



(10) 授权公告号 CN 105247044 B

(45) 授权公告日 2021.05.07

(21) 申请号 201480027443.8

(22) 申请日 2014.05.29

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105247044 A

(43) 申请公布日 2016.01.13

(30) 优先权数据  
61/829,735 2013.05.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2015.11.13

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2014/040083 2014.05.29

(87) PCT国际申请的公布数据  
WO2014/194132 EN 2014.12.04

(73) 专利权人 加利福尼亚大学董事会  
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 D·V·谢弗 M·A·科特曼  
黄范烈 J·T·柯伯

(74) 专利代理机构 北京龙双利达知识产权代理有限公司 11329

代理人 肖鹏 王君

(51) Int.Cl.  
C12N 7/01 (2006.01)  
C12N 15/35 (2006.01)  
C12N 5/10 (2006.01)  
C07K 14/015 (2006.01)  
C40B 40/06 (2006.01)  
C40B 40/10 (2006.01)  
C40B 40/02 (2006.01)

(56) 对比文件  
WO 2009137006 A2, 2009.11.12  
KEI ADACHI ET AL..A NEW RECOMBINANT  
ADENO-ASSOCIATED VIRUS (AAV)-BASED RANDOM  
PEPTIDE DISPLAY LIBRARY SYSTEM:IMFECTION-  
DEFECTIVE AAV 1.9-3 AS A NOVEL DETARGETED  
PLATFORM FOR VECTOR EVOLUTION.《GENE  
THERAPY AND REGULATION》.2010,p31.

审查员 管冰

权利要求书2页 说明书51页  
序列表120页 附图39页

(54) 发明名称

腺相关病毒变体及其使用方法

(57) 摘要

本公开提供包含变体衣壳蛋白和异源核酸的感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子。本公开还提供变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白(和/或编码变体AAV衣壳蛋白的核酸),其向感染性rAAV病毒粒子赋予对人AAV中和抗体的提高的抗性。本公开还提供包含感染性rAAV病毒粒子和/或编码所述变体AAV衣壳蛋白的核酸的宿主细胞。本公开还提供向靶细胞递送异源核酸的方法,其中使靶细胞与所述感染性rAAV病毒粒子接触。本公开还提供向个体递送基因产物的方法,所述方法一般涉及向需要其的个体施用有效量的所述rAAV病毒粒子。

1. 一种感染性重组腺相关病毒 (rAAV) 病毒粒子, 其包含:

(a) 变体腺相关病毒 (AAV) 衣壳蛋白, 其 (1) 包含与在SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 且 (2) 如SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:28的氨基酸序列所示; 以及

(b) 异源核酸,

其中所述感染性rAAV病毒粒子展现与由AAV2展现的抗性相比大至少5倍的对人AAV中和抗体的抗性。

2. 根据权利要求1所述的感染性rAAV病毒粒子, 其中所述感染性rAAV病毒粒子展现与由AAV2展现的抗性相比大至少10倍的对人AAV中和抗体的抗性。

3. 根据权利要求1所述的感染性rAAV病毒粒子, 其中所述感染性rAAV病毒粒子展现与由AAV2展现的抗性相比大至少30倍的对人AAV中和抗体的抗性。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的感染性rAAV病毒粒子, 其中所述感染性rAAV病毒粒子展现与由AAV2展现的哺乳动物细胞转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。

5. 根据权利要求4所述的感染性rAAV病毒粒子, 其中所述哺乳动物细胞是肝细胞、胰腺细胞、骨骼肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞、视网膜细胞、滑膜关节细胞、肺细胞、T细胞、神经元、神经胶质细胞、干细胞、内皮细胞、或癌细胞。

6. 根据权利要求5所述的感染性rAAV病毒粒子, 其中所述干细胞是造血干细胞、造血祖细胞、神经干细胞、神经祖细胞、神经嵴干细胞、胚胎干细胞、诱导的多能干细胞 (iPS细胞)、间充质干细胞、中胚层干细胞、肝脏干细胞、胰腺干细胞、胰腺祖细胞、肌肉干细胞、或视网膜干细胞。

7. 根据权利要求1-6任一项所述的感染性rAAV病毒粒子, 其中所述异源核酸选自: i) 编码多肽的核苷酸序列; 或 ii) RNA干扰剂。

8. 一种分离的核酸, 其编码变体腺相关病毒 (AAV) 衣壳蛋白, 所述衣壳蛋白 (1) 包含与在SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列, 且 (2) 如SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:28的氨基酸序列所示, 其中所编码的变体AAV衣壳蛋白向感染性重组腺相关病毒 (rAAV) 病毒粒子赋予与由AAV2展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性, 其中所述提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少5倍大。

9. 根据权利要求8所述的分离的核酸, 其中所述提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少10倍大。

10. 根据权利要求8所述的分离的核酸, 其中所述提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少30倍大。

11. 根据权利要求8-10任一项所述的分离的核酸, 其中所述变体AAV衣壳蛋白向感染性重组腺相关病毒 (rAAV) 病毒粒子赋予与由AAV2展现的转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。

12. 一种分离的宿主细胞, 其包含根据权利要求8-11任一项所述的核酸。

13. 根据权利要求12所述的分离的宿主细胞, 其中所述宿主细胞用所述核酸稳定地转染。

14. 根据权利要求12或13所述的分离的宿主细胞,其还包含编码AAV rep蛋白的核酸。
15. 根据权利要求12-14任一项所述的分离的宿主细胞,其还包含重组AAV载体。
16. 根据权利要求1-7任一项所述的感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子在制备供一种向需要其的个体递送基因产物的方法使用的药物中的用途。
17. 根据权利要求16所述的用途,其中所述异源核酸选自:i) 编码多肽的核苷酸序列;或ii) RNA干扰剂。
18. 一种变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白,其(1)包含与在SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,且(2)如SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:28的氨基酸序列所示,其中所述变体AAV衣壳蛋白向感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子赋予与由AAV2展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性,其中所述提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少5倍大。
19. 根据权利要求18所述的变体AAV衣壳蛋白,其中所述提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少10倍大。
20. 根据权利要求18所述的变体AAV衣壳蛋白,其中所述提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少30倍大。
21. 根据权利要求18-20任一项所述的变体AAV衣壳蛋白,其中所述变体AAV衣壳蛋白向感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子赋予与由AAV2展现的哺乳动物细胞转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。

## 腺相关病毒变体及其使用方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2013年5月31日提交的美国临时专利申请号61/829,735的权益,所述申请以引用的方式整体并入本文。

[0003] 关于联邦资助研究的声明

[0004] 本发明是由国家卫生研究院(the National Institutes of Health)资助的HL081527号基金在政府支持下进行。政府对本发明享有某些权利。以文本文件提供的序列表以引用的方式并入

[0005] 序列表在此以文本文件形式提供,“BERK-216W0\_ST25.txt”于2014年5月28日生成且具有169KB的大小。所述文本文件的内容在本文中以引用的方式整体并入。

[0006] 引言

[0007] 已论证基于腺相关病毒(AAV)的基因递送载体在临床前疾病模型及最近在人临床试验中关于若干疾病靶的前景。基于AAV的载体是非常安全的,这是因为野生型AAV是非致病性的并且与任何已知疾病在病原学上无关。此外,AAV能高效递送基因并且在许多组织中可维持转基因的表达,包括肝脏、肌肉、肺脏、视网膜、以及脑。

[0008] AAV是含有两个开放阅读框rep和cap的单链DNA病毒。第一个基因编码基因组复制所必需的四个蛋白(Rep78、Rep68、Rep52、和Rep40),且第二个表达装配以形成病毒衣壳的三个结构蛋白(VP1-3)。如其名字所示,AAV的活性复制依赖辅助病毒,如腺病毒或疱疹病毒的存在。无辅助病毒时,AAV呈潜伏状态,其基因组维持为游离体形式或整合进宿主染色体中。已经鉴别出多个同源的灵长类AAV血清型和许多非人的灵长类类型。AAV2被表征为最佳基因递送媒介物。

[0009] 到2010年为止,存在使用AAV作为基因递送媒介物的75项正在进行的临床试验。然而,抗衣壳中和抗体的高度流行(由于人群中对许多AAV变体和血清型的广泛暴露)减弱AAV基因疗法的功效。此预先存在的免疫性以及后来由于载体施用而形成的免疫性可阻止AAV基因疗法的更广泛的实施。例如,迄今为止,AAV在涉及递送到免疫特许区域的临床研究中是最成功的。

[0010] 近来的分析表明抗AAV IgG抗体在人中的发生率对于AAV2(72%)和AAV1(67%)是最高的,但AAV9(47%)、AAV6(46%)、AAV5(40%)、以及AAV8(38%)抗体也存在于所研究的大部分群体中。若干研究发现在基因疗法期间对AAV衣壳的体液免疫可通过减少递送的rAAV粒子的量来预防。令人遗憾的是,低载体剂量的施用导致低转导及由此低治疗性基因表达。

[0011] 在本领域中存在对开发对由抗AAV抗体进行的中和有抗性的新型AAV变体的需要。

[0012] 文献

[0013] Asuri等人,Mol Ther.2012 Feb;20(2):329-38;Bainbridge等人,N Engl J Med.2008 May 22;358(21):2231-9;Excoffon等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2009 Mar 10;106(10):3865-70;Grimm等人,J Virol.2008 Jun;82(12):5887-911;Jang等人,Mol Ther.2011 Apr;19(4):667-75;Klimczak等人,PLoS One.2009 Oct 14;4(10):e7467;



Koerber等人;Mol Ther.2008 Oct;16(10):1703-9;Koerber等人;Mol Ther.2009 Dec;17(12):2088-95;Maguire等人,N Engl J Med.2008 May 22;358(21):2240-8;Maguire等人,Lancet.2009 Nov 7;374(9701):1597-605;Maheshri等人,Nat Biotechnol.2006 Feb;24(2):198-204;Perabo等人,J Gene Med.2006 Feb;8(2):155-62;Yang等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2009 Mar 10;106(10):3946-51;W02012145601;美国专利公布号US20050053922

#### [0014] 简述

[0015] 本公开提供包含变体衣壳蛋白和异源核酸的感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子。本公开还提供变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白(和/或编码变体AAV衣壳蛋白的核酸),其向感染性rAAV病毒粒子赋予对人AAV中和抗体的提高的抗性。本公开还提供包含感染性rAAV病毒粒子和/或编码所述变体AAV衣壳蛋白的核酸的宿主细胞。本公开还提供以上病毒粒子、衣壳蛋白、核酸和/或宿主细胞的文库;其中文库的至少一个成员的变体AAV衣壳蛋白包含具有至少一个相对于SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的氨基酸取代的氨基酸序列。

[0016] 本公开还提供向靶细胞递送异源核酸的方法,其中使靶细胞与所述感染性rAAV病毒粒子接触。本公开还提供向个体递送基因产物的方法,所述方法一般涉及向需要其的个体施用有效量的所述rAAV病毒粒子。本文还提供用于实践所述方法的组合物和试剂盒。

#### [0017] 特征

[0018] 本公开的特征包括一种感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子,其包含:(a)包含与在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白;及(b)异源核酸。在一些情况下,变体AAV衣壳蛋白包含与在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,变体AAV衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列。

[0019] 本公开的特征包括一种感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子,其包含:(a)包含与在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列具有至少约95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列且包括相对于SEQ ID NO:2的氨基酸取代N312K、N449D、D472N、N551S、I698V、及L735Q的变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白;及(b)异源核酸。在一些情况下,变体AAV衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。在一些情况下,rAAV展现与由AAV2(野生型AAV血清型2)展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性。在一些情况下,rAAV展现与由AAV2展现的抗性相比至少约1.5倍(例如,至少约3倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约30倍等等)对人AAV中和抗体更大的抗性。在一些情况下,rAAV展现与由野生型AAV血清型2(AAV2)展现的哺乳动物细胞的转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。在一些情况下,哺乳动物细胞是肝细胞、胰腺细胞、骨骼肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞、视网膜细胞、滑膜关节细胞、肺细胞、T细胞、神经元、神经胶质细胞、干细胞(例如,造血干细胞、造血祖细胞、神经干细胞、神经祖细胞、神经嵴干细胞、胚胎干细胞、诱导的多能干细胞(iPS细胞)、间充质干细胞、中胚层干细胞、肝脏干细胞、胰腺干细胞、胰腺祖细胞、肌肉干细胞、视网膜干细胞等等)、内皮细胞、或癌细胞。在一些情况下,异源核酸包含RNA干扰剂。在一些情况下,异源核酸包含编码多肽的核苷酸序列。

[0020] 本公开的特征包括一种分离的核酸,其包含编码变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白的核苷酸序列,所述衣壳蛋白包含与在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,所编码的变体AAV衣壳蛋白包含与在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,所编码的变体AAV衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列。

[0021] 本公开的特征包括一种分离的核酸,其包含编码变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白的核苷酸序列,所述衣壳蛋白包含与在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列具有至少约95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列且包括相对于SEQ ID NO:2的氨基酸取代N312K、N449D、D472N、N551S、I698V、及L735Q。

[0022] 在一些情况下,所编码的变体AAV衣壳蛋白(由分离的核酸编码)向感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子赋予与由AAV2(野生型AAV血清型2)展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性。在一些情况下,提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少约1.5倍(例如,至少约3倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约30倍等等)大。在一些情况下,所编码的变体AAV衣壳蛋白(由分离的核酸编码)向感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子赋予与由AAV2展现的转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。

[0023] 本公开的特征包括分离的宿主细胞,其包含如上所述的核酸。在一些情况下,宿主细胞用核酸稳定地转染。在一些情况下,宿主细胞还包含一种核酸,其包含编码AAV rep蛋白的核苷酸序列。在一些情况下,宿主细胞还包含重组AAV载体。

[0024] 本公开的特征包括一种向靶细胞递送异源核酸的方法,其包括使靶细胞与所述病毒粒子(如上所述)接触。在一些情况下,靶细胞是肝细胞、胰腺细胞、骨骼肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞、视网膜细胞、滑膜关节细胞、肺细胞、T细胞、神经元、神经胶质细胞、干细胞(例如,造血干细胞、造血祖细胞、神经干细胞、神经祖细胞、神经嵴干细胞、胚胎干细胞、诱导的多能干细胞(iPS细胞)、间充质干细胞、中胚层干细胞、肝脏干细胞、胰腺干细胞、胰腺祖细胞、肌肉干细胞、或视网膜干细胞等等)、内皮细胞、或癌细胞。在一些情况下,靶细胞是在体外。在一些情况下,靶细胞是在体内。

[0025] 本公开的特征包括一种向需要其的个体递送基因产物的方法,所述方法包括向个体施用有效量的所述感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子(如上所述)。在一些情况下,rAAV病毒粒子的异源核酸包含RNA干扰剂。在一些情况下,rAAV病毒粒子的异源核酸包含编码多肽的核苷酸序列。在一些情况下,施用步骤包括感染性rAAV病毒粒子的间接递送。在一些情况下,施用步骤包括感染性rAAV病毒粒子的直接递送。

[0026] 本公开的特征包括一种变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白,其包含与在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,AAV衣壳蛋白包含与在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,AAV衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:11-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列。

[0027] 本公开的特征包括一种变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白,其包含与在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列具有至少约95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列且包括相对于SEQ ID NO:2的氨基酸取代N312K、N449D、D472N、N551S、I698V、及L735Q。在一些情况下,变体AAV

衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。在一些情况下,变体AAV衣壳蛋白向感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子赋予与由AAV2展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性。在一些情况下,提高的抗性是由AAV2展现的抗性的至少约1.5倍(例如,至少约3倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约30倍等等)大。在一些情况下,变体AAV衣壳蛋白向感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子赋予与由AAV2展现的转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。

[0028] 本公开的特征包括一种包含以下至少一个的文库:(i)两个或更多个感染性rAAV病毒粒子,各自包含变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白及异源核酸;(ii)两个或更多个分离的核酸,各自包含编码变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列;(iii)两个或更多个宿主细胞,各自包含含有编码变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列的核酸;以及(iv)两个或更多个变体AAV衣壳蛋白;其中文库的至少一个成员的变体AAV衣壳蛋白包含具有至少一个相对于SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的氨基酸取代的氨基酸序列。

[0029] 本公开的特征包括一种生成和鉴别修饰的感染性rAAV病毒粒子的方法,所述病毒粒子相对于包含起始衣壳蛋白的起始(亲代)病毒粒子展现改变的感染性质,所述方法包括:(a)由起始衣壳蛋白生成变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白,其中起始衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列,且其中每个变体AAV衣壳蛋白包含至少一个相对于起始衣壳蛋白的氨基酸取代;(b)生成变体AAV病毒粒子,各自包含在步骤(a)中生成的变体衣壳AAV蛋白;以及(c)测定在步骤(b)中生成的变体AAV病毒粒子的改变的感染性质以鉴别修饰的感染性rAAV病毒粒子。在一些情况下,变体AAV衣壳蛋白文库的生成包括一种选自由以下组成的组的诱变方法:聚合酶链反应诱变、寡核苷酸指导的诱变、饱和诱变、环交换诱变、片段改组诱变、及其组合。在一些情况下,改变的感染性质是与由起始病毒粒子展现的抗性相比对人中和AAV抗体的提高的抗性。在一些情况下,改变的感染性质是与由起始病毒粒子展现的转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。在一些情况下,修饰的感染性rAAV病毒粒子包含修饰的AAV衣壳蛋白,其包含与起始衣壳蛋白具有至少约90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0030] 本公开的特征包括一种由起始衣壳蛋白生成变体AAV衣壳蛋白的方法,所述方法包括:使包含编码起始衣壳蛋白的核苷酸序列的核酸经受选自由以下组成的组的类型的诱变:聚合酶链反应诱变、寡核苷酸指导的诱变、饱和诱变、环交换诱变、片段改组诱变、及其组合;其中起始衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列。

[0031] 附图简述

[0032] 图1A-B描绘AAV的定向进化用于增强的抗体逃避。

[0033] 图2A-B描绘使用人IVIG的抗体逃避变体的中和曲线。

[0034] 图3A-C描绘使用从个体中获取的人血清的抗体逃避变体的中和曲线,所述个体由于存在针对AAV的高中和抗体滴度而被排除在B型血友病临床试验之外。

[0035] 图4A-B描绘环交换/改组及饱和诱变克隆的氨基酸序列。

[0036] 图5显示AAV变体的体外向性。

[0037] 图6A-B示出新型AAV变体的体内定位及中和。

[0038] 图7A-D显示人抗体逃避株的生成。

[0039] 图8A-I描绘与AAV1-9(SEQ ID NO:1-9)的野生型衣壳蛋白序列对齐的改组100-1

(SEQ ID NO:11)的衣壳蛋白序列。

[0040] 图9A-I描绘与AAV1-9 (SEQ ID NO:1-9)的野生型衣壳蛋白序列对齐的改组100-3 (SEQ ID NO:12)的衣壳蛋白序列。

[0041] 图10A-I描绘与AAV1-9 (SEQ ID NO:1-9)的野生型衣壳蛋白序列对齐的改组100-7 (SEQ ID NO:13)的衣壳蛋白序列。

[0042] 图11示出文库克隆和在免疫的小鼠血清中的亲代血清型的中和抗体滴度。

[0043] 定义

[0044] 腺相关病毒是由在非包膜二十面体衣壳内的4.7kb单链DNA基因组构成的非致病性细小病毒,“AAV”是腺相关病毒的缩写,且可用于指代病毒本身或其衍生物。基因组含有侧接有用作病毒复制起点和包装信号的反向末端重复 (ITR) 的三个开放阅读框 (ORF)。rep ORF编码四个非结构蛋白,这些蛋白在病毒复制、转录调控、位点特异性整合、及病毒粒子装配中发挥作用。cap ORF编码三个结构蛋白 (VP1-3),这些蛋白装配形成60聚体病毒衣壳。最终,作为cap基因内的替代阅读框存在的ORF产生装配活化蛋白 (AAP),这是一种将AAV衣壳蛋白定位在细胞核中并在衣壳装配过程中发挥作用的病毒蛋白。

[0045] 存在若干个天然存在的血清型和超过100个AAV变体,其各自在氨基酸序列方面不同,特别是在衣壳蛋白的高变区内,且因此在其基因递送性质方面不同。AAV与任何人类疾病无关,这使得重组AAV对于临床应用是有吸引力的。

[0046] 除非另外需要,否则如本文所用的术语“AAV”涵盖所有亚型及天然存在的和重组形式。术语“AAV”包括AAV 1型 (AAV-1或AAV1)、AAV 2型 (AAV-2或AAV2)、AAV 3型 (AAV-3或AAV3)、AAV 4型 (AAV-4或AAV4)、AAV 5型 (AAV-5或AAV5)、AAV 6型 (AAV-6或AAV6)、AAV 7型 (AAV-7或AAV7)、AAV 8型 (AAV-8或AAV8)、AAV9型 (AAV-9或AAV9)、鸟AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、灵长类AAV、非灵长类AAV、以及羊AAV。“灵长类AAV”是指感染灵长类的AAV,“非灵长类AAV”是指感染非灵长类哺乳动物的AAV,“牛AAV”是指感染牛哺乳动物的AAV,等等。

[0047] AAV的各种血清型的基因组序列、以及天然末端重复 (TR)、Rep蛋白、和衣壳亚基的序列在本领域中是已知的。所述序列可见于文献中或公共数据库如GenBank中。参见,例如GenBank登记号NC\_002077.1 (AAV-1)、AF063497.1 (AAV-1)、NC\_001401.2 (AAV-2)、AF043303.1 (AAV-2)、J01901.1 (AAV-2)、U48704.1 (AAV-3)、NC\_001729.1 (AAV-3)、NC\_001829.1 (AAV-4)、U89790.1 (AAV-4)、NC\_006152.1 (AAV-5)、AF085716.1 (AAV-5)、AF028704.1 (AAV-6)、NC\_006260.1 (AAV-7)、AF513851.1 (AAV-7)、AF513852.1 (AAV-8) NC\_006261.1 (AAV-8)、以及AY530579.1 (AAV-9);为了教导AAV核酸及氨基酸序列,这些文献的公开内容以引用的方式并入本文。还参见,例如Srivistava等人 (1983) J.Virology 45:555;Chiorini等人 (1998) J.Virology 71:6823;Chiorini等人 (1999) J.Virology 73:1309;Bantel-Schaal等人 (1999) J.Virology 73:939;Xiao等人 (1999) J.Virology 73:3994;Muramatsu等人 (1996) Virology 221:208;Shade等人, (1986) J.Virol.58:921;Gao等人 (2002) Proc.Nat.Acad.Sci.USA99:11854;Moris等人 (2004) Virology 33:375-383;国际专利公布WO 00/28061、WO 99/61601、WO 98/11244;以及美国专利号6,156,303。

[0048] 与AAV血清型有关的天然存在的cap (衣壳) 蛋白的序列在本领域中是已知的且包括:AAV1 (SEQ ID NO:1)、AAV2 (SEQ ID NO:2)、AAV3 (SEQ ID NO:3)、AAV4 (SEQ ID NO:4)、AAV5 (SEQ ID NO:5)、AAV6 (SEQ ID NO:6)、AAV7 (SEQ ID NO:7)、AAV8 (SEQ ID NO:8)、以及

AAV9 (SEQ ID NO:9)。术语“变体AAV衣壳蛋白”是相对于在SEQ ID NO:1-9中列出的天然存在的AAV衣壳蛋白序列中的一个,包含包括至少一个取代(包括缺失、插入等等)的氨基酸序列的AAV衣壳蛋白。

[0049] “AAV病毒粒子(virion)”或“AAV病毒粒子(viral particle)”是指由至少一个AAV衣壳蛋白和衣壳化的AAV多核苷酸构成的病毒粒子。

[0050] “重组”当应用于多核苷酸时意味着多核苷酸是克隆、限制或连接步骤、及产生不同于自然界中出现的多核苷酸的构建体的其他工序的不同组合的产物。重组病毒是包含重组多核苷酸的病毒粒子。该术语分别包括原始多核苷酸构建体及原始病毒构建体的后代的复制。

[0051] 如果AAV病毒粒子包含异源多核苷酸(即,不同于野生型AAV基因组的多核苷酸,例如,有待递送给靶细胞的转基因、有待递送给靶细胞的RNAi试剂或CRISPR试剂等等),那么其通常被称为“重组AAV(rAAV)病毒粒子”或“rAAV病毒粒子”。一般说来,异源多核苷酸侧接有至少一个,且一般两个AAV反向末端重复序列(ITR)。

[0052] 术语“rAAV载体”包括rAAV病毒粒子(即rAAV病毒粒子)(例如,感染性rAAV病毒粒子),其根据定义包括rAAV多核苷酸;并且还包括编码rAAV的多核苷酸(例如,编码rAAV的单链多核苷酸(ss-rAAV));编码rAAV的双链多核苷酸(ds-rAAV),例如,编码rAAV的质粒;等等)。

[0053] “包装”是指引起AAV粒子的装配和衣壳化的一系列细胞内事件。

[0054] AAV“rep”和“cap”基因是指编码腺相关病毒的复制和衣壳化蛋白的多核苷酸序列。AAV rep和cap在本文中被称为AAV“包装基因”。

[0055] 用于AAV的“辅助病毒”是指允许AAV(例如野生型AAV)由哺乳动物细胞来复制和包装的病毒。用于AAV的多种这类辅助病毒在本领域中是已知的,包括腺病毒、疱疹病毒和痘病毒如牛痘。腺病毒包括许多不同的亚组,但最常使用C亚组的5型腺病毒。人、非人哺乳动物及鸟类来源的许多腺病毒是已知的且可从保藏机构如ATCC处获得。疱疹家族病毒包括例如单纯疱疹病毒(HSV)和埃-巴二氏病毒(EBV)以及巨细胞病毒(CMV)和假狂犬病毒(PRV);其也可从保藏机构如ATCC处获得。

[0056] “辅助病毒功能物”是指在辅助病毒基因组中编码的功能,其允许AAV复制和包装(结合本文所述的用于复制和包装的其他需求)。如本文所述,“辅助病毒功能物”可以许多方式提供,包括通过提供辅助病毒或提供例如将编码所需功能物的多核苷酸序列以反式提供给生产者细胞。例如,将包含编码一种或多种腺病毒蛋白的核苷酸序列的质粒或其他表达载体随rAAV载体一起转染到生产者细胞中。

[0057] “感染性”病毒或病毒粒子是包含适当装配的病毒衣壳且能够递送多核苷酸组分到病毒物种所趋向的细胞中的那些。该术语不一定意味着病毒的任何复制能力。用于计数感染性病毒粒子的测定描述在本公开的别处和本领域中。病毒感染性可表示为感染性病毒粒子与总病毒粒子的比率。测定感染性病毒粒子与总病毒粒子的比率的方法在本领域中是已知的。参见,例如Grainger等人(2005) Mol. Ther. 11:S337(描述TCID50感染滴度测定);及Zolotukhin等人(1999) Gene Ther. 6:973。还参见实施例。

[0058] 如本文所用的术语“向性”是指由病毒(例如AAV)对特定的宿主物种或在宿主物种内的特定细胞类型的优先靶向。举例来说,可感染心、肺、肝、及肌细胞的病毒相对于仅可感

染肺和肌细胞的病毒具有更宽(即提高)的向性。向性也可包括病毒对宿主的具体细胞表面分子类型的依赖。例如,一些病毒可仅感染具有表面糖胺聚糖的细胞,而其他病毒可仅感染具有唾液酸的细胞(这种依赖性可使用缺乏特定类别的分子的各种细胞系作为病毒感染的潜在宿主细胞来测试)。在一些情况下,病毒的向性描述病毒的相对偏好。举例来说,第一病毒将能感染所有细胞类型,但在感染具有表面糖胺聚糖的那些细胞方面成功得多。第二病毒可被认为具有与第一病毒类似(或相同的)向性,如果第二病毒也优选相同的特征(例如,第二病毒也在感染具有表面糖胺聚糖的那些细胞方面更成功),即使绝对转导效率不相似也如此。举例来说,第二病毒也许比第一病毒在感染所测试的每个给定细胞类型上更有效,但如果相对偏好相似(或相同),那么第二病毒仍可被认为具有与第一病毒相似(或相同的)向性。在一些实施方案中,包含所述变体AAV衣壳蛋白的病毒粒子的向性相对于天然存在的病毒粒子是不改变的。在一些实施方案中,包含所述变体AAV衣壳蛋白的病毒粒子的向性相对于天然存在的病毒粒子是扩展(即,变宽)的。在一些实施方案中,包含所述变体AAV衣壳蛋白的病毒粒子的向性相对于天然存在的病毒粒子是降低的。

[0059] “有复制能力的”病毒(例如,有复制能力的AAV)是指感染性的表型上野生型病毒,并且也能够受感染细胞中(即,在辅助病毒或辅助病毒功能物存在下)复制。在AAV的情况下,复制能力一般需要功能性AAV包装基因的存在。一般说来,如本文所述的rAAV载体在哺乳动物细胞(特别是人细胞)中由于缺乏一个或多个AAV包装基因而没有复制能力。通常,这种rAAV载体缺乏任何AAV包装基因序列以便使有复制能力的AAV通过AAV包装基因与引入的rAAV载体之间的重组生成的可能性减到最低。在许多实施方案中,如本文所述的rAAV载体制剂是含有(即使有也极少的)有复制能力的AAV(rcAAV,也称为RCA)(例如,每 $10^2$ 个rAAV粒子小于约1rcAAV、每 $10^4$ 个rAAV粒子小于约1rcAAV、每 $10^8$ 个rAAV粒子小于约1rcAAV、每 $10^{12}$ 个rAAV粒子小于约1rcAAV、或无rcAAV)的那些。

[0060] 术语“多核苷酸”是指任何长度的核苷酸的多聚形式,包括脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸、或其类似物。多核苷酸可含有修饰的核苷酸,如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物,并且可插入非核苷酸组分。对核苷酸结构的修饰可以在聚合物装配之前或之后进行(如果存在的话)。如本文所用的术语多核苷酸可互换地指双链和单链分子。除非另有规定或需要,文中涉及多核苷酸的任何实施方案包括双链形式与已知的或预计要形成双链形式的两条互补单链形式的每一条。

[0061] 多核苷酸或多肽与另一种多核苷酸或多肽具有某百分数的“序列同一性”是指,当比对时,在两条序列相比中此百分数的碱基或氨基酸相同。序列相似性可以许多不同的方式测定。为了测定序列同一性,可使用方法和计算机程序比对序列,计算机程序包括可由因特网地址ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/获得的BLAST。另一种比对算法是FASTA,可由Madison, Wisconsin, USA, a wholly owned subsidiary of Oxford Molecular Group, Inc的Genetics Computing Group (GCG) 包装中获得。其他比对技术描述于Enzymology, 第266卷: Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis (1996), Doolittle编著, Academic Press, Inc., a division of Harcourt Brace & Co., San Diego, California, USA的方法中。特别关注的是容许序列中的缺口的对比程序。Smith-Waterman是容许序列比对中的缺口的一种类型的算法。参见Meth. Mol. Biol. 70:173-187 (1997)。使用Needleman和Wunsch对比方法的GAP程序也可用于比对序列。参见J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970)

