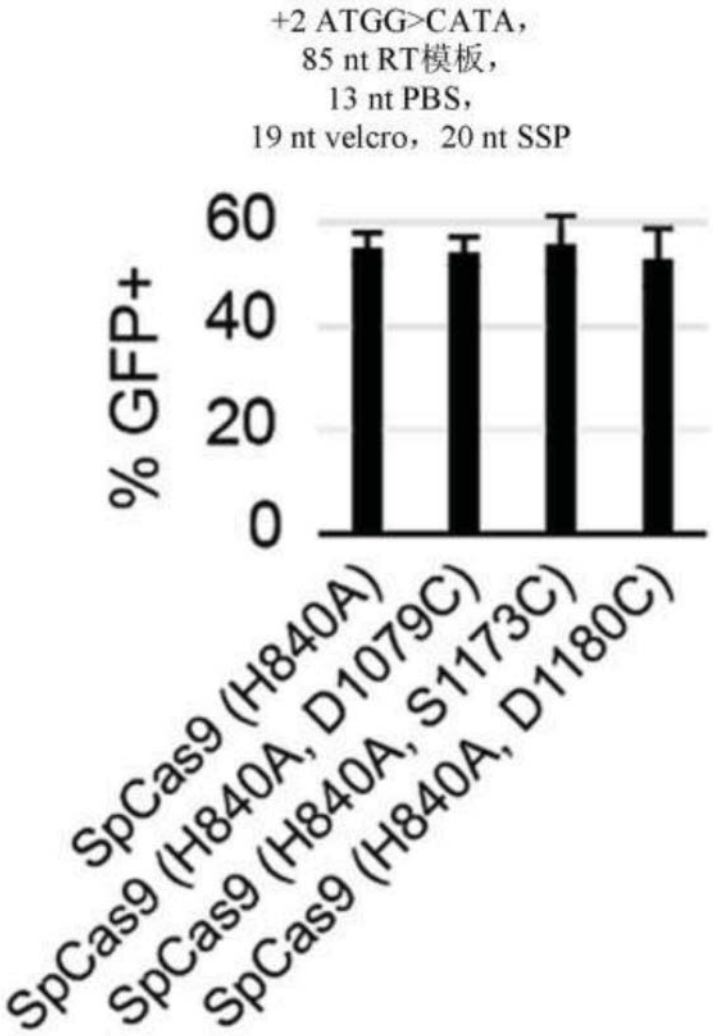

+2 ATGG>CATA，
85 nt RT模板，
13 nt PBS，
19 nt velcro，20 nt SSP
% GFP+
60
40
20
0
SpCas9 (H840A)
SpCas9 (H840A, D1079C)
SpCas9 (H840A, S1173C)
SpCas9 (H840A, D1180C)

图16

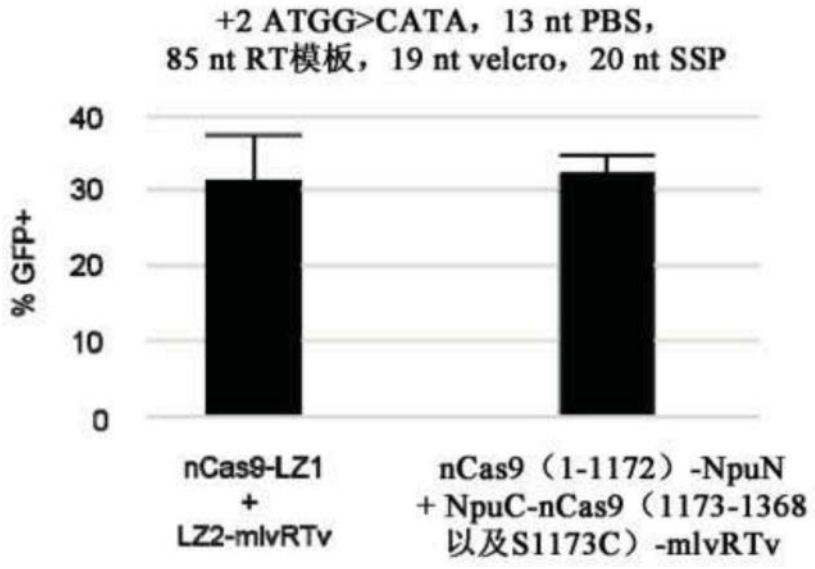

+2 ATGG>CATA，13 nt PBS，
85 nt RT模板，19 nt velcro，20 nt SSP
% GFP+
40
30
20
10
0
nCas9-LZ1
+
LZ2-mlvRTv
nCas9（1-1172）-NpuN
+ NpuC-nCas9（1173-1368
以及S1173C）-mlvRTv

图17A

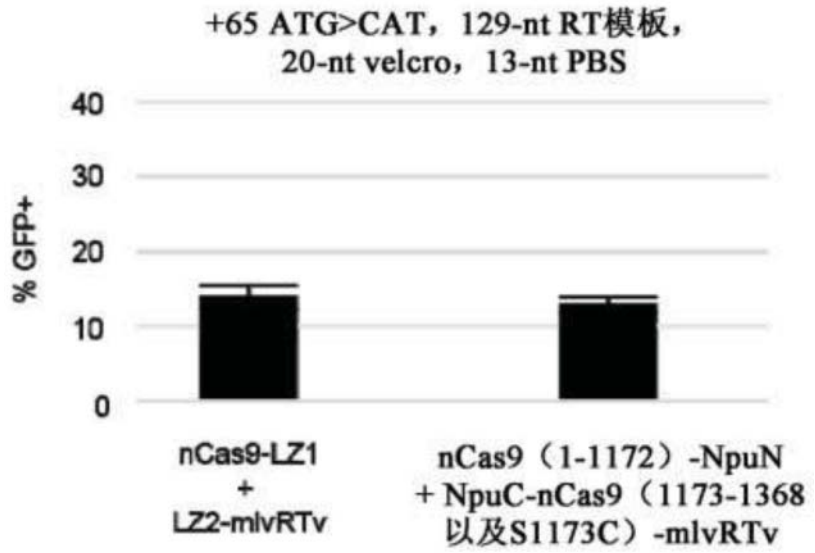

+65 ATG>CAT，129-nt RT模板，
20-nt velcro，13-nt PBS
% GFP+
40
30
20
10
0
nCas9-LZ1
+
LZ2-mlvRTv
nCas9（1-1172）-NpuN
+ NpuC-nCas9（1173-1368
以及S1173C）-mlvRTv

图17B

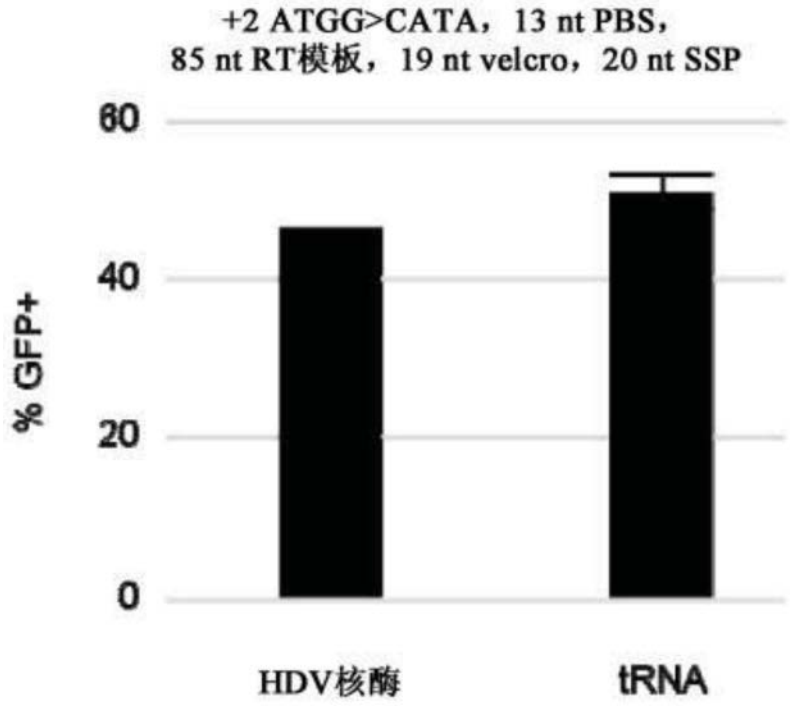

+2 ATGG>CATA，13 nt PBS，
85 nt RT模板，19 nt velcro，20 nt SSP
60
40
20
0
% GFP+
HDV核酶
tRNA