[0062] “基因”是指在细胞中执行某种功能的多核苷酸。例如,基因可含有开放阅读框,其在被转录和翻译后,能够编码特定的蛋白质。另一方面,基因可编码不被翻译的功能性RNA产物(例如,适体、干扰RNA、核蛋白体RNA(rRNA)、转移RNA(tRNA)等等)。

[0063] “基因表达产物”或“基因产物”是由如上所定义的特定基因表达产生的分子。基因表达产物包括例如多肽、适体、干扰RNA、信使RNA(mRNA)、rRNA、tRNA、非编码RNA(ncRNA)等等。

[0064] “RNA干扰剂”或“RNAi试剂”包括可用于改变基因(如上所定义)表达的任何试剂(或编码这种试剂的多核苷酸)。本领域普通技术人员已知的RNAi试剂的实例包括但不限于(i) siRNA试剂;(ii) 反义RNA;(iii) CRISPR试剂;(iv) 锌指核酸酶试剂;以及(v) 转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)试剂。

[0065] (i) siRNA试剂(“小干扰”或“短干扰RNA”(或siRNA))是靶向所关注基因(“靶基因”)的核苷酸的RNA双链体。“RNA双链体”是指由RNA分子的两个区域之间的互补配对形成的结构,从而形成双链RNA的区域(dsRNA)。siRNA“靶向”基因是因为siRNA的双链体部分的核苷酸序列与靶基因的核苷酸序列互补。在一些实施方案中,siRNA的双链体长度小于30个核苷酸。在一些实施方案中,双链体可以是29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11或10个核苷酸长度。在一些实施方案中,双链体的长度是19-25个核苷酸长度。siRNA的RNA双链体部分可以是发夹结构的一部分。含有发夹的siRNA试剂也可被称为“shRNA(短发夹RNA)试剂”。除双链体部分之外,发夹结构还可含有位于形成双链体的两条序列之间的环部分。环在长度方面可变化。在一些实施方案中,环的长度是5、6、7、8、9、10、11、12或13个核苷酸。发夹结构还可含有3'或5'突出端部分。在一些实施方案中,突出端是0、1、2、3、4或5个核苷酸长度的3'或5'突出端。一般说来,靶基因的表达产物(例如,mRNA、多肽等等)水平通过siRNA试剂(例如,siRNA、shRNA等等)而降低,所述siRNA试剂含有至少与靶基因转录产物的19-25个核苷酸长度的区段(例如,20-21个核苷酸序列)互补的特定双链核苷酸序列,包括5'非翻译(UT)区、ORF、或3'UT区。在一些实施方案中,短干扰RNA的长度为约19-25nt。参见,例如PCT申请W0 0/44895、W099/32619、W001/75164、W001/92513、W001/29058、W001/89304、W002/16620、及W002/29858;以及美国专利公布号20040023390(关于siRNA技术的描述)。siRNA和/或shRNA可由核酸序列编码,且该核酸序列还可包括启动子。该核酸序列还可包括聚腺苷酸化信号。在一些实施方案中,聚腺苷酸化信号是合成的最小聚腺苷酸化信号。

[0066] (ii) 反义RNA是与基因表达产物互补的RNA。举例来说,靶向特定mRNA的反义RNA是与mRNA互补的基于RNA的试剂(或可以是修饰的RNA),其中反义RNA与mRNA的杂交改变mRNA的表达(例如,经由改变RNA的稳定性、改变RNA的翻译,等等)。编码反义RNA的核酸也包括在“反义RNA”中。

[0067] (iii) CRISPR试剂。CRISPR(簇规则间隔的短回文重复/CRISPR相关(Cas)系统提供通过使用CRISPR RNA(crRNA)来指导侵入核酸的沉默而对病毒和质粒具有适应性免疫的细菌和古细菌。Cas 9蛋白(或其功能等效物和/或变体,即,Cas9样蛋白)天然地含有DNA核酸内切酶活性,这取决于该蛋白与两个天然存在的或合成的RNA分子(称为crRNA和tracrRNA,也称为指导RNA)的结合。在一些情况下,这两个分子共价连接以形成单一分子(也称为单指导RNA(“sgRNA”))。因此,Cas9或Cas9样蛋白与靶向DNA的RNA(该术语包括双分子指导RNA构

型和单分子指导RNA构型)结合,这活化了Cas9或Cas9样蛋白并将该蛋白导向靶核酸序列。如果Cas9或Cas9样蛋白保持其天然酶促功能,那么其将靶DNA裂解以形成双链断裂,这可导致基因组变化(即,编辑:缺失、插入(当存在供体多核苷酸时)、置换等),由此改变基因表达。Cas9的一些变体(这些变体被术语Cas9样所涵盖)已经改变,以使得它们具有降低的DNA裂解活性(在一些情况下,它们裂解靶DNA的单链而不是双链,而在其他情况下,它们严重地降低至无DNA裂解活性)。具有降低的DNA裂解活性(甚至无DNA裂解活性)的Cas9样蛋白仍可被导向靶DNA并且可阻断RNA聚合酶活性。因此,无酶促活性的Cas9样蛋白可在靶DNA中通过靶向DNA的RNA而靶向特定位置以便阻断靶DNA的转录。关于CRISPR试剂的详细信息可见于例如以下文献中:(a)Jinek等人,Science.2012 Aug 17;337(6096):816-21:“A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity”;(b)Qi等人,Cell.2013Feb 28;152(5):1173-83:“Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression”;以及(c)美国专利申请号13/842,859和PCT申请号PCT/US13/32589;所有这些文献据此以引用的方式整体并入。因此,如本文所用的术语“CRISPR试剂”包括任何试剂(或编码这类试剂的核酸),包含天然存在的和/或合成的序列,其可用于基于Cas9的系统(例如,Cas9或Cas9样蛋白;靶向DNA的RNA的任何组分,例如crRNA样RNA、tracrRNA样RNA、单指导RNA等;供体多核苷酸;等等)中。

[0068] (iv) 锌指核酸酶(ZFN)试剂。锌指核酸酶(ZFN)是通过锌指DNA结合域与DNA裂解域的融合而生成的人工DNA核酸内切酶。ZFN可被改造以靶向所需的DNA序列并且这使得锌指核酸酶能够裂解独特的靶序列。当引入细胞中时,ZFN可用于在细胞(例如细胞基因组)中通过诱导双链断裂来编辑靶DNA。有关使用ZFN的更多信息,参见,例如:Asuri等人,Mol Ther.2012 Feb;20(2):329-38;Bibikova等人Science.2003 May 2;300(5620):764;Wood等人Science.2011 Jul 15;333(6040):307;Ochiai等人Genes Cells.2010 Aug;15(8):875-85;Takasu等人,Insect Biochem Mol Biol.2010 Oct;40(10):759-65;Egger等人,Zebrafish 2008 Summer;5(2):121-3;Young等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2011 Apr 26;108(17):7052-7;Goldberg等人,Cell.2010 Mar 5;140(5):678-91;Geurts等人,Science.2009 Jul 24;325(5939):433;Flisikowska等人,PLoS One.2011;6(6):e21045.doi:10.1371/journal.pone.0021045.Epub 2011 Jun 13;Hauschild等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2011 Jul 19;108(29):12013-7;以及Yu等人,Cell Res.2011 Nov;21(11):1638-40;所有这些文献出于其有关ZFN的教导而以引用的方式并入本文。术语“ZFN试剂”包括锌指核酸酶和/或包含编码锌指核酸酶的核苷酸序列的多核苷酸。

[0069] (v) 转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)试剂。转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)是通过TAL(转录激活因子样)效应子DNA结合域与DNA裂解域的融合而生成的人工DNA核酸内切酶。TALEN可迅速地被改造以结合几乎任何所需的DNA序列并且当被引入细胞中时,TALEN可用于在细胞(例如细胞基因组)中通过诱导双链断裂编辑靶DNA。有关使用TALEN的更多信息,参见,例如:Hockemeyer等人Nat Biotechnol.2011 Jul 7;29(8):731-4;Wood等人Science.2011 Jul 15;333(6040):307;Tesson等人Nat Biotechnol.2011 Aug 5;29(8):695-6;以及Huang等人,Nat Biotechnol.2011 Aug 5;29(8):699-700;所有这些文献出于其有关TALEN的教导而以引用的方式并入本文。术语“TALEN试剂”包括TALEN和/或



包含编码TALEN的核苷酸序列的多核苷酸。

[0070] “控制元件”或“控制序列”是涉及功能性调控多核苷酸的分子相互作用的核苷酸序列,包括该多核苷酸的复制、加倍、转录、剪接、翻译、或降解。调控可影响所述过程的频率、速度、或特异性,并且调控可以是天然地增强或抑制。本领域中已知的控制元件包括例如转录调控序列,如启动子和增强子。启动子是能够在一定条件下结合RNA聚合酶并引发通常位于启动子下游(在3'方向上)的编码区域的转录的DNA区域。

[0071] “可操作连接”或“操作性连接”指的是遗传元件的一种并列关系,其中这些元件是呈一种允许它们以预期方式行使功能的关系。例如,启动子可操作连接到编码区域,如果该启动子有助于引发编码序列的转录的话。在启动子和编码区域之间可以有间插残基,只要能维持这种功能性关系。

[0072] “表达载体”是含有编码感兴趣的多肽的区域的载体,并且用于实现预定靶细胞中该蛋白质的表达。表达载体还包含可操作连接到编码区域以促进蛋白质在靶标中的表达的控制元件。控制元件与其可操作连接以用于表达的一个或多个基因的组合有时被称为“表达盒”,其中许多都是本领域中已知和可获得的或可容易地由本领域中可获得组分来构建。

[0073] “异源的”意思是指来源于一种实体,该实体在基因型上截然不同于正被比较的实体的其余部分。例如,通过遗传工程技术引入来源于不同物种的质粒或载体中的多核苷酸是异源多核苷酸。从启动子的天然编码序列中去掉启动子,且可操作地连接到不是天然序列的编码序列上,这种启动子叫异源启动子。因此,例如,含有编码异源基因产物的异源核酸的rAAV是含有天然存在的野生型AAV中通常不含有的核酸的rAAV,且所编码的异源基因产物是天然存在的野生型AAV通常不编码的基因产物。

[0074] 术语“遗传改变”或“遗传修饰”(及其语法上的变型)在本文中可互换使用来指不通过有丝分裂或减数分裂将遗传元件(例如,多核苷酸)引入细胞中的方法。所述元件对细胞可以是异源的,或者可以是早已存在于细胞中的元件的额外拷贝或改进形式。遗传改变可例如通过本领域已知的任何方法用重组质粒或其他多核苷酸转染细胞来实现,所述方法如电穿孔、磷酸钙沉淀或与多核苷酸脂质体复合物接触。遗传改变也可例如通过用DNA或RNA病毒或病毒载体转导或感染来实现。遗传元件通常引入细胞的染色体或微小染色体中;但任何改变细胞及其后代的表型和/或基因型的变化均被归入该术语。

[0075] 当这种DNA已引入细胞内部时,细胞已由外源性DNA(例如,经由重组病毒)“遗传修饰”或“转化”或“转染”。外源性DNA的存在产生永久或暂时的遗传变化。转化的DNA可以或未必被整合(共价连接)到细胞的基因组中。“克隆”是通过有丝分裂来源于单细胞或共同祖先的细胞群。“细胞系”是能够在体外稳定生长许多代的原代细胞的克隆。

[0076] 如果某基因序列在细胞的体外长期培养期间能被利用执行其功能或在体外持续延长的时间,就认为该细胞受到该基因序列“稳定地”改变、转导、遗传修饰或转化。这种细胞通常是“遗传上”受到改变的(遗传修饰的),即引入的遗传改变也可遗传给所改变细胞的后代。

[0077] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换用于指示任何长度的氨基酸聚合物。该术语也包括被修饰的氨基酸聚合物;例如,二硫键形成、糖基化、脂质化、磷酸化、或与标记组分缀合。当向哺乳动物受试者递送基因产物多肽(如抗血管生成多肽、神经保护性多肽等等)及其组合物时,所述多肽及其组合物分别是指保留了完整蛋白质所需的生化功能

的相应完整多肽、或其任何片段或其遗传工程改造的衍生物。类似地,编码抗血管生成多肽的核酸、编码神经保护性多肽的核酸、和用于递送基因产物至哺乳动物受试者(可被称为有待向受体细胞递送的“转基因”)的其他这种核酸包括编码拥有所需生化功能的完整多肽或任何片段或遗传工程改造的衍生物的多核苷酸。

[0078] “分离的”质粒、核酸、载体、病毒、病毒粒子、宿主细胞、蛋白质、或其他物质是指所述物质至少缺乏一些其他组分的制剂,这些组分也可存在于这些物质或类似物质天然存在时或最初从其制备时。因此,例如,分离的物质可使用纯化技术从来源混合物中富集而制备。可以在一个绝对的基础上测量富集,如每体积溶液的重量,或者可以相对于来源混合物中存在的第二潜在干扰物质来测量富集。在本公开的实施方案中,富集程度增加则分离程度也增加。分离的质粒、核酸、载体、病毒、宿主细胞、或其他物质在一些实施方案中是纯化的,例如约80%至约90%纯的、至少约90%纯的、至少约95%纯的、至少约98%纯的、或至少约99%或以上纯的。

[0079] 如本文所用,术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”等等是指获得所需药理和/或生理效果。该效果可以是完全或部分地抑制疾病或其症状的预防性效果,和/或可以是部分或完全治愈疾病和/或可归因于该疾病的副作用的治疗性效果。如本文所用,“治疗”包括在哺乳动物,特别是在人中的疾病的任何治疗,并且包括:(a)预防疾病(和/或由该疾病所引起的症状)在可能易感该疾病或处于患上该疾病的风险中但尚未被诊断为患有该疾病的受试者中出现;(b)抑制疾病(和/或由该疾病所引起的症状),即阻止其发展;以及(c)减轻疾病(和/或由该疾病所引起的症状),即,引起疾病(和/或由该疾病所引起的症状)的消退。

[0080] 术语“个体”、“宿主”、“受试者”以及“患者”在本文中可互换地使用,且是指哺乳动物,包括但不限于人;非人灵长类动物,包括猿;哺乳动物运动动物(例如马);哺乳动物农场动物(例如绵羊、山羊等等);哺乳动物宠物(狗、猫等等);以及啮齿动物(例如小鼠、大鼠等等)。

[0081] 在一些实施方案中,个体是先前已自然暴露于AAV且因此具有抗AAV抗体(即,AAV中和抗体)的人。在一些实施方案中,个体是先前已施用AAV载体(且因此可具有抗AAV抗体)且需要再施用载体用于治疗不同病状或用于进一步治疗相同病状的人。基于涉及向例如肝、肌肉、及视网膜(所有组织都受到针对此媒介物的中和抗体的影响)递送AAV基因的临床试验中的积极结果,存在许多这类治疗性应用/疾病靶标。

[0082] 如本文所用的术语“有效量”是足以实现有益的或所需临床结果的量。有效量可以在一次或多次施用中施用。出于本公开的目的,化合物(例如感染性rAAV病毒粒子)的有效量是足以减轻、改善、稳定、逆转、预防、减缓或延迟具体疾病状况(例如癌症)(和/或与所述具体疾病状况有关的症状)发展的量。因此,感染性rAAV病毒粒子的有效量是能逃避个体的抗AAV抗体的中和活性,由此有效地向个体的一个靶细胞递(或多个靶细胞)递送异源核酸的感染性rAAV病毒粒子的量。

[0083] 在进一步描述本发明前,应理解本发明不限于所描述的具体实施方案,因为这些实施方案当然可以变化。还应该理解,本文所用的术语仅仅是为了描述具体的实施方案,并不意味着限制,因为本发明的范围只受所附权利要求书的限制。

[0084] 当提供一个数值范围时,应该理解的是介于该范围的上下限间的每一个中间值

(除非文中另外清楚地指出,否则所述中间值是下限单位的十分之一)和任何其他所述的或者在所述范围中的中间值都被包括在本发明内。这些较小范围的上下限可独立地被包括在该较小的范围中,且在所述范围内明确地排除极限值的条件下也被包括在本发明内。当所述范围包括所述上下限中的一个或两个时,排除了那些所包括的上下限中的一个或两个的范围也包括在本发明范围内。

[0085] 除非另外定义,否则本文所用的全部技术和科学术语都具有本发明相关领域的普通技术人员通常理解的相同含义。虽然类似于或等价于本文所述的那些的任何方法和材料还可用于实践或测试本发明,但现在描述示优选方法和材料。本文所提及的全部出版物以引用的方式并入本文,从而公开和描述了与出版物所引用的内容相关的方法和/或材料。

[0086] 除非文中另外清楚指出,否则必须指出如本文和所附权利要求书中所用,单数形式“一个(种)”和“所述”包括复数指示物。因此,例如,“一个感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子”包括多个这种病毒粒子且“感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子”包括本领域技术人员已知的一个或多个这种病毒粒子及其等效物,诸如此类。还应注意,权利要求书可能撰写成排除了任何可选要素。因此,此声明旨在用作排除性术语如“单独”、“仅仅”等与权利要求要素的陈述相关联的前提基础,或采用“负”限制。

[0087] 应当理解,为清楚起见在参照不同实施方案的上下文中所描述的本发明的某些特点也可在单个实施方案中以组合方式给出。相反,为简洁起见在参照单一实施方案的上下文中所描述的本发明的某些特点也可单独地或以任何适合的子组合方式给出。关于本发明的实施方案的所有组合具体地由本发明所涵盖并且在本文中公开就好象每个组合个别地且明确地公开一样。另外,各种实施方案及其要素的所有子组合也具体地由本发明所涵盖并且在本文中公开就好象每个这种子组合个别地且明确地在本文中公开一样。

[0088] 本文所讨论的出版物只提供在本申请的申请日之前的公开内容。本文中的任何内容都不能被解释为承认本发明无权使借助于在先发明的这种出版日期提前。此外,所提供的出版日期可能不同于真实的出版日期,真实的出版日期可能需要独立地进行确认。

[0089] 详细说明

[0090] 本公开提供包含变体衣壳蛋白和异源核酸的感染性重组腺相关病毒(rAAV)病毒粒子。本公开还提供变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白(和/或编码变体AAV衣壳蛋白的核酸),其向感染性rAAV病毒粒子赋予对人AAV中和抗体的提高的抗性。本公开还提供包含感染性rAAV病毒粒子和/或编码所述变体AAV衣壳蛋白的核酸的宿主细胞。本公开还提供以上病毒粒子、衣壳蛋白、核酸和/或宿主细胞的文库;其中文库的至少一个成员的变体AAV衣壳蛋白包含相对于SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少一个氨基酸取代的氨基酸序列。

[0091] 本公开还提供向靶细胞递送异源核酸的方法,其中使靶细胞与所述感染性rAAV病毒粒子接触。本公开还提供向个体递送基因产物的方法,所述方法一般涉及向需要其的个体施用有效量的所述rAAV病毒粒子。本文还提供用于实践所述方法的组合物和试剂盒。在许多实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子、所述核酸、所述变体AAV衣壳蛋白、所述宿主细胞等等是分离的。

[0092] 变体AAV衣壳多肽

[0093] 所述变体AAV衣壳多肽(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)向包含变体AAV衣

壳多肽的感染性rAAV病毒粒子赋予与由野生型AAV(例如, AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性。在一些实施方案中, 提高的抗性是由野生型AAV(例如, AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV所展现的抗性的至少约1.5倍(例如, 至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍、至少约12倍、至少约15倍、至少约17倍、至少约20倍、至少约25倍、至少约30倍、至少约40倍、至少约50倍、至少约75倍、至少约100倍、至少约150倍、至少约200倍、至少约250倍、至少约300倍等)大。

[0094] 所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)可向感染性rAAV病毒粒子赋予与由野生型AAV(例如, AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV展现的转导相比在人AAV中和抗体存在下提高的哺乳动物细胞转导。在一些实施方案中, 提高的转导是由野生型AAV(例如, AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV所展现的转导的至少约1.5倍(例如, 至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍、至少约12倍、至少约15倍、至少约17倍、至少约20倍、至少约25倍、至少约30倍、至少约40倍、至少约50倍、至少约75倍、至少约100倍、至少约150倍、至少约200倍、至少约250倍、至少约300倍等)大。

[0095] 在一些实施方案中, 所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)展现与结合野生型AAV衣壳蛋白的中和抗体减少的结合。例如, 所述变体AAV衣壳蛋白可展现与抗体和野生型AAV衣壳蛋白的结合亲和力相比与结合野生型衣壳AAV蛋白的中和抗体至少约1.5倍(例如, 至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍、至少约12倍、至少约15倍、至少约17倍、至少约20倍、至少约25倍、至少约30倍、至少约40倍、至少约50倍、至少约75倍、至少约100倍、至少约150倍、至少约200倍、至少约250倍、至少约300倍等)减弱的结合(例如, 降低的亲和力)。

[0096] 在一些实施方案中, 抗AAV中和抗体以小于约 $10^{-7}$ M、小于约 $5 \times 10^{-6}$ M、小于约 $10^{-6}$ M、小于约 $5 \times 10^{-5}$ M、小于约 $10^{-5}$ M、小于约 $10^{-4}$ M或更小的亲和力结合至所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)。

[0097] 术语“变体衣壳蛋白”不包括野生型AAV衣壳蛋白。“变体AAV衣壳蛋白”不包含存在于天然存在的AAV衣壳蛋白中的氨基酸序列。例如, 所述变体衣壳蛋白不包含与在SEQ ID NO:1-9中列出的任何序列具有100%序列同一性的氨基酸序列。换句话说, 所述变体衣壳蛋白不包含在SEQ ID NO:1-9的任一个中列出的氨基酸序列。变体AAV衣壳蛋白在氨基酸序列方面与“起始”或“亲本”AAV衣壳蛋白不同, 所述亲本AAV衣壳蛋白可以是野生型AAV衣壳蛋白或非野生型AAV衣壳蛋白。

[0098] 在一些实施方案中, 所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少约90%(例如, 至少约92%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0099] 在一些实施方案中, 所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列具有至少约90%(例如, 至少约92%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0100] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代N312K、N449D、D472N、N551S、I698V、及L735Q,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0101] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代N312K、N449D、D472N、N551S、I698V、及L735Q,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0102] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:31中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代N312K、N449D、N551S、及I698V,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0103] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:31中列出的氨基酸序列具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代N312K、N449D、N551S、及I698V,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0104] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:32中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代D180N、N312K、Q385R、N449D、N551S、I698V、及S721T,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0105] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:32中列出的氨基酸序列具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代D180N、N312K、Q385R、N449D、N551S、I698V、及S721T,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0106] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:33中列出的氨基酸序列的氨基酸203-736具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代N312K、N449D、T450A、N551S、及I698V,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0107] 在一些实施方案中,所述变体AAV衣壳蛋白(或由所述核酸编码的变体AAV衣壳蛋白)包含与在SEQ ID NO:33中列出的氨基酸序列具有至少约95%(例如,至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或100%)氨基酸序列同一性的氨基酸序

列,并且包括相对于AAV2(例如,SEQ ID NO:2)的AAV衣壳蛋白的氨基酸取代N312K、N449D、T450A、N551S、及I698V,或在另一AAV亲本血清型中的相应位置。

[0108] 示例性变体AAV衣壳蛋白包括但不限于(参见图8-10关于选定的示例性序列比对):

[0109] SM 10-2(氨基酸序列)(SEQ ID NO:10):

[0110] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEA  
DAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKR  
PVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVDPDQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADG  
VGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYDFNRFHCHFSRPRW  
QRLINNNWGFRPKRLKFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANLNTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMV  
PQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRT  
DTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRNQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNPGPAMA  
SHKDDEEKFFPQSGVLI FGKQGSEKTSVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV  
LPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTG  
QVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNYNKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNQ;

[0111] SM 10-2(核苷酸序列)(SEQ ID NO:22):

[0112] atggctgccgatgggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggcccaccaccaccaaagcccgagagcggcagataaggacgacagcaggggtcttgtgcttctc  
gggtacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaagggagagccgggtcaacgaggcagacgccgagccctcg  
agcagcacaagcctatgaccggcagctcgacagcggagacaacccgtacctcaagtacaaccacgccgacgcgga  
gtttcaggaacgccttaaagaagatacgtcttttgggggcaacctcgagcagcagctctccaggcgaaaaagagg  
gttcttgaacctctgggcctggttgaggaaacctgttaagacggctccgggaaaaaagaggccggtagagcactctc  
ctgtggagccagactcctcctcgggaaaccgaaaggcgggccagcagcctgcaagaaaaagattgaattttggtca  
gactggagacgcagactcagctacctgacccccagcctctcgagacagccaccagcagccccctctggtctgggaact  
aatagatggctacaggcagtggtggcgaccaatggcagacaataacgagggcgccgacggagtgggtaattcctcg  
gaaattggcattgcatgattccacatggatggcgacagagtcattaccaccagcaccgaacctgggacctgcccac  
ctacaacaaccacctctacaacaatttccagccaatcaggagcctcgaacgacaatcactactttggctacagc  
accccttgggggtattttgacttcaacagattccactgccacttttaccacgtgactggcaaagactcatcaaca  
acaactggggattccgacccaagagactcaagttcaagctctttaacattcaagtaaaagaggtcacgcagaatga  
cggtacgacgacgattgccataaccttaccagcaggttcaggtgtttactgactcgagtagcagctcccgtag  
gtcctcggtcggcgcatcaaggatgcctcccgccgttccagcagacgtcttcatggtgccacagtatggatacc  
tcacctgaacaacgggagtcaggcagtaggacgctcttcatcttactgcctggagtactttccttctcagatgct  
gcgtaccggtaacaactttaccttcagctacacttttggagacgttctttccacagcagctacgtctcacagccag  
agtctggaccgtctcatgaatcctctcatcgaccagtacctgtattacttgagcagaacagacactccaagtggaa  
ccaccacgcagtcaggcttcagttttctcagccggagcagtgacattcggaaccagctctaggaactggcttcc  
tggaacctgttaccgccagcagcagtagtatcaagacatctgcggataacaacaacagtgaatactcgtggactgga  
gctaccaagtaccacctcaatggcagagactctctggtgaatccgggccccggccatggcaagccacaaggacgatg  
aagaaaagtttttctcagagcgggttctcatctttgggaagcaaggctcagagaaaacaagtgtggacattga  
aaaggtcatgattacagacgaagaggaaatcaggacaaccaatcccgtggctacggagcagtagtggttctgtatct

accaacctccagagaggcaacagacaagcagctaccgcagatgtcaacacacaaggcgttcttccaggcatggtct  
ggcaggacagagatgtgtaccttcaggggccatctgggcaaagattccacacacggacggacattttcaccctc  
tcccccatgggtggattcggacttaaacacctcctccacagattctcatcaagaacaccccggtacctgcgaat  
ccttcgaccaccttcagtgcggcaaagtttgcttccttcacacagtactccacgggacaggtcagcgtggaga  
tcgagtgggagctgcagaaggaaaacagcaaacgctggaatcccgaagttcagtacacttccaactacaacaagtc  
tgtaaatgtggactttactgtggacactaatggcgtgtattcagagcctcgccccattggcaccagatacctgact  
cgtaatcagtaa

[0113] 改组100-1 (氨基酸序列) (SEQ ID NO:11):

[0114] MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNLDKGEPVNEA  
DAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADADEFQQLQGDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKR  
PLIESPQQPDSSTGIGKKGKQPAKKRLNFGQTGDSESVDPQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDRIITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRDR  
WQRLINNNWGRFRKRLNFKLFNIQVKEVTNDGVTTIANNLSTVQVFSDDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFM  
VPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNR  
TQNQSGSAQNKDLLFSRGSFAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDKDKFFPMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQSSSTDPATGDVHVMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKNPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYST  
GQVSVEIEWELQKENSQRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL;

[0115] 改组100-1 (核苷酸序列) (SEQ ID NO:23):

[0116] atggctgctgatggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggcccaccaccacaaagcccgagagcggcataaggacgacagcaggggtcttgtgcttctt  
gggtacaagtacctcggaccttcaacggactcgacaaggagagccgggtcaacgaggcagacgcagcggccctcg  
agcagcacaaggcctacgaccagcagctcaaggccgggtgacaaccttacctcaagtacaaccacgccgacgcgga  
gttccagcagcggcttcagggcgacacatcgtttgggggcaacctcggcagagcagcttccaggccaaaagagg  
gttcttgaacctcttggcttggtgagcaagcgggtgagacggctcctggaaagaagagaccgttgattgaatccc  
cccagcagccccgactcctccacgggtatcggaacaaaaggcaagcagccggctaaaaagagactcaatcttggta  
gactggcgactcagagtcagtcacccgaccacaaacctctcgagaaacctccagcaacccccgctgctgtgggacct  
actacaatggcttcaggtggcgccaccaatggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcattgcgattccacatggctggcgacagagtcataccaccagcaccgcacctgggccttgccac  
ctacaataaccacctctacaagcaaattctcagtgcttcaacggggccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcaccacctgggggtatcttgacttcaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcagcagctcatca  
acaacaattggggattccggcccaagagactcaacttcaaactcttcaacatccaagtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctacaaccatcgctaaataaccttaccagcaggttcaagtcttctcgactcagactatcagctcccg  
tacgtgctcgggctcggtcacgagggtgcctcccgccgttccagcagacgtcttcatggtgccacagtatggat  
acctaccctgaacaacgggagtcaggcagtaggacgctcttcatcttactgcctggagtactttcttctcagat  
gctgcgtaccggaaacaactttacctcagctacacttttgaggacgttcccttccacagcagctacgtcacagc  
cagagtctggaccgtctcatgaatcctctcagcaggtacctgtattacctgaacagaactcagaatcagtcgg  
gaagtgcacaaaacaaggacttgctgttttagccgggggtctccagctggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggacctgttatcggcagcagcgcttctctaaacaaaaacagacaacaacaacagcaactttacctggact

ggtgcttcaaaatataaccttaatggcgctgaatctataatcaaccctggcactgctatggcctcacacaaagacg  
acaagacaagttctttcccatgagcggtgtcatgatttttggaaaggagagcgccggagcttcaaactgcatt  
ggacaatgtcatgatcacagacgaagaggaaatcaaagccactaaccctggccaccgaaagatttgggactgtg  
gcagtcaatctccagagcagcagcacagaccctgcgaccggagatgtgcatgttatgggagccttacctggaatgg  
tgtggcaagacagagacgtataacctgcagggtccatttgggccaaaattcctcacacagatggacactttcacc  
gtctcctcttatgggcggctttggactcaagaaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacagcctgttctctgcg  
aatcctccggcggagttttcagctacaaagtttgcttcattcatcacccaatactccacaggacaagtgagtgtgg  
aaattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaagcgctggaatcccgaagtgcagtacacatccaattatgcaaa  
atctgccaacgttgattttactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcaccggttacctc  
accgctccccgttaa;