图18

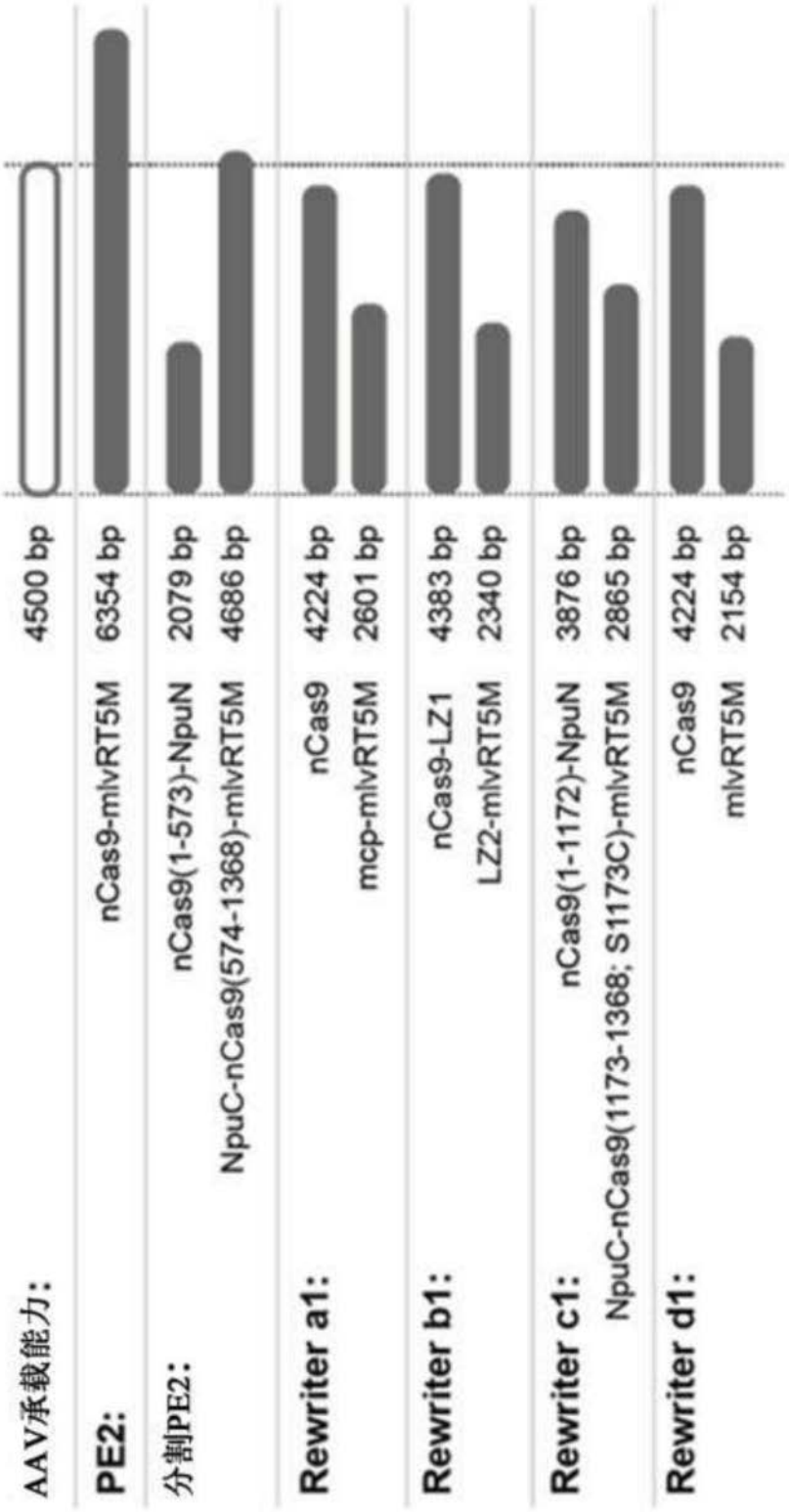

AAV承载能力：
4500 bp
PE2:
nCas9-mlvRT5M
6354 bp
分割PE2:
nCas9(1-573)-NpuN
2079 bp
NpuC-nCas9(574-1368)-mlvRT5M
4686 bp
Rewriter a1:
nCas9
4224 bp
mcp-mlvRT5M
2601 bp
Rewriter b1:
nCas9-LZ1
4383 bp
LZ2-mlvRT5M
2340 bp
Rewriter c1:
nCas9(1-1172)-NpuN
3876 bp
NpuC-nCas9(1173-1368; S1173C)-mlvRT5M
2865 bp
Rewriter d1:
nCas9
4224 bp
mlvRT5M
2154 bp

图19A

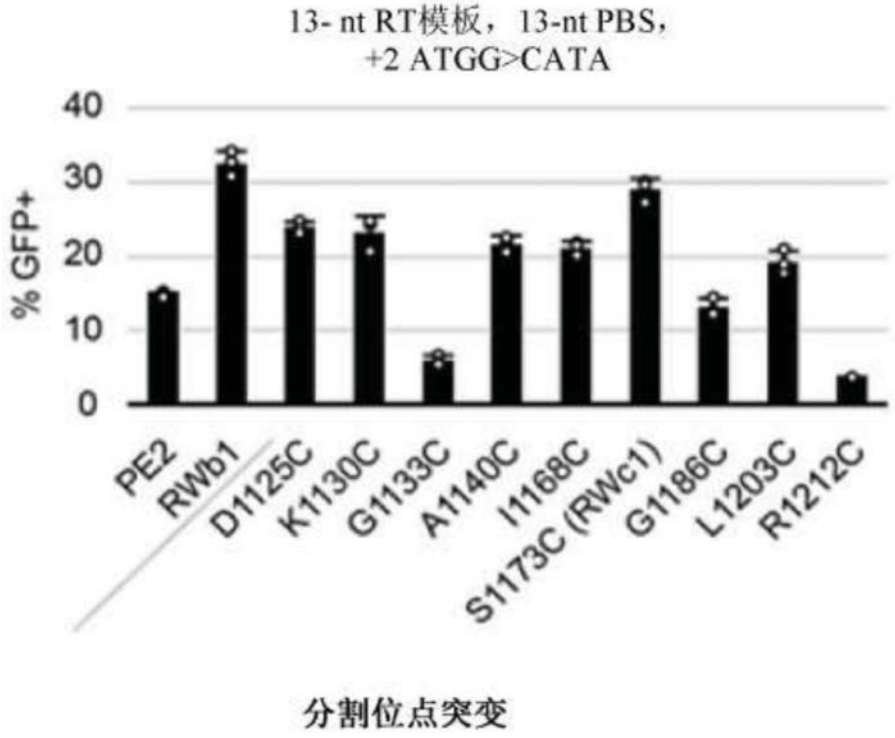

13- nt RT模板，13-nt PBS，
+2 ATGG>CATA
% GFP+
40
30
20
10
0
PE2
RWb1
D1125C
K1130C
G1133C
A1140C
I1168C
S1173C (RWc1)
G1186C
L1203C
R1212C
分割位点突变

图19B

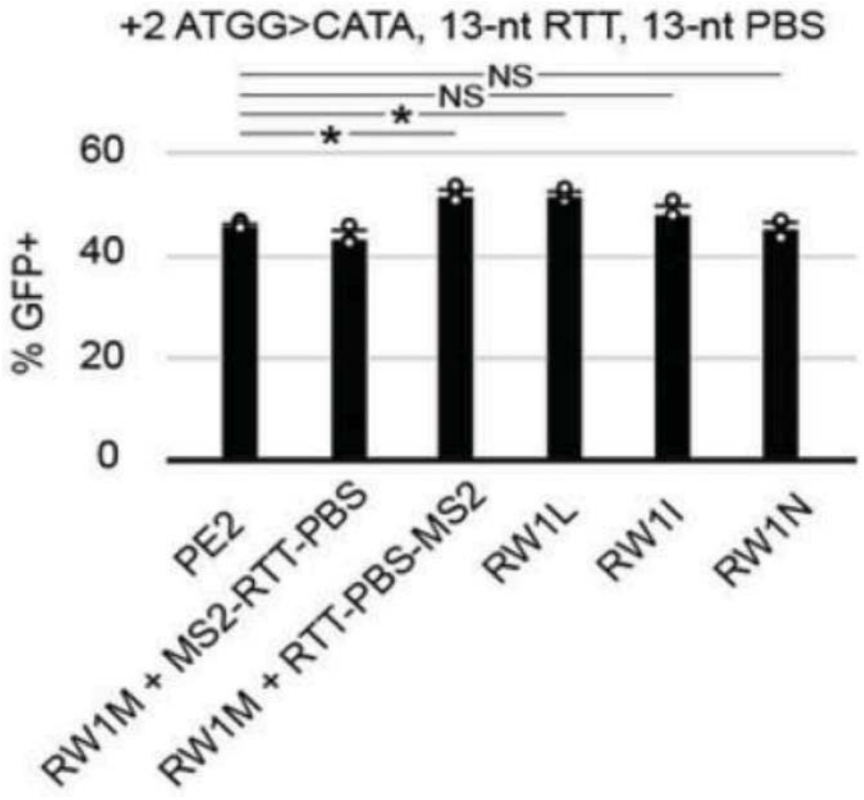

+2 ATGG>CATA, 13-nt RTT, 13-nt PBS
NS
NS
*
*
% GFP+
60
40
20
0
PE2
RW1M + MS2-RTT-PBS
RW1M + RTT-PBS-MS2
RW1L
RW1I
RW1N

图19C

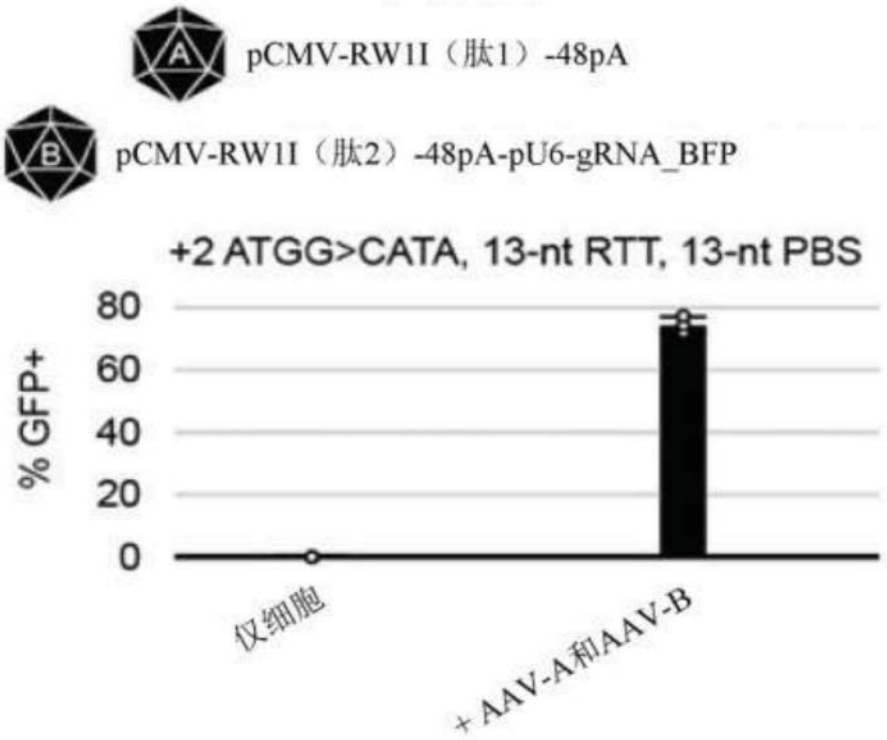

A
pCMV-RW1I（肽1）-48pA
B
pCMV-RW1I（肽2）-48pA-pU6-gRNA_BFP
+2 ATGG>CATA, 13-nt RTT, 13-nt PBS
% GFP+
80
60
40
20
0
仅细胞
+ AAV-A和AAV-B

图19D

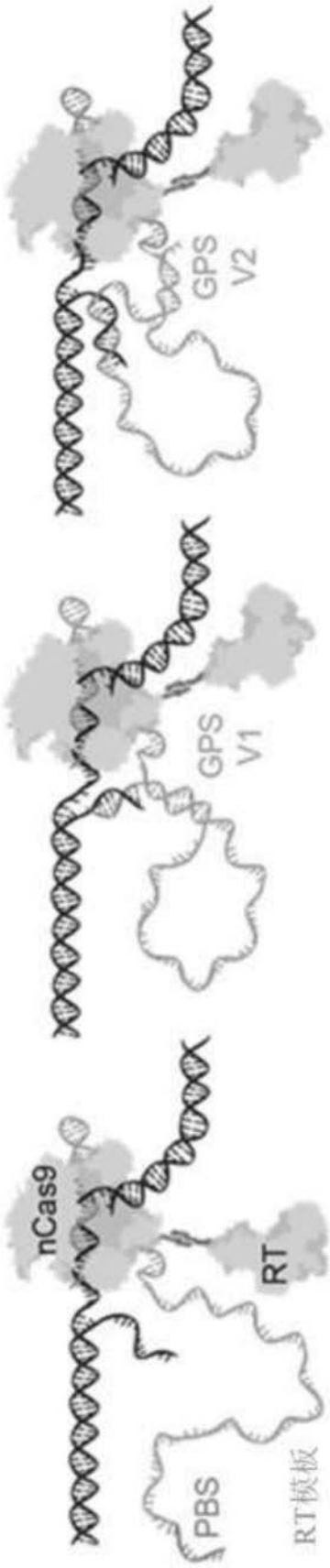


图20A

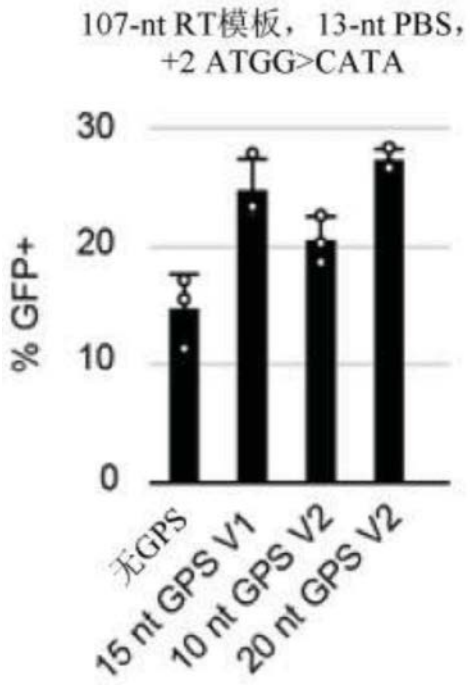

107-nt RT模板，13-nt PBS，
+2 ATGG>CATA
30
20
10
0
% GFP+
无GPS
15 nt GPS V1
10 nt GPS V2
20 nt GPS V2