[0117] 改组100-3(氨基酸序列)(SEQ ID NO:12):

[0118] MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEA  
DAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADA EFQQRLQGDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKR  
PLIESPQQPDSSTGIGKKGKQPAKKRLNFGQTGDSESVDPDQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGD RVITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRD  
WQRLINNNWGRFPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLSTTVQVFSDDYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFM  
VPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRMLNPLIDQYLYLNR  
TQNQSGSAQNKDLLFSRGSPTGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDKDKFFPMMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQSSSTDPATGDVHAMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGP IWAKIPHTDGHFHP SPLMGGFGLKNPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYST  
GQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL;

[0119] 改组100-3(核苷酸序列)(SEQ ID NO:24):

[0120] atggctgctgatgggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggcccaccaccaccaaagcccgagagcggcataaggacgacagcaggggtcttgtgcttctt  
gggtacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaaggagagccgggtcaacgaggcagacgacgagccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcaaggccgggtgacaaccctacctcaagtacaaccacgcccagcgga  
gttccagcagcggcttcagggcgacacatcgtttgggggcaacctcggcagagcagtcctccaggccaaaagagg  
gttcttgaacctcttggctctggttgagcaagcgggtgagacggctcctggaaagaagagaccgttgattgaatccc  
cccagcagccccgactcctccacgggtatcggaaaaaaggcaagcagccggctaaaaagagactcaattttggtca  
gactggcgactcagagtcagtcctccgaccacaacctctcgagaacctccagcaacccccgtgctgtgggacct  
actacaatggcttcaggtgggtggcgaccaatggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcattgcgattccacatggctgggcgacagagtcataccaccagcaccgcacctgggccttgccac  
ctacaataaccacctctacaagcaaattctcagtgcttcaacggggggccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcacccttggggtattttgacttcaacagattccactgccactttcaccacgtgactggcagcagactcatca  
acaacaattggggattccggcccaagagactcaacttcaaactcttcaacatccaagtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctacaaccatcgctaataaccttaccagcaagggttcaagtcttctcgactcagactatcagctcccg  
tacgtgctcgggtcggtcacgagggtgcctcccgccgttcccagcagacgtcttcatggtgccacagtatggat  
acctcaccctgaacaacgggagtcaggcagtaggacgtcttcattttactgcctggagtactttcttctcagat  
gctgcgtaccggaaacaactttaccttcagctacactttttagggacgttcttccacagcagctacgctcacagc



cagagtctggaccgtctcatgaatcctctcatcgaccagtacctgtattacctgaacagaactcagaatcagtcgg  
gaagtgccccaaaacaaggacttgctgttttagccgggggtctccaactggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggaccctgttatcggcagcagcgcgtttctaaaacaaaaacagacaacaacagcaactttacctggact  
ggtgcttcaaaatataaccttaatggcggtgaatctataatcaaccttggcactgctatggcctcacacaagacg  
acaagacaagttctttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaggagagcgccggagcttcaaactgcatt  
ggacaatgtcatgatcacagacgaagaggaaatcaaagccactaaccctggccactgaaagatttgggactgtg  
gcagtcaatctccagagcagcagcacagacctgcgaccggagatgtgcatgccatgggagccttacctggaatgg  
tgtggcaagacagagacgtataacctgcagggtcctattttgggccaaaattcctcacacggatggacactttcaccc  
gtctcctctcatggcggttttggactcaagaaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacacgcctgttcctgcg  
aatcctccggcggagttttcagctacaaagtttgcttcattcatcaccagtatccacaggacaagtgagcgtgg  
agattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaaacgctggaatcccgagtgagtatacatctaactatgcaaa  
atctgccaacgttgatttcaactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcaccgcttacctc  
accgctccccctgtaa;

[0121] 改组100-7(氨基酸序列)(SEQ ID NO:13):

[0122] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNLDKGEPVNAA  
DAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADADEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEAKTAPGKKR  
PVEQSPQEPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDPDQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDRIITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRDR  
WQRLINNNWGRFRPKLSFKLFNIQVKEVTNDGVTTIANNLSTVQVFSSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFM  
IPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEEVPHSSYAHSSQLDRLMNPLIDQYLYLNR  
TQNQSGSAQNKDLLFSRGSAPGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDKFFPMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEFIKATNPVATERFGTVAVNFQSSSTDPATGDVHAMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKNPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYST  
GQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNYAKSANIDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPQ;

[0123] 改组100-7(核苷酸序列)(SEQ ID NO:25):

[0124] atggctgccgatgggttatcttcagattggctcgaggacaacctctctgagggcattcgcgagtgggtg  
ggcgctgaaacctggagccccgaagcccaaagccaaccagcaaaagcaggacgacggccgggtctgggtgcttcct  
ggctacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaagggggagcccgtcaacgcggcggtatgcagcgccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcaaagcgggtgacaatccgtacctgcggtataaccacgccgacgccga  
gtttcaggagcgtctgcaagaagatacgtcttttgggggcaacctcgggcgagcagctcttcaggccaagaagcgg  
gttctcgaacctctcggtctggttgaggaaggcgctaagacggctcctggaaagaaacgtccggtagagcaatcgc  
cacaagagccagactcctcctcgggcatcggaagacaggccagcagccccgctaaaaagagactcaatttttggtca  
gactggcgactcagagtcagtcctccgacccacaacctctcgagaaacctccagcaacccccgtgctgtgggacct  
actacaatggcttcaggcgggtggcgcccaatggcgacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcattgcgattccacatggctggcgacagagtcataccaccagcaccgaacatgggccttgccac  
ctataacaaccacctctacaagcaaatctccagtgtcttcgacgggggcccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcacccttggggtattttgactttaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcagcgactcatca  
acaacaactggggatttcggcccaagagactcagcttcaagctcttcaacatccaggtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctcacaaccatcgctaataaccttaccagcaggttcaagctcttctcgactcggagtaccagcttcg

tacgtcctcggctctgcgcaccagggtgcctccctccgttcccggcgagctgttcatgattccgcaatacggct  
acctgacgctcaacaatggcagccaagccgtgggacgttcatccttttactgcctggaatatttcccttctcagat  
gctgagaacgggcaacaactttaccttcagctacacctttgaggaagtgcctttccacagcagctacgcgcacagc  
cagagcctggaccggctgatgaatcctctcatcgatcaataacctgtattacctgaacagaactcaaatcagtcgg  
gaagtgccccaaaacaaggacttgctgttttagccgtgggtctccagctggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggaccctgttatcggcagcagcgcgttttctaaaacaaaaacagacaacaacaacagcaattttacctggact  
ggtgcttcaaaatataacctcaatgggcgtgaatccatcatcaaccctggcactgctatggcctcacataaagacg  
acgaagacaagttctttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaagagagcgccggagcttcaaacactgcatt  
ggacaatgtcatgattacagacgaagaggaaattaaagccactaaccctgtggccaccgaaagatttgggaccgtg  
gcagtcaattttccagagcagcagcacagaccctgcgaccggagatgtgcatgctatgggagcattacctggcatgg  
tgtggcaagatagagacgtgtacctgcagggtccattttgggccaaaattcctcacacagatggacactttcacc  
gtctcctcttatgggcggctttggactcaagaaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacagcctgttctctgcg  
aatcctccggcggagttttcagctacaaagtttgcttcattcatcaccgaataactccacaggacaagtgagcgtgg  
agattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaaacgctggaatcccgaagtgcagtatacatctaactatgcaaa  
atctgccaacattgatttcactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcaccgcgttacctc  
accgctccccagtaa;

[0125] 改组10-2(氨基酸序列) (SEQ ID NO:26):

[0126] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNAA  
DAAALEHDKAYDQQKLKAGDNPYLRYNHADADEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEAAKTAPGKKR  
PVEQSPQEPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDPDQPLGEPPAAPSGVGSLSMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDRIITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGYSTPWGYFDNRFHCHFSPRD  
WQRLINNNWGFPRKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLSTVQVFSSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFM  
IPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEEVPFHSSYAHQSLSLDRMLNPLIDQYLYLNR  
TQNSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSVQPKNWLPGPCYRQQCVSKTKTDNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDKDKFFPMMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQSSSTD PATGDVHVMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKNPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYST  
GQVSVEIEWELQKENSQRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL;

[0127] 改组10-2(核苷酸序列) (SEQ ID NO:34):

[0128] atggctgccgatggttatcttccagattggctcgaggacaacctctctgagggcattcgcgagtggtg  
ggacttgaaacctggagccccgaaacccaaagccaaccagcaaaagcaggacgacggccgggtctggtgcttctt  
ggctacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaagggggagcccgtcaacgcggcggtatgcagcgccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcaaagcgggtgacaatccgtaccttcggtataaccacgccgacgccga  
gtttcaggagcgtctgcaagaagatacgtcttttgggggcaacctcgggcgagcagcttccaggccaaaaagagg  
gttctcgaacctctcggtctggttgaggaagcggctaagacggctcctggaaagaaacgtccggtagagcagtcgc  
cacaagagccagactcctcctcgggcatttggaagacaggccagcagcccgtaaaaagagactcaattttggtca  
gactggcgactcagagtcagtcctccgaccacaacctctcggagaacctcccgcagccccctcaggtgtgggatct  
cttacaatggcttcaggtggtggcgaccaatggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcattgcgattccacatggctgggcgacagagtcataccaccagcaccgcacctgggccttggccac  
ctacaataaccacctctacaagcaaatctccagtgttcaacggggggccagcaacgacaaccactacttcggctac

agcacccttgggggtattttgacttcaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcaaagactcatca  
acaacaattggggattccggcccaagagactcaacttcaagctcttcaacatccaagtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctcacgaccatcgctaataaccttaccagcacggttcaagctcttctcgactcggagtaccagttgccg  
tacgtcctcggtctctgcgaccagggtgcctccctccgttcccggcgagctgttcatgattccgcagtacggct  
acctaacgctcaacaatggcagccaggcagtgaggacggtcatccttttactgcctggaatatttcccatcgcat  
gctgagaacgggcaacaactttaccttcagctacacctttgaggaagtgcctttccacagcagctacgcgcacagc  
cagagcctggaccggctgatgaatcctctcatcgaccagctacgtgtattacctgaacagaactcaaatcagtcgg  
gaagtgccccaaaacaaggacttgctgttttagccgtgggtctccagctggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggaccctgttaccggcagcagtgctgtttctaaaacaaaaacagacaacaacagcaactttacctggact  
gggtgcttcaaatataaccttaattgggctgaatctataatcaacctggcactgctatggcctcacacaagacg  
acaagacaagttctttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaggagagcgccggagcttcaaacactgcatt  
ggacaatgtcatgatcacagacgaaggaaatcaaagccactaaccctggccaccgaaagatttgggactgtg  
gcagtcaatctccagagcagcagcacagacctgcgaccggagatgtgcatgttatgggagccttacctggaatgg  
tgtggcaagacagagacgtataacctgcagggtcctatttgggccccaaattcctcacacagatggacactttcccc  
gtctcctcttatgggcggttttgactcaagaaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacacgcctgttctctgcg  
aatcctccggcgagttttcagctacaaagtttgcttcattcatcaccacaatactccacaggacaagtgcgctgg  
agattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaagcgctggaatcccgaagtgcagtacacatccaattatgcaaa  
atctgccaacgttgatttcactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcacccttacctc  
accgtccccctgtaa;

[0129] 改组10-6(氨基酸序列)(SEQ ID NO:27):

[0130] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKVNQQKQDNARGLVLPGYKYLGPFGNLDKGEPVNAA  
DAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADADEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPFGLVEEAKTAPGKKR  
PVEQSPQEPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSSEVPDPQPLGEPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDRVITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRPRD  
WQRLINNNWGRFRKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLSTTVQVFSSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFM  
IPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNR  
TQNQSGSAQNKDLLFSRGSPTGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDDEDKFFPMMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQSSSTDPATGDVHAMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYST  
GQVSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNYAKSANVDFIVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL;

[0131] 改组10-6(核苷酸序列)(SEQ ID NO:35):

[0132] atggctgccgatgggttatcttccagattggctcgaggacaacctctctgagggcattcgcaatgggtg  
ggacttgaaacctggagccccgaaacccaaagtcaaccagcaaaagcaggacaacgctcggggctcttgctgttccg  
ggttacaaataacctcgacccttcaacggactcgacaagggggagcccgtaacgcggcgagcagcgccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcaaagcgggtgacaatccgtaccttcggtataaccacgccgacgccga  
gtttcaggagcgtctgcaagaagatacgtcttttgggggcaaccttgagcagcagctcttcaggccaagaagagg  
gttctcgaaccttttggctctggttgaggaaggtgctaagacggctcctggaaagaaacgtccggtagagcagtcgc  
cacaagagccagactcctcctcgggcattggcaagacaggccagcagccccgtaaaaagagactcaatttttggtca  
gactggcgactcagagtcagtcctcccgaccacaaacctctcgagaaacctccagcaacccccgctgctgtgggacct

actacaatggcttcaggcgggtggcgccaccaatggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcatttgcgattccacatggctgggagcagagtcaccaccagcaccgcacctgggccttgccac  
ctacaataaccacctctacaagcaaattctccagtgttcaacgggggcccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcacccttgggggtattttgacttcaacagattccactgccacttttaccacgtgactggcaaagactcatca  
acaacaattggggattccggcccaagagactcaacttcaagctcttcaacatccaagtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctcacgaccatcgctaataaccttaccagcacggttcaagtccttctcgactcggagtaccagttgccg  
tacgtcctcggtcttgcgcaccagggtgcctccctccgttcccggcgacgtgttcatgattccgcaatacggct  
acctgacgctcaacaatggcagccaggcagtgaggacgtcatccttttactgcctggaatatttcccatcgcat  
gctgagaacgggcaataactttaccttccagctacactttttaggacgttcccttccacagcagctacgtcacagc  
cagagcctggaccggctgatgaatcctctcatcgaccagttacgttattacctgaacagaactcagaatcagtcgg  
gaagtgcacaaaacaaggacttgcgttttagccgtgggtctccaactggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggaccctgttatcggcagcagcgcgttttctaaaacaaaaacagacaacaacagcaactttacctggact  
gggtgttcaaaaatataaccttaatgggctgaatctataatcaacctggcactgtatggcctcacacaaagacg  
acgaagacaagttcttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaggagagcgccggagcttcaaacactgcatt  
ggacaatgtcatgatcacagacgaagaggaaatcaaagccactaaccctggccactgaaagatttgggactgtg  
gcagtcaatctccagagcagcagcacagacctgcgaccggagatgtgcatgccatgggagccttacctggaatgg  
tgtggcaagacagagacgtataacctgcagggtcctatttgggcaaaaattcctcacacggatggacactttcacc  
gtctcctctcatgggcggctttggacttaagcaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacagcctgttcttgcg  
aatcctccggcagagtttccggctacaaagtttgcttattcatcaccagtttccacaggacaagtgagcgtgg  
agattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaaacgctggaatcccgaagtgcagtatacatctaactatgcaa  
atctgccaacgttgatttactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcacccttacctc  
accgctccctgtaa;

[0133] 改组10-8(氨基酸序列)(SEQ ID NO:28):

[0134] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKVNQQKQDNARGLVLPGYKYLGPFGNLDKGEPVNAA  
DAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADADEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPFGLVEEGAKTAPGKKR  
PVEQSPQEPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDPQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDRIITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRDP  
WQRLINNNWGRPKRLNFKLFNQVKETDVTIANNLTSTVQVFSSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMIPQY  
GYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTSYTFEDVPFHSSYAHQSLSLDRLMNPLIDQYLYLNRNQNS  
GSAQNKDLLFSRGSPTGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASHKD  
DEDKFFPMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEATNPVATERFGTVAVNLQSSPATDVHAMGALPGMVWQDRDV  
YLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKHPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQ  
KENSKRWNPVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRP;

[0135] 改组10-8(核苷酸序列)(SEQ ID NO:36):

[0136] atggctgccgatgggtatcttccagattggctcgaggacaacctctctgagggcatttcgcaatggtg  
ggacttgaaacctggagccccgaaacccaaagtcaaccagcaaaagcaggacaacgctcggggtcttgtgttccg  
ggttacaaataacctcgacccttcaacggactcgacaagggggagcccgtaacgcggcgagcagcgccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcaaagcgggtgacaatccgtaccttcggtataaccacgccgacgccga  
gtttcaggagcgtctgcaagaagatacgtcttttgggggcaaccttgacgagcagtccttcaggccaagaagagg

gtttctgaaccttttggctctggttgaggaaggtgctaagacggctcctggaaagaaacgtccggtagagcagtcgc  
cacaagagccagactcctcctcgggcatttggaagacaggccagcagccccgctaaaaagagactcaatttttggtca  
gactggcgactcagagtcagtcctcccgaccacaaacctctcggagaacctccagcaacccccgctgctgtgggacct  
actacaatggcttcaggcgggtggcgaccaaattggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcatttgcgattccacatggctggggcagacagatcatcaccaccagcaccgaacatgggccttgccac  
ctataacaaccacctctacaagcaaattctccagtgttcaacggggggccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcaccacctgggggtattttgatttcaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcagcgactcatca  
ataacaattggggattccggcccaagagactcaacttcaaactcttcaacntccaagtcaaggaggnnacgacgaa  
ngatgncgtcacaaccatcgctaataaccttaccagcacggttcaagtcttctcggactcggagtaccagcttccg  
tacgtcctcggctctgcgcaccagggtgcctccctcggttcccgggcgagcgtgttcatgattccgcaatacggct  
acctgacgtcaacaatggcagccaggcagtgaggacggtcactcttttactgcctggaatatttcccatcgcat  
gctgagaacgggcaataactttacctncagctacacttttgaggacgttcccttccacagcagctacgtcacagc  
cagagcctggaccggctgatgaatcctctcctcagaccagctacgtgtattacctgaacagaactcagaatcagtcg  
gaagtgcacaaaacaaggacttgcgttttagccgtgggtctccaactggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggaccctgttatcggcagcagcgctttctaaaacaaaaacagacaacaacaacagcaactttacctggact  
ggctgttcaaaaatataaccttaattggcgctgaatctataatcaacctggcactgctatggcctcacacaaagacg  
acgaagacaagttctttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaggagagcgccggagcttcaaacactgcatt  
ggacaatgtcatgatcacagacgaagagannnnaagccactaaccctggccactgaaagatttgggactgtgg  
cagtcaatctccaagcagcacannnaccctgcgaccgnagatgtgcatgcatgggagccttacctggaatggtgt  
ggcaagacagagacgtataacctgcagggtcctatttgggcaaaaattcctcacacggatggacactttcaccgctc  
tctctcatggggcgctttggacttaagcaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacacgcctgttctctcgcaat  
cctccggcagagttttcggctacaaagtttgcttcattcatcaccagctattccacaggacaagtgcgctggaga  
ttgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaaacgctggaatcccgaagtgcagtatacatctaactatgcaaaatc  
tgccaacgttgatttctactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcacccgttacctcacc  
cgtcccnngtaa;

[0137] 改组100-2 (氨基酸序列) (SEQ ID NO:29):

[0138] MASDGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNAA  
DAAALEHDKAYDQQRLRAGDNPYLRYNHADADEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFAQKKRVLEPFLVEEAKTAPGKKR  
PVEQSPQEPDSSSIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDPDQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDREVITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGYSTPWGYDFNRFHCHFSRPRD  
WQRLINNNWGRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLSTVQVFSSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFM  
IPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRMLNPLIDQYLYLNR  
TQNQSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDKDKFFPMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQSSSTDPATGDVHVMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFAFQITQYST  
GQVSVEIEWELQKENSQRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL;

[0139] 改组100-2 (核苷酸序列) (SEQ ID NO:37):

[0140] atggcttccgatgggttatcttccagattggctcgaggacaacctctctgaggcatccgcgagtgggtg  
ggacttgaaacctggagccccgaaacccaaagccaaccagcaaaagcaggacgacggccgggtctggtgcttct

ggctacaagtacctcggacccttcaacggactcgacaagggggagcccgtcaacgcggcggtatgcagcggccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcagagcgggtgacaatccgtacctgcggtataaccacgccgacgccga  
gtttcaggagcgtctgcaagaagatacgtcttttgggggcaacctcgggcgagcagtccttcaggccaagaagg  
gttctcgaaccttttggcttggttgaggaaggtgctaagacggctcctggaaagaaacgtccggtagagcagtcgc  
cacaagagccagactcctcctcgggcatttggaagacaggccagcagccccgctaaaaagagactcaattttggta  
gactggcgactcagagtcagtcctcccgaccacaaacctctcgagaaacctccagcaacccccgctgctgtgggacct  
actacaatggcttcaggcgggtggcgacccaatggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcattgcatcctacatggctggcgacagagtcataccaccagcaccgaacatgggccttgccac  
ctataacaaccacctctacaagcaaattctcagtgcttcaacggggccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcaccacctgggggtattttgatttcaacagattccactgcccatttctaccacgtgactggcagcgactcatca  
acaacaattggggattccggcccaagagactcaacttcaaactcttcaacatccaagtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctacaaccatcgctaataaccttaccagcaagggttcaagtcttctcgactcggagtaccagcttccg  
taegtctcggctctgcgcaccagggtgcctccctcgggttccggcgacgtgttcatgattccgcagtaaggct  
acctaacgctcaacaatggcagccaggcagtgaggcgggtcctcttttactgcctggaatatttcccatcgcat  
gctgagaacgggcaataactttaccttcagctacaccttcaggagcgtgcctttccacagcagctacgcgcacagc  
cagagcctggaccggctgatgaatcctctcatcgaccagtacctgtattacctgaacagaactcagaatcagtcgg  
gaagtgcacaaaacaaggacttgctgttttagccgggggtctccagctggcatgtctgttcagcccaaaaactggct  
acctggaccctgttaccggcagcagcgctttctaaaacaaaaacagacaacaacagcaactttacctggact  
ggtgcttcaaaatataaccttaattggcgctgaatctataatcaacctggcactgctatggcctcacacaaagacg  
acaagacaagttctttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaggagagcgccggagcttcaaacactgcatt  
ggacaatgtcatgatcacagacgaagaggaaatcaaagccactaaccccgtagccaccgaaagatttgggactgtg  
gcagtcaatctccagagcagcagcacagacctgcgaccggagatgtgcatgttatgggagccttacctggaatgg  
tgtggcaagacagagacgtataacctgcagggtccatttggggccaaaattcctcacacagatggacactttcacc  
gtctcctcttatgggcggctttggacttaagcaccgcctcctcagatcctcatcaaaaacagcctgttctcgcg  
aatcctccggcagagttttcggctacaaagtttgcttattcatcaccagtatcttactggccaagtgcagctgg  
agattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaaacgctggaatcccgaagtgcagtatacatctaactatgcaaa  
atctgccaacgttgatttactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgctccattggcaccgcgttacctc  
accgctcccctgtaa;

[0141] SM 10-1 (氨基酸序列) (SEQ ID NO:30):

[0142] MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNLDKGEPVNEA  
DAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADADEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEAKTAPGKKR  
PVEQSPQEPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDPQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADG  
VGNASGNWHCDSTWLGDREVITSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGYSTPWGYDFNRFHCHFSRDL  
WQRLINNNWGRFPKRLSFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLSTVQVFSQSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFM  
IPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEEVFPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNR  
TQNQSGSAQNKDLLFSRGSFAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNSNPTWTGASKYNLNGRESIINPGTAM  
ASHKDDKFFPMSGVMIFGKESAGASNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQSSSTDPATGDVHAMG  
ALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKNPPPQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYST  
GQVSVEIEWELQKENSQRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL;

[0143] SM 10-1 (核苷酸序列) (SEQ ID NO:38) :

[0144] atggctgccgatggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggcccaccaccaccaaagcccgagagcggcataaggacgacagcaggggtcttgtgttccct  
gggtacaagtacctcggacccttcaacggactcgacaaggagagccgggtcaacgaggcagacgccgcgccctcg  
agcacgacaaggcctacgaccagcagctcaaagcgggtgacaatccgtacctgcggtataaccacgccgacgccga  
gtttcaggagcgtctgcaagaagatacgtcttttgggggcaacctcgggcgagcagtcctccaggccaagaagcgg  
gttctcgaacctctcggctctggttgaggaaggcgctaagacggctcctggaaagaaacgtccggtagagcagtcgc  
cacaagagccagactcctcctcgggcatcggaagacaggccagcagccccgctaaaaagagactcaatttttggtca  
gactggcgactcagagtcagtcctcccgaccacaaacctctcggagaacctccagcaacccccgctgctgtgggacct  
actacaatggcttcaggcgggtggcgcaccaatggcagacaataacgaaggcgccgacggagtgggtaatgcctcag  
gaaattggcattgcgattccacatggctgggcgacagagtcataccaccagcaccgaacatgggccttgccac  
ctataacaaccacctctacaagcaaattctccagtgtctcgacggggggccagcaacgacaaccactacttcggctac  
agcacccttggggtattttgactttaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcagcagctcatca  
acaataactggggattccggcccaagagactcagcttcaagctcttcaacatccaggtcaaggaggtcacgacgaa  
tgatggcgctacaaccatcgctaataaccttaccagcacggttcaagtcctctcggactcggagtaccagcttccg  
tacgtcctcggctctgcgcaccagggtgcctccctccgttcccggcgagcgtgttcattgattccgcaatacggct  
acctgacgtcaacaatggcagccaagccgtgggacgttcatccttttactgcctggaatatttcccttctcagat  
gctgagaacgggcaacaactttaccttcagctacacctttgaggaagtgcctttccacagcagctacgcgcacagc  
cagagcctggaccggctgatgaatcctctcatcgatcaataacctgtattacctgaacagaactcaaaatcagtcgg  
gaagtgccccaaaacaaggacttgctgttttagccgtgggtctccagctggcatgtctgttcagccccaaaactggct  
acctggaccctgttatcggcagcagcgcgtttctaaaacaaaaacagacaacaacagcaattttacctggact  
ggctgttcaaaatataacctcaatgggcgtgaatccatcatcaacctggcactgctatggcctcacacaaagacg  
acgaagacaagttctttcccatgagcgggtgtcatgatttttgaaaagagagcgccggagcttcaaacactgcatt  
ggacaatgtcatgattacggacgaagaggaaattaaagccactaacctgtggccaccgaaagatttgggaccgtg  
gcagtcattttccagagcagcagcagaccctgcgaccggagatgtgcatgctatgggagcattacctggcatgg  
tgtggcaagatagagacgtgtacctgcagggtccattttgggcaaaaattcctcacacagatggacactttcaccc  
gtctcctcttatgggcggctttggactcaagaacccgcctcctcagatcctcatcaaaaacacgcctgttctctgcg  
aatcctcggcgagttttcagctacaaagtttgcttcattcatcactcaatactccacaggacaagtgagcgtgg  
aaattgaatgggagctgcagaaagaaaacagcaaacgctggaatcccgaagtgcagtatacatctaactatgcaaa  
atctgccaacgttgatttactgtggacaacaatggactttatactgagcctcgccccattggcaccggttacctc  
accgtccccctgtaa;

[0145] SM 10-8 (氨基酸序列) (SEQ ID NO:31) :

[0146] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEA  
DAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTPAGKKR  
PVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVDPDQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADG  
VGNSSGNWHCDSTWMGDRVITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRHFCHFSRDPW  
QRLINNNWGFPRKRLKFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMV  
PQGYGLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRT  
DTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNGPAMA

SHKDDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTSVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV  
LPGMVWQDRDVYLQGPWIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTG  
QVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNKNKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL;

[0147] SM 10-8 (核苷酸序列) (SEQ ID NO:39):

[0148] atggctgccgatggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggcccaccaccaccaaagcccgagagcggcataaggacgacagcaggggtcttgtgcttccct  
gggtacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaaggagagccgggtcaacgaggcagacgccgcgccctcg  
agcagacaaaagcctatgaccggcagctcgacagcgagacaacccgtacctcaagtacaaccacgccgacgcgga  
gtttcaggagcgccttaaagaagatacgtcttttgggggaacctcgagcagcagctctccaggcgaaaaagagg  
gttcttgaacctctgggcctgggtgaggaacctgttaagacggctccgggaaaaaagaggccggtagagcactctc  
ctgtggagccagactcctcctcgggaaaccggaaggcgggccagcagcctgcaagaaaaagattgaatttttggtca  
gactggagacgcagactcagtacctgatccccagcctctcggacagccaccagcagccccctctggctctgggaact  
aatacgatggctacaggcagtggcgccaccaatggcagacaataacgagggcgccgacggagtgggtaattcctcgg  
gaaattggcattgcgattccacatggatggcgacagagtcattaccaccagcaccggaacctgggcccctgcccac  
ctacaacaaccacctctacaacaaatttccagccaatcaggagcctcgaacgacaatcactacttttggttacagc  
accccttgggggtattttgacttcaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcaaagactcatcaaca  
acaactgggggattccgaccaagagactcaagttcaagctctttaacattcaagtaaaagaggtcacgcagaatga  
cggtacgacgacgattgccaataaccttaccagcaggttcaggtgtttactgactcggagtaccagctcccgat  
gtcctcggctcggcgcatcaaggatgcctcccgcggttccagcagacgtcttcatggtgccacagtatggatacc  
tcacctgaacaacgggagtcaggcagtaggacgctcttcattttactgcctggagtactttccttctcagatgct  
gcgtaccggtaacaactttaccttcagctacacttttgaggacgttcccttccacagcagctacgctcacagccag  
agtctggaccgtctcatgaatcctctcatcgaccagtacctgtattacttgagcagaacagacactccaagtggaa  
ccaccacgcagtcaaggcttcagttttctcaggccggagcgagtgacattcgggaccagtctaggaactggcttcc  
tggaacctgttaccgccagcagcgagtatcaaagacatctgcggataacaacaacagtgaatactcgtggactgga  
gctaccaagtaccacctcaatggcagagactctctggtgaatccgggcccggccatggcaagccacaaggacgatg  
aagaaaagtttttctcagagcggggttctcatctttgggaagcaaggctcagagaaaacaagtgtggacattga  
aaaggtcatgattacagacgaagaggaaatcaggacaaccaatcccgtggctacggagcagtatggttctgtatct  
accaacctccagagaggcaacagacaagcagctaccgcagatgtcaacacacaaggcgttcttccaggcatggtct  
ggcaggacagagatgtgtaccttcaggggcccatctgggcaaagattccacacacggacggacattttcaccctc  
tcccctcatgggtggattcggacttaaacacctcctccacagattctcatcaagaacaccccggctacctgccaat  
ccttcgaccaccttcagtgcggcaaagtttgcttcttcatcacacagtactccacgggacaggtcagcgtggaga  
tcgagtgggagctgcagaaggaaaacagcaaacgctggaatcccgaagttcagtacattccaactacaacaagtc  
tgttaatgtggactttactgtggacactaatggcgtgtattcagagcctcgccccattggcaccagataacctgact  
cgtaatctgtaa;