图20B

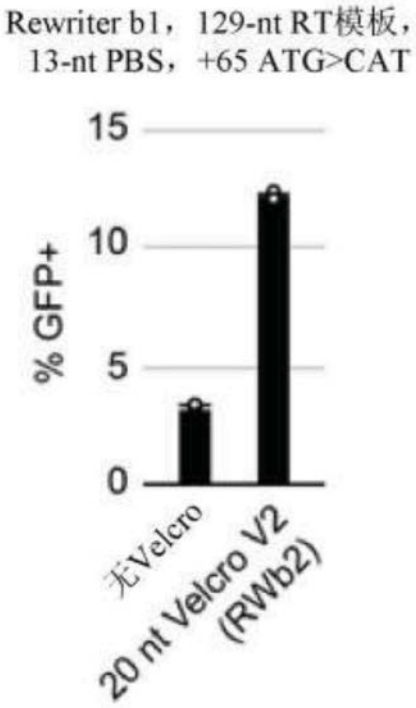

Rewriter b1，129-nt RT模板，
13-nt PBS，+65 ATG>CAT
15
10
5
0
% GFP+
无Velcro
20 nt Velcro V2
(RWb2)

图20C

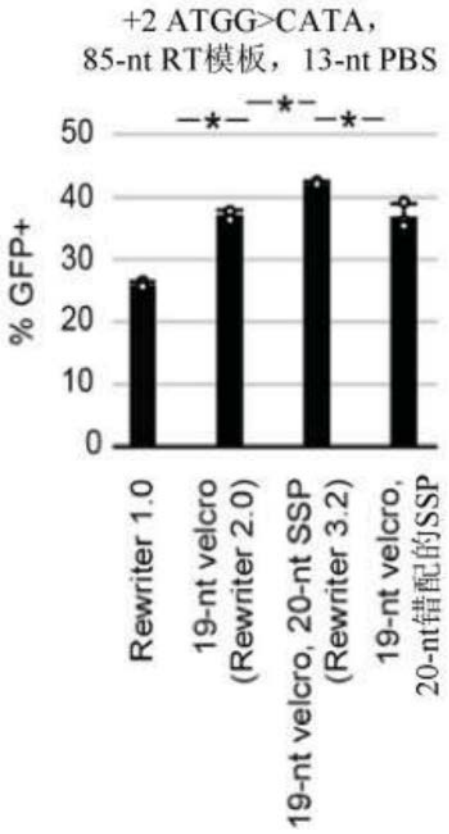

+2 ATGG>CATA，
85-nt RT模板，13-nt PBS
50
40
30
20
10
0
% GFP+
Rewriter 1.0
19-nt velcro (Rewriter 2.0)
19-nt velcro, 20-nt SSP (Rewriter 3.2)
19-nt velcro, 20-nt错配的SSP

图21

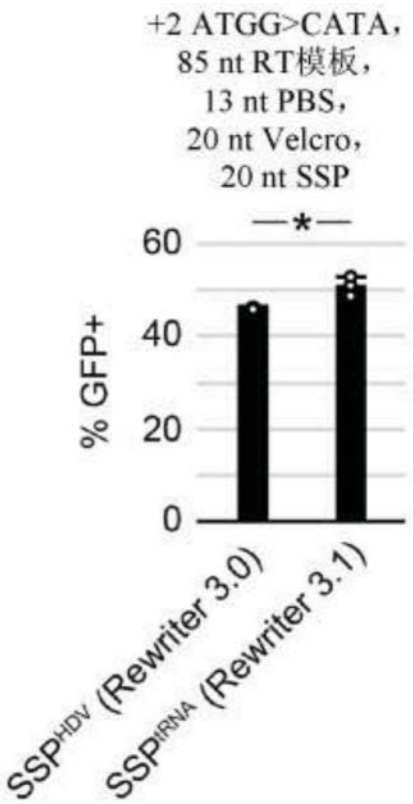

+2 ATGG>CATA,
85 nt RT模板,
13 nt PBS,
20 nt Velcro,
20 nt SSP
—*—
60
40
20
0
% GFP+
SSPHDV (Rewriter 3.0)
SSPtRNA (Rewriter 3.1)

图22

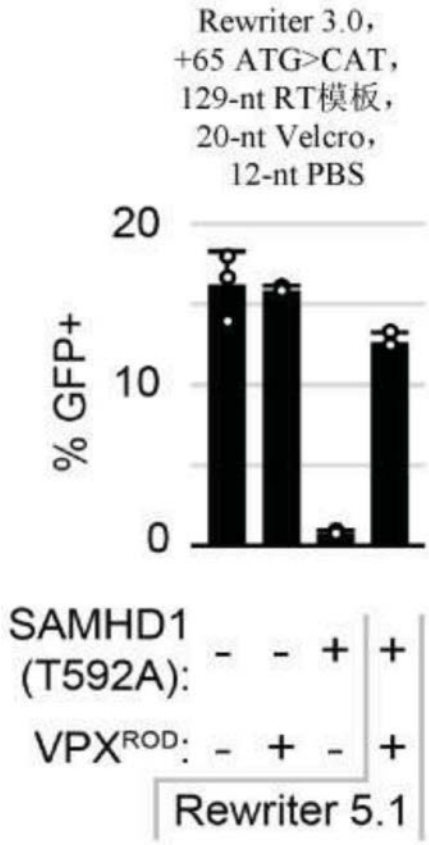

Rewriter 3.0，
+65 ATG>CAT，
129-nt RT模板，
20-nt Velcro，
12-nt PBS
20
10
0
% GFP+
SAMHD1
(T592A):
- - + +
VPXROD:
- + - +
Rewriter 5.1

图23

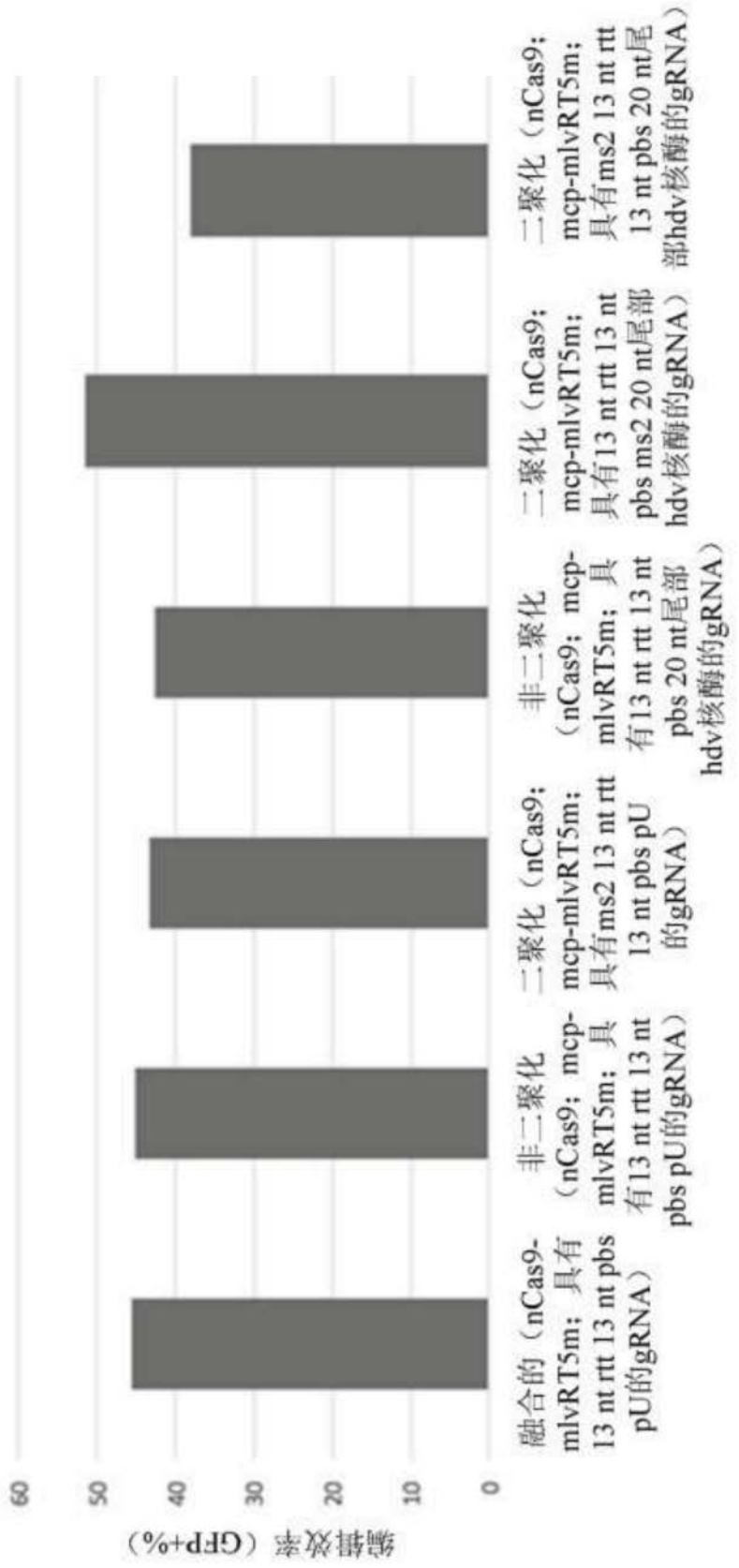

编辑效率（GFP+%）
60
50
40
30
20
10
0
融合的（nCas9-mlvRT5m；具有13 nt rtt 13 nt pbs pU的gRNA）
非二聚化（nCas9；mcp-mlvRT5m；具有13 nt rtt 13 nt pbs pU的gRNA）
二聚化（nCas9；mcp-mlvRT5m；具有ms2 13 nt rtt 13 nt pbs pU的gRNA）
非二聚化（nCas9；mcp-mlvRT5m；具有13 nt rtt 13 nt pbs 20 nt尾部hdv核酶的gRNA）
二聚化（nCas9；mcp-mlvRT5m；具有13 nt rtt 13 nt pbs ms2 20 nt尾部hdv核酶的gRNA）
二聚化（nCas9；mcp-mlvRT5m；具有ms2 13 nt rtt 13 nt pbs 20 nt尾部hdv核酶的gRNA）

图24


具有22987>C的读段的%
25
20
15
10
5
0
PBS长度（nt）
RTT长度（nt）
GPS长度（nt）
9 11 13 15 9 11 13 15 9 11 13 15 9 11 13 15
32 34 36 52 56
- - - 20 20

图25A

2298T>C
2316C>A
间隔子
(SEQ ID NO: 120) CTCTGGGCAGTGTGAGTGC-AAAAAGAAGC-CAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG 73.5% (wt)
(SEQ ID NO: 121) CTCTGGGCAGTGCGAGTGC-AAAAAGAAGC-AAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG 18.8% (2298T>C, 2316C>A)
(SEQ ID NO: 122) CTCTGGGCAGTGTGAGTGC-AAAAAGAAGC-AAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG 3.9% (2316C>T)
(SEQ ID NO: 123) CTCTGGGCAGTGCGAGTGC-AAAAAGAAGC-CAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG 3.2% (2298T>C)
(SEQ ID NO: 124) CTCTGGGCAGTGCGAGTGC-AAAAAGAAGCAAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG 0.4% (2298T>C, 2315insA, 2316C>A)
(SEQ ID NO: 125) CTCTGGGCAGTGCGAAAAAAGAAGC-AAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG 0.2% (2298T>C, 2304insA, 2316C>A)

图25B

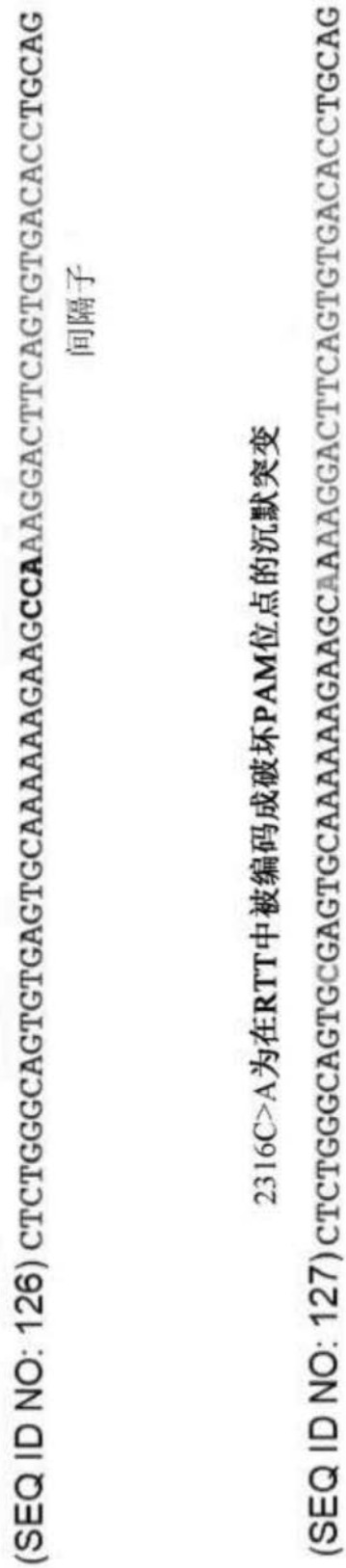

基因组序列，其中PAM加粗
(SEQ ID NO: 126) CTCTGGGCAGTGTGAGTGCAAAAAAGAAGCCAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG
间隔子
2316C>A为在RTT中被编码成破坏PAM位点的沉默突变
(SEQ ID NO: 127) CTCTGGGCAGTGCGAGTGCAAAAAAGAAGCAAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG
2298T>C
2316C>A
间隔子

图25C

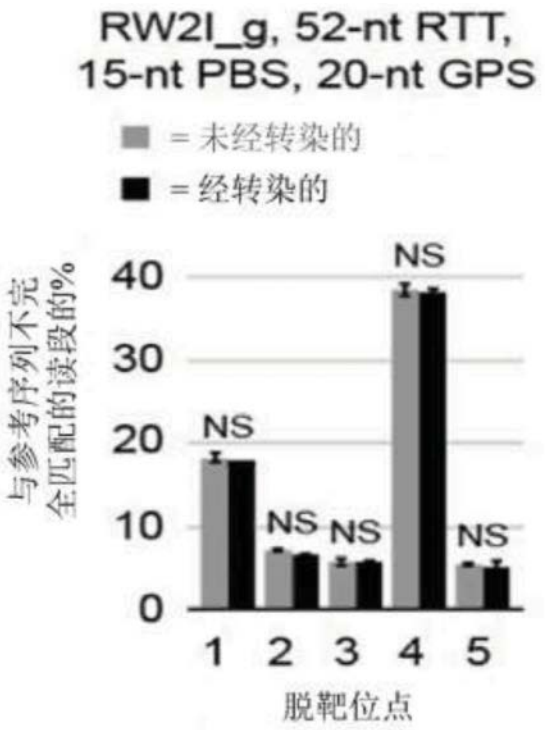

RW2I_g, 52-nt RTT,
15-nt PBS, 20-nt GPS
= 未经转染的
= 经转染的
与参考序列不完全匹配的读段的%
40
30
20
10
0
NS
NS
NS
NS
NS
1
2
3
4
5
脱靶位点

图25D

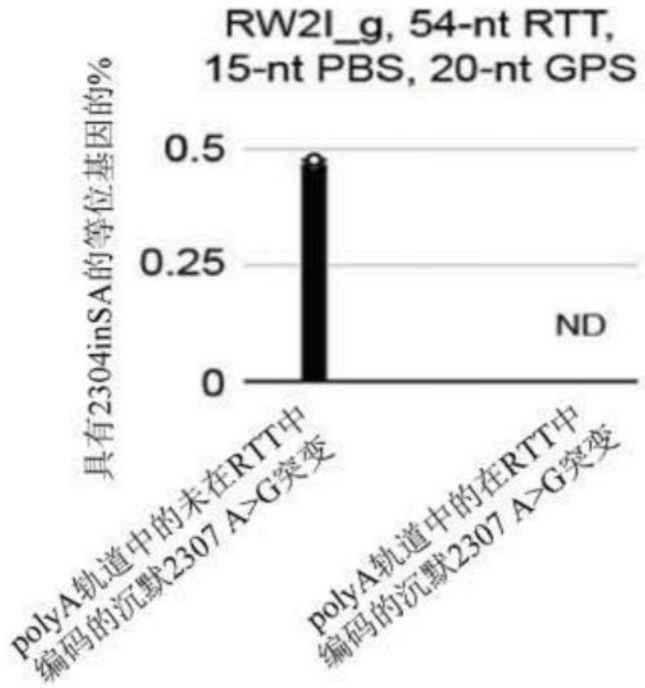

RW2I_g, 54-nt RTT,
15-nt PBS, 20-nt GPS
具有2304insA的等位基因的%
0.5
0.25
0
ND
polyA轨道中的未在RTT中编码的沉默2307 A>G突变
polyA轨道中的在RTT中编码的沉默2307 A>G突变

图25E

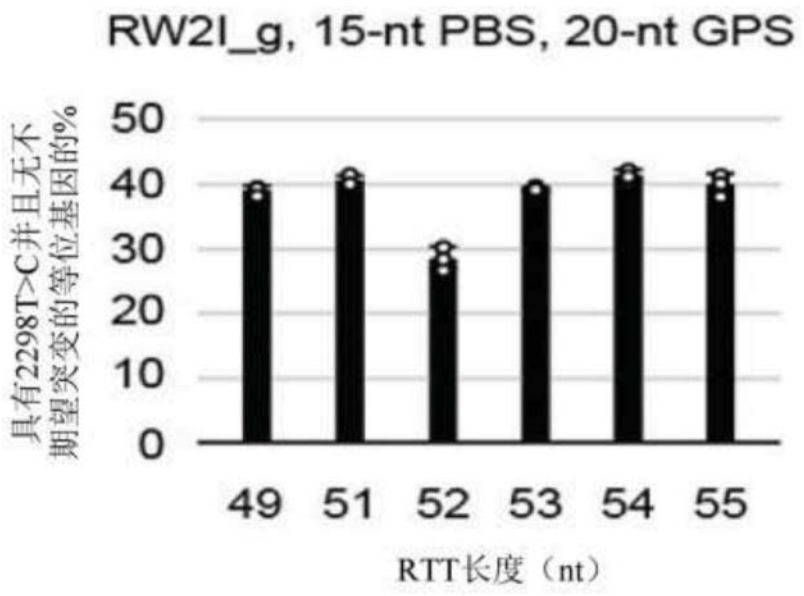

RW2I_g, 15-nt PBS, 20-nt GPS
具有2298T>C并且无不期望突变的等位基因的%
50
40
30
20
10
0
49
51
52
53
54
55
RTT长度（nt）

图25F

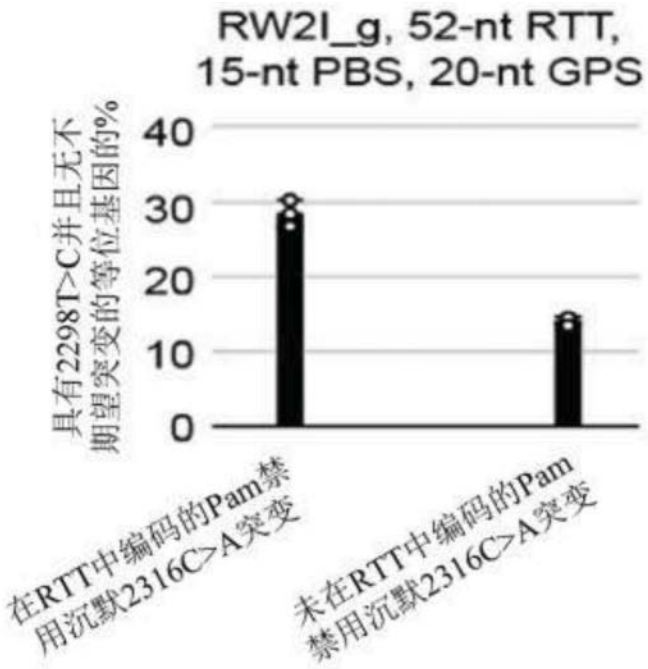

RW2I_g, 52-nt RTT,
15-nt PBS, 20-nt GPS
具有2298T>C并且无不期望突变的等位基因的%
40
30
20
10
0
在RTT中编码的Pam禁用沉默2316C>A突变
未在RTT中编码的Pam禁用沉默2316C>A突变