[0149] SM 100-3 (氨基酸序列) (SEQ ID NO:32):

[0150] MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEA  
DAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADA EFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVK TAPGKKR  
PVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDANSVPDPQLGQPPAAPSGLTNTMATGSGAPMADNNEGADG  
VGNSSGNWHCDSTWMGDRVITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWD



QRLINNNWGFRPKRLKFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMV  
PQYGYLTLNNGSRAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVFPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRT  
DTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNGPAMA  
SHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTSVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV  
LPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTG  
QVSVEIEWELQKENSkrwnPEVQYTSNynKSVNVDFVDTNGVYTEPRPIGTRYLTRNL;

[0151] SM 100-3 (核苷酸序列) (SEQ ID NO:40):

[0152] atggctgccgatggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggcccaccaccacaaagcccgagagcggcagataaggacgacagcaggggtcttgtgcttctc  
gggtacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaaggagagccgggtcaacgaggcagacgccgcgccctcg  
agcagacaaaagcctatgaccggcagctcgacagcggagacaacccgtacctcaagtacaaccacgccgacgcgga  
gtttcaggagcgccttaaagaagatacgtcttttgggggcaacctcggacgagcagtcctccaggcgaaaaagagg  
gttcttgaacctctgggcttggttaggaacctgttaagacggctccgggaaaaaaggaggccggtagagcactctc  
ctgtggagccagactcctcctcggaaccggaaaggcgggccagcagcctgcaagaaaaagattgaattttggtca  
gactggagacgcaaaactcagtacctgacccccagcctctcggacagccaccagcagccccctctggtctgggaact  
aatacgatggctacaggcagtggtgcaccaatggcagacaataacgagggcgccgacggagtgggtaattcctcgg  
gaaattggcattgcatctccacatggatgggagcagagatcatcaccaccagcaccgaacctgggacctgccac  
ctacaacaaccacctctacaacaaatttccagccaatcaggagcctcgaacgacaatcactactttggctacagc  
acccttgggggtattttgacttcaacagattccactgccacttttaccacgtgactggcaaagactcatcaaca  
acaactggggattccgacccaagagactcaagttcaagctctttaacattcaagtcaaagaggtcacgcagaatga  
cggtacgacgacgattgccaaataaccttaccagcaggttcaggtgtttactgactcggagtaccagctcccgta  
gtcctcggctcggcgcatcaaggatgcctcccgcgttcccagcagacgtcttcatggtgccacagtatggatacc  
tcacctgaacaacgggagtcgggcagtaggacgtcttcattttactgcctggagtactttccttctcagatgct  
gcgtaccggtacaactttacctcagctacacttttgaggacgttctttccacagcagctacgctcacagccag  
agtctggaccgtctcatgaatcctctcatcgaccagtacctgtattacttgagcagaacagacactccaagtggaa  
ccaccacgcagtcaggcttcagttttctcaggccggagcagtgacattcgggaccagtctaggaactggcttcc  
tggaacctgttaccgccagcagcagtgatcaaagacatctgcggataacaacaacagtgaatactcgtggactgga  
gctaccaagtaccacctcaatggcagagactctctggtgaatccgggcccggccatggcaagccacaaggacgatg  
aagaaaagtttttctcagagcggggttctcatctttgggaagcaaggctcagagaaaacaagtgtggacattga  
aaaggtcatgattacagacgaagaggaaatcaggacgaccaatcccgtggctacggagcagtatggttctgtatct  
accaacctccagagaggcaacagacaagcagctaccgcagatgtcaacacacaaggcgttcttccaggcatggtct  
ggcaggacagagatgtgtaccttcaggggcccatctgggcaaagattccacacacggacggacattttcaccctc  
tcccctcatgggtggattcggacttaaacacctcctccacagattctcatcaagaacaccccgtacctgcaat  
ccttcgaccaccttcagtgcggcaaagtttgccttcttcatcacacagtactccacgggacaggtcagcgtggaga  
tcgagtgggagctgcagaaggaaaacagcaaacgctggaatcccgaagttcagtacacttccaactacaacaagtc  
tgtaaatgtggactttactgtggacactaatggcgtgtatacagagcctcgccccattggcaccagataacctgact  
cgtaatctgtaa;

[0153] SM 100-10 (氨基酸序列) (SEQ ID NO:33):

[0154] MAADGYLPDWLEDTLSEGIrQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPgyKYLGPfNGLDKGEPVNEA

DAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKR  
PVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTDADSVDPDQPLGQPPAAPSGLTNTMATGSGAPMADNNEGADG  
VGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSRWD  
QRLINNNWGFPRKRLKFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANLNTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMV  
PQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRT  
DAPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNGPAMA  
SHKDDEEKFFPQSGVLI FGKQGSEKTSVDIEKVMITDEEEIIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV  
LPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTG  
QVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNYSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL;

[0155] SM 100-10 (核苷酸序列) (SEQ ID NO:41):

[0156] atggctgccgatgggttatcttccagattggctcgaggacactctctctgaaggaataagacagtgggtg  
gaagctcaaacctggccccaccaccaccaagccccgcagagcggcataaggacgacagcaggggtcttgtgtcttct  
gggtacaagtacctcgacccttcaacggactcgacaaggagagccgggtcaacgaggcagacgccgcggccctcg  
agcacgacaaagcctatgaccggcagctcgacagcggagacaacccgtacctcaagtacaaccacgccgacgcgga  
gtttcaggagcgccttaaagaagatacgtcttttgggggcaacctcgacgagcagctcttccaggcgaaaaagagg  
gttcttgaacctctgggcctggttgaggaaacctgttaagacggctccgggaaaaaagaggccggtagagcactctc  
ctgtggagccagactcctcctcggaaccggaaggcggtcagcagcctgcaagaaaaagattgaatttttggtca  
gactggagacgcagactcagctacctgacccccagcctctcgacagccaccagcagccccctctggtctgggaact  
aatac gatggctacaggcagtgggcgaccaatggcagacaataacgagggcgccgacggagtgggtaattcctcg  
gaaattggcattgcgattccacatggatgggcgacagagtcataccaccagcaccggaacctgggcctgcccac  
ctacaacaaccacctctacaacaaatttccagccaatcaggagcctcgaaacgacaatcactactttggctacagc  
accccttgggggtattttgacttcaacagattccactgccacttttcaccacgtgactggcaaagactcatcaaca  
acaactggggattccgaccaagagactcaagttcaagctctttaacattcaagtaaaagaggtcacgcagaatga  
cggtacgacgacgattgccaataaccttaccagcacggttcaggtgtttactgactcggagtaccagctcccgta  
gtcctcggtcggcgcatcaaggatgcctcccgcgttcccagcagacgtcttcatggtgccacagtatggatacc  
tcacctgaacaacgggagtcaggcagtaggacgctcttcattttactgcctggagtactttccttctcagatgct  
gcgtaccggttaacaactttaccttcagctacacttttgaggacgttcccttccacagcagctacgctcacagccag  
agtctggaccgtctcatgaatcctctcatcgaccagtacctgtattacttgagcagaacagacgctccaagtggaa  
ccaccacgcagtcaggcttcagttttctcaggccggagcagtgacattcgggaccagcttaggaactggcttcc  
tggaacctgttaccgccagcagcagtgatcaaagacatctgcggataacaacaacagtgaatactcgtggactgga  
gctaccaagtaccacctcaatggcagagactctctggtgaatccgggcccggccatggcaagccacaaggacgatg  
aagaaaagtttttctcagagcggggttctcatctttgggaagcaaggctcagagaaaacaagtggtggacattga  
aaaggtcatgattacagacgaagaggaaatcaggacaaccaatcccgtggctacggagcagtatggttctgtatct  
accaacctccagagaggcaacagacaagcagctaccgcagatgtcaacacacaaggcgttcttccaggcatggtct  
ggcaggacagagatgtgtaccttcaggggcccactctgggcaaagattccacacacggacggacattttcaccctc  
tccccctcatgggtggattcggacttaaacacctctctccacagattctcatcaagaacacccccggtacctgcgaat  
ccttcgaccaccttcagtgcggaagtttgcttcttctcatcacacagtactccacgggacaggtcagcgtggaga  
tcgagtgggagctgcagaaggaaaacagcaaacgctggaatcccgaagttcagtaacttccaactacaacaagtc  
tgttaatgtggactttactgtggacactaatggcgtgtattcagagcctcgccccattggcaccagataacctgact

cgtaatctgtaa。

[0157] 核酸和宿主细胞

[0158] 本公开提供包含编码变体AAV衣壳蛋白(如上所述)的核苷酸序列的核酸,以及包含所述核酸的宿主细胞。核酸和宿主细胞适用于生成rAAV病毒粒子(如下所述)。

[0159] 本公开提供包含所述核酸的宿主细胞,例如分离的宿主细胞。所述宿主细胞可被称为“遗传修饰的宿主细胞”且通常是分离的细胞,例如,在体外培养中的细胞。所述宿主细胞适用于产生所述rAAV病毒粒子,如下所述。当所述宿主细胞用于产生所述rAAV病毒粒子时,其被称为“包装细胞”。在一些实施方案中,所述宿主细胞被所述核酸稳定地遗传修饰(即,稳定地转染)。在其他实施方案中,所述宿主细胞被所述核酸瞬时遗传修饰(即,瞬时转染)。

[0160] 使用已建立的技术将所述核酸稳定地或瞬时引入宿主细胞中,所述技术包括(但不限于)电穿孔、磷酸钙沉淀、脂质体介导的转染等等。为进行稳定的转化,所述核酸通常还包含可选择标记,例如,如新霉素抗性等几种众所周知的可选择标记中的任一种。

[0161] 通过将所述核酸引入多种细胞的任一种中生成所述宿主细胞,所述多种细胞是例如包括例如鼠细胞和灵长类细胞(例如,人细胞)的哺乳动物细胞。适合的哺乳动物细胞包括但不限于原代细胞和细胞系,其中适合的细胞系包括但不限于293细胞、COS细胞、HeLa细胞、Vero细胞、3T3小鼠成纤维细胞、C3H10T1/2成纤维细胞、CHO细胞等等。

[0162] 在一些实施方案中,所述宿主细胞除包含编码突变衣壳蛋白的核苷酸序列的核酸之外还包括包含编码一种或多种AAV rep蛋白的核苷酸序列的核酸。在其他实施方案中,所述宿主细胞还包含rAAV载体,如下所述。如以下更详细地描述,rAAV病毒粒子是使用所述宿主细胞生成的。

[0163] 感染性rAAV病毒粒子

[0164] 所述感染性rAAV病毒粒子包含变体AAV衣壳蛋白和异源核酸(在下文中更详细地描述),并且展现与由野生型AAV(例如,AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV展现的抗性相比对人AAV中和抗体的提高的抗性。“提高的抗性”意味着所述感染性rAAV病毒粒子在人抗AAV抗体存在下展现提高的感染性。如上所述,病毒感染性可表示为感染性病毒粒子与总病毒粒子的比率。因此,提高的感染性意味着感染性病毒粒子与总病毒粒子的比率提高。为了测定AAV对人抗AAV抗体的抗性,AAV的感染性是在各种浓度的人抗AAV抗体的存在下测量以便获得降低基因递送效率(即感染性)至在人抗AAV抗体不存在下所述效率的50%所需的抗体浓度(例如,血清浓度、IVIG浓度等)(mg/mL)。需要更高的抗体浓度以降低基因递送效率至人抗AAV抗体不存在下的效率的50%的病毒据说对抗体中和具有提高的抗性。因此,抗性的两倍提高意味着降低基因递送效率至人抗AAV抗体不存在下的效率的50%所需的抗体浓度的两倍提高。在一些实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子展现与由野生型AAV(例如,AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV展现的抗性相比至少约1.5倍(例如,至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍、至少约12倍、至少约15倍、至少约17倍、至少约20倍、至少约25倍、至少约30倍、至少约40倍、至少约50倍、至少约75倍、至少约100倍、至少约150倍、至少约200倍、至少约250倍、至少约300倍等)大的对人AAV中和抗体的抗性。

[0165] 所述感染性rAAV病毒粒子据说在人AAV中和抗体存在下展现提高的哺乳动物细胞

转导。在一些实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子展现与由野生型AAV(例如,AAV2(野生型AAV血清型2))或包含野生型衣壳蛋白的AAV展现的转导相比至少约1.5倍(例如,至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍、至少约12倍、至少约15倍、至少约17倍、至少约20倍、至少约25倍、至少约30倍、至少约40倍、至少约50倍、至少约75倍、至少约100倍、至少约150倍、至少约200倍、至少约250倍、至少约300倍等)大的在人AAV中和抗体存在下的哺乳动物细胞转导。

[0166] 在一些实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子展现与结合野生型AAV衣壳蛋白的中和抗体减少的结合。例如,所述感染性rAAV病毒粒子可展现与抗体和野生型AAV衣壳蛋白的结合亲和力相比与结合野生型衣壳AAV蛋白的中和抗体至少约1.5倍(例如,至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍、至少约12倍、至少约15倍、至少约17倍、至少约20倍、至少约25倍、至少约30倍、至少约40倍、至少约50倍、至少约75倍、至少约100倍、至少约150倍、至少约200倍、至少约250倍、至少约300倍等)减弱的结合(例如,降低的亲和力)。

[0167] 在一些实施方案中,抗AAV中和抗体以小于约 $10^{-7}$ M、小于约 $5 \times 10^{-6}$ M、小于约 $10^{-6}$ M、小于约 $5 \times 10^{-5}$ M、小于约 $10^{-5}$ M、小于约 $10^{-4}$ M或更小的亲和力结合至所述感染性rAAV病毒粒子。

[0168] 在一些实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子展现与野生型AAV相比增加的体内停留时间。例如,所述感染性rAAV病毒粒子展现与野生型AAV的停留时间相比至少约10%、至少约25%、至少约50%、至少约100%、至少约3倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或更多倍长的停留时间。

[0169] 给定的所述感染性rAAV病毒粒子是否展现与中和抗体减弱的结合和/或对中和抗体提高的抗性可使用本领域普通技术人员已知的任何便利的测定来确定。

[0170] 在一些实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子包含野生型Rep78、Rep68、Rep52、及Rep40蛋白。在其他实施方案中,所述感染性rAAV病毒粒子除一种或多种变体衣壳蛋白之外还包含在Rep78、Rep68、Rep52、及Rep40蛋白的一个或多个中的一个或多个突变。

[0171] 异源核酸

[0172] 供所述rAAV载体(例如,所述感染性rAAV病毒粒子)中使用的适合的异源DNA分子(在本文中也称为“异源核酸”)可以是任何异源核酸。在一些实施方案中,异源核酸包含编码多肽(例如,向靶细胞赋予某些所需特征的蛋白质,例如,允许细胞示踪的荧光蛋白、提供靶细胞中丢失或改变的活性的酶,等等)的核苷酸序列。在一些实施方案中,异源核酸包含RNA干扰剂(如上所定义)。

[0173] 所述异源核酸的大小一般小于约5千碱基(kb)且将包括例如编码受体个体或靶细胞中有缺陷或缺少的蛋白质的基因(核苷酸序列);编码具有所需生物或治疗效果(例如,抗细菌、抗病毒或抗肿瘤/抗癌功能)的蛋白质的基因;编码抑制或减少有害或另外不希望有的蛋白质的产生的RNA的核苷酸序列(例如,编码如上所定义的RNA干扰剂的核苷酸序列);和/或编码抗原蛋白的核苷酸序列。

[0174] 适合的异源核酸包括但不限于编码用于治疗以下疾病的蛋白质的核酸:内分泌、代谢、血液、心血管、神经、肌肉骨骼、泌尿、肺和免疫病症,包括如炎症病症、自身免疫病症、慢性和感染性病症(如获得性免疫缺陷综合症(AIDS)、癌症、高胆固醇血症;溶酶体贮积病,

如激活因子缺乏症/GM2神经节苷脂沉积症、 $\alpha$ -甘露糖苷过多症、天冬氨酰基葡萄糖胺尿、胆固醇酯贮积病、慢性己糖胺酶A缺乏症、胱氨酸过多症、Danon病、Fabry病、Farber病、岩藻糖苷贮积症、半乳糖唾液酸沉积症、戈谢病 (Gaucher disease)、GM1神经节苷脂沉积症、细胞内含物病/II型粘脂病、婴儿游离唾液酸贮积病/ISSD、幼年型己糖胺酶A缺乏症、克腊比病、溶酶体酸脂肪酶缺乏症、异染性脑白质营养不良、粘多糖症(包括假胡尔勒氏多种营养不良/IIIA型粘脂病、MPSI赫尔利综合征 (MPSI Hurler Syndrome)、MPSI沙伊综合征 (MPSI Scheie Syndrome)、MPS I赫尔利-沙伊综合征 (MPS I Hurler-Scheie Syndrome)、MPS II亨特综合征 (MPS II Hunter syndrome)、A型圣菲力浦综合征 (Sanfilippo syndrome)/MPS III A、B型圣菲力浦综合征/MPS III B、C型圣菲力浦综合征/MPS III C、D型圣菲力浦综合征/MPS III D、A型Morquio/MPS IVA、B型Morquio/MPS IVB、MPS IX透明质酸酶缺乏症、MPS VI Maroteaux-Lamy、MPS VII Sly综合征、I型粘脂病/唾液酸沉积症、IIIC型粘脂病、及IV型粘脂病)、多发性硫酸脂酶缺乏症、尼-皮二氏病 (Niemann-Pick Disease)、神经元蜡样脂褐质沉积症、蓬佩病 (Pompe disease)/II型糖原贮积病、致密性成骨不全症、桑德霍夫病 (Sandhoff disease)/成人发病/GM2神经节苷脂沉积症、桑德霍夫病/GM2神经节苷脂沉积症-婴儿型、桑德霍夫病/GM2神经节苷脂沉积症-幼年型、Schindler病、扎拉病 (Salla disease)/唾液酸贮积病、Tay-Sachs/GM2神经节苷脂沉积症、及沃尔曼病 (Wolman disease);胰岛素病症,如糖尿病、生长紊乱、各种血液病症,包括各种贫血症、地中海贫血和血友病;遗传缺陷,如囊性纤维化、高歇氏病 (Gaucher's Disease)、胡尔勒病 (Hurler's Disease)、腺苷脱氨酶 (ADA) 缺乏症、肺气肿等等。

[0175] 适合的异源核酸包括但不限于编码包括但不限于以下的多种蛋白质中的任一种的那些:干扰素(例如,IFN- $\gamma$ 、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\omega$ 、IFN- $\tau$ );胰岛素(例如,诺和灵、优泌林、优泌乐、来得时 (Humalog)、优乐停 (Lantus) 等);促红细胞生成素("EPO";例如,Procrit®、Eprex®、或 Epogen® (依泊汀- $\alpha$ );Aranesp® (达贝泊汀- $\alpha$ );NeoRecormon®、Epogin® (依泊汀- $\beta$ );等等);抗体(例如,单克隆抗体)(例如,Rituxan® (利妥昔单抗);Remicade® (英夫利昔单抗);Herceptin® (曲妥单抗);Humira™ (阿达木单抗);Xolair® (奥马佐单抗);Bexxar® (托西莫单抗);Raptiva™ (依法珠单抗);Erbitux™ (西妥昔单抗);Avastin® (贝伐单抗);等等),包括单克隆抗体的抗原结合片段(例如,Lucentis® (雷珠单抗));血液因子(例如,Activase® (阿替普酶)组织纤溶酶原活化蛋白;NovoSeven® (重组人因子VIIa);因子VIIa;因子VIII(例如,Kogenate®);因子IX; $\beta$ -球蛋白;血红蛋白;等等);集落刺激因子(例如,Neupogen® (非格司亭;G-CSF);Neulasta (聚乙二醇化非格司亭);粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞单核细胞集落刺激因子、巨噬细胞集落刺激因子、巨核细胞集落刺激因子;等等);生长激素(例如,生长激素(somatotropin),例如,Genotropin®、Nutropin®、Norditropin®、Saizen®、Serostim®、Humatrope® 等;人生长激素;等等);白介素(例如,IL-1;IL-2,包括例如,Proleukin®;IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9;等);生长因子(例如,Regranex® (becclapermin;PDGF);Fiblast® (曲弗明;bFGF);Stemgen® (安西司亭;干细胞因子);角质细胞生长因子;酸性成纤维细胞生长因子、

干细胞因子、碱性成纤维细胞生长因子、肝细胞生长因子；等等)；可溶性受体(例如，TNF- $\alpha$ 结合可溶性受体，如**Enbrel®**(依那西普)；可溶性VEGF受体；可溶性白介素受体；可溶性 $\gamma/\delta$ T细胞受体；等等)；酶(例如， $\alpha$ -葡糖苷酶；**Cerazyme®**(imiglucurase； $\beta$ -葡糖脑苷脂酶、**Ceredase®**(阿糖苷酶)；酶激活剂(例如，组织型纤溶酶原激活剂)；趋化因子(例如，IP-10；Mig；Gro $\alpha$ /IL-8；RANTES；MIP-1 $\alpha$ ；MIP-1 $\beta$ ；MCP-1；PF-4；等等)；血管生成剂(例如，血管内皮生长因子(VEGF)；抗血管生成剂(例如，可溶性VEGF受体)；蛋白疫苗；神经活性肽，如血管舒缓激肽、缩胆囊肽、胃泌素、分泌素、催产素、促性腺激素释放激素、 $\beta$ -内啡肽、脑啡肽、P物质、生长激素释放抑制因子、催乳素、甘丙肽、生长激素释放激素、韩蛙皮素、强啡肽、神经降压素、胃动素、促甲状腺激素、神经肽Y、黄体生成素、降血钙素、胰岛素、胰高血糖素、加压素、血管紧张素II、促甲状腺激素释放激素、血管活性肠肽、睡眠肽等；其他蛋白，如溶解血栓剂、心钠肽、骨形态发生蛋白、促血小板生成素、松弛素、胶质细胞原纤维酸性蛋白、促卵泡激素、人 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶、白血病抑制因子、转化生长因子、胰岛素样生长因子、黄体生成素、巨噬细胞活化因子、肿瘤坏死因子、嗜中性白细胞趋化因子、神经生长因子、金属蛋白酶的抑制组织抑制剂；血管活性肠肽、血管生成素、促血管素、纤维蛋白；水蛭素；白血病抑制因子；IL-1受体拮抗剂(例如，**Kineret®**(阿那白滞素))；离子通道，例如，囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CFTR)；肌营养不良蛋白(dystrophin)；utrophin(一种肿瘤抑制剂)；溶酶体酶 $\alpha$ -葡糖苷酶(GAA)；等等。适合的核酸还包括编码任何上述蛋白的功能性片段的那些；以及编码任何上述蛋白的功能性变体的核酸。

[0176] 适合的异源核酸还包括编码抗原蛋白的那些。包含编码抗原蛋白的异源核酸的所述rAAV载体适用于在哺乳动物宿主中刺激对抗原蛋白的免疫应答。抗原蛋白来源于自身抗原、变应原、肿瘤/癌症相关抗原、致病病毒、致病细菌、致病原虫、致病蠕虫、或感染哺乳动物宿主的任何其他致病生物。如本文所用，术语“编码源自……的抗原蛋白的核酸”包括编码野生型抗原蛋白的核酸，例如，从编码病毒蛋白的致病病毒中分离的核酸；在实验室中生成的编码与天然存在的抗原蛋白在氨基酸序列方面相同的抗原蛋白的合成核酸；在实验室中生成的编码与天然存在的抗原蛋白在氨基酸序列方面不同(例如，1个氨基酸至约15个氨基酸)但仍诱导对相应的天然存在的抗原蛋白的免疫应答的抗原蛋白的合成核酸；在实验室中生成的编码抗原蛋白片段(例如，约5个氨基酸至约50个氨基酸的片段，该片段包含一个或多个抗原表位)的合成核酸，所述片段诱导对相应的天然存在的抗原蛋白的免疫应答；等等。

[0177] 类似地，“源自于”自身抗原、变应原、肿瘤/癌症相关抗原、致病病毒、致病细菌、致病原虫、致病蠕虫、或感染哺乳动物宿主的任何其他致病生物的抗原蛋白包括与天然存在的抗原蛋白在氨基酸序列方面相同的蛋白、以及与天然存在的抗原蛋白在氨基酸序列方面不同(例如，1个氨基酸至约15个氨基酸)但仍诱导对相应的天然存在的抗原蛋白的免疫应答的蛋白；及抗原蛋白的片段(例如，约5个氨基酸至约100个氨基酸的片段，例如约5个至约50个氨基酸，该片段包含一个或多个抗原表位)，所述片段诱导对相应的天然存在的抗原蛋白的免疫应答。

[0178] 在一些实施方案中，对由所述rAAV载体编码的抗原蛋白的免疫应答将在哺乳动物宿主中刺激对呈现抗原蛋白或抗原表位(或与编码rAAV的抗原蛋白或抗原表位有交叉反应

的蛋白或表位)的致病生物的保护性免疫应答。在一些实施方案中,对编码rAAV的抗原蛋白的细胞毒性T淋巴细胞(CTL)应答将在哺乳动物宿主中诱导。在其他实施方案中,对编码rAAV的抗原蛋白的体液应答将在哺乳动物宿主中诱导,以使得生成对抗原蛋白有特异性的抗体。在许多实施方案中,对编码rAAV的抗原蛋白的TH1免疫应答将在哺乳动物宿主中诱导。适合的抗原蛋白包括肿瘤/癌症相关抗原、病毒抗原、细菌抗原、以及原虫抗原;及其抗原性片段。在一些实施方案中,抗原蛋白源自于细胞内病原体。在其他实施方案中,抗原蛋白是自体抗原。在其他实施方案中,抗原蛋白是变应原。

[0179] 肿瘤/癌症特异性抗原包括但不限于各种MAGE(黑素瘤相关抗原E)中的任一种,包括MAGE 1(例如,GenBank登记号M77481)、MAGE 2(例如,GenBank登记号U03735)、MAGE 3、MAGE 4等;各种酪氨酸酶中的任一种;突变ras;突变p53(例如,GenBank登记号X54156和AA494311);以及p97黑素瘤抗原(例如,GenBank登记号M12154)。其他肿瘤/癌症特异性抗原包括与晚期癌症有关的Ras肽和p53肽、与子宫颈癌有关的HPV 16/18和E6/E7抗原、与乳癌有关的MUCI1-KLH抗原(例如,GenBank登记号J03651)、与结肠直肠癌有关的CEA(癌胚抗原)(例如,GenBank登记号X98311)、与黑素瘤有关的gp100(例如,GenBank登记号S73003)或MART1抗原、以及与前列腺癌有关的PSA抗原(例如,GenBank登记号X14810)。p53基因序列是已知的(参见,例如Harris等人(1986) *Mol. Cell. Biol.*, 6:4650-4656)且以GenBank登记号M14694保藏。因此,所述蛋白质、核酸和/或病毒粒子可作用于包括但不限于以下癌症的免疫治疗剂:子宫颈癌、乳癌、结肠直肠癌、前列腺癌、肺癌,以及用于黑素瘤。

[0180] 病毒抗原源自于造成包括但不限于以下疾病的已知病原体:麻疹、腮腺炎、风疹、脊髓灰质炎、甲型肝炎、乙型肝炎(例如GenBank登记号E02707)和丙型肝炎(例如,GenBank登记号E06890)、以及其他肝炎病毒、流感、腺病毒(例如,4型和7型)、狂犬病(例如,GenBank登记号M34678)、黄热病、日本脑炎(例如,GenBank登记号E07883)、登革热(例如,GenBank登记号M24444)、汉坦病毒、以及人类免疫缺陷病毒(例如,GenBank登记号U18552)。

[0181] 适合的细菌和寄生虫抗原包括源自于造成包括但不限于以下疾病的已知病原体的那些抗原:白喉、百日咳(例如,GenBank登记号M35274)、破伤风(例如,GenBank登记号M64353)、肺结核、细菌及真菌性肺炎(例如,流感嗜血杆菌、肺炎肺炎囊虫等)、霍乱、伤寒、瘟疫、志贺氏菌病、沙门氏菌病(例如,GenBank登记号L03833)、军团菌病(Legionnaire's Disease)、莱姆病(例如,GenBank登记号U59487)、疟疾(例如,GenBank登记号X53832)、钩虫病、盘尾丝虫病(例如,GenBank登记号M27807)、血吸虫病(例如,GenBank登记号L08198)、锥虫病、利什曼病、贾第鞭毛虫病(例如,GenBank登记号M33641)、阿米巴病、丝虫病(例如,GenBank登记号J03266)、莱姆包柔螺旋体病、以及旋毛虫病。

[0182] 编码异源基因产物的适合的异源核酸包括非翻译RNA,如RNAi试剂(如上文更详细地描述)(例如,反义RNA;siRNA;shRNA;双链RNA(dsRNA);CRISPR试剂,例如Cas9或Cas9样蛋白、crRNA样RNA、tracrRNA样RNA、单指导RNA和/或供体多核苷酸;等等)、核糖酶等。RNAi试剂可用于抑制基因表达。一些RNAi试剂提供可随后用于抑制基因表达的工具(例如,CRISPR试剂,如cas9或cas9样蛋白)。

[0183] 靶基因包括编码有害的(例如病理的)靶基因产物(RNA或蛋白质)的任何基因,例如,功能障碍的靶基因产物(例如,由于在编码的蛋白质序列中的突变,由于在控制基因产物的稳态水平的非编码序列中的突变,等等)。靶基因产物包括但不限于:亨廷顿;丙型肝炎

病毒；人类免疫缺陷病毒；淀粉状蛋白前体蛋白质；tau；包括聚谷氨酰胺重复的蛋白质；疱疹病毒（例如，水痘带状疱疹）；任何致病病毒；等等。

[0184] 因此，包括编码RNAi试剂的异源核酸的所述rAAV适用于治疗包括但不限于以下的多种病症和病状：神经变性疾病，例如，三核苷酸重复疾病，如与聚谷氨酰胺重复有关的疾病，例如亨廷顿舞蹈病、脊髓小脑共济失调、脊髓延髓肌萎缩（SBMA）、齿状核红核苍白球路易体萎缩（DRPLA）等；获得性病理现象（例如，由异常的生理、生化、细胞、结构、或分子生物状态所表现的疾病或综合征），如病毒感染，例如，作为HCV感染结果或可能作为HCV感染结果的肝炎、作为HIV感染结果的获得性免疫缺陷综合征；癌症等等。

[0185] 在许多实施方案中，编码RNAi试剂的异源核酸可操作地连接至启动子。适合的启动子为本领域技术人员已知且包括任何蛋白编码基因的启动子，例如内源性调节基因或组成型表达基因的启动子。例如，可将由细胞生理活动（例如，热休克、氧水平和/或一氧化碳水平，例如缺氧时）所调节的基因的启动子可操作地连接于siRNA编码核酸。