图25G

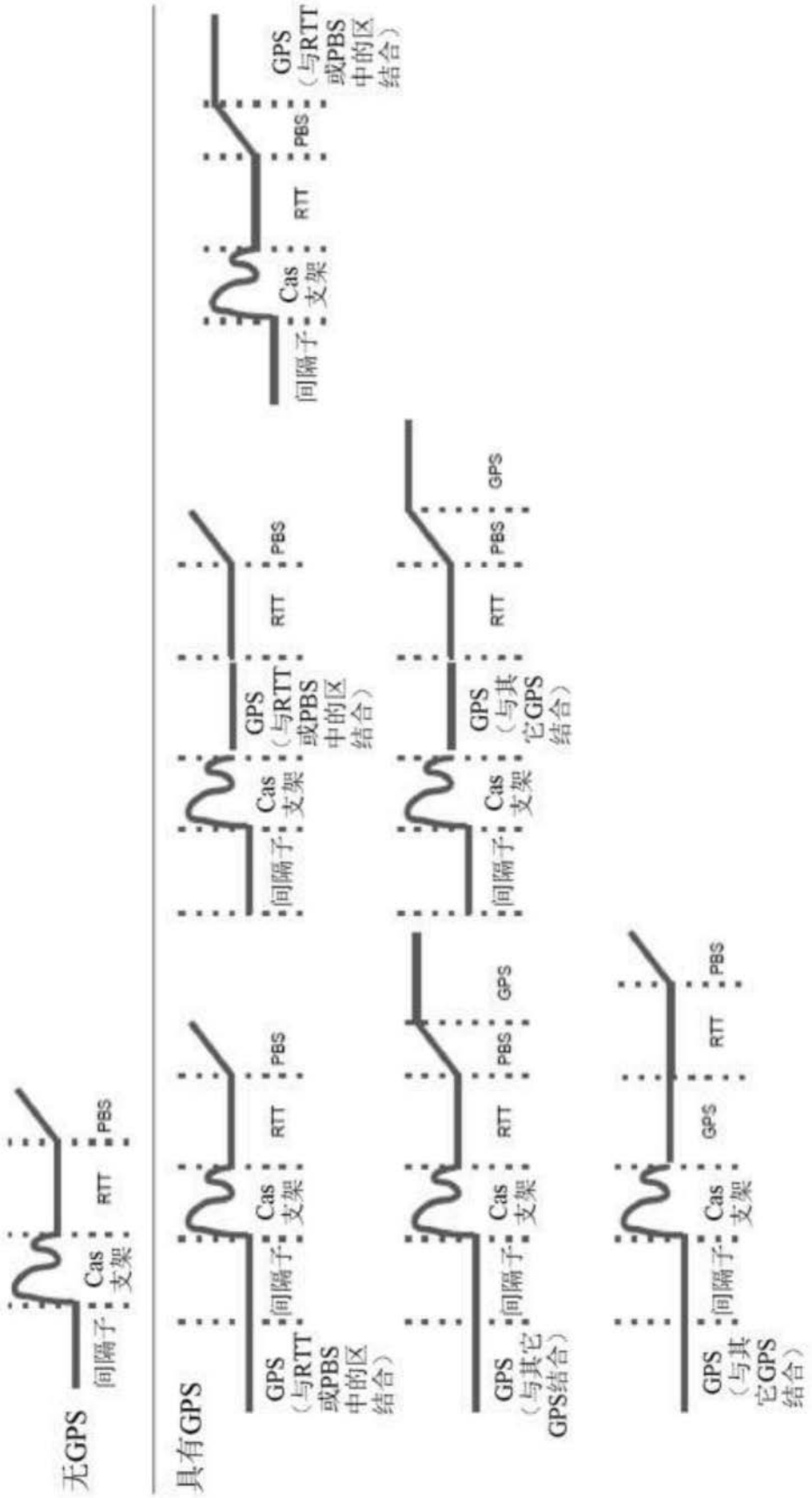

无GPS
间隔子
Cas 支架
RTT
PBS
具有GPS
GPS（与RTT或PBS中的区结合）
GPS（与其它GPS结合）
GPS（与其它GPS结合）

图26

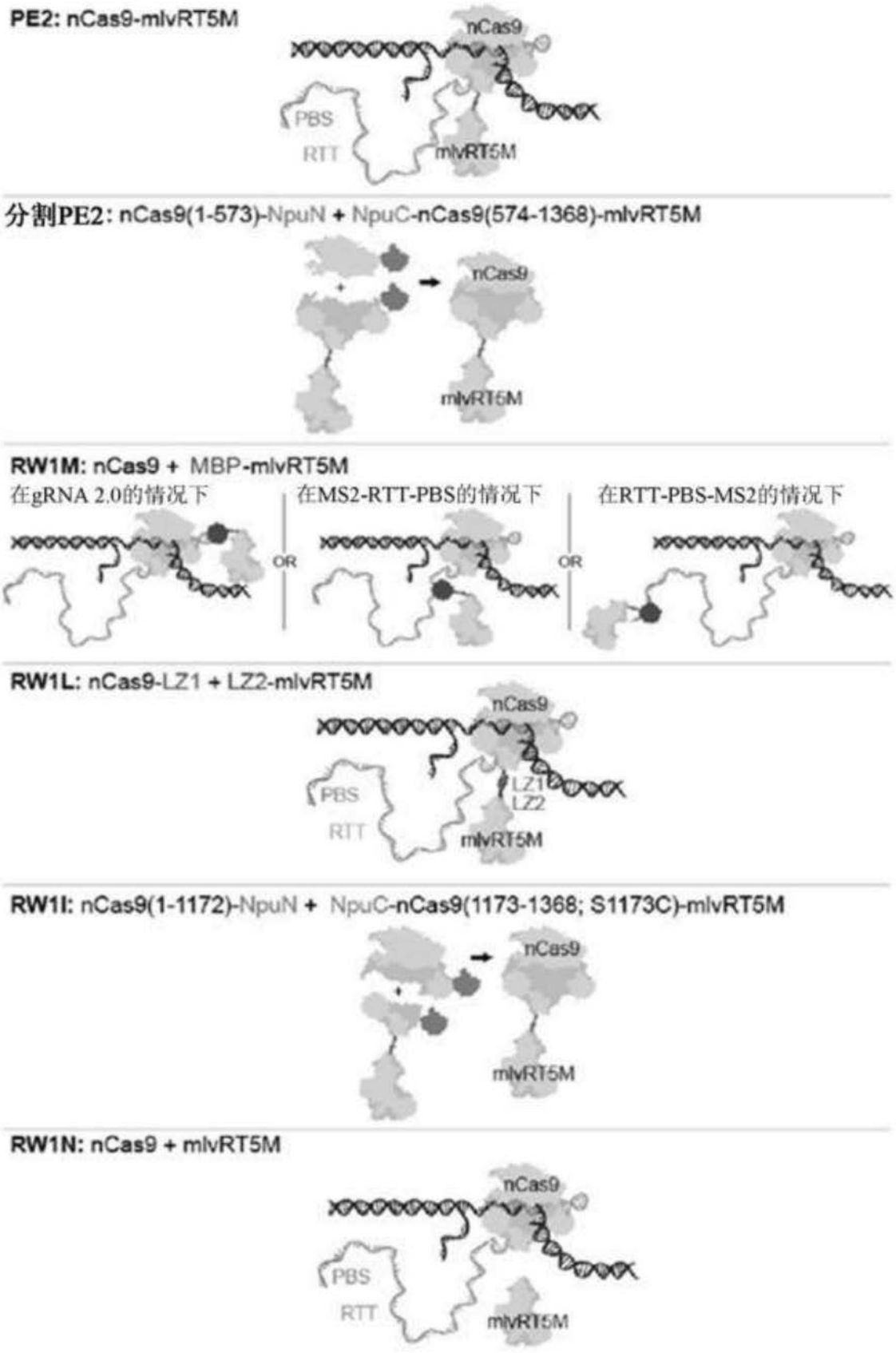

PE2: nCas9-mlvRT5M
nCas9
PBS
RTT
mlvRT5M
分割PE2: nCas9(1-573)-NpuN + NpuC-nCas9(574-1368)-mlvRT5M
nCas9
mlvRT5M
RW1M: nCas9 + MBP-mlvRT5M
在gRNA 2.0的情况下
在MS2-RTT-PBS的情况下
在RTT-PBS-MS2的情况下
OR
OR
RW1L: nCas9-LZ1 + LZ2-mlvRT5M
nCas9
PBS
RTT
LZ1
LZ2
mlvRT5M
RW1I: nCas9(1-1172)-NpuN + NpuC-nCas9(1173-1368; S1173C)-mlvRT5M
nCas9
mlvRT5M
RW1N: nCas9 + mlvRT5M
nCas9
PBS
RTT
mlvRT5M

图27

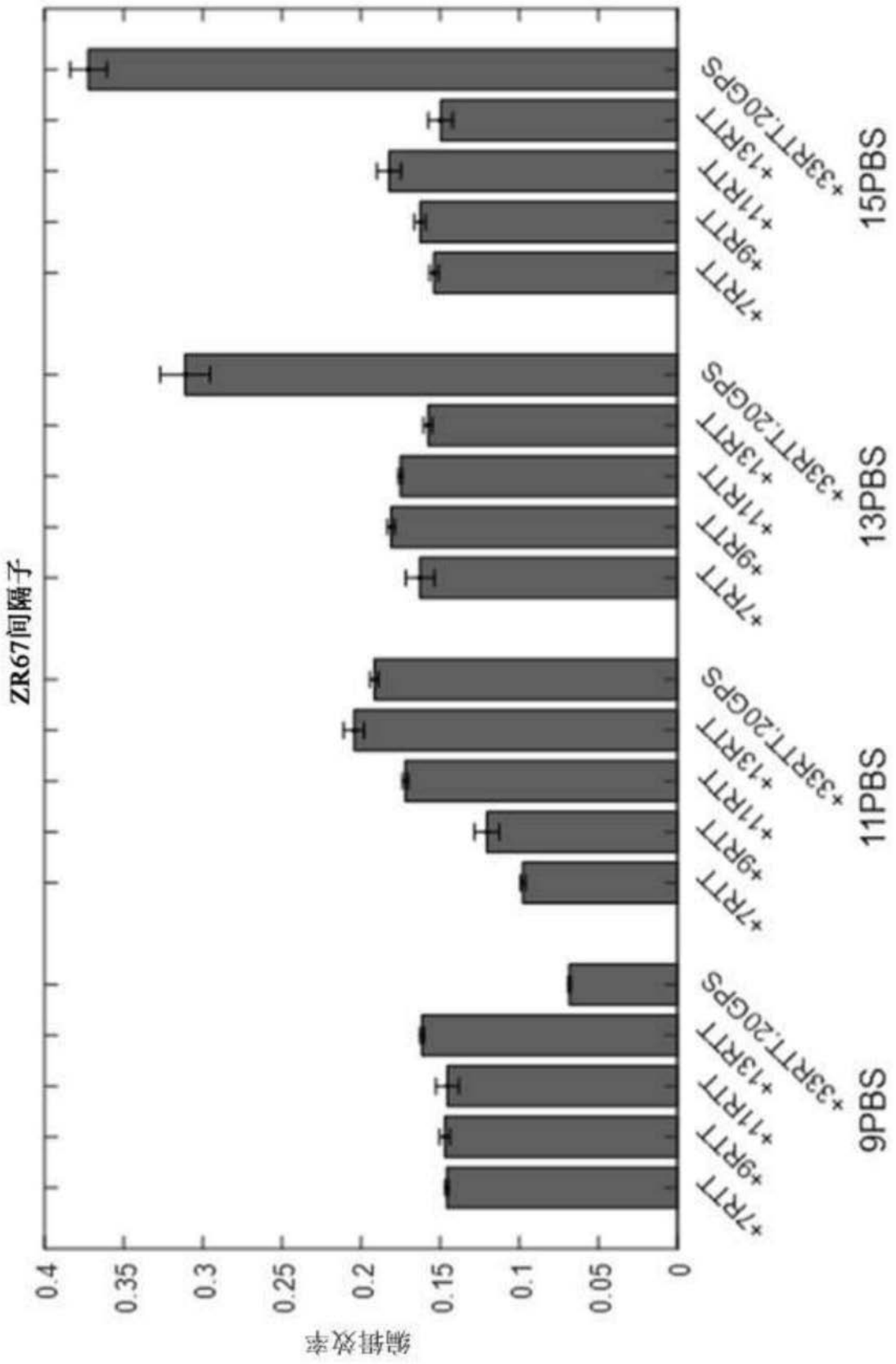

ZR67间隔子
编辑效率
0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
+7RTT
+9RTT
+11RTT
+13RTT
+33RTT.20GPS
9PBS
11PBS
13PBS
15PBS