[0186] 选择的异源核苷酸序列（如，编码EPO的或感兴趣的核酸）可操作地连接于指导该核苷酸序列的体内转录或表达的控制元件。这种控制元件可含有通常与所选择的基因（例如，内源性细胞控制元件）相连的控制序列。或者，可采用异源控制序列。有用的异源控制序列一般包括源自于编码哺乳动物或病毒基因序列的那些异源控制序列。实例包括但不限于SV40早期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒长末端重复（LTR）启动子；腺病毒主要晚期启动子（Ad MLP）；单纯疱疹病毒（HSV）启动子、对于感兴趣的基因是异源的内源细胞启动子、巨细胞病毒（CMV）启动子如CMV立即早期启动子区域（CMVIE）、劳氏肉瘤病毒（RSV）启动子、合成启动子、杂合启动子等等。另外，本文也使用源自于非病毒基因如鼠金属硫蛋白基因的序列。这种启动子序列可从例如Stratagene（San Diego, Calif.）商购获得。

[0187] 在一些实施方案中，细胞类型特异性或组织特异性启动子将可操作连接至编码异源基因产物的异源核酸，以使得该基因产物在特定的细胞类型或组织中选择性地或优先地产生。在一些实施方案中，诱导性启动子将可操作连接至异源核酸。

[0188] 例如，肌肉特异性和诱导性启动子、增强子等适用于将基因产物递送至肌细胞。这种控制元件包括但不限于：源自于肌动蛋白和肌球蛋白基因家族的那些控制元件，如来自myoD基因家族；肌细胞特异性增强子结合因子MEF-2；源自于人骨骼肌动蛋白基因和心脏肌动蛋白基因的控制元件；肌肉肌酸激酶序列元件及鼠肌酸激酶增强子（mCK）元件；源自于骨骼快收缩肌钙蛋白C基因、慢收缩心脏肌钙蛋白C基因及慢收缩肌钙蛋白I基因的控制元件；低氧诱导性核因子；类固醇诱导性元件及启动子，如糖皮质激素反应元件（GRE）；用于RU486诱导的融合一致元件；以及提供用于四环素调控基因表达的元件。

[0189] 具有和AAV ITR相连的感兴趣的DNA分子（异源DNA）的AAV表达载体可通过将所选择的序列直接插入到切除了主要AAV开放阅读框（“ORF”）的AAV基因组来构建。AAV基因组的其他部分也可以缺失，只要保留足够部分的ITR以允许复制和包装功能。这种构建体可使用本领域中公知的技术来设计。参见，例如美国专利号5,173,414和5,139,941；国际公布号W0 92/01070（1992年1月23日公布）和W0 93/03769（1993年3月4日公布）；Lebkowski等人（1988）Molec.Cell.Biol.8:3988-3996；Vincent等人（1990）Vaccines 90（Cold Spring Harbor Laboratory Press）；Carter, B.J.（1992）Current Opinion in Biotechnology 3: 533-539；Muzyczka, N.（1992）Current Topics in Microbiol.and Immunol.158:97-129；



Kotin, R.M. (1994) *Human Gene Therapy* 5:793-801; Shelling and Smith (1994) *Gene Therapy* 1:165-169; 以及 Zhou 等人 (1994) *J. Exp. Med.* 179:1867-1875。

[0190] 或者, AAV ITR 可以由病毒基因组或由 AAV 载体上切除获得, 所述 AAV 载体包含病毒基因组且使用本领域技术人员已知的任何便利方法将其与存在于另一个载体中的选定核酸构建体的 5' 和 3' 端融合。例如, 一种适合的手段使用标准连接技术, 如描述于 Sambrook 等人, 同上中的那些。例如, 可在 20mM Tris-Cl pH 7.5、10mM MgCl<sub>2</sub>、10mM DDT、33μg/ml BSA、10mM-50mM NaCl, 和 40μM ATP、0.01-0.02 (Weiss) 单位 T4DNA 连接酶在 0°C 至 16°C (用于“粘性末端”连接) 或 1mM ATP、0.3-0.6 (Weiss) 单位 T4DNA 连接酶在 14°C (用于“钝端”连接) 下完成连接。分子间“粘性末端”连接通常在 30-100μg/ml 总 DNA 浓度 (5-100nM 总的终浓度) 下进行。含有 ITR 的 AAV 载体已描述于例如美国专利号 5,139,941 中。具体说来, 若干 AAV 载体描述于其中, 它们是以登记号 53222、53223、53224、53225 及 53226 获自美国典型培养物保藏中心 (“ATCC”)。

[0191] 另外, 嵌合基因可合成地产生, 以包括排列一个或多个选定的核酸序列 5' 和 3' 端的 AAV ITR 序列。可以使用哺乳动物肌细胞中用于表达嵌合基因序列的优选密码子。完全嵌合序列由通过标准方法制备的重叠寡聚核苷酸装配。参见, 例如 Edge, *Nature* (1981) 292:756; Nambair 等人 *Science* (1984) 223:1299; Jay 等人 *J. Biol. Chem.* (1984) 259:6311。

[0192] 所述感染性 rAAV 病毒粒子的生成

[0193] 经由引入, 通常采用宿主或“生产者”细胞用于 rAAV 载体复制和包装。这种生产者细胞 (通常是哺乳动物宿主细胞) 一般包含或被修饰以包含若干不同类型的组分用于 rAAV 产生。第一组分是可被宿主包装细胞复制并包装到载体粒子中的重组腺相关病毒 (rAAV) 载体基因组 (或“rAAV 原载体”)。既然将这种转基因包装到 rAAV 载体粒子中可有效地用于将转基因递送至多种哺乳动物细胞, rAAV 原载体通常将包含在基因疗法中在遗传上改变另一种细胞所需的异源多核苷酸 (或“转基因”)。转基因通常侧接有两个 AAV 反向末端重复序列 (ITR), 该序列含有在 AAV 载体的切除、复制和包装过程中以及在该载体整合入宿主细胞基因组的过程中识别的序列。

[0194] 第二组分是可提供用于 AAV 复制的辅助功能物的辅助病毒。虽然通常采用腺病毒, 但是其他辅助病毒也可如本领域中已知来使用。或者, 所需的辅助病毒功能物可从辅助病毒中遗传地分离并且编码基因可用于以反式提供辅助病毒功能物。AAV 载体元件和辅助病毒 (或辅助病毒功能物) 可同时或依次以任何顺序引入宿主细胞中。

[0195] 生产者细胞中有待提供的用于 AAV 产生的最终组分是“AAV 包装基因”, 如分别提供复制和衣壳化蛋白的 AAV rep 和 cap 基因。可提供几种不同形式的 AAV 包装基因 (包括 rep-cap 表达盒与分开的 rep 和/或 cap 表达盒), 其中 rep 和/或 cap 基因可被置于天然启动子或可操作连接的异源启动子的控制下。可将这种 AAV 包装基因瞬时或稳定地引入宿主包装细胞, 这是本领域已知的并详述于下文中。

[0196] 1. rAAV 载体

[0197] 含有感兴趣的异源 DNA 的所述 rAAV 病毒粒子 (其中“感兴趣的异源 DNA”在本文还被称为“异源核酸”) 可使用本领域技术人员已知的标准方法产生。这些方法通常涉及以下步骤: (1) 将所述 rAAV 载体引入宿主细胞; (2) 将 AAV 辅助构建体引入宿主细胞, 其中辅助构建体包含的 AAV 编码区域能在宿主细胞中表达来补充 AAV 载体所缺乏的 AAV 辅助功能物; (3) 将

一种或多种辅助病毒和/或附属功能载体引入宿主细胞,其中辅助病毒和/或附属功能载体提供能在宿主细胞中支持重组AAV(“rAAV”)病毒粒子有效产生的附属功能物;以及(4)培养该宿主细胞来产生rAAV病毒粒子。AAV表达载体、AAV辅助构建体和辅助病毒或附属功能载体可使用标准转染技术同时或连续引入宿主细胞。

[0198] 使用已知技术构建AAV表达载体来至少提供作为以转录方向操作性相连的组分的控制元件,所述元件包括转录起始区、感兴趣的DNA和转录终止区。选择在哺乳动物肌细胞中有功能的控制元件。包含操作性连接组分的所得构建体以功能性AAV ITR序列为边界(5'和3')。

[0199] AAV ITR区域的核苷酸序列是已知的。关于AAV-2序列,参见,例如Kotin,R.M.(1994) Human Gene Therapy 5:793-801;Berns,K.I.“Parvoviridae and their Replication”in Fundamental Virology,第2版,(B.N.Fields和D.M.Knipe编著)。用于本发明载体中的AAV ITR不需要有野生型核苷酸序列,并且是可以改变的,例如,通过核苷酸的插入、缺失或取代。另外,AAV ITR可源自于几种AAV血清型中的任一种,包括但不限于AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-7等。此外,AAV表达载体中侧接所选择的核苷酸序列的5'和3' ITR不一定是相同的或由相同的AAV血清型或分离株衍生,只要它们的功能是想要的,即允许由宿主细胞基因组或载体切除和挽救感兴趣的序列,并且当AAV Rep基因产物存在于细胞中时允许整合DNA分子到受体细胞基因组中。ITR允许在Rep蛋白的适当混合物存在下复制载体序列。ITR还允许载体序列并入到衣壳中以生成AAV粒子。

[0200] 为了产生rAAV病毒粒子,使用已知的技术,如通过转染将AAV表达载体引入适合的宿主细胞中。许多转染技术一般在本领域中是已知的。参见,例如Graham等人(1973) Virology,52:456,Sambrook等人(1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Davis等人(1986) Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier, 以及Chu等人(1981) Gene 13:197。特别适合的转染方法包括磷酸钙共沉淀(Graham等人(1973) Virol. 52:456-467)、直接微量注射到培养细胞中(Capecchi, M.R. (1980) Cell 22:479-488)、电穿孔(Shigekawa等人(1988) BioTechniques 6:742-751)、脂质体介导的基因转移(Mannino等人(1988) BioTechniques 6:682-690)、脂质介导的转导(Felgner等人(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413-7417)、以及使用高速微粒的核酸递送(Klein等人(1987) Nature 327:70-73)。

[0201] 出于本公开的目的,用于产生rAAV病毒粒子的适合的宿主细胞包括微生物、酵母细胞、昆虫细胞、以及哺乳动物细胞,其可以或已被用作异源DNA分子的受体。该术语包括已被转染的原始细胞的后代。因此,用于产生rAAV病毒粒子的“宿主细胞”一般是指用外源性DNA序列转染的细胞。来自稳定的人细胞系293(容易例如以登记号ATCC CRL1573获自美国典型培养物保藏中心)的细胞在许多实施方案中使用。具体来说,人细胞系293是用5型腺病毒DNA片段转化(Graham等人(1977) J. Gen. Virol. 36:59)并且表达腺病毒E1a和E1b基因(Aiello等人(1979) Virology 94:460)的人胚肾细胞系。293细胞系是容易被转染的,并且提供特别便利的平台以在其中产生rAAV病毒粒子。

[0202] 2. AAV辅助功能

[0203] 包含上述AAV表达载体的宿主细胞必须有能力提供AAV辅助功能物,以便复制和使侧接有AAV ITR的核苷酸序列衣壳化以产生rAAV病毒粒子。AAV辅助功能物通常是AAV-衍生

的编码序列,该序列可被表达来提供AAV基因产物,进而对生产性AAV复制起反式作用。本文使用AAV辅助功能以补充AAV表达载体失去的必要的AAV功能。因此,AAV辅助功能物包括主要AAV ORF (即rep和cap编码区域) 中的一个或两个、或其功能同系物。在本公开的上下文中, cap功能物包括一种或多种突变的衣壳蛋白,其中至少一种衣壳蛋白含有至少一个如上所述的突变。

[0204] “AAV rep编码区域”是指本领域公认的编码复制蛋白Rep 78、Rep68、Rep 52及Rep 40的AAV基因组的区域。这些Rep表达产物已显示拥有多种功能,包括AAV DNA复制的起点的识别、结合和产生切口、DNA解旋酶活性和调节AAV (或其他异源) 启动子转录。Rep表达产物共同需要用于复制AAV基因组。关于AAV rep编码区域的描述,参见,例如Muzyczka, N. (1992) *Current Topics in Microbiol. and Immunol.* 158:97-129; 及Kotin, R.M. (1994) *Human Gene Therapy* 5:793-801。AAV rep编码区域的适合的同系物包括人疱疹病毒6 (HHV-6) rep基因,已知该基因也介导AAV-2DNA复制 (Thomson等人 (1994) *Virology* 204:304-311)。

[0205] AAV cap蛋白包括VP1、VP2、及VP3,其中VP1、VP2、及VP3中的至少一个包含至少一个如上所述的突变。

[0206] AAV辅助功能物通过在AAV表达载体转染之前或同时用AAV辅助构建体转染宿主细胞被引入宿主细胞。AAV辅助构建体由此用于至少提供AAV rep和/或cap基因的瞬时表达以补充生产性AAV感染所必需的丢失的AAV功能物。AAV辅助构建体缺少AAV ITR并且不能自我复制和包装。这些构建体可呈质粒、噬菌体、转位子、装配型质粒、病毒、或病毒粒子形式。已经描述编码Rep和Cap表达产物的许多AAV辅助构建体,如常用的质粒pAAV/Ad和pIM29+45。参见,例如Samulski等人 (1989) *J. Virol.* 63:3822-3828; 及McCarty等人 (1991) *J. Virol.* 65:2936-2945。已经描述编码Rep和/或Cap表达产物的许多其他载体。参见,例如美国专利号5,139,941。

[0207] AAV表达载体和AAV辅助构建体都可被构建以含有一个或多个任选可选择标记。合适的标记包括当细胞在适当的选择性培养基中生长时,向使用包含可选择标记的核酸构建体转染的细胞赋予抗生素抗性或敏感性、赋予颜色或改变其抗原特征的基因。在本公开的实践方法中可用的几个可选择的标记基因包括潮霉素B抗性基因 (编码氨基糖苷磷酸转移酶 (APH)), 通过赋予潮霉素抗性允许在哺乳动物细胞中进行选择; 新霉素磷酸转移酶基因 (编码新霉素磷酸转移酶), 通过赋予抗G418抗性允许在哺乳动物细胞中进行选择; 等等。其他适合的标记为本领域技术人员所知。

[0208] 3. AAV附属功能物

[0209] 宿主细胞 (或包装细胞) 必须也是具有提供非AAV-衍生功能物或“附属功能物”的能力,以便产生rAAV病毒体。附属功能物是AAV复制所依赖的非AAV衍生的病毒和/或细胞功能物。因此,附属功能物包括至少AAV复制需要的那些非AAV蛋白和RNA,包括涉及以下过程的那些: AAV基因转录的活化、阶段特异性AAV mRNA剪接、AAV DNA复制、Cap表达产物的合成和AAV衣壳装配。基于病毒的附属功能物可源自于任何已知的辅助病毒。

[0210] 具体来说,附属功能物可以通过本领域技术人员已知的方法引入并继而在宿主细胞中表达。附属功能物通常通过用无关的辅助病毒感染宿主细胞来提供。已知许多适合的辅助病毒,包括腺病毒; 疱疹病毒如1型和2型单纯疱疹病毒; 及牛痘病毒。本文还使用非病

毒附属功能物,例如通过应用任何不同的已知试剂使细胞同步所提供的那些。参见,例如 Buller等人(1981) *J. Virol.* 40:241-247; McPherson等人(1985) *Virology* 147:217-222; Schlehofer等人(1986) *Virology* 152:110-117。

[0211] 或者,附属功能物可使用附属功能载体来提供。附属功能载体包括提供一个或多个附属功能物的核苷酸序列。附属功能载体能够被引入适合的宿主细胞中以便支持在宿主细胞中有效产生AAV病毒粒子。附属功能载体可呈质粒、噬菌体、转位子、装配型质粒、或另一种病毒形式。附属载体的形式也可以是一种或多种线性化的DNA或RNA片段,当其与控制元件或酶相连时,这些片段可在宿主细胞中转录或表达来提供附属功能物。

[0212] 提供附属功能物的核酸序列可从天然来源处获得,如来自腺病毒粒子的基因组,或使用本领域中已知的重组或合成方法来构建。就此而言,已对腺病毒衍生的附属功能物进行广泛研究,并且附属功能物所涉及的许多腺病毒基因已得到鉴别并部分地表征。参见,例如Carter, B.J. (1990) "Adeno-Associated Virus Helper Functions," *CRC Handbook of Parvoviruses*, 第I卷(P. Tijssen 编著)及Muzyczka, N. (1992) *Curr. Topics. Microbiol. and Immun.* 158:97-129。具体来说,早期腺病毒基因区域E1a、E2a、E4、VAI RNA及(可能地)E1b被认为参与附属过程。Janik等人(1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1925-1929。已对疱疹病毒衍生的附属功能物进行了描述。参见,例如Young等人(1979) *Prog. Med. Virol.* 25:113。还对牛痘病毒衍生的附属功能物进行了描述。参见,例如Carter, B.J. (1990), 同上, Schlehofer等人(1986) *Virology* 152:110-117。

[0213] 作为用辅助病毒感染宿主细胞或用附属功能载体转染宿主细胞的结果,附属功能物表达反式激活AAV辅助构建体以产生AAV Rep和/或Cap蛋白。Rep表达产物从AAV表达载体上切除重组DNA(包括感兴趣的DNA,例如异源核酸)。Rep蛋白还用来复制AAV基因组。所表达的Cap蛋白装配成衣壳,并且重组AAV基因组被包装到衣壳中。因此,接着生产性AAV复制,并将DNA包装到rAAV病毒粒子中。

[0214] 重组AAV复制后,可使用多种常规的纯化方法(如CsCl梯度)从宿主细胞中纯化rAAV病毒粒子。此外,如果用感染来表达附属功能,那么残余的辅助病毒可用已知方法灭活。例如,可通过加热至温度约60℃持续例如20分钟或更长时间使腺病毒失活。由于AAV是对热非常稳定的,而辅助腺病毒是热不稳定的,所以这样的处理仅对辅助病毒有效的灭活。

[0215] 得到的rAAV病毒粒子然后可用于DNA递送(如用于基因疗法)或用于递送基因产物至哺乳动物宿主。

[0216] 递送异源核酸

[0217] 本公开还提供将异源核酸递送至靶细胞和/或需要其的个体的方法。在一些实施方案中,需要其的个体是先前已经天然地暴露于AAV且因此具有抗AAV抗体(即AAV中和抗体)的人。基于涉及向例如肝、肌肉、及视网膜(所有组织都受到针对此媒介物的中和抗体的影响)递送AAV基因的临床试验中的积极结果,存在许多这类治疗性应用/疾病靶标。

[0218] 所述方法一般涉及:(i)施用有效量的所述rAAV病毒粒子至个体,和/或(ii)使靶细胞与所述病毒粒子接触。一般来说,使用体内("直接")或体外("间接")转导技术向受试者施用rAAV病毒粒子。如果在体外("间接")转导,那么可将所需的受体细胞(即"靶细胞")从个体中除去,用rAAV病毒粒子转导并且再引入到个体中。或者,可使用同基因或异基因细

胞,其中那些细胞不会在个体中产生不恰当的免疫应答。

[0219] 已经描述适用于递送和引入所转导的靶细胞到个体中的方法。例如,可通过在合适的培养基中使重组AAV病毒粒子与细胞结合,并使用常规技术,如DNA印迹和/或PCR,或通过使用可选择的标记来筛选具有感兴趣的DNA的那些细胞来进行细胞体外转导。转导的细胞然后可被配制到药物组合物中,如下更充分地描述,并且组合物通过各种技术,如通过肌肉、静脉内、皮下及腹膜内注射被引入受试者。

[0220] 为进行体内(即“直接”)递送,rAAV病毒粒子可配制到药物组合物中并一般通过胃肠外(例如,通过肌肉、皮下、肿瘤内、经皮、鞘内、静脉内等施用)途径施用。

[0221] 药物组合物将包含足够量的遗传物质来产生治疗有效量的感兴趣的基因表达产物,即其量足以减轻或缓解所讨论的疾病状态的症状或足以带来所需的益处。药物组合物还含有药学上可接受的赋形剂。所述赋形剂包括任何这样的药剂,所述药剂本身不诱导产生对接受所述组合物的个体有害抗体,并且施用时没有不适当的毒性。药学上可接受的赋形剂包括但不限于液体如水、盐水、甘油及乙醇。药学上可接受的盐也可包括在内,例如,无机酸盐,如盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐等等;以及有机酸盐,如乙酸盐、丙酸盐、丙二酸盐、苯甲酸盐等等。此外,这类媒介物中还可能存在辅助性物质,如润湿剂或乳化剂、pH缓冲物质等。广泛多种药学上可接受的赋形剂在本领域中是已知的并且不必在本文中详述。药学上可接受的赋形剂已经充分地在多个出版物中描述,包括,例如A.Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of Pharmacy,”第20版,Lippincott,Williams,& Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel 等人编著,第7版,Lippincott,Williams,& Wilkins; 及 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe 等人编著,第3版 Amer. Pharmaceutical Assoc.

[0222] 适当的剂量将取决于除了其他因素之外所治疗的哺乳动物(例如,人或非人灵长类动物或其他哺乳动物)、有待治疗的受试者的年龄和一般状况、所治疗病状的严重性、所讨论的具体治疗性蛋白质、其施用方式。适当的有效量可容易由本领域技术人员确定。

[0223] 因此,“治疗有效量”将落入相对较宽的范围,该范围可通过临床试验确定。例如,为进行体内注射(即直接注射至骨骼肌或心肌),治疗有效剂量将大约为约 $10^6$ 至约 $10^{15}$ 个rAAV病毒粒子,例如约 $10^8$ 至 $10^{12}$ 个rAAV病毒粒子。为进行体外转导,有待递送到细胞的rAAV病毒粒子的有效量大约为约 $10^8$ 至约 $10^{13}$ 个rAAV病毒粒子。本领域的普通技术人员可通过建立剂量反应曲线的常规试验来容易地确定其他有效剂量。

[0224] 剂量治疗可以是单剂量方案或多次剂量方案。此外,受试者可适当地施用多次剂量。本领域技术人员容易确定适当的剂量数目。

[0225] 当术语感兴趣的细胞(即“靶细胞”)是指分类为哺乳动物的任何动物,包括人、家畜和农畜、以及动物园动物、实验室动物、运动或宠物动物,如狗、马、猫、奶牛、小鼠、大鼠、兔等时,感兴趣的细胞通常是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,靶细胞是人细胞。

[0226] 感兴趣的靶细胞包括易受所述rAAV病毒粒子感染的任何细胞。在一些情况下,例如,当所述方法是向靶细胞递送异源核酸的方法时,靶细胞可以是个体中除去的细胞(例如,“原代”细胞),或靶细胞可以是组织培养细胞(例如,来自已建立的细胞系)。

[0227] 示例性靶细胞包括但不限于肝细胞、胰腺细胞(例如,胰岛细胞: $\alpha$ 细胞、 $\beta$ 细胞、 $\delta$ 细胞、 $\gamma$ 细胞和/或 $\epsilon$ 细胞)、骨骼肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞、视网膜细胞、滑膜关节细胞、

肺细胞、T细胞、神经元、神经胶质细胞、干细胞、造血祖细胞、神经祖细胞、内皮细胞、以及癌细胞。示例性干细胞靶细胞包括但不限于造血干细胞、神经干细胞、神经嵴干细胞、胚胎干细胞、诱导的多能干细胞(iPS细胞)、间充质干细胞、中胚层干细胞、肝脏干细胞、胰腺干细胞、肌肉干细胞、以及视网膜干细胞。

[0228] 文中使用的术语“干细胞”是指能自我更新并产生分化后代的哺乳动物细胞(参见,例如Morrison等人(1997) Cell 88:287-298)。干细胞通常也具有以下一种或多种性质:进行非同步或对称性复制的能力,如此分裂后产生的两个子细胞可具有不同的表型;广泛的自我更新能力;以有丝分裂静止形式存在的能力;以及其存在的所有组织中无性再生能力,例如造血干细胞重建所有造血谱系的能力。如本领域的普通技术人员所理解,“祖细胞”与干细胞的区别在于它们通常不具有广泛的自我更新能力并且经常可在它们所衍生的组织中产生谱系的更受限制的亚群,例如仅能产生造血系统中的淋巴谱系或红细胞谱系。如本文所用,术语“干细胞”包括如上所定义的“干细胞”和“祖细胞”两者。

[0229] 干细胞的特征是在与用抗体鉴定的特异性表位结合的标记,并且不存在通过缺乏与特异性抗体的结合而鉴定的某些标记。干细胞也可通过体外和体内的功能性测定来鉴定,特别是涉及干细胞产生多重分化后代能力的测定。

[0230] 感兴趣的适合的干细胞包括但不限于:造血干细胞和由此衍生的祖细胞(美国专利号5,061,620);神经嵴干细胞(参见Morrison等人(1999) Cell 96:737-749);神经干细胞和神经祖细胞;胚胎干细胞;间充质干细胞;中胚层干细胞;肝脏干细胞、肌肉干细胞、视网膜干细胞、诱导的多能干细胞(iPS细胞)等。感兴趣的其他造血“祖”细胞包括属于淋巴细胞系的细胞,例如,未成熟的T细胞和B细胞群。

[0231] 可使用干细胞或祖细胞的纯化群。例如,人造血干细胞可使用对CD34、thy-1有特异性的抗体来阳性选择;或者使用可包括血型糖蛋白A、CD3、CD24、CD16、CD14、CD38、CD45RA、CD36、CD2、CD19、CD56、CD66a、以及CD66b的谱系特异性标记、T细胞特异性标记、肿瘤/癌症特异性标记等来阴性选择。适用于分离中胚层干细胞的标记包括:Fc $\gamma$ RII、Fc $\gamma$ RIII、Thy-1、CD44、VLA-4 $\alpha$ 、LFA-1 $\beta$ 、HSA、ICAM-1、CD45、Aa4.1、Sca-1等等。神经嵴干细胞可使用对低亲和力神经生长因子受体(LNGFR)有特异性抗体来阳性选择,和使用标记硫苷脂、胶质细胞原纤维酸性蛋白(GFAP)、髓鞘蛋白P<sub>0</sub>、外周蛋白和神经丝来阴性选择。人间充质干细胞可使用标记SH2、SH3及SH4来阳性地分离。

[0232] 所采用的靶细胞可以是新鲜的、冷冻的、或已经历先前培养。它们可以是胎儿、婴儿、成人。造血干细胞可得自胎儿肝脏、骨髓、血液、特别是G-CSF或GM-CSF动员的外周血或任何其他常规来源。使干细胞与造血谱系的其他细胞或其他谱系分离的方式对本公开而言不重要。如上所述,基本上同源的干细胞群或祖细胞群可通过选择性分离这样的细胞来获得,这些细胞不存在与分化细胞相关的标记但显示与干细胞相关的表位特征。

[0233] 可递送给个体的核酸包括任何以上所定义的异源核酸。可使用所述方法递送的蛋白还包括上述蛋白中的任一种的功能性片段;及上述蛋白中的任一种的功能性变体。

[0234] 在一些实施方案中,蛋白质的治疗有效量是在哺乳动物宿主中产生。使用所述方法是否在哺乳动物宿主中产生具体蛋白质的治疗有效量使用适合于具体蛋白质的测定来容易地确定。例如,当该蛋白质是EPO时,那么测量血细胞比容。

[0235] 当rAAV编码抗原蛋白时,可使用所述方法递送至个体的合适的抗原蛋白包括但不

限于：肿瘤/癌症相关抗原、自身抗原（“自体”抗原）、病毒抗原、细菌抗原、原虫抗原和过敏原；及其抗原片段。在一些实施方案中，对编码rAAV的抗原蛋白的细胞毒性T淋巴细胞（CTL）应答将在哺乳动物宿主中诱导。在其他实施方案中，对编码rAAV的抗原蛋白的体液应答将在哺乳动物宿主中诱导，以使得生成对抗原蛋白有特异性的抗体。在许多实施方案中，对编码rAAV的抗原蛋白的TH1免疫应答将在哺乳动物宿主中诱导。使用建立好的方法可容易地确定针对抗原蛋白的免疫应答是否产生。例如，酶联免疫吸附测定可用于确定针对抗原蛋白的抗体是否产生。检测抗原特异性CTL的方法在本领域中是公知的。例如，可利用在其表面表达该抗原蛋白的含有可检测标记的靶细胞来测定血液样品中抗原特异性CTL的存在。

[0236] 治疗有效量的异源核酸（例如，编码多肽的核酸、RNAi试剂等）是否可使用所述方法递送至哺乳动物宿主可使用任何合适的测定来容易地确定。例如，当基因产物是抑制HIV的RNAi试剂时，可测量病毒负荷量。

[0237] 生成和鉴定修饰的rAAV病毒粒子的方法

[0238] 本公开提供一种生成和鉴别修饰的感染性重组腺相关病毒（rAAV）病毒粒子的方法，所述病毒粒子包含变体衣壳蛋白，该蛋白含有具有至少一个与起始AAV衣壳蛋白相比的氨基酸取代（包括缺失、插入等）的氨基酸序列。起始AAV衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列。

[0239] 所述方法一般涉及生成突变的rAAV病毒粒子文库；以及选择相对于起始rAAV病毒粒子具有改变的性质的修饰的rAAV病毒粒子的文库。起始rAAV病毒粒子包含含有在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的变体AAV衣壳蛋白。本公开还提供文库及包含所述文库的组合物。

[0240] 在一些实施方案中，重复给定的选择步骤两次、三次、四次或更多次以就改变的病毒粒子性质富集所述AAV文库。在一些实施方案中，在AAV文库的选择之后，对个别克隆进行分离和测序。

[0241] 突变AAV文库的生成

[0242] 生成包含一个或多个相对于起始AAV cap基因的突变的突变AAV文库。起始cap基因是含有编码变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列的cap，所述变体AAV衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列。使用任何已知的方法生成在rAAV cap基因中的突变。合适的诱变起始AAV cap基因的方法包括但不限于基于聚合酶链式反应（PCR）的方法、寡核苷酸定点诱变、饱和诱变、环交换诱变、片段改组诱变（即DNA改组）等。用于生成突变的方法在本领域中充分描述。参见，例如Zhao等人Nat Biotechnol.1998 Mar;16(3):234-5;Koerber等人;Mol Ther.2008 Oct;16(10):1703-9;Koerber等人;Mol Ther.2009 Dec;17(12):2088-95;美国专利号6,579,678;美国专利号6,573,098;以及美国专利号6,582,914;所有这些文献出于其关于诱变的教导以引用的方式在此并入。

[0243] 在一些实施方案中，包含在cap基因中的突变的突变AAV文库将使用交错延伸方法生成。交错延伸方法涉及使用基于PCR的方法的cap基因扩增。使用特异性PCR引物引发模板cap基因，然后重复多轮变性和极短时间退火/聚合酶催化的延伸。在每轮中，生长的片段基于序列互补性与不同模板退火并且进一步延伸。重复多轮变性、退火和延伸直至形成全长序列。相比于野生型AAV cap基因，得到的全长序列在cap基因中包括至少一个突变。