图28

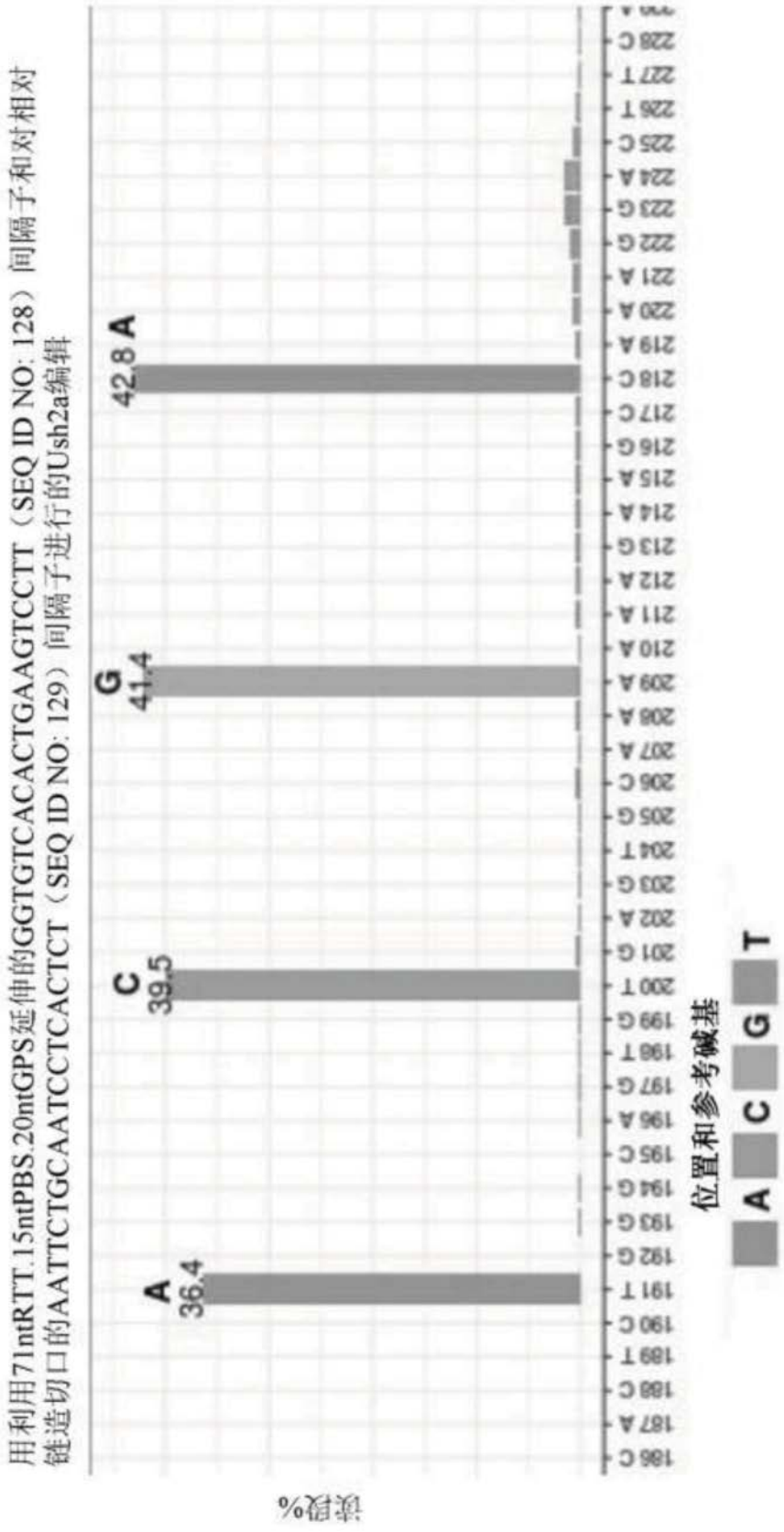

用利用71ntRTT.15ntPBS.20ntGPS延伸的GGTGTCACACTGAAGTCCTT（SEQ ID NO: 128）间隔子和对相对链造切口的AATTCTGCAATCCTCACTCT（SEQ ID NO: 129）间隔子进行的Ush2a编辑
A 36.4
C 39.5
G 41.4
A 42.8
读段%
位置和参考碱基
A C G T

图29A

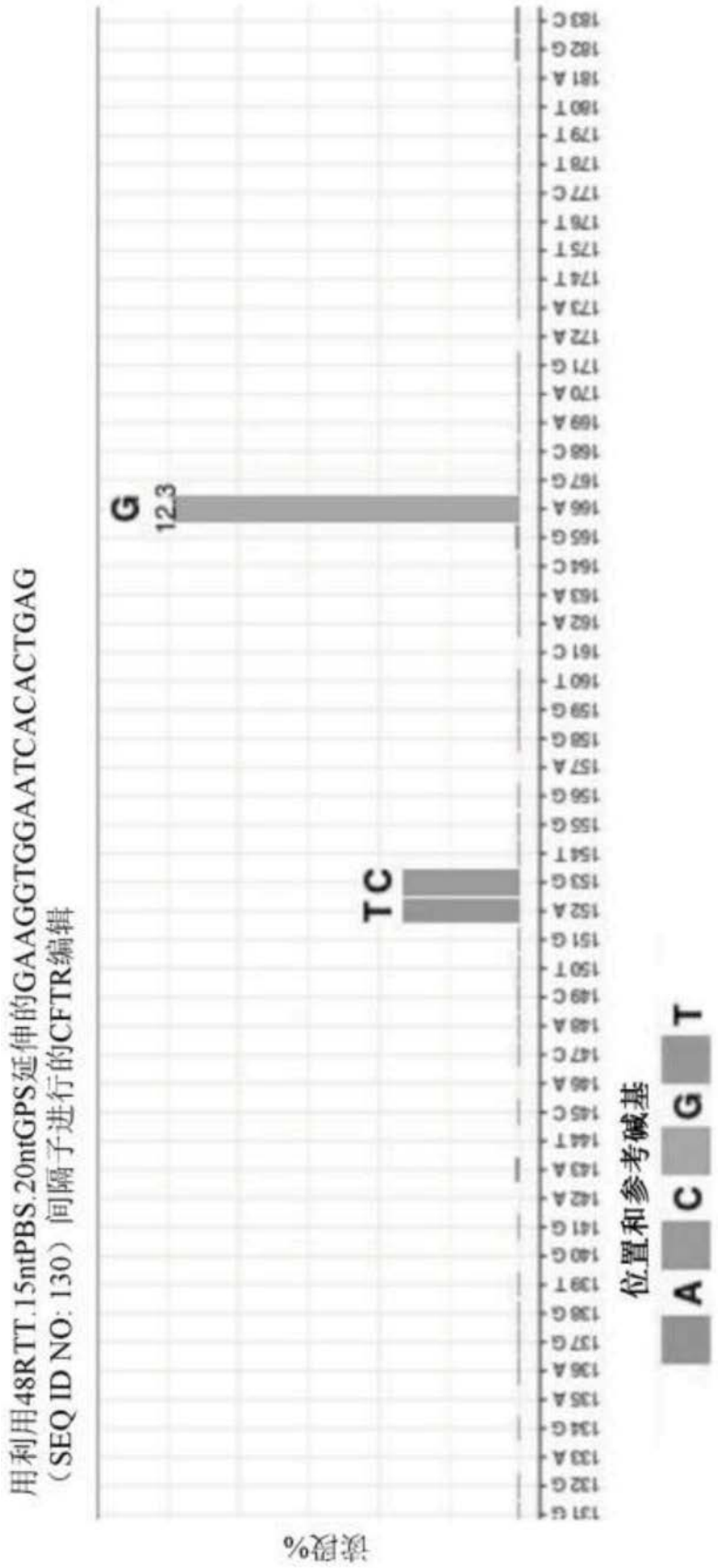

用利用48RTT.15ntPBS.20mtGPS延伸的GAAGGTGGAATCACACTGAG
（SEQ ID NO: 130）间隔子进行的CFTR编辑
G
12.3
TC
A
C
G
T
位置和参考碱基
读段%

图29B

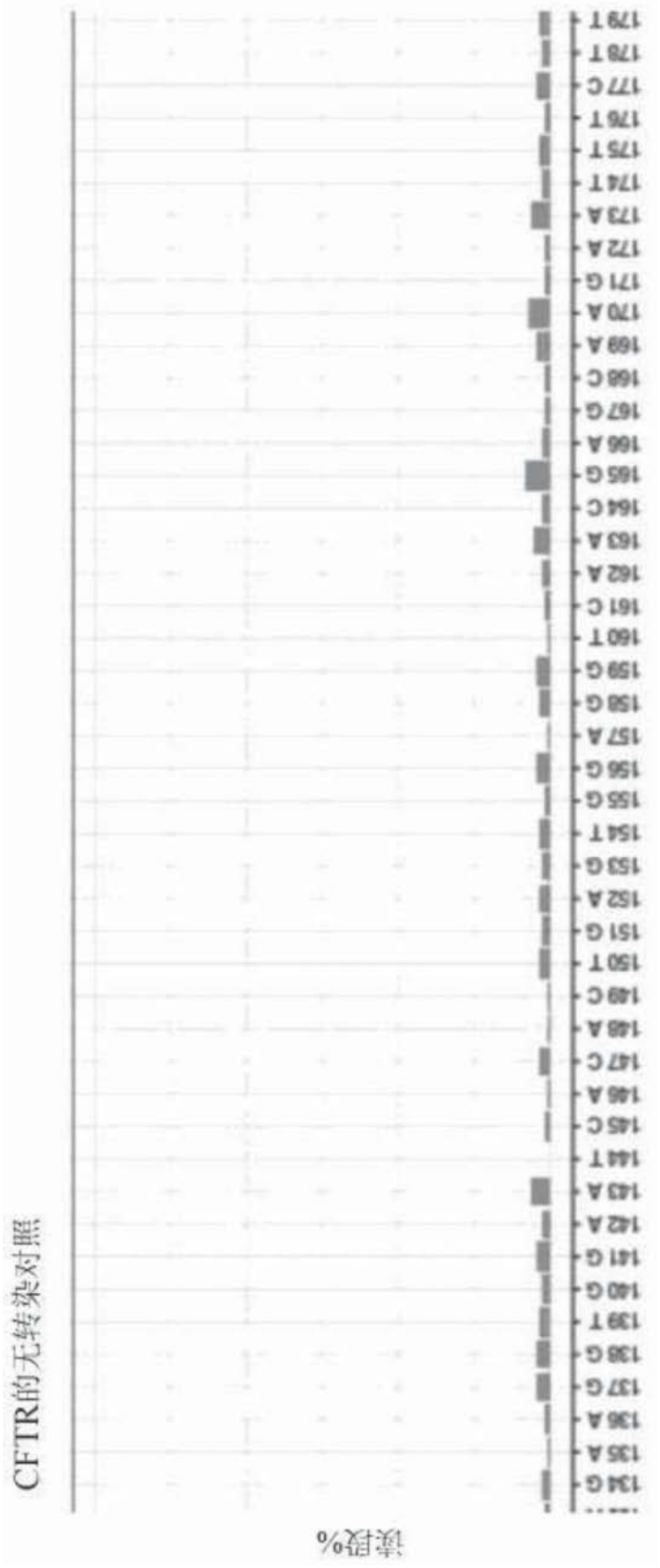

CFTR的无转染对照
读段%
179 T
178 T
177 C
176 T
175 T
174 T
173 A
172 A
171 G
170 A
169 A
168 C
167 G
166 A
165 G
164 C
163 A
162 A
161 C
160 T
159 G
158 G
157 A
156 G
155 G
154 T
153 G
152 A
151 G
150 T
149 C
148 A
147 C
146 A
145 C
144 T
143 A
142 A
141 G
140 G
139 T
138 G
137 G
136 A
135 A
134 G