[0244] 使包含包括一个或多个突变的AAV cap序列的PCR产物插入野生型AAV基因组的质

粒。结果是AAV cap突变的文库。因此,本公开提供一种突变的AAV cap基因文库,其包含约10至约 $10^{10}$ 个成员并且在AAV cap基因中包含突变。文库中给定的成员在AAV cap基因中具有约1个至约50个突变。所述文库包含10至约 $10^9$ 个不同的成员,各自在AAV cap基因中具有不同的突变。

[0245] 一旦生成cap突变文库,便产生可基于改变的衣壳性质选择的病毒粒子。文库质粒DNA被转染到适合的宿主细胞(例如293细胞)中,然后引入到辅助病毒细胞中。收集由转染的宿主细胞产生的病毒粒子(rAAV文库粒子)。

#### [0246] 文库选择

[0247] 一旦生成文库,便就具体的病毒粒子性质(即,改变的感染性质)进行选择。病毒粒子如以上所论述地产生(由此产生修饰的rAAV病毒粒子的文库),并且经受一个或多个选择步骤以鉴定具有改变的感染性质的修饰的rAAV病毒粒子(相对于包含变体衣壳蛋白的感染性rAAV病毒粒子,所述变体衣壳蛋白包含在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列)。选择所针对的感染性质可包括但不限于:1)与AAV中和抗体的结合改变(例如,结合减弱);2)AAV中和抗体的逃避增加;3)对AAV感染有抗性的细胞的感染性提高;以及4)肝素结合的改变。

#### [0248] 1.就与AAV中和抗体减少的结合进行选择

[0249] 在一些实施方案中,就与这类抗体与野生型AAV病毒粒子的结合及野生型AAV病毒粒子的中和(或相对于包含含有在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的变体衣壳蛋白的感染性rAAV病毒粒子)相比与结合至并中和野生型AAV病毒粒子的中和抗体的改变(例如减少)的结合对所述AAV文库进行选择。使AAV文库粒子(AAV文库病毒粒子)与中和抗体接触并且测试AAV文库粒子感染容许宿主细胞的能力。通常,AAV文库粒子与各种浓度的中和抗体接触。降低AAV文库粒子感染性所需的中和抗体浓度越高,AAV粒子对中和的抗性越大。本领域的普通技术人员已知的任何便利的测定都可用于直接测量AAV文库病毒粒子与中和抗AAV抗体的结合(例如,测量结合亲和力)。

#### [0250] 2.就AAV中和抗体逃避的增加进行选择

[0251] 在一些实施方案中,就中和抗体相对于包含含有在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的变体衣壳蛋白的感染性rAAV中和抗体的逃避增加(即对人中和AAV抗体的抗性提高)对所述AAV文库进行选择。使AAV文库粒子在中和AAV抗体(通常是人和抗AAV抗体)存在下与靶细胞接触。用AAV文库粒子感染细胞合适的时间量后,加入辅助病毒,并且收集成功感染细胞的AAV文库粒子。在一些实施方案中,测量展现成功感染的那些病毒粒子的感染性(例如如上所述)。在一些实施方案中,重复感染循环、辅助病毒的添加、以及AAV粒子的收获一次、两次、三次或更多次。选择可随着中和AAV抗体的变化量(浓度)而发生以就各种程度的逃避进行选择(例如,每个重复轮次都可利用相对于前一轮增加浓度的抗体)。

#### [0252] 3.就非容许细胞的提高的感染性进行选择

[0253] 在一些实施方案中,就非容许细胞(相对于包含含有在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的变体衣壳蛋白的感染性rAAV病毒粒子)的感染性增加对所述AAV文库进行选择。使AAV文库粒子与非容许细胞(例如,非容许细胞群)接触。用AAV文库粒子感染细胞合适的时间量后,加入辅助病毒,并且收集成功感染非容许细胞的AAV文库粒



子。在一些实施方案中,重复感染循环、辅助病毒的添加、以及AAV粒子的收获一次、两次、三次或更多次。

[0254] 4.就改变的肝素结合进行选择

[0255] 在一些实施方案中,就改变的肝素结合对所述文库进行选择,包括相对于野生型 AAV病毒粒子肝素结合(或相对于包含含有在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的变体衣壳蛋白的感染性rAAV病毒粒子)的增加的肝素结合及减少的肝素结合。使AAV文库粒子与肝素亲和基质接触。例如,在容许AAV文库粒子结合至肝素的条件下将AAV文库粒子加到肝素亲和层析柱上。示例性条件包括用0.15M NaCl和50mM Tris在pH 7.5下平衡柱。在允许AAV文库粒子与肝素亲和基质结合后,用几体积的缓冲液洗涤AAV文库粒子/肝素亲和基质复合物,所述缓冲液含有浓度渐增的NaCl并且收集在每个NaCl浓度处洗脱的AAV文库粒子。例如,AAV文库粒子与肝素亲和基质复合物结合后,用含有200mM NaCl的1体积50mM Tris缓冲液pH7.5洗涤AAV文库粒子/肝素亲和基质复合物,并且收集洗脱的AAV文库粒子。洗脱步骤是用含有以下的50mM Tris缓冲液pH 7.5重复进行:约250mM NaCl、约300mM NaCl、约350mM、约400mM NaCl、约450mM NaCl、约500mM NaCl、约550mM NaCl、约600mM NaCl、约650mM NaCl、约700mM NaCl、或约750mM NaCl。

[0256] 在小于约450mM NaCl的NaCl浓度下洗脱的AAV文库粒子相对于野生型AAV展现减弱的肝素结合性质。在大于约550mM NaCl的NaCl浓度下洗脱的AAV文库粒子相对于野生型AAV展现增强的肝素结合性质。

[0257] 在一些实施方案中,洗脱的AAV文库粒子通过容许细胞与辅助病毒的协同感染来扩增,并且在肝素亲和基质上再分级。此步骤可重复许多次以便富集具有改变的肝素结合性质的AAV文库粒子。

[0258] 在本方法中,一个或多个选择步骤可在AAV文库粒子生成之后。例如,在一些实施方案中,所述方法包括选择肝素结合增加,然后选择与中和抗体的结合减少的病毒粒子。在其他实施方案中,所述方法包括选择与中和抗体的结合减少,然后选择肝素结合增加的病毒粒子。在其他实施方案中,所述方法包括选择肝素结合减少,然后选择与中和抗体的结合减少的病毒粒子。在其他实施方案中,所述方法包括选择与中和抗体的结合减少,然后选择肝素结合减少的病毒粒子。在其他实施方案中,所述方法包括选择与中和抗体的结合减少,然后选择干细胞感染性提高的病毒粒子。在其他实施方案中,所述方法包括选择与中和抗体的结合减少,然后选择中和抗体的逃避增加的病毒粒子。在其他实施方案中,所述方法包括选择中和抗体的逃避增加,然后选择与中和抗体的结合减少的病毒粒子。

[0259] 因此,本公开提供一种包含多个核酸的腺相关病毒(AAV)文库,所述核酸各自包含编码变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列。所编码的变体AAV衣壳蛋白包含至少一个相对于在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的序列的氨基酸取代。本公开提供一种突变腺相关病毒(AAV)粒子的文库,包括多个AAV粒子,其各自包括AAV衣壳蛋白,所述衣壳蛋白包含至少一个相对于在SEQ ID NO:10-13及26-33的一个中列出的序列的氨基酸取代。编码突变AAV衣壳蛋白的核酸如上所述,所编码的突变AAV衣壳蛋白的性质也一样。

[0260] 本公开还提供一种包含以下至少一个的文库:(i)两个或更多个感染性rAAV病毒粒子,各自包含变体腺相关病毒(AAV)衣壳蛋白及异源核酸;(ii)两个或更多个分离的核酸,各自包含编码变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列;(iii)两个或更多个宿主细胞,各自包含

含有编码变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列的核酸;以及(iv)两个或更多个变体AAV衣壳蛋白;其中文库的至少一个成员的变体AAV衣壳蛋白包含具有至少一个相对于在SEQ ID NO: 10-13及26-33的一个中列出的氨基酸序列的氨基酸取代的氨基酸序列。

[0261] 组合物和试剂盒

[0262] 还提供供本公开的方法中使用的组合物和试剂盒。所述组合物和试剂盒包括以下至少一个:所述感染性rAAV病毒粒子、所述rAAV载体、包含编码所述变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列的所述核苷酸、包含所述核酸(即,包含含有编码所述变体AAV衣壳蛋白的核苷酸序列的核酸的所述遗传修饰的宿主细胞)的分离的宿主细胞;所述文库(例如,任何上述文库);以及所述变体AAV衣壳蛋白。组合物或试剂盒可包括以上的任何适宜组合。组合物或试剂盒还可包括辅助病毒和/或包含编码辅助病毒的核苷酸序列的核酸。试剂盒还可包括用于生成编码修饰的变体AAV衣壳蛋白的核酸(即“突变”核酸)的试剂。

[0263] 除以上组分之外,所述试剂盒还可包括(在某些实施方案中)实践所述方法的说明。这些说明可以多种形式存在于所述试剂盒中,其中一个或多个可存在于试剂盒中。这些说明可呈现的一种形式是在适合的介质或基质上的印刷信息,例如,印刷有信息的一张或多张纸,在试剂盒的包装中、在包装说明书中等等。这些说明的另一种形式是其上记录有信息的计算机可读介质,例如,磁盘、高密度磁盘(CD)、闪存驱动器等等。可提供的又一种形式的这些说明是网站地址,可以利用该地址通过互联网从该站点远处读取所述信息。

[0264] 现在已经对本发明作了充分的说明,本领域技术人员显而易见,可以在不偏离本发明的精神或范围的情况下作出许多改变和修改。

## 实施例

[0265] 进行以下实施例以便为本领域普通技术人员提供关于如何实施和使用本发明的完整公开和描述,而非意图限定本发明人所认为的本发明的范围,也非意图将下面的实验作为所进行的所有或仅有的实验。已经努力确保所用数值(例如,量、温度等)的精确性,但是应说明某些实验误差和偏差。除非另外指出,份是重量份,分子量是重量平均分子量,温度是摄氏温度,且压力为大气压或接近大气压。可使用以下标准缩写,例如,bp,碱基对;kb,千碱基;ml,毫升; $\mu$ l,微升;nl,纳升;pl,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;i.m.,肌肉内;i.p.,腹膜内;s.c.,皮下;i.v.,静脉内;等等。

[0266] 实施例1:

[0267] 腺相关病毒(AAV)基因疗法载体迄今为止在若干临床试验中已显示出相当不错的前景。然而,由儿童期暴露或在施用AAV载体之前产生的循环抗AAV抗体阻止AAV基因疗法推广用于许多潜在患者。已经分离了新型AAV变体,其能够在体外和体内增加抗AAV抗体逃避。由使用低和高效力人血清池和人IVIG的选择产生的严格压力进化AAV变体,其能够实现来自个体人血清、人IVIG、及小鼠血清的中和抗体的逃避,迄今为止最广泛的逃避性变体。

[0268] 材料和方法

[0269] 细胞系

[0270] 将细胞系在37℃和5%CO<sub>2</sub>下培养,并且除非另作说明,否则是从美国典型培养物保藏中心(Manassas, VA)处获得。将HEK293T、HeLa、和HT1080细胞在补充有10%胎牛血清

(Gibco, Carlsbad, CA) 和1%青霉素/链霉素 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 的达尔伯克改良伊格尔培养基中培养。将CHO K1和CHO pgsA细胞在补充有10%胎牛血清 (Gibco) 和1%青霉素/链霉素 (Invitrogen) 的F-12K培养基 (ATCC) 中培养。将Pro5和Lec1细胞在补充有10%胎牛血清 (Gibco) 和1%青霉素/链霉素 (Invitrogen) 的MEM- $\alpha$ 培养基 (Gibco) 中培养。

[0271] 用于选择的人血清池

[0272] 18份个体人血清样品是从Innovative Research, Inc. (Southfield, MI) 处获得并且测定每份样品的野生型AAV2的中和抗体滴度 (表2)。由于个体样品可能在抗体的亲和力和表位特异性两方面具有变化, 所以通过混合相等体积的个体血清样品产生三个有效的血清池 ( $\alpha = A+F+G$ ,  $\beta = B+H+M$ , 且  $\gamma = I+J+N$ )。在抗体的这些变化存在下的选择将会对许多预先存在的人抗体产生普遍提高的抗性。在Gamimune N、10%人IVIG (Bayer, Elkhart IN) 存在下进行后来的选择以选择对甚至更宽范围的抗体的抗性。

[0273] 表2: 个体人血清样品的中和抗体滴度

[0274] 每份样品的中和抗体 (NAb) 滴度被报道为降低感染性至在血清不存在下所测量的值的37%所必需的血清体积分数的倒数。然后通过混合等体积数量的三份个体血清样品产生三个血清池 ( $\alpha = A+F+G$ ,  $\beta = B+H+M$ , 且  $\gamma = I+J+N$ )。

[0275] 表2

[0276]

人血清样品	~ NAB 滴度	人血清样品	~ NAB滴度
A	500	J	500
B	275	K	172
C	200	L	<75
D	<75	M	2200
E	<75	N	5000
F	350	O	<75
G	425	P	<75
H	450	Q	<75
I	200	R	120

[0277] 文库生成及病毒产生

[0278] 为了生成饱和诱变文库, AAV2cap文库是分别使用5' -GCGGAAGCTTCGATCAACTACGC-3' (SEQ ID NO:14) 和5' -GGGGCGGCCGCAATTACAGATTACGAGTCAGGTATCTGGTG-3' (SEQ ID NO:15) 作为正向和反向引物, 通过易错PCR, 接着是由Zhao等人所述的交错延伸方法而产生。使用汇集的个体人血清的选择显示含有四个点突变的变体 (在结果部分中描述), 它们充当饱和诱变文库的基础。此变体的cap基因通过改变特异性位点处的氨基酸经受进一步诱变。引物5' -cattNNKgaccagtctaggaactgg-3' (SEQ ID NO:16) 和相应的反向互补引物被用于诱变R471氨基酸位点。引物5' -gccacaaggacgatgaagaaNNKttttttcctcagagcggggttctcatctttgggaagcaaggctcaNNKaaaacaagtgtggacattg-3' (SEQ ID NO:17) 和相应的反向互补引物被用于诱变K532和E548氨基酸位点。引物5' -ccaacctccagagaggcNNKagacaagcagctacc-3' (SEQ ID NO:18) 和相应的反向互补引物被用于诱变N587氨基酸位点。引物5' -ccaactacaacaagctctNNKaattgtggactttactgtggacNNKaattggcgtgtatt-3' (SEQ ID NO:19) 和相应的反向互补引物被用于诱变V708和T716氨基酸位点。由含有随机化的cap环区域的AAV2组成的文库和含

有来自野生型AAV1、AAV2、AAV4、AAV5、AAV6、AAV8、AAV9cap基因的改组DNA的文库被包装和汇集用于初始选择步骤 (Koerber等人; Mol Ther. 2008 Oct; 16 (10) : 1703-9; 及Koerber等人; Mol Ther. 2009 Dec; 17 (12) : 2088-95; 两篇文献都以引用的方式在此整体并入)。

[0279] 为了进行第二轮和第三轮进化, 随机诱变文库分别使用 5' - CATGGGAAAGGTGCCAGACG-3' (SEQ ID NO: 20) 和 5' - ACCATCGGCAGCCATACCTG-3' (SEQ ID NO: 21) 作为正向和反向引物通过使来自环交换/改组文库和饱和诱变文库的cap基因经受易错PCR而产生, 如先前所描述。使用HEK293T细胞 (ATCC), 使用磷酸钙转染方法包装有复制能力的AAV文库和在CMV启动子控制下表达GFP的重组AAV载体, 并且通过威视派克 (iodixonal) 梯度离心纯化病毒。在CMV启动子控制下表达GFP或荧光素酶的重组AAV载体 (供体内使用) 通过Amicon过滤进一步纯化。DNA酶抗性基因组滴度经由定量PCR来测定。(Excoffon等人, Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Mar 10; 106 (10) : 3865-70; 及Maheshri等人, Nat Biotechnol. 2006 Feb; 24 (2) : 198-204; 两篇文献都以引用的方式在此整体并入)。

[0280] 文库选择和进化

[0281] 一轮选择被定义为使用AAV初始文库 (对于汇集的个体人血清在室温下培养30分钟或在感染之前在37°C下用热灭活的IVIG培养1小时) 的HEK293T细胞感染, 然后是腺病毒挽救和收获成功的变体。每轮进化由为生成初始文库的cap基因诱变和三轮选择组成。用每个文库进行三轮进化, 在每轮进化之间进行克隆分析。每轮进化的初始文库如上所述生成。在第三轮选择之后, 将AAV cap基因从成功的AAV变体池中分离并且经由PCR扩增。使用NotI和HindIII将Cap基因插入pXX2重组AAV包装质粒中。然后在University of California, Berkeley DNA测序设备对Cap基因进行测序, 并且使用Geneious软件 (Biomatters, Auckland, New Zealand) 来分析。AAV2衣壳 (蛋白质数据库登记号1LP3) 的三维模型是由Pymol (DeLano Scientific, San Carlos, CA) 提供。

[0282] 抗体逃避变体的体外转导分析

[0283] 在感染之前24小时, 将HEK293T以 $3 \times 10^4$ 个细胞/孔的密度接种。在感染之前, 将变体在37°C下用热灭活的IVIG、个体人血清或个体小鼠血清培养1小时, 然后用rAAV-GFP在2000的基因组MOI下感染细胞。在感染后48小时使用ImageXpress显微细胞成像和分析系统 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 以及MetaXpress图像分析软件, 3.1.0版, 多波长细胞评分应用模块 (Molecular Devices) 对GFP阳性细胞百分比进行评定。

[0284] 体外转导分析

[0285] 为了测定相对转导效率, 将与亲本野生型AAV血清型相比所选的突变HEK293T、CHO K1、CHO pgsA (缺少所有表面糖胺聚糖)、CHO Pro5 (几个糖基化突变的亲本系, 包括Lec1细胞)、CHO Lec1 (糖基化缺陷性)、HeLa、以及HT1080细胞 (人纤维肉瘤细胞系) 在感染之前24小时以 $2.5 \times 10^4$ 个细胞/孔的密度接种。用rAAV1-GFP、rAAV2-GFP、rAAV6-GFP、改组100.1-GFP、改组100.3-GFP、SM 10.2-GFP、或改组100.7-GFP在100-1000的MOI范围下感染细胞。使用Beckman-Coulter Cytomics FC500流式细胞仪 (Beckman-Coulter, Brea, CA) 在感染后48小时对GFP阳性细胞百分比进行评定。

[0286] 抗体逃避变体的体内分析

[0287] 对于在体内的基因表达分析, 在施用重组的改组100-3 (参见SEQ ID NO: 12)、SM 10-2 (参见SEQ ID NO: 10)、或AAV2载体之前24小时, 经由尾静脉注射, 用4mg IVIG/只小鼠

或磷酸盐缓冲盐水(用于对照小鼠)引发八周龄的雌性Balb/c小鼠。经由尾静脉注射,用在CMV启动子控制下编码荧光素酶的重组AAV载体的 $10^{11}$ 病毒基因组感染小鼠。对于生物发光成像,用2%异氟烷和氧气麻醉小鼠。以500 $\mu$ g/g体重的剂量腹膜内注射D-荧光素底物(GOLD Biotechnology, St. Louis, MO)。使用VivoVision IVIS Lumina成像器(Xenogen, Alameda, CA)产生图像。针对每只小鼠,在底物注射之后7-10分钟获取腹部图像,每周一次,持续4周。感染后五周,经由心脏穿刺收集血清且然后用.9%盐溶液灌注小鼠。收集心脏、肝脏、肺、肾、脾脏、脑、脊髓及后肢并且冷冻。将冷冻的组织样品匀浆化并且再悬浮于报道基因裂解缓冲液(Promega, Mannheim, Germany)中用于体外荧光素酶分析。含有荧光素酶的裂解物通过在10,000g下离心10分钟来澄清。为了测定样品,将20 $\mu$ L裂解物添加至100 $\mu$ L荧光素酶测定缓冲液中,混合,培养5分钟,并且置于光度计中。以2秒延迟对信号进行积分30秒并以由TD 20/20光度计(Turner Designs, Sunnyvale, CA)检测的相对光度单位(RLU)来报道。将荧光素酶信号对由双金鸡纳酸测定(Pierce)所确定的总蛋白质含量标准化。

#### [0288] 结果

[0289] 结果表明AAV可进化以通过抗AAV抗体在体外和体内显著克服中和。在体外分离与野生型AAV相比需要2至35倍更高的中和抗体滴度(使用人IVIG)的新型AAV变体。抗体中和性质还被解释为在中和抗体存在下在体内增强的转导。对抗AAV抗体有抗性的这类新型克隆的分离允许更广泛的推行基于AAV作为核酸递送载体的治疗(包括目前不适用AAV基因疗法的具有高抗体滴度的个体)。

#### [0290] AAV文库生成和通过定向进化的选择

[0291] 图1a示出用于分离能够逃避人抗体中和的新型AAV变体的定向进化手段的示意图。使用在以下段落中描述的DNA诱变技术生成病毒文库(图1a,步骤1和2)。在初始选择期间,在HEK293T细胞感染之前,在室温下将由易错PCR突变成AAV2cap基因开发的病毒文库池用低效 $\alpha$ 人血清池的各种稀释液培养30分钟(步骤3)。在针对低效 $\alpha$ 人血清池的三轮选择(图1a,步骤4和5)之后,获得对此中和血清池具有提高的抗性的几个变体(图1a,步骤6,图7a)。变体1.45含有两个点突变(N312K、N449D),从而得到与野生型AAV2相比>10倍的对 $\alpha$ 池的中和的抗性。

[0292] 来自变体1.45的cap基因经受另外的随机诱变且就平行针对 $\beta$ 和 $\gamma$ 池的另外三轮选择对得到的文库进行选择。因为仅在抗体逃避方面观察到微小的改善(数据未示出),所以将回收的cap基因汇集并经受经由DNA改组和EP PCR的另外的多样化。针对增加量的来自 $\beta$ 和 $\gamma$ 池两者的血清的又三轮选择产生与野生型AAV2相比在从病毒文库回收的病毒量上的显著富集(图7b、c)。来自两个池的成功的cap基因的测序显示几个低频突变体和单一显性突变体,变体 $\gamma$  4.3,其含有四个点突变(N312K、N449D、N551S、及I698V),存在于两个文库内。在人IVIG存在下,变体1.45显示对中和的抗性适度1.2倍的提高,而 $\gamma$  4.3显示对中和的抗性3.1倍的提高(图7d)。此观察结果证实以下假设:个体人血清池可用于分离能够具有一般人群中存在的抗体的提高逃避的AAV变体。

[0293] 变体 $\gamma$  4.3在抵抗由抗AAV抗体的中和方面的一定成功促进了基于 $\gamma$  4.3cap基因的文库的发展。先前被确定为AAV2衣壳上的免疫原性位点的氨基酸位点R471、K532、E548、N587、V708、T716经受饱和诱变,以试图发现可改善 $\gamma$  4.3的抗体抗性的氨基酸突变。此“饱和诱变”文库,连同由7个亲代AAV血清型的随机cap嵌合体组成的“改组”文库和由具有取代

的环区域的AAV2cap组成的“环交换”文库一起经受另外三轮选择,其中在HEK293T细胞的感染之前,在37℃下用人IVIG的各种稀释液培养病毒文库池1小时。在用AAV文库感染和经由腺病毒超感染扩增感染性AAV变体之后,对来自每个文库条件的病毒基因组数量或病毒滴度进行定量并且与野生型AAV2的滴度相比较作为用于确定选择成功的方法(图1b)。对于使用饱和诱变和环交换/改组文库的每轮选择,将与野生型AAV2相比产生更高病毒滴度的来自1:10和1:100IVIG稀释条件的病毒池用作后一轮选择的起始点。在三轮选择之后,对成功的病毒cap基因进行分离并且逐一测试以确定具有最高效的基因递送的病毒。另外,从第三轮选择分离的cap基因经受另外轮次的易错PCR诱变,并且重复所述过程以便反复提高病毒的适合度。

[0294] 图1描绘就增加的抗体逃避对AAV的定向进化。(a) 定向进化的示意图。1) 通过使用若干互补途径使cap基因遗传多样化来生成病毒文库。2) 病毒是使用质粒转染在HEK293T细胞中包装,然后收集并纯化。3) 将病毒文库用在若干浓度下的人IVIG培养并且在体外引入HEK293T细胞中。4) 扩增成功的病毒并且经由腺病毒超感染来回收。5) 成功的克隆通过在降低的MOI下重复选择来富集。6) 分离的病毒DNA显示成功的cap基因。7) 成功的cap基因再次突变以用作选择的新的起始点。(b) 从环交换/改组和饱和诱变文库选择抗体逃避突变体。HEK293T细胞用病毒文库感染24小时。高效地感染细胞的病毒粒子通过腺病毒感染扩增,并且挽救的AAV通过qPCR来定量。IVIG的1:10稀释液对应于10mg IVIG/mL的浓度。误差线表示标准偏差(n=3)。

[0295] 图7显示基于AAV2的人抗体逃避株的生成。(a) 在针对低严格 $\alpha$ 池的三轮选择之后选出的四个病毒克隆显示在1的MOI下对1 $\mu$ L $\alpha$ 血清的抗性提高。另外两轮多样化(即,诱变和DNA改组)和选择(3轮增加的血清量)引起在大量高效(b)  $\beta$ 和(c)  $\gamma$ 池存在下病毒回收的显著增加。(d) 另外,两个病毒克隆(1.45和 $\gamma$  4.3)显示与野生型AAV2相比对预先存在的抗体的高度多样池的抗性提高1.23倍和3.10倍,所述抗体表现出从约100,000个个体汇集的人静脉内免疫球蛋白(IVIg)。

[0296] 新型进化的AAV变体在体外增加的抗体逃避

[0297] 在针对人IVIG的9轮筛选之后,在为来自饱和诱变和环交换/改组文库的单个分析所选出和包装的12个克隆中,所有十二个都需要比野生型AAV1和AAV2更高的中和抗体滴度(图2a和表1)。需要比野生型AAV2高35倍的针对中和的体外IVIG浓度的变体改组100-3(参见SEQ ID NO:12)仍能够在1mg/mL IVIG存在下转导大约10%细胞(图2b)。另外,来自AAV2饱和诱变文库的变体SM 10-2需要比野生型AAV2高7.5倍的针对中和的体外IVIG浓度。此外,变体改组100-3和SM 10-2(参见SEQ ID NO:10)示出在来自被排除在乙型血友病临床试验之外的单个患者的血清样品存在下增加的转导(图3)(Nathwani等人,N Engl J Med.2011 Dec 22;365(25):2357-65)。

[0298] 图2描绘抗体躲避变体的中和曲线。在三轮进化之后分离的抗体躲避突变体的cap基因被用于包装编码GFP的重组AAV并且在HEK293T细胞的感染之前用人IVIG培养。剩余感染性粒子的分数使用高含量荧光成像来测定并且在IVIG不存在下对感染性滴度标准化。示出对IVIG具有抗性的每个文库的两个克隆。所分析的其他克隆的数据展现在表1中。(a) 中和曲线。误差线表示标准偏差(n=3)。(b) 来自若干IVIG稀释液的代表性荧光图像显示突变体能够在高浓度的中和抗体存在下进行HEK293T转导。

[0299] 图3描绘抗体躲避变体的中和曲线。从由于存在针对AAV的高中和抗体滴度而被排除在B型血友病临床试验之外的个体中获取人血清。在HEK293T细胞的感染之前将编码GFP的重组AAV用个体人血清培养。剩余感染性粒子的分数使用荧光显微术来测定并且在人血清不存在下对感染性滴度标准化。误差线表示标准偏差 (n=3)。

[0300] 十二个克隆的序列分析显示具有最高中和抗体抗性的两个变体,改组100-3 (参见SEQ ID NO:12) 和改组100-1 (参见SEQ ID NO:11) 是含有AAV1-4、AAV6、及AAV9的片段的几乎相同的改组衣壳 (图4)。在两个变体之间的氨基酸469 (AAV6残基与AAV7残基) 和598 (AAV6残基与AAV1残基) 的差异转化为对于改组100-3在中和抗体滴度方面几乎3倍的增加 (参见SEQ ID NO:12) (表1)。具有第四最高中和抗体抗性 (表1) 的变体改组100-7 (参见SEQ ID NO:13) 也是含有AAV1、AAV6、及AAV8的片段的改组衣壳 (图4), 其与显示野生型AAV1和AAV8在躲避抗AAV2抗体方面是有效的报道数据一致。有趣的是, 变体SM 10-2 (参见SEQ ID NO:10) 保留由变体  $\gamma$  4.3 获取的点突变并且还保留在饱和诱变位点处的野生型残基。变体SM 10-2 (参见SEQ ID NO:10) 确实在表面残基D472N及内部残基L735Q处获取另外的点突变。

[0301] 图4描绘环交换/改组及饱和诱变克隆的氨基酸序列。(a) 衣壳蛋白示意图示出来自每个文库的具有最高中和IVIG浓度的两个克隆。每个区域根据其所源自的亲代血清型来以阴影示出。黑色箭头表示 (从左至右) VP1、VP2、及VP3衣壳蛋白的起始密码子。灰色箭头表示 (从左至右) 基于AAV2衣壳的表面环区域I、II、III、IV、及V。(b) 基于解出的结构的完整AAV2衣壳的分子模型示出来自每个文库的具有最高中和IVIG浓度的两个克隆。每个区域根据其所源自的亲代血清型来以阴影示出。对于变体改组100-3 (参见SEQ ID NO:12), 黑色箭头表示与变体改组100-1的差异 (参见SEQ ID NO:11)。对于变体SM 10-2 (参见SEQ ID NO:10), 突变N449D、D472N、N551S、及I698V是表面突变 (黑色)。

[0302] 表1: 文库克隆和亲代血清型的IVIG中和抗体滴度人IVIG被用于中和的具有来自野生型AAV1、AAV2、AAV8、及从环交换/改组和饱和诱变文库中回收的变体的衣壳的重组AAV-GFP载体。示出降低基因递送效率至在IVIG不存在下的50%所需的IVIG浓度 (mg/mL), 并且与减少AAV2递送所需的浓度比较。分析的所有变体都需要比野生型AAV1和AAV2更高的IVIG浓度。通过将图2中的曲线拟合至指数曲线来测定中和抗体滴度。SEQ ID NO列为“氨基酸,核苷酸”。

[0303] 表1

[0304]