图29C

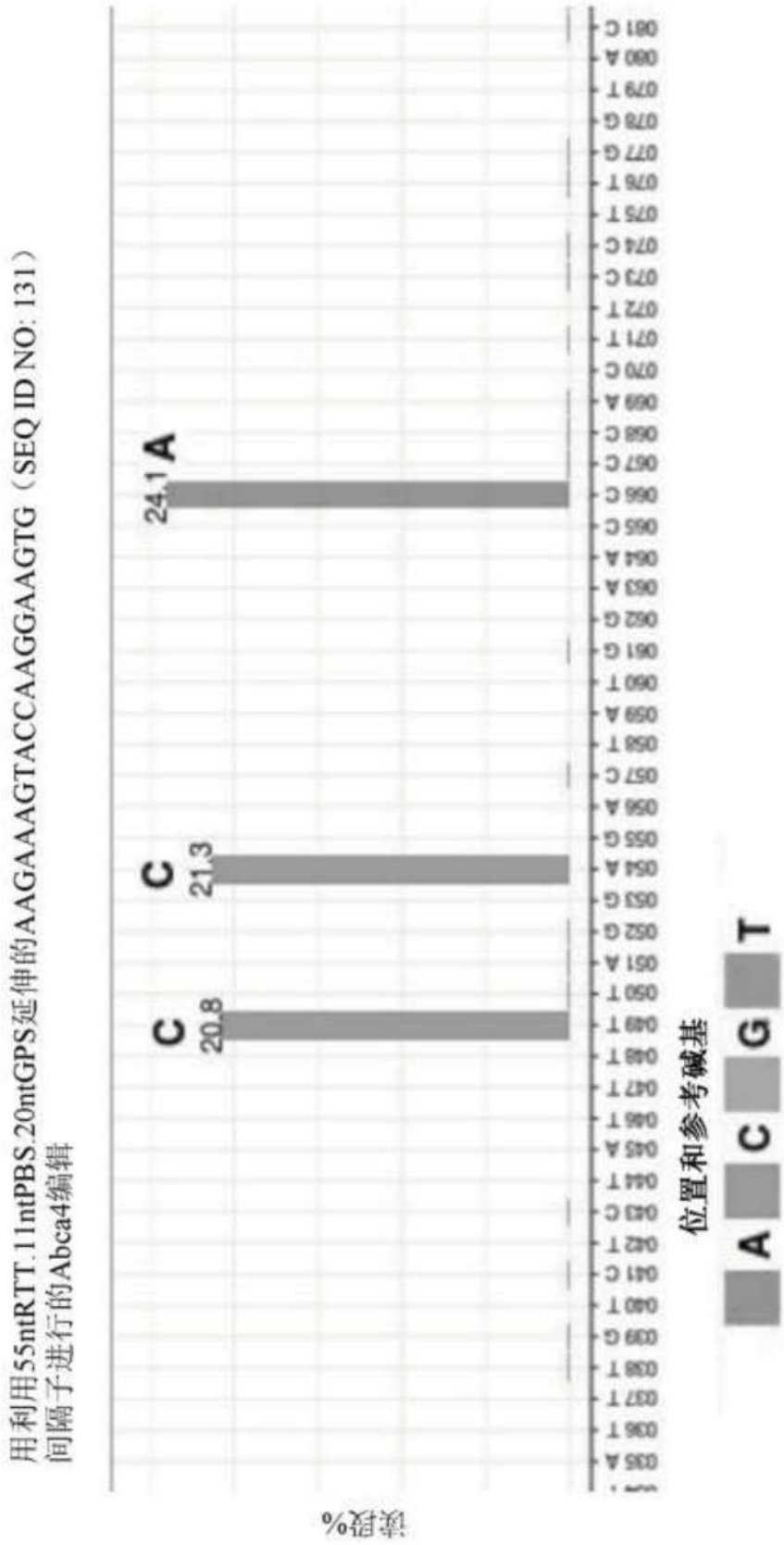

用利用55ntRTT.11ntPBS.20ntGPS延伸的AAGAAAGTACCAAGGAAGTG（SEQ ID NO: 131）间隔子进行的Abca4编辑
C
20.8
C
21.3
A
24.1
读段%
位置和参考碱基
A
C
G
T

图29D

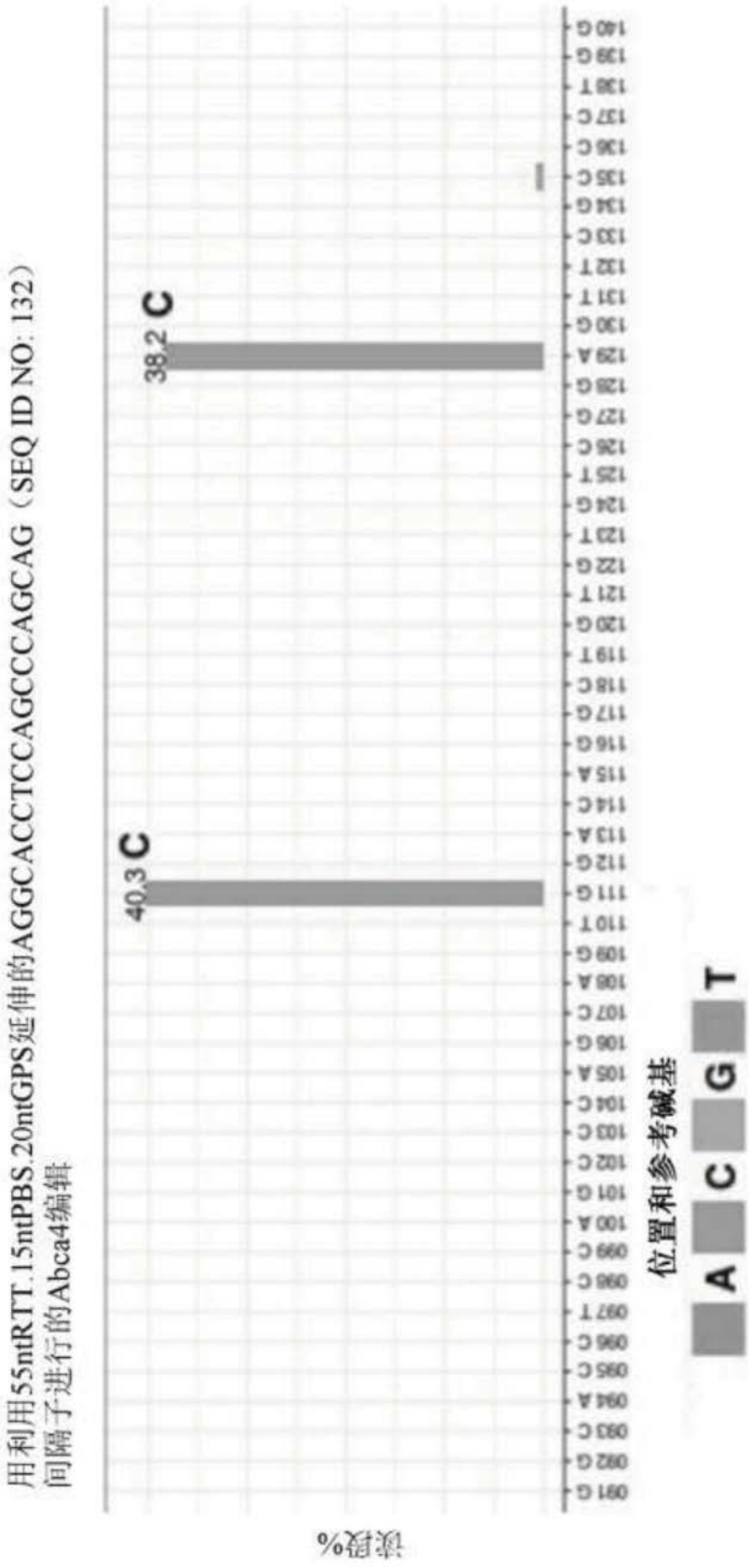

用利用55ntRTT.15ntPBS.20ntGPS延伸的AGGCACCTCCAGCCCAGCAG（SEQ ID NO: 132）
间隔子进行的Abca4编辑
40.3 C
38.2 C
位置和参考碱基
A C G T
读段%