克隆	SEQ ID NO:	中和 IVIG 浓度	相对于 AAV2 的抗性倍数
		<i>mg/ml</i>	
AAV1	1	0.026	1.757
AAV2	2	0.015	1.000
AAV8	8	0.092	6.113
改组 10-2	26, 34	0.037	2.443
改组 10-6	27, 35	0.028	1.842
改组 10-8	28, 36	0.084	5.583
改组 100-1	11, 23	0.183	12.178
改组 100-2	29, 37	0.073	4.831
改组 100-3	12, 24	0.529	35.227
改组 100-7	13, 25	0.090	6.025
SM 10-1	30, 38	0.071	4.732
SM 10-2	10, 22	0.113	7.519
SM 10-8	31, 39	0.051	3.409
SM 100-3	32, 40	0.074	4.941
SM 100-10	33, 41	0.066	4.393

[0305] 变体改组100-3 (参见SEQ ID NO:12)、改组100-1 (参见SEQ ID NO:11)、及改组100-7 (参见SEQ ID NO:13) 具有模拟亲代血清型AAV1和AAV6的转导曲线的转导曲线(图5)。另外,在SM 10-2中的突变(参见SEQ ID NO:10)不会阻止肝素依赖(如亲代血清型AAV2中所见),从而产生类似于AAV2的曲线(图5)。

[0306] 图5显示新型aav变体的体外向性。表达绿色荧光蛋白的重组AAV载体被用于转导一组细胞系:CHO、pgsA (缺少所有表面糖胺聚糖)、Pro5、Lec1 (缺少唾液酸)、HEK293T、HeLa、及HT1080 (人纤维肉瘤细胞系) 以便概述新型AAV变体的转导性质。误差线表示标准偏差 (n=3)。

[0307] 新型进化的AAV变体在体内增加的抗体逃避

[0308] 为了确定变体改组100-3和改组100-7的定位模式,在用AAV2、改组100-3、或改组100-7注射的幼稚小鼠的各种组织中检查荧光素酶活性(图6a)。变体改组100-7呈现与AAV2相似的体内向性,但例外的是7倍更高的心脏转导、5倍更高的肺转导、以及4.5倍较低的肝转导。改组100-3变体展现与AAV2相比超过4倍更高的脑转导、超过3倍更高的肺转导、以及27倍更高的肌肉转导。来自这些小鼠的血清分析显示变体改组100-3与AAV1和AAV8相比对于来自给予AAV1、AAV2、AAV8或改组100-3基因递送载体的小鼠的血清来说需要等于或更高的用于中和的体外血清浓度(图11)。改组100-7与AAV1相比对于给予AAV1、AAV2、AAV8、改组100-3、或SM 10-2基因递送载体的小鼠的血清来说需要等于或更高的用于中和的体外血清浓度(图11)。此外,两个变体与测试的所有野生型AAV血清型相比被来自给予AAV2基因递送载体的小鼠的血清中和得更少。有趣的是,变体改组100-3与测试的任何其他血清型或变体相比被针对其免疫的小鼠的血清中和得更少(图11)。此数据说明这些变体可与野生



型AAV血清型组合使用或在需要多个载体施用的应用中与其他变体组合使用。

[0309] 图11示出在免疫的小鼠血清中文库克隆和亲代血清型的中和抗体滴度。来自施用了文库克隆或野生型AAV的小鼠的血清被用于中和具有来自野生型AAV1、AAV2、AAV8、以及从环交换/改组和饱和诱变文库中回收的变体的衣壳的重组AAV-GFP载体。示出降低基因递送效率至在血清不存在下的50%所需的血清稀释。

[0310] 为了确定变体改组100-7和改组100-3在体内躲避抗体中和的能力,在AAV注射之前用人IVIG对小鼠进行被动免疫。变体改组100-7与AAV2相比具有显著更强的心脏、肝脏、以及肌肉转导,如通过荧光素酶活性来测量(图6b)。变体改组100-3与AAV2相比具有显著更高的心脏和肌肉转导(图6b)。

[0311] 图6显示新型AAV变体的体内定位及中和。(a)经由尾静脉注射向雌性BALB/c小鼠施用编码荧光素酶的重组AAV载体。5周以后,对于所分析的每份样品,测定荧光素酶活性水平并且对总蛋白质进行标准化。(b)在尾静脉注射4mg人IVIG之后24小时,经由尾静脉注射向雌性BALB/c小鼠施用表达荧光素酶的重组AAV载体。5周以后,将荧光素酶表达水平对所分析的每份样品的总蛋白质进行标准化。误差线表示标准偏差( $n=3$ ), $*=p<0.05$ 。RLU表示相对荧光素酶单位。

[0312] 从针对个体人血清池选出的基于AAV2的易错文库分离的变体 $\gamma$  4.3含有四个点突变(N312K、N449D、N551S、以及I698V)。有趣的是,这些位置中的两个(N449和N551)先前使用其他人血清池被鉴定为免疫原性残基,表明涉及这些位点的抗原表位是由许多不同的中和抗体所靶向的。因此,这些位点是感兴趣和有价值的突变的靶标。在饱和诱变文库中成对的定向进化和合理设计导致变体SM 10-2的分离,所述变体在体外能够具有比AAV1和AAV2两者更高的抗体抗性。变体SM 10-2将另外两个点突变(D472N和L735Q)并入在变体 $\gamma$  4.3上所见的那些中。先前显示D472N突变提高在HEK293细胞中衣壳的合成水平。类似地,用不带电的谷氨酰胺侧链置换氨基酸位置735处带正电的赖氨酸侧链可起到使衣壳稳定化的作用,其也可存在于变体改组100-7中,但位于装配衣壳的内部之中(图4)。

[0313] 嵌合AAV衣壳的生成允许形成病毒变体的生成,所述病毒变体可合并来自多个AAV血清型的期望性质。虽然AAV8和AAV9也显示比AAV2对IVIG中和的抗性高得多,但对这些衣壳有特异性的氨基酸仅在选择期间分离的改组变体的表面上以小的间距存在(图4)。呈现更高效的体外抗体中和逃避的变体(改组100-3)呈现与其亲本血清型AAV1和AAV6相似的体外外向性,但在比野生型血清型更高的感染速度下。在变体改组100-1与改组100-3之间的氨基酸469和598中的差异转化成对于改组100-3几乎3倍的中和抗体滴度增加。Lochrie等人的研究报道由人血清和IVIG识别的免疫原性残基是不同的,表明不同的人可针对AAV衣壳上的不同的表位集合产生各种中和抗体并且从中和中的完全逃脱是不容易的(Lochrie等人, J Virol. 2006 Jan; 80 (2): 821-34)。研究表明使用含有各种量和效力的抗AAV抗体的若干不同血清池的多轮定向进化的使用将导致新型AAV变体的分离,所述变体在多个抗AAV抗体池存在下在体外和在体内能够具有提高的细胞转导。

[0314] 在动物和人对AAV载体组分的适应性免疫应答经常阻止再施用相同血清型的AAV载体,使得需要多个载体施用的基因递送应用变得困难。使用来自用于生物分布研究中的小鼠的血清的体外中和测定显示,变体与野生型AAV相比被这些血清中和得更少(图11),其可适用于其中必须再施用载体的基因疗法策略。例如,改组100-3不被来自用AAV2注射的

小鼠的血清中和,且AAV2不被来自用改组100-3注射的小鼠的血清中和,提示此变体可与野生型AAV血清型组合使用或用于需要多个载体施用的应用中。总之,使用定向进化来分离新型AAV变体,所述变体在体外和体内具有减少的由源自于个体人患者、汇集的人血清、及小鼠血清的抗AAV抗体的中和。

[0315] 尽管已参考其具体实施方案描述本发明,但是本领域技术人员应理解,在不脱离本发明的实际精神和范围下,可以对本发明进行各种修改且用等价物替换。另外,可以进行很多修改,使特定的情形、材料、物质组成、方法、方法步骤适应本发明的目标、精神和范围。所有这类修改意欲落入所附权利要求的范围内。

## 序列表

<110> The Regents of the University of California  
Schaffer, David V.  
Kotterman, Melissa A  
Hwang, Bum-Yeol  
Koerber, James T.

<120> 腺相关病毒变体及其使用方法

<130> BERK-216W0

<150> US 61/829,735  
<151> 2013-05-31

<160> 41

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1  
<211> 736  
<212> PRT  
<213> 腺相关病毒 1

[0001]

<400> 1

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

	Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala	
						85				90					95		
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	
					100				105					110			
	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
					115				120					125			
	Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	
					130				135					140			
	Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly	
	145						150				155					160	
[0002]	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
					165					170					175		
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
					180					185				190			
	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
					195					200				205			
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
					210				215				220				
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225					230					235					240	
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
					245						250				255		

Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp  
420 425 430

	Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg	
	435	440 445
	Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser	
	450	455 460
	Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro	
	465	470 475 480
	Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn	
		485 490 495
	Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn	
		500 505 510
[0004]	Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys	
	515	520 525
	Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly	
	530	535 540
	Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile	
	545	550 555 560
	Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg	
		565 570 575
	Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala	
		580 585 590
	Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln	
	595	600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His  
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu  
625 630 635 640

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala  
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

[0005] Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

<210> 2

<211> 735

<212> PRT

<213> 腺相关病毒 2

<400> 2

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

	Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro	
	20 25 30	
	Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro	
	35 40 45	
	Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro	
	50 55 60	
	Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp	
	65 70 75 80	
	Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala	
	85 90 95	
[0006]	Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly	
	100 105 110	
	Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro	
	115 120 125	
	Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg	
	130 135 140	
	Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly	
	145 150 155 160	
	Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr	
	165 170 175	
	Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro	
	180 185 190	





	Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser	
	370						375					380					
	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser	
	385					390					395					400	
	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	
					405					410					415		
	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	
				420					425						430		
	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr	
		435						440						445			
[0008]	Asn	Thr	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Thr	Gln	Ser	Arg	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	
	450							455					460				
	Ala	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Asp	Gln	Ser	Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	
	465					470					475					480	
	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn	
					485					490					495		
	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly	
			500						505					510			
	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp	
			515					520					525				
	Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Gln	Ser	Gly	Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	
	530						535					540					

	Gln	Gly	Ser	Glu	Lys	Thr	Asn	Val	Asp	Ile	Glu	Lys	Val	Met	Ile	Thr
	545					550					555					560
	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr
					565					570						575
	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly	Asn	Arg	Gln	Ala	Ala	Thr
					580					585						590
	Ala	Asp	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Val	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp
					595					600						605
	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr
	610							615						620		
[0009]	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys
	625							630						635		640
	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	Asn
					645						650					655
	Pro	Ser	Thr	Thr	Phe	Ser	Ala	Ala	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr	Gln
					660						665					670
	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln	Lys
					675						680					685
	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Ile	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn	Tyr
					690						695					700
	Asn	Lys	Ser	Val	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	Thr	Asn	Gly	Val	Tyr
	705													710		715
																720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
 725 730 735

<210> 3

<211> 736

<212> PRT

<213> 腺相关病毒 3

<400> 3

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
 1 5 10 15

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

[0010] Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Arg Arg Gly Leu Val Leu Pro  
 35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
 50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
 65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala  
 85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
 100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro  
 115 120 125

	Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Gly	
	130	135 140
	Ala Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly	
	145	150 155 160
	Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr	
		165 170 175
	Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro	
		180 185 190
	Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly	
	195	200 205
[0011]	Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser	
	210	215 220
	Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile	
	225	230 235 240
	Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu	
		245 250 255
	Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr	
		260 265 270
	Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His	
	275	280 285
	Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp	
	290	295 300

	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Lys	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val	
	305					310					315					320	
	Arg	Gly	Val	Thr	Gln	Asn	Asp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu	
					325					330					335		
	Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	
				340					345					350			
	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp	
		355						360					365				
	Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser	
	370						375					380					
[0012]	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser	
	385					390					395					400	
	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Gln	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	
				405					410					415			
	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	
			420						425					430			
	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg	Thr	
		435						440					445				
	Gln	Gly	Thr	Thr	Ser	Gly	Thr	Thr	Asn	Gln	Ser	Arg	Leu	Leu	Phe	Ser	
	450						455					460					
	Gln	Ala	Gly	Pro	Gln	Ser	Met	Ser	Leu	Gln	Ala	Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	
	465					470					475					480	



Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val  
705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
725 730 735

[0014] <210> 4  
<211> 734  
<212> PRT  
<213> 腺相关病毒 4

<400> 4

Met Thr Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser Glu  
1 5 10 15

Gly Val Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro Lys  
20 25 30

Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly  
35 40 45

Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro Val  
50 55 60

Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp Gln



65	70	75	80
Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp			
85	90	95	
Ala Glu Phe Gln Gln Arg Leu Gln Gly Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn			
100	105	110	
Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Leu			
115	120	125	
Gly Leu Val Glu Gln Ala Gly Glu Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg Pro			
130	135	140	
Leu Ile Glu Ser Pro Gln Gln Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile Gly Lys			
145	150	155	160
[0015]			
Lys Gly Lys Gln Pro Ala Lys Lys Lys Leu Val Phe Glu Asp Glu Thr			
165	170	175	
Gly Ala Gly Asp Gly Pro Pro Glu Gly Ser Thr Ser Gly Ala Met Ser			
180	185	190	
Asp Asp Ser Glu Met Arg Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Val Glu Gly			
195	200	205	
Gly Gln Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys			
210	215	220	
Asp Ser Thr Trp Ser Glu Gly His Val Thr Thr Thr Ser Thr Arg Thr			
225	230	235	240
Trp Val Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu Tyr Lys Arg Leu Gly Glu			

245	250	255
Ser Leu Gln Ser Asn Thr Tyr Asn Gly Phe Ser Thr Pro Trp Gly Tyr		
260	265	270
Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln		
275	280	285
Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp Gly Met Arg Pro Lys Ala Met Arg Val		
290	295	300
Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Ser Asn Gly Glu		
305	310	315
Thr Thr Val Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Ile Phe Ala Asp		
325	330	335
[0016]		
Ser Ser Tyr Glu Leu Pro Tyr Val Met Asp Ala Gly Gln Glu Gly Ser		
340	345	350
Leu Pro Pro Phe Pro Asn Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr		
355	360	365
Cys Gly Leu Val Thr Gly Asn Thr Ser Gln Gln Gln Thr Asp Arg Asn		
370	375	380
Ala Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly		
385	390	395
Asn Asn Phe Glu Ile Thr Tyr Ser Phe Glu Lys Val Pro Phe His Ser		
405	410	415
Met Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile		

420	425	430
Asp Gln Tyr Leu Trp Gly Leu Gln Ser Thr Thr Thr Gly Thr Thr Leu		
435	440	445
Asn Ala Gly Thr Ala Thr Thr Asn Phe Thr Lys Leu Arg Pro Thr Asn		
450	455	460
Phe Ser Asn Phe Lys Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Ser Ile Lys Gln		
465	470	475 480
Gln Gly Phe Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn Tyr Lys Ile Pro Ala Thr		
485	490	495
Gly Ser Asp Ser Leu Ile Lys Tyr Glu Thr His Ser Thr Leu Asp Gly		
500	505	510
[0017]		
Arg Trp Ser Ala Leu Thr Pro Gly Pro Pro Met Ala Thr Ala Gly Pro		
515	520	525
Ala Asp Ser Lys Phe Ser Asn Ser Gln Leu Ile Phe Ala Gly Pro Lys		
530	535	540
Gln Asn Gly Asn Thr Ala Thr Val Pro Gly Thr Leu Ile Phe Thr Ser		
545	550	555 560
Glu Glu Glu Leu Ala Ala Thr Asn Ala Thr Asp Thr Asp Met Trp Gly		
565	570	575
Asn Leu Pro Gly Gly Asp Gln Ser Asn Ser Asn Leu Pro Thr Val Asp		
580	585	590
Arg Leu Thr Ala Leu Gly Ala Val Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg		

595	600	605
Asp Ile Tyr Tyr Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp		
610	615	620
Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Ile Gly Gly Phe Gly Leu Lys His		
625	630	635 640
Pro Pro Pro Gln Ile Phe Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro		
645	650	655
Ala Thr Thr Phe Ser Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr		
660	665	670
Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Gln Ile Asp Trp Glu Ile Gln Lys Glu		
675	680	685
Arg Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Phe Thr Ser Asn Tyr Gly		
690	695	700
Gln Gln Asn Ser Leu Leu Trp Ala Pro Asp Ala Ala Gly Lys Tyr Thr		
705	710	715 720
Glu Pro Arg Ala Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr His His Leu		
725	730	

[0018]

<210> 5  
<211> 724  
<212> PRT  
<213> 腺相关病毒 5

<400> 5

Met Ser Phe Val Asp His Pro Pro Asp Trp Leu Glu Glu Val Gly Glu
1 5 10 15

Gly Leu Arg Glu Phe Leu Gly Leu Glu Ala Gly Pro Pro Lys Pro Lys  
20 25 30

Pro Asn Gln Gln His Gln Asp Gln Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly  
35 40 45

Tyr Asn Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Arg Gly Glu Pro Val  
50 55 60

Asn Arg Ala Asp Glu Val Ala Arg Glu His Asp Ile Ser Tyr Asn Glu  
65 70 75 80

Gln Leu Glu Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp  
85 90 95

[0019] Ala Glu Phe Gln Glu Lys Leu Ala Asp Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn  
100 105 110

Leu Gly Lys Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Phe  
115 120 125

Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Thr Gly Lys Arg Ile  
130 135 140

Asp Asp His Phe Pro Lys Arg Lys Lys Ala Arg Thr Glu Glu Asp Ser  
145 150 155 160

Lys Pro Ser Thr Ser Ser Asp Ala Glu Ala Gly Pro Ser Gly Ser Gln  
165 170 175

Gln Leu Gln Ile Pro Ala Gln Pro Ala Ser Ser Leu Gly Ala Asp Thr  
180 185 190

	Met Ser Ala Gly Gly Gly Gly Pro Leu Gly Asp Asn Asn Gln Gly Ala	
	195	200 205
	Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys Asp Ser Thr Trp	
	210	215 220
	Met Gly Asp Arg Val Val Thr Lys Ser Thr Arg Thr Trp Val Leu Pro	
	225	230 235 240
	Ser Tyr Asn Asn His Gln Tyr Arg Glu Ile Lys Ser Gly Ser Val Asp	
	245	250 255
	Gly Ser Asn Ala Asn Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr	
	260	265 270
[0020]	Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Ser His Trp Ser Pro Arg Asp Trp Gln	
	275	280 285
	Arg Leu Ile Asn Asn Tyr Trp Gly Phe Arg Pro Arg Ser Leu Arg Val	
	290	295 300
	Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Val Gln Asp Ser Thr	
	305	310 315 320
	Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp	
	325	330 335
	Asp Asp Tyr Gln Leu Pro Tyr Val Val Gly Asn Gly Thr Glu Gly Cys	
	340	345 350
	Leu Pro Ala Phe Pro Pro Gln Val Phe Thr Leu Pro Gln Tyr Gly Tyr	
	355	360 365

	Ala	Thr	Leu	Asn	Arg	Asp	Asn	Thr	Glu	Asn	Pro	Thr	Glu	Arg	Ser	Ser	
	370						375					380					
	Phe	Phe	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser	Lys	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	
	385					390					395					400	
	Asn	Phe	Glu	Phe	Thr	Tyr	Asn	Phe	Glu	Glu	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	
					405						410				415		
	Phe	Ala	Pro	Ser	Gln	Asn	Leu	Phe	Lys	Leu	Ala	Asn	Pro	Leu	Val	Asp	
				420						425					430		
	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Arg	Phe	Val	Ser	Thr	Asn	Asn	Thr	Gly	Gly	Val	Gln	
			435						440					445			
[0021]	Phe	Asn	Lys	Asn	Leu	Ala	Gly	Arg	Tyr	Ala	Asn	Thr	Tyr	Lys	Asn	Trp	
	450						455					460					
	Phe	Pro	Gly	Pro	Met	Gly	Arg	Thr	Gln	Gly	Trp	Asn	Leu	Gly	Ser	Gly	
	465					470					475					480	
	Val	Asn	Arg	Ala	Ser	Val	Ser	Ala	Phe	Ala	Thr	Thr	Asn	Arg	Met	Glu	
					485						490				495		
	Leu	Glu	Gly	Ala	Ser	Tyr	Gln	Val	Pro	Pro	Gln	Pro	Asn	Gly	Met	Thr	
				500						505				510			
	Asn	Asn	Leu	Gln	Gly	Ser	Asn	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Asn	Thr	Met	Ile	
			515					520					525				
	Phe	Asn	Ser	Gln	Pro	Ala	Asn	Pro	Gly	Thr	Thr	Ala	Thr	Tyr	Leu	Glu	
	530						535					540					

Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg  
545 550 555 560

Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Ser  
565 570 575

Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro  
580 585 590

Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp  
595 600 605

Ala Lys Ile Pro Glu Thr Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met  
610 615 620

[0022]

Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn  
625 630 635 640

Thr Pro Val Pro Gly Asn Ile Thr Ser Phe Ser Asp Val Pro Val Ser  
645 650 655

Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Thr Val Glu Met Glu  
660 665 670

Trp Glu Leu Lys Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln  
675 680 685

Tyr Thr Asn Asn Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Val Asp Phe Ala Pro Asp  
690 695 700

Ser Thr Gly Glu Tyr Arg Thr Thr Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu  
705 710 715 720



Thr Arg Pro Leu

<210> 6

<211> 736

<212> PRT

<213> 腺相关病毒 6

<400> 6

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

[0023] Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

Phe Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly  
145 150 155 160

Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr  
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro  
180 185 190

Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly  
195 200 205

[0024] Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala  
210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile  
225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu  
245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His  
260 265 270

Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe  
275 280 285

His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn  
290 295 300

	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln
	305					310					315					320
	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Thr	Asn	Asp	Gly	Val	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn
					325					330					335	
	Leu	Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Ser	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro
					340					345					350	
	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala
			355					360						365		
	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly
		370					375					380				
[0025]	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro
	385					390					395					400
	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe
					405					410					415	
	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp
				420					425					430		
	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg
			435					440					445			
	Thr	Gln	Asn	Gln	Ser	Gly	Ser	Ala	Gln	Asn	Lys	Asp	Leu	Leu	Phe	Ser
		450					455					460				
	Arg	Gly	Ser	Pro	Ala	Gly	Met	Ser	Val	Gln	Pro	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro
	465					470					475					480

	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Lys	Thr	Asp	Asn	
					485					490					495		
	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Thr	Trp	Thr	Gly	Ala	Ser	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asn	
				500					505					510			
	Gly	Arg	Glu	Ser	Ile	Ile	Asn	Pro	Gly	Thr	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	
				515					520					525			
	Asp	Asp	Lys	Asp	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	Ser	Gly	Val	Met	Ile	Phe	Gly	
				530				535						540			
	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile	
	545					550					555					560	
[0026]	Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ala	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Arg	
					565					570					575		
	Phe	Gly	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Ser	Thr	Asp	Pro	Ala	
				580					585					590			
	Thr	Gly	Asp	Val	His	Val	Met	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	
				595				600					605				
	Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	
				610				615					620				
	Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	
	625					630					635					640	
	Lys	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	
						645				650					655		

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

[0027] <210> 7  
<211> 737  
<212> PRT  
<213> 腺相关病毒 7

<400> 7

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asn Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

	Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp	
	65				70					75					80		
	Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala	
				85						90					95		
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	
				100					105						110		
	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
			115						120					125			
	Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	
		130					135					140					
[0028]	Pro	Val	Glu	Pro	Ser	Pro	Gln	Arg	Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	
	145				150						155				160		
	Gly	Lys	Lys	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Arg	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	
				165						170					175		
	Thr	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	
				180						185					190		
	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Ser	Val	Gly	Ser	Gly	Thr	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	
				195					200						205		
	Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	
		210						215					220				
	Ala	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	
	225				230						235				240		



Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu  
420 425 430

Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala  
435 440 445

Arg Thr Gln Ser Asn Pro Gly Gly Thr Ala Gly Asn Arg Glu Leu Gln  
450 455 460

Phe Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Thr Met Ala Glu Gln Ala Lys Asn Trp  
465 470 475 480

Leu Pro Gly Pro Cys Phe Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Leu Asp  
485 490 495

[0030] Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His  
500 505 510

Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr  
515 520 525

His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Ile  
530 535 540

Phe Gly Lys Thr Gly Ala Thr Asn Lys Thr Thr Leu Glu Asn Val Leu  
545 550 555 560

Met Thr Asn Glu Glu Glu Ile Arg Pro Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu  
565 570 575

Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln Ala Ala Asn Thr Ala Ala  
580 585 590



Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp  
595 600 605

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro  
610 615 620

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly  
625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro  
645 650 655

Ala Asn Pro Pro Glu Val Phe Thr Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile  
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu  
675 680 685

[0031]

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser  
690 695 700

Asn Phe Glu Lys Gln Thr Gly Val Asp Phe Ala Val Asp Ser Gln Gly  
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn  
725 730 735

Leu

<210> 8

<211> 738

<212> PRT

<213> 腺相关病毒 8

&lt;400&gt; 8

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

[0032]

Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile  
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln

	165		170		175
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro					
	180		185		190
Pro Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Pro Asn Thr Met Ala Ala Gly Gly					
	195		200		205
Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser					
	210		215		220
Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val					
	225		230		235
					240
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His					
	245		250		255
[0033]					
Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ala Thr Asn Asp					
	260		265		270
Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn					
	275		280		285
Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn					
	290		295		300
Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn					
	305		310		315
					320
Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala					
	325		330		335
Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln					

340	345	350
Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe		
355	360	365
Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn		
370	375	380
Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr		
385	390	395 400
Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Thr Tyr		
405	410	415
Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser		
420	425	430
[0034]		
Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu		
435	440	445
Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly		
450	455	460
Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp		
465	470	475 480
Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly		
485	490	495
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His		
500	505	510
Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr		

515

520

525

His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile  
530 535 540

Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val  
545 550 555 560

Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr  
565 570 575

Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala  
580 585 590

Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val  
595 600 605

[0035]

Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile  
610 615 620

Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe  
625 630 635 640

Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val  
645 650 655

Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe  
660 665 670

Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu  
675 680 685

Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr

690

695

700

Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu  
705 710 715 720

Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg  
725 730 735

Asn Leu

<210> 9

<211> 736

<212> PRT

<213> 腺相关病毒 9

<400> 9

[0036]

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
 100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro  
 115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
 130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly  
 145 150 155 160

Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr  
 165 170 175

[0037] Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro  
 180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly  
 195 200 205

Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser  
 210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile  
 225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu  
 245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Ser Thr Ser Gly Gly Ser Ser Asn Asp Asn  
 260 265 270

	Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg	
	275	280 285
	Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn	
	290	295 300
	Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile	
	305	310 315 320
	Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn	
		325 330 335
	Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu	
		340 345 350
[0038]	Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro	
	355	360 365
	Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp	
	370	375 380
	Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe	
	385	390 395 400
	Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu	
		405 410 415
	Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu	
		420 425 430
	Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser	
	435	440 445



Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser  
450 455 460

Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro  
465 470 475 480

Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn  
485 490 495

Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn  
500 505 510

Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys  
515 520 525

[0039]

Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly  
530 535 540

Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile  
545 550 555 560

Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser  
565 570 575

Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln  
580 585 590

Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln  
595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His  
610 615 620

Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met  
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala  
645 650 655

Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

[0040]

Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val  
705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
725 730 735

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 735

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成氨基酸序列

&lt;400&gt; 10

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

	Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro	
	20	25 30
	Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro	
	35	40 45
	Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro	
	50	55 60
	Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp	
	65	70 75 80
	Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala	
	85	90 95
[0041]	Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly	
	100	105 110
	Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro	
	115	120 125
	Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg	
	130	135 140
	Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly	
	145	150 155 160
	Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr	
	165	170 175
	Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro	
	180	185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly  
195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser  
210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile  
225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu  
245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr  
260 265 270

[0042]

Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His  
275 280 285

Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp  
290 295 300

Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Lys Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val  
305 310 315 320

Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu  
325 330 335

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr  
340 345 350

Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp  
355 360 365

	Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser
	370						375					380				
	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser
	385					390					395				400	
	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu
					405					410					415	
	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg
				420					425					430		
	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr
		435						440					445			
[0043]	Asp	Thr	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Thr	Gln	Ser	Arg	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln
	450						455					460				
	Ala	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Asn	Gln	Ser	Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly
	465					470					475				480	
	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn
					485					490				495		
	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly
			500					505						510		
	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp
		515						520					525			
	Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Gln	Ser	Gly	Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys
	530						535					540				

	Gln	Gly	Ser	Glu	Lys	Thr	Ser	Val	Asp	Ile	Glu	Lys	Val	Met	Ile	Thr
	545					550					555					560
	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr
					565					570						575
	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly	Asn	Arg	Gln	Ala	Ala	Thr
					580					585						590
	Ala	Asp	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Val	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp
					595					600						605
	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr
	610							615						620		
[0044]	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys
	625							630						635		640
	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	Asn
					645						650					655
	Pro	Ser	Thr	Thr	Phe	Ser	Ala	Ala	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr	Gln
					660						665					670
	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln	Lys
					675						680					685
	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Val	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn	Tyr
					690						695					700
	Asn	Lys	Ser	Val	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	Thr	Asn	Gly	Val	Tyr
	705													715		720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Gln  
725 730 735

<210> 11

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 11

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro  
20 25 30

[0045]

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Gln Arg Leu Gln Gly Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

	Leu Gly Leu Val Glu Gln Ala Gly Glu Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg	
	130	135 140
	Pro Leu Ile Glu Ser Pro Gln Gln Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile Gly	
	145	150 155 160
	Lys Lys Gly Lys Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr	
		165 170 175
	Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro	
		180 185 190
	Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly	
	195	200 205
[0046]	Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala	
	210	215 220
	Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile	
	225	230 235 240
	Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu	
		245 250 255
	Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His	
		260 265 270
	Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe	
	275	280 285
	His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn	
	290	295 300



	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln
	305					310					315					320
	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Thr	Asn	Asp	Gly	Val	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn
					325					330					335	
	Leu	Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Ser	Asp	Ser	Asp	Tyr	Gln	Leu	Pro
					340					345					350	
	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Glu	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala
			355						360					365		
	Asp	Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly
		370					375					380				
[0047]	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro
	385					390					395					400
	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe
					405					410					415	
	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp
				420					425					430		
	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg
			435					440					445			
	Thr	Gln	Asn	Gln	Ser	Gly	Ser	Ala	Gln	Asn	Lys	Asp	Leu	Leu	Phe	Ser
		450					455					460				
	Arg	Gly	Ser	Pro	Ala	Gly	Met	Ser	Val	Gln	Pro	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro
	465					470					475					480

	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Lys	Thr	Asp	Asn	
					485					490					495		
	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Thr	Trp	Thr	Gly	Ala	Ser	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asn	
				500					505					510			
	Gly	Arg	Glu	Ser	Ile	Ile	Asn	Pro	Gly	Thr	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	
				515					520					525			
	Asp	Asp	Lys	Asp	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	Ser	Gly	Val	Met	Ile	Phe	Gly	
				530				535						540			
	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile	
	545					550					555					560	
[0048]	Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ala	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Arg	
					565					570					575		
	Phe	Gly	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Ser	Thr	Asp	Pro	Ala	
				580					585					590			
	Thr	Gly	Asp	Val	His	Val	Met	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	
				595				600					605				
	Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	
				610				615					620				
	Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	
	625					630					635					640	
	Lys	Asn	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	
						645				650					655		