图29E

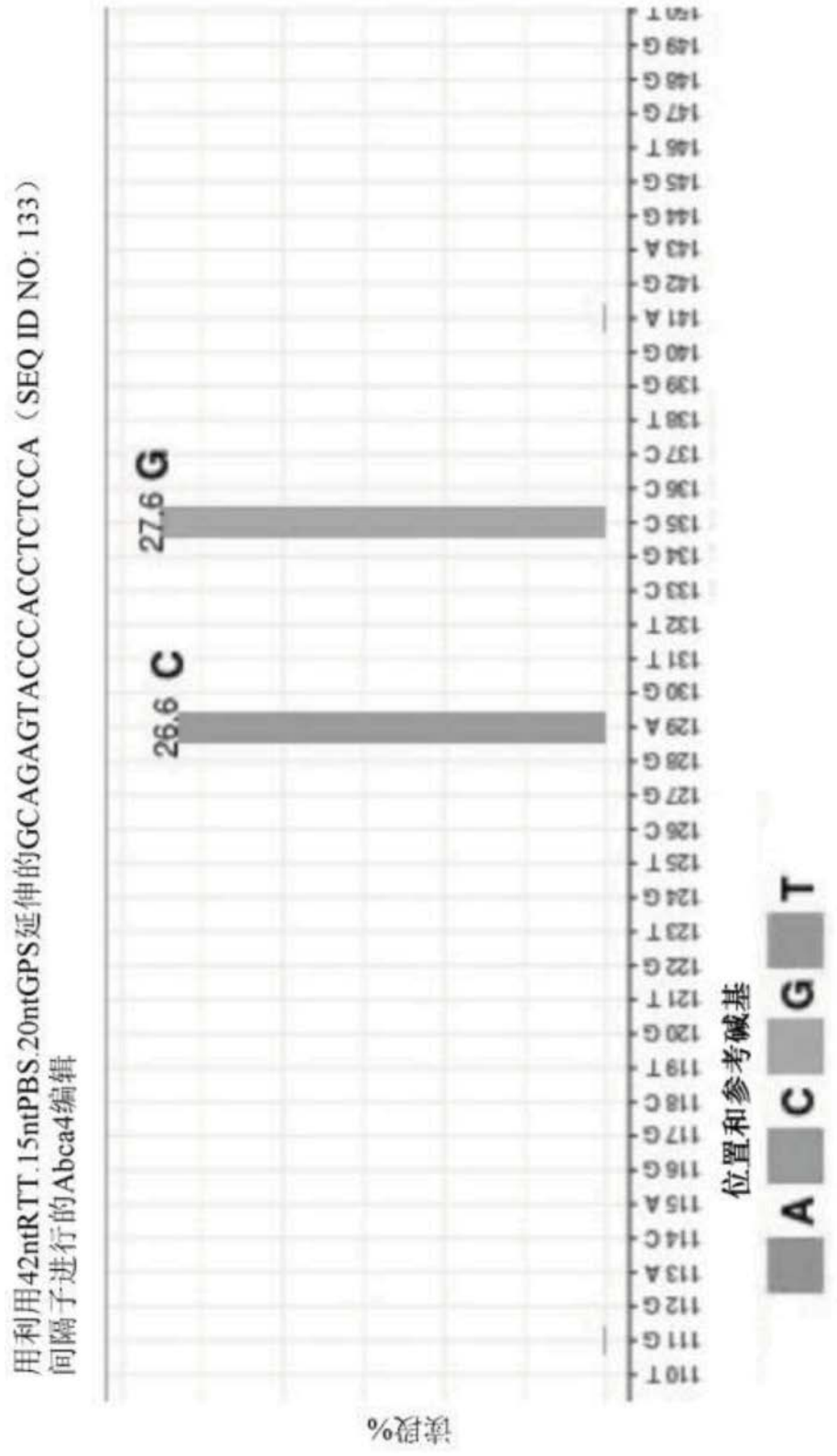

用利用42ntRTT.15ntPBS.20ntGPS延伸的GCAGAGTACCCACCTCTCCA（SEQ ID NO: 133）
间隔子进行的Abca4编辑
26.6 C
27.6 G
读段%
位置和参考碱基
A C G T

图29F

参考

CTCTGGGCAGTGTGAGTGCAAAAAAAGAAGCCAAAGGACTTCAGTGTGACACCTGCAG SEQ ID NO: 134

在RTT中编码加粗的6个连续A导致不期望编辑

CTCTGGGCAGTGCGAGTGCAAAAAAGAAGCAAAAG SEQ ID NO: 135

用沉默A到突变（加粗）破坏6个A的轨道消除了不期望编辑

CTCTGGGCAGTGCGAGTGCAAGAAAGAAGCAAAAG SEQ ID NO: 136

图30

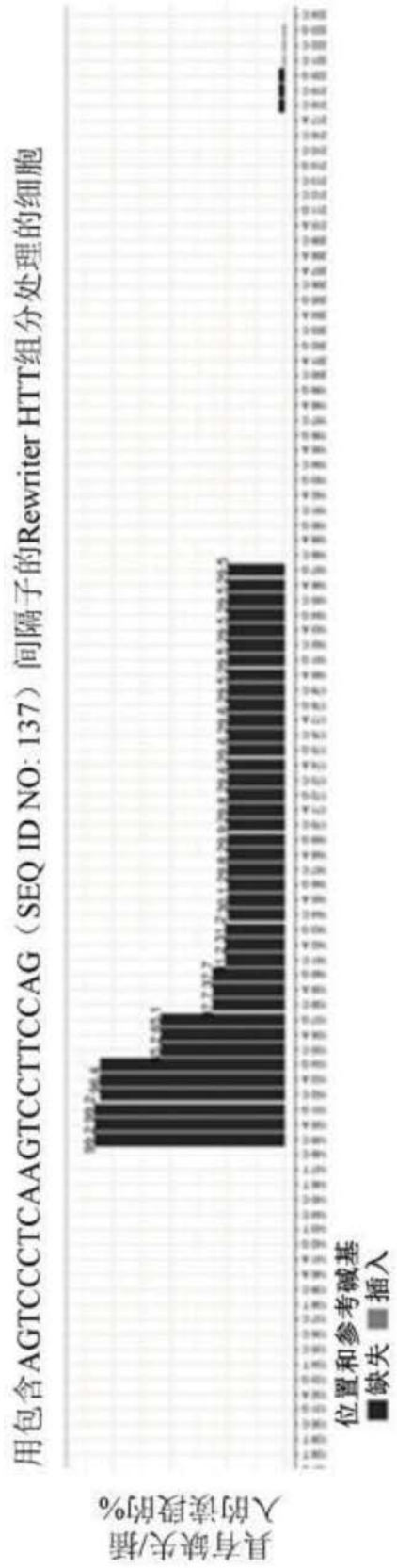

用包含AGTCCCTCAAGTCCTTCCAG（SEQ ID NO: 137）间隔子的Rewriter HTT组分处理的细胞
具有缺失/插入的读段的%
位置和参考碱基
■缺失 ■插入

图31A

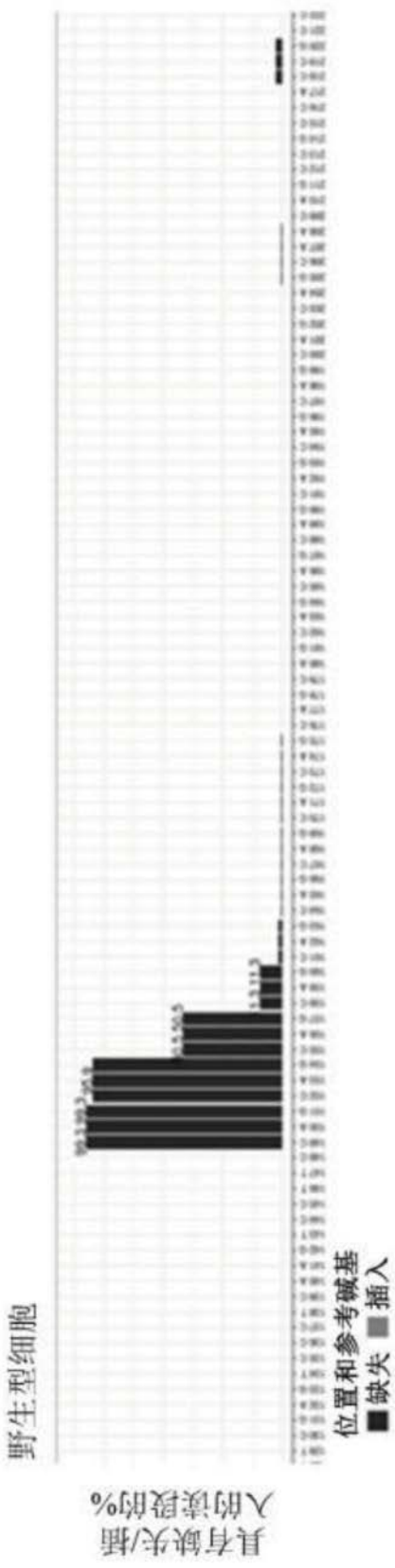


图31B

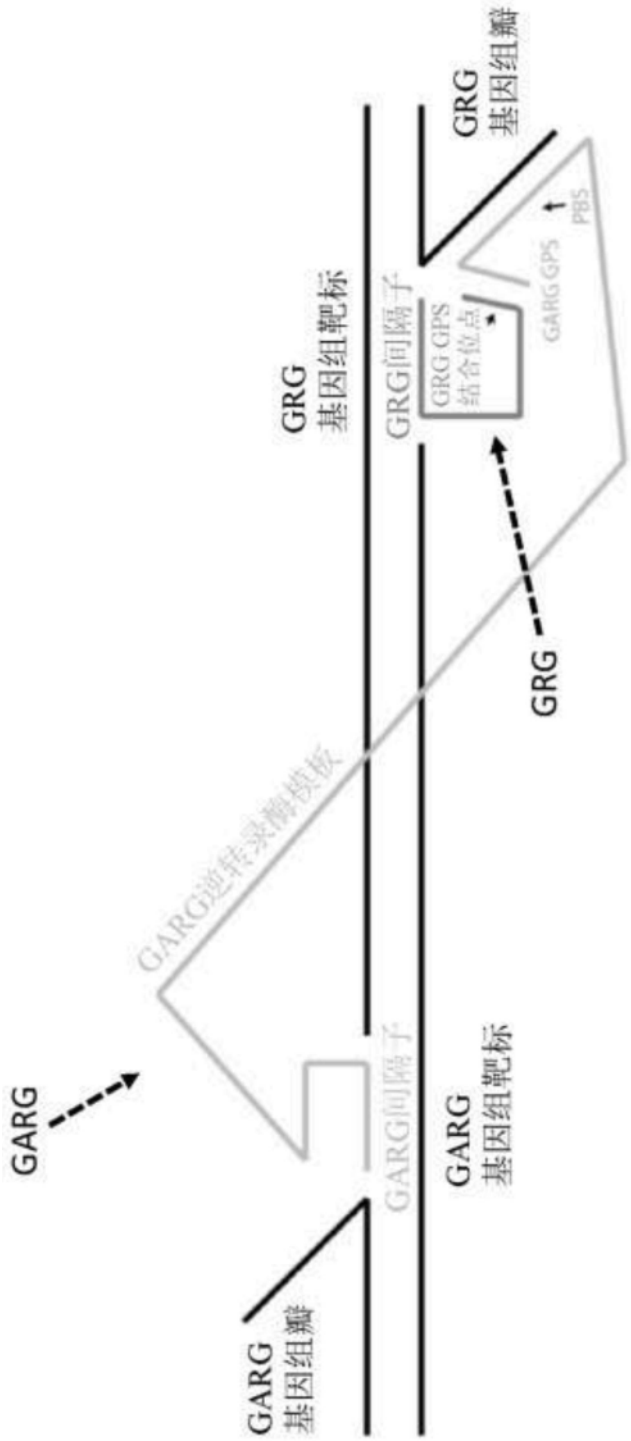

GARG
GARG
基因组瓣
GARG间隔子
GARG
基因组靶标
GARG逆转录酶模板
GRG
基因组靶标
GRG间隔子
GRG GPS
结合位点
GARG GPS
PBS
GRG
GRG
基因组瓣

图32

编辑效率（精确编辑的细胞的%）
6
4
2
0
ΔGARG 1
（较短RTT）
ΔGARG 2
（较长RTT）
GARG 1 + GRG
GARG 2 + GRG

图33