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

[0049]

<210> 12  
<211> 736  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成氨基酸序列

<400> 12

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro  
20 25 30

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro	
	50						55					60					
	Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp	
	65					70					75					80	
	Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala	
					85					90					95		
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Gln	Arg	Leu	Gln	Gly	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	
				100					105						110		
	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
			115					120					125				
[0050]	Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Gln	Ala	Gly	Glu	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	
	130						135						140				
	Pro	Leu	Ile	Glu	Ser	Pro	Gln	Gln	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Gly	
	145					150					155					160	
	Lys	Lys	Gly	Lys	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
					165					170					175		
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
				180					185					190			
	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
			195					200					205				
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
	210						215					220					

	Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile	
	225	230 235 240
	Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu	
		245 250 255
	Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His	
		260 265 270
	Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe	
		275 280 285
	His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn	
		290 295 300
[0051]	Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln	
	305	310 315 320
	Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn	
		325 330 335
	Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Asp Tyr Gln Leu Pro	
		340 345 350
	Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala	
		355 360 365
	Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly	
		370 375 380
	Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro	
	385	390 395 400

	Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe	
	405	410 415
	Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp	
	420	425 430
	Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg	
	435	440 445
	Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser	
	450	455 460
	Arg Gly Ser Pro Thr Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro	
	465	470 475 480
[0052]	Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn	
	485	490 495
	Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn	
	500	505 510
	Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys	
	515	520 525
	Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly	
	530	535 540
	Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile	
	545	550 555 560
	Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg	
	565	570 575

Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala  
580 585 590

Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln  
595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His  
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu  
625 630 635 640

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala  
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

[0053]

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 736

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成氨基酸序列

&lt;400&gt; 13

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

[0054] Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly  
145 150 155 160



	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
						165					170					175	
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
						180					185					190	
	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
						195					200					205	
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
						210					215					220	
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225					230					235					240	
[0055]	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
						245					250					255	
	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	
						260					265					270	
	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	
						275					280					285	
	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	
						290					295					300	
	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	
	305						310					315				320	
	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Thr	Asn	Asp	Gly	Val	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	
						325					330					335	

	Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro	
	340	345 350
	Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala	
	355	360 365
	Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly	
	370	375 380
	Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro	
	385	390 395 400
	Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe	
	405	410 415
[0056]	Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp	
	420	425 430
	Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg	
	435	440 445
	Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser	
	450	455 460
	Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro	
	465	470 475 480
	Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn	
	485	490 495
	Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn	
	500	505 510

	Gly	Arg	Glu	Ser	Ile	Ile	Asn	Pro	Gly	Thr	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	
	515						520					525					
	Asp	Asp	Glu	Asp	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	Ser	Gly	Val	Met	Ile	Phe	Gly	
	530					535					540						
	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile	
	545				550					555					560		
	Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ala	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Arg	
					565					570					575		
	Phe	Gly	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Phe	Gln	Ser	Ser	Ser	Thr	Asp	Pro	Ala	
				580					585					590			
[0057]	Thr	Gly	Asp	Val	His	Ala	Met	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	
	595						600					605					
	Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	
	610						615					620					
	Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	
	625					630					635				640		
	Lys	Asn	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	
					645					650				655			
	Asn	Pro	Pro	Ala	Glu	Phe	Ser	Ala	Thr	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr	
				660						665				670			
	Gln	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln	
	675						680					685					

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Ile Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Gln  
725 730 735

<210> 14

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成核酸序列

[0058]

<400> 14

gcggaagctt cgatcaacta cgc

23

<210> 15

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成核酸序列

<400> 15

ggggcggccg caattacaga ttacgagtca ggtatctggt g

41

<210> 16

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

	<223> 合成核酸序列	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (5)..(6)	
	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<400> 16	
	cattnnkgac cagtctagga actgg	25
	<210> 17	
	<211> 90	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
[0059]	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (21)..(22)	
	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (69)..(70)	
	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<400> 17	
	gccacaagga cgatgaagaa nnkttttttc ctcagagcgg ggttctcatc tttgggaagc	60
	aaggtcann kaaaacaagt gtggacattg	90
	<210> 18	
	<211> 35	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	

	<p>&lt;220&gt; &lt;221&gt; misc_feature &lt;222&gt; (18)..(19) &lt;223&gt; n 是 a, c, g 或 t</p> <p>&lt;400&gt; 18 ccaacctcca gagaggcnk agacaagcag ctacc</p>	35
	<p>&lt;210&gt; 19 &lt;211&gt; 57 &lt;212&gt; DNA &lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt; &lt;223&gt; 合成核酸序列</p>	
[0060]	<p>&lt;220&gt; &lt;221&gt; misc_feature &lt;222&gt; (18)..(19) &lt;223&gt; n 是 a, c, g 或 t</p> <p>&lt;220&gt; &lt;221&gt; misc_feature &lt;222&gt; (42)..(43) &lt;223&gt; n 是 a, c, g 或 t</p> <p>&lt;400&gt; 19 ccaactacaa caagtctnnk aatgtggact ttactgtgga cnnkaatggc gtgtatt</p>	57
	<p>&lt;210&gt; 20 &lt;211&gt; 20 &lt;212&gt; DNA &lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt; &lt;223&gt; 合成核酸序列</p>	
	<p>&lt;400&gt; 20 catgggaaag gtgccagacg</p>	20

	<210> 21	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
	<400> 21	
	accatcggca gccatacctg	20
	<210> 22	
	<211> 2208	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
[0061]	<400> 22	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60
	cagtgggtgga agctcaaacc tggcccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120
	gacagcaggg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
	aaggagagc cggtcaacga ggcagacgcc gcggccctcg agcacgacaa agcctatgac	240
	cggcagctcg acagcggaga caacccttac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt	300
	caggaacgcc ttaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggacgagc agtcttccag	360
	gcgaaaaaga gggttcttga acctctgggc ctggttgagg aacctgttaa gacggctccg	420
	ggaaaaaaga ggccggtaga gcactctcct gtggagccag actcctcctc gggaaccgga	480
	aaggcgggcc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaattttg gtcagactgg agacgcagac	540
	tcagtacctg acccccagcc tctcggacag ccaccagcag cccctcttgg tctgggaact	600
	aatac gatgg ctacaggcag tggcgacca atggcagaca ataacgagg cgccgacgga	660

	gtgggtaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggatgggcga cagagtcac	720
	accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780
	tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg	840
	tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca aagactcac	900
	aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaagttca agctctttaa cattcaagtc	960
	aaagaggtea cgcagaatga cggtagcacg acgattgccca ataaccttac cagcacggtt	1020
	cagggtgtta ctgactcgga gtaccagctc ccgtacgtcc tcggctcggc gcatcaagga	1080
	tgctcccg cgttcccagc agacgtcttc atgggtgccac agtatggata cctcaccctg	1140
	aacaacggga gtcaggcagt aggacgtctt tcattttact gcctggagta ctttccttct	1200
	cagatgctgc gtaccggtaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttccttc	1260
	cacagcagct acgctcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag	1320
[0062]	tacctgtatt acttgagcag aacagacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt	1380
	cagttttctc aggccggagc gagtgcatt cggaaccagt ctaggaactg gcttcctgga	1440
	ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgcgg ataacaaca cagtgaatac	1500
	tcgtggactg gagctaccaa gtaccacctc aatggcagag actctctggt gaatccgggc	1560
	ccggccatgg caagccaca ggacgatgaa gaaaagtttt ttctcagag cggggttctc	1620
	atctttggga agcaaggctc agagaaaaca agtgtggaca ttgaaaaggt catgattaca	1680
	gacgaagagg aaatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct	1740
	accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcgtt	1800
	cttccaggca tggctctggca ggacagagat gtgtacctc aggggccccat ctgggcaaag	1860
	attccacaca cggacggaca ttttcacccc tctcccctca tgggtggatt cggacttaaa	1920
	cacctctc cacagattct catcaagaac accccgtac ctgcgaatcc ttcgaccacc	1980



	ttcagtgccg caaagtttgc ttccttcac acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg	2040
	gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaacgct ggaatcccga agttcagtac	2100
	acttccaact acaacaagtc tgtaaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat	2160
	tcagagcctc gcccattgg caccagatac ctgactcgta atcagtaa	2208
	<210> 23	
	<211> 2211	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
	<400> 23	
	atggctgctg atggttatct tccagattgg ctgaggaca ctctctctga aggaataaga	60
	cagtgggtga agctcaaacc tggccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120
[0063]	gacagcaggg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
	aaggagagc cggatcaacga ggcagacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
	cagcagctca aggccggtga caaccctac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttc	300
	cagcagcggc ttcaggcgca cacatcgttt gggggcaacc tcggcagagc agtcttcag	360
	gccaaaaga gggttcttga acctcttggc ctggttgagc aagcgggtga gacggctcct	420
	ggaaagaaga gaccgttgat tgaatcccc cagcagcccg actcctccac gggatatggc	480
	aaaaaaggca agcagccggc taaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
	tcagtccccg acccacaacc tctcggagaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600
	actacaatgg cttcaggtgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
	accaccagca cccgcacctg ggccttgecc acctacaata accaccteta caagcaaac	780

	tccagtgttt caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag caccctctgg	840
	gggtattttg acttcaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcagcgactc	900
	atcaacaaca attggggatt cgggccaag agactcaact tcaaactctt caacatccaa	960
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
	gttcaagtct tctcggactc agactatcag ctcccgtagc tgctcgggtc ggctcacgag	1080
	ggctgcctcc cgccgttccc agcagacgtc ttcattgtgc cacagtatgg atacctcacc	1140
	ctgaacaacg ggagtcaggc agtaggacgc tcttcatttt actgcctgga gtactttcct	1200
	tctcagatgc tgcgtaccgg aaacaacttt accttcagct acacttttga ggacgttcct	1260
	ttccacagca gctacgtca cagccagagt ctggaccgtc tcatgaatcc tctcatcgac	1320
	cagtacctgt attacctgaa cagaactcag aatcagtccg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgggggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
[0064]	ggacctgttt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct	1560
	ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac aaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc	1620
	atgatttttg gaaaggagag cgccggagct tcaaactctg cattggacaa tgtcatgatc	1680
	acagacgaag aggaaatcaa agccactaac cccgtggcca ccgaaagatt tgggactgtg	1740
	gcagtcaatc tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga	1800
	gccttacctg gaatggtgtg gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc catttgggcc	1860
	aaaattcttc acacagatgg acactttcac ccgtctcttc ttatgggcgg ctttggactc	1920
	aagaacccgc ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttgcgaa tcctccggcg	1980
	gagttttcag ctacaaagt ttgcttcattc atcacccaat actccacagg acaagtgagt	2040
	gtggaaattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaagc gctggaatcc cgaagtgcag	2100

	tacacatcca attatgcaaa atctgccaac gttgatttta ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctgcgcccat tggcacccgt tacctcaccg gtccctgtga a	2211
	<210> 24	
	<211> 2211	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
	<400> 24	
	atggctgctg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60
	cagtgggtgga agctcaaacc tggcccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120
	gacagcaggg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
	aaggagagc cggtcaacga ggcagacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
[0065]	cagcagctca aggccggtga caaccctac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttc	300
	cagcagcggc ttcagggcga cacatcgttt gggggcaacc tcggcagagc agtcttcag	360
	gccaaaaaga gggttcttga acctcttggc ctggttgagc aagcgggtga gacggctcct	420
	ggaaagaaga gaccgttgat tgaatcccc cagcagcccg actcctccac gggtatcggc	480
	aaaaaaggca agcagccggc taaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
	tcagtccccg acccacaacc tctcgagaaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600
	actacaatgg cttcaggtgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
	accaccagca cccgcacctg ggccttgcgc acctacaata accacctcta caagcaaac	780
	tccagtgttt caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggtacag caccctctgg	840
	gggtatcttg acttcaacag attccactgc cacttttcac cactgactg gcagcgactc	900

	atcaacaaca attggggatt cgggccaag agactcaact tcaaactctt caacatccaa	960
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
	gttcaagtct tctcggactc agactatcag ctcccgtacg tgctcgggtc ggctcacgag	1080
	ggctgcctcc cgccgttccc agcagacgtc ttcattgtgc cacagtatgg atacctcacc	1140
	ctgaacaacg ggagtcaggc agtaggacgc tcttcatttt actgcctgga gtactttcct	1200
	tctcagatgc tgcgtaccgg aaacaacttt accttcagct acacttttga ggacgttcct	1260
	ttccacagca gctacgtca cagccagagt ctggaccgtc tcatgaatcc tctcatcgac	1320
	cagtacctgt attacctgaa cagaactcag aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgggggtc tccaactggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
	ggacctgttt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500
	tttacctgga ctgggtgctt aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct	1560
[0066]	ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac aaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc	1620
	atgatttttg gaaaggagag cgccggagct tcaaactctg cattggacaa tgtcatgatc	1680
	acagacgaag aggaaatcaa agccactaac cccgtggcca ctgaaagatt tgggactgtg	1740
	gcagtcaatc tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgccatggga	1800
	gccttacctg gaatggtgtg gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc tatttgggcc	1860
	aaaattcctc acacggatgg acactttcac ccgtctcctc tcatgggcgg ctttggactc	1920
	aagaaccgcg ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttgcgaa tcctccggcg	1980
	gagttttcag ctacaaagt tgccttcatc atcaccagc attccacagg acaagtgagc	2040
	gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag	2100
	tatacatcta actatgcaaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctgcceccat tggcacccgt tacctcacc gteccctgta a	2211

<210>	25	
<211>	2211	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成核酸序列	
<400>	25	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
	gagtgggtggg cgctgaaacc tggagccccg aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
	gacggccggg gtctgggtgct tcctggctac aagtacctcg gacccttcaa cgactcgac	180
	aagggggagc ccgtcaacgc ggcggatgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
	cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt	300
	caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttcag	360
[0067]	gccaaagaagc gggttctcga acctctcggt ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct	420
	ggaaagaaac gtccggtaga gcaatcgcca caagagccag actcctcctc gggcatcggc	480
	aagacaggcc agcagcccgc taaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
	tcagtccccg acccacaacc tctcgagaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600
	actacaatgg cttcaggcgg tggcgcacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggga cagagtcac	720
	accaccagca cccgaacatg ggccttgccc acctataaca accacctcta caagcaaac	780
	tccagtgttt cgacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag cccccctgg	840
	gggtattttg actttaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcagcgactc	900
	atcaacaaca actggggatt ccggcccaag agactcagct tcaagctctt caacatccag	960
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020

	gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag cttccgtacg tctcggctc tgcgcaccag	1080
	ggctgcctcc ctccgttccc ggcggacgtg ttcattgattc cgcaatacgg ctacctgacg	1140
	ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcattctttt actgcctgga atatttcct	1200
	tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacctttga ggaagtgcct	1260
	ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatgat	1320
	caatacctgt attacctgaa cagaactcaa aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgtgggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
	ggacctgtt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac ctcaatgggc gtgaatccat catcaaccct	1560
	ggcactgcta tggcctcaca taaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc	1620
	atgatttttg gaaaagagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatt	1680
[0068]	acagacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg	1740
	gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgctatggga	1800
	gcattacctg gcatggtgtg gcaagataga gacgtgtacc tgcagggtcc catttgggcc	1860
	aaaattcttc acacagatgg acactttcac ccgtctctc ttatgggcgg ctttggactc	1920
	aagaaccgc ctcctcagat cctcatcaaa aacacgctg ttctgcgaa tctcggcg	1980
	gagttttcag ctacaaagt tgccttcttc atcacccaat actccacagg acaagtgagc	2040
	gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag	2100
	tatacatcta actatgcaaa atctgccaac attgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctgcgcccat tggcacccgt tacctcacc gtccccagta a	2211
	<210> 26	
	<211> 736	

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成氨基酸序列

&lt;400&gt; 26

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

[0069]

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

	Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly
	145					150					155					160
	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr
					165					170					175	
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro
				180					185					190		
	Ala	Ala	Pro	Ser	Gly	Val	Gly	Ser	Leu	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly
			195					200					205			
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala
	210					215					220					
[0070]	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile
	225					230					235					240
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu
					245					250					255	
	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His
			260						265					270		
	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe
		275						280					285			
	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn
	290						295					300				
	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln
	305					310					315					320





Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

<210> 27

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列

[0073]

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 27

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Val Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

	Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala	
						85				90					95		
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	
					100				105						110		
	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
					115				120					125			
	Phe	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	
					130			135				140					
	Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly	
	145					150				155						160	
[0074]	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
					165					170					175		
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
					180				185					190			
	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
					195				200					205			
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
					210				215					220			
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225					230					235					240	
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
					245					250					255		



	Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg	
	435	440 445
	Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser	
	450	455 460
	Arg Gly Ser Pro Thr Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro	
	465	470 475 480
	Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn	
		485 490 495
	Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn	
		500 505 510
[0076]	Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys	
	515	520 525
	Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly	
	530	535 540
	Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile	
	545	550 555 560
	Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg	
		565 570 575
	Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala	
		580 585 590
	Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln	
	595	600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His  
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu  
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala  
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

[0077] Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

<210> 28

<211> 723

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 28

	Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser
	1				5					10					15	
	Glu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Trp	Asp	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Pro	Lys	Pro
				20				25						30		
	Lys	Val	Asn	Gln	Gln	Lys	Gln	Asp	Asn	Ala	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
			35					40					45			
	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
		50					55					60				
	Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
	65					70					75					80
[0078]	Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala
					85					90					95	
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
					100					105					110	
	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
			115					120					125			
	Phe	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
		130					135					140				
	Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly
	145					150					155					160
	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr
					165					170					175	



	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
							180				185					190	
	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
							195				200					205	
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
							210									220	
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225						230					235				240	
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
							245					250				255	
[0079]	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	
							260									270	
	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	
							275									285	
	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	
							290									300	
	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Gln	Val	
	305						310					315				320	
	Lys	Glu	Thr	Thr	Asp	Val	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	
							325					330				335	
	Val	Gln	Val	Phe	Ser	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Gly	
							340					345				350	

Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp Val Phe Met  
355 360 365

Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser Gln Ala Val  
370 375 380

Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu  
385 390 395 400

Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe  
405 410 415

His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro  
420 425 430

[0080] Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser  
435 440 445

Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Thr  
450 455 460

Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg  
465 470 475 480

Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Asn Ser Asn Phe  
485 490 495

Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile  
500 505 510

Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Lys  
515 520 525

	Phe	Phe	Pro	Met	Ser	Gly	Val	Met	Ile	Phe	Gly	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	
	530						535					540					
	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile	Thr	Asp	Glu	Glu	Ala	
	545					550					555					560	
	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Arg	Phe	Gly	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Leu	
					565					570					575		
	Gln	Ser	Ser	Pro	Ala	Thr	Asp	Val	His	Ala	Met	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	
				580					585					590			
	Met	Val	Trp	Gln	Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	
		595					600						605				
[0081]	Lys	Ile	Pro	His	Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	
	610						615					620					
	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	
	625					630					635					640	
	Pro	Val	Pro	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala	Glu	Phe	Ser	Ala	Thr	Lys	Phe	Ala	
					645					650					655		
	Ser	Phe	Ile	Thr	Gln	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	
				660						665					670		
	Trp	Glu	Leu	Gln	Lys	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Val	Gln	
		675						680					685				
	Tyr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Lys	Ser	Ala	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	
	690						695						700				

Asn Asn Gly Leu Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu  
705 710 715 720

Thr Arg Pro

<210> 29

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 29

Met Ala Ser Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser  
1 5 10 15

[0082]

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Gln Gln Leu Arg Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
	115							120					125				
	Phe	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	
	130						135					140					
	Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly	
	145				150					155						160	
	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
				165						170					175		
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
			180						185					190			
[0083]	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
	195							200					205				
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
	210						215					220					
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225				230					235						240	
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
				245					250						255		
	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	
			260						265					270			
	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	
	275							280					285				

	His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn	
	290	295 300
	Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln	
	305	310 315 320
	Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn	
		325 330 335
	Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro	
		340 345 350
	Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala	
		355 360 365
[0084]	Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly	
	370	375 380
	Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro	
	385	390 395 400
	Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe	
		405 410 415
	Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp	
		420 425 430
	Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg	
	435	440 445
	Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser	
	450	455 460

	Arg	Gly	Ser	Pro	Ala	Gly	Met	Ser	Val	Gln	Pro	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro
	465					470					475					480
	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Lys	Thr	Asp	Asn
					485					490					495	
	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Thr	Trp	Thr	Gly	Ala	Ser	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asn
				500					505					510		
	Gly	Arg	Glu	Ser	Ile	Ile	Asn	Pro	Gly	Thr	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys
		515						520					525			
	Asp	Asp	Lys	Asp	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	Ser	Gly	Val	Met	Ile	Phe	Gly
	530						535					540				
[0085]	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile
	545				550						555				560	
	Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ala	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Arg
					565					570					575	
	Phe	Gly	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Ser	Thr	Asp	Pro	Ala
				580					585					590		
	Thr	Gly	Asp	Val	His	Val	Met	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln
		595					600						605			
	Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His
	610						615					620				
	Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu
	625				630						635				640	

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala  
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr  
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln  
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn  
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu  
705 710 715 720

[0086]

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu  
725 730 735

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 736

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成氨基酸序列

&lt;400&gt; 30

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro  
20 25 30



	Lys	Pro	Ala	Glu	Arg	His	Lys	Asp	Asp	Ser	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro	
	35						40					45					
	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro	
	50						55				60						
	Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp	
	65				70					75					80		
	Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala	
				85					90					95			
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	
			100					105						110			
[0087]	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
	115						120					125					
	Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	
	130						135					140					
	Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly	
	145				150					155					160		
	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
				165						170					175		
	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	
			180						185					190			
	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	
		195					200						205				

	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	
	210						215					220					
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225					230					235				240		
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
					245					250					255		
	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	
			260							265					270		
	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	
		275						280					285				
[0088]	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	
	290						295					300					
	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	
	305					310					315				320		
	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Thr	Asn	Asp	Gly	Val	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	
					325					330					335		
	Leu	Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Ser	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	
					340				345					350			
	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	
		355						360						365			
	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	
	370						375					380					

	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro
	385					390					395					400
	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe
					405					410						415
	Glu	Glu	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp
					420					425						430
	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg
					435					440						445
	Thr	Gln	Asn	Gln	Ser	Gly	Ser	Ala	Gln	Asn	Lys	Asp	Leu	Leu	Phe	Ser
					450					455						460
[0089]	Arg	Gly	Ser	Pro	Ala	Gly	Met	Ser	Val	Gln	Pro	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro
	465						470					475				480
	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Lys	Thr	Asp	Asn
					485						490					495
	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Thr	Trp	Thr	Gly	Ala	Ser	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asn
					500					505						510
	Gly	Arg	Glu	Ser	Ile	Ile	Asn	Pro	Gly	Thr	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys
					515					520						525
	Asp	Asp	Glu	Asp	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	Ser	Gly	Val	Met	Ile	Phe	Gly
					530					535						540
	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile
	545									550						560

	Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg	
	565	570 575
	Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala	
	580	585 590
	Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln	
	595	600 605
	Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His	
	610	615 620
	Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu	
	625	630 635 640
[0090]	Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala	
	645	650 655
	Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr	
	660	665 670
	Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln	
	675	680 685
	Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn	
	690	695 700
	Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu	
	705	710 715 720
	Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu	
	725	730 735

<210> 31  
<211> 735  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成氨基酸序列

<400> 31

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro  
20 25 30

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

[0091]

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

	Pro	Val	Glu	His	Ser	Pro	Val	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Gly	
	145					150				155						160	
	Lys	Ala	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Arg	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
				165					170					175			
	Gly	Asp	Ala	Asp	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro	
			180					185					190				
	Ala	Ala	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Thr	Asn	Thr	Met	Ala	Thr	Gly	Ser	Gly	
		195						200				205					
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ser	
	210					215					220						
[0092]	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Met	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225				230					235					240		
	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	
				245						250					255		
	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr	
			260						265					270			
	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His	
		275						280					285				
	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp	
	290						295					300					
	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Lys	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val	
	305				310					315					320		

	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Asp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu	
					325				330						335		
	Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	
				340				345						350			
	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp	
			355					360					365				
	Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser	
		370					375					380					
	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser	
	385					390					395					400	
[0093]	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	
					405				410						415		
	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	
				420					425					430			
	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr	
		435						440					445				
	Asp	Thr	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Thr	Gln	Ser	Arg	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	
		450						455				460					
	Ala	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Asp	Gln	Ser	Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	
	465					470					475					480	
	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn	
					485					490					495		

	Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly	
	500	505 510
	Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp	
	515	520 525
	Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys	
	530	535 540
	Gln Gly Ser Glu Lys Thr Ser Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr	
	545	550 555 560
	Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr	
	565	570 575
[0094]	Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr	
	580	585 590
	Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp	
	595	600 605
	Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr	
	610	615 620
	Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys	
	625	630 635 640
	His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn	
	645	650 655
	Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln	
	660	665 670



Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys  
675 680 685

Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr  
690 695 700

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr  
705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
725 730 735

<210> 32

<211> 735

<212> PRT

<213> 人工序列

[0095]

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 32

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro  
20 25 30

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

	Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp	
	65					70					75					80	
	Arg	Gln	Leu	Asp	Ser	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala	
					85					90					95		
	Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	
					100					105					110		
	Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	
					115					120					125		
	Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Val	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	
					130					135					140		
[0096]	Pro	Val	Glu	His	Ser	Pro	Val	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Gly	
	145					150					155					160	
	Lys	Ala	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Arg	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr	
					165					170					175		
	Gly	Asp	Ala	Asn	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro	
					180					185					190		
	Ala	Ala	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Thr	Asn	Thr	Met	Ala	Thr	Gly	Ser	Gly	
					195					200					205		
	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ser	
					210					215					220		
	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Met	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	
	225					230					235					240	





Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp  
595 600 605

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr  
610 615 620

Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys  
625 630 635 640

His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn  
645 650 655

Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln  
660 665 670

[0099] Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys  
675 680 685

Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr  
690 695 700

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr  
705 710 715 720

Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
725 730 735

<210> 33

<211> 735

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

&lt;400&gt; 33

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro  
20 25 30

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro  
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro  
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp  
65 70 75 80

[0100]

Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala  
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly  
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro  
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg  
130 135 140

Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly  
145 150 155 160

Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr  
165 170 175

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr  
340 345 350

Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp  
355 360 365

Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser  
370 375 380

Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser  
385 390 395 400

Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu  
405 410 415

Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg  
420 425 430

[0102]

Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr  
435 440 445

Asp Ala Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln  
450 455 460

Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly  
465 470 475 480

Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn  
485 490 495

Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly  
500 505 510

Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp  
515 520 525



	Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Gln	Ser	Gly	Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	
	530						535					540					
	Gln	Gly	Ser	Glu	Lys	Thr	Ser	Val	Asp	Ile	Glu	Lys	Val	Met	Ile	Thr	
	545					550					555					560	
	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr	
					565					570						575	
	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly	Asn	Arg	Gln	Ala	Ala	Thr	
				580						585						590	
	Ala	Asp	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Val	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp	
		595							600					605			
[0103]	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr	
	610						615						620				
	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys	
	625					630					635					640	
	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	Asn	
					645					650						655	
	Pro	Ser	Thr	Thr	Phe	Ser	Ala	Ala	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr	Gln	
					660					665						670	
	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln	Lys	
					675					680						685	
	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Val	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn	Tyr	
		690						695								700	

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr  
705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu  
725 730 735

<210> 34

<211> 2211

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成核酸序列

<400> 34

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc 60

gagtgggtggg acttgaaacc tggagccccg aaacccaaag ccaaccagca aaagcaggac 120

[0104]

gacggccggg gtctgggtgt tcttggttac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac 180

aaggggggagc ccgtcaacgc ggcggatgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240

cagcagctca aagcgggtga caatccgtac cttcgggtata accacgccga cgccgagttt 300

caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag 360

gccaaaaaga gggttctcga acctctcggt ctggttgagg aagcggttaa gacggctcct 420

ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctcctc gggcattggc 480

aagacaggcc agcagcccgc taaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag 540

tcagtccccg acccacaacc tctcggagaa cctcccgag cccctcagg tgtgggatct 600

cttacaatgg cttcaggtgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga 660

gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac 720

accaccagca cccgcacctg ggccttgccc acctacaata accacctcta caagcaaate 780

	tccagtgttt caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag caccctctgg	840
	gggtattttg acttcaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcaaagactc	900
	atcaacaaca attggggatt cgggccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
	gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgcgtacg tctcggctc tgcgcaccag	1080
	ggctgcctcc ctccgttccc ggcgagactg ttcattgattc cgcagtacgg ctacctaacg	1140
	ctcaacaatg gcagccaggc agtgggacgg tcattctttt actgcctgga atatttccca	1200
	tcgcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacctttga ggaagtgcct	1260
	ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac	1320
	cagtacctgt attacctgaa cagaactcaa aatcagtccg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgtgggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
[0105]	ggacctgttt accggcagca gtgcgtttct aaaacaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct	1560
	ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac aaagacaagt tctttcccat gagcgggtc	1620
	atgatttttg gaaaggagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatc	1680
	acagacgaag aggaaatcaa agccactaac cccgtggcca ccgaaagatt tgggactgtg	1740
	gcagtcaatc tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga	1800
	gccttacctg gaatggtgtg gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc tatttgggcc	1860
	aaaattcttc acacagatgg acactttcac ccgtctcttc ttatgggcgg ctttggactc	1920
	aagaacccgc ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttgcgaa tcctccggcg	1980
	gagttttcag ctacaaagt ttgcttcattc atcacccaat actccacagg acaagtgagc	2040
	gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaagc gctggaatcc cgaagtgcag	2100

	tacacatcca attatgcaaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctgcgcccat tggcacccgt tacctcaccg gtccctgtga a	2211
	<210> 35	
	<211> 2211	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
	<400> 35	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
	gaatggtggg acttgaaacc tggagcccg aaacccaaag tcaaccagca aaagcaggac	120
	aacgctcggg gtcttgtgct tccgggttac aaatacctcg gacccttcaa cgactcgac	180
	aagggggagc ccgtcaacgc ggcgagcgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
[0106]	cagcagctca aagcgggtga caatccgtac cttcggtata accacgccga cgccgagttt	300
	caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc ttggacgagc agtcttcag	360
	gccaaagaaga gggttctcga accttttggg ctggttgagg aagggtgctaa gacggctcct	420
	ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctctc gggcattggc	480
	aagacaggcc agcagcccg taaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
	tcagtccccg acccacaacc tctcgagaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600
	actacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
	accaccagca ccgcacctg ggccttgcgc acctacaata accacctcta caagcaaac	780
	tccagtgtt caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggtacag cccccctgg	840
	gggtattttg acttcaacag attccactgc cacttttcac cactgactg gcaaagactc	900

	atcaacaaca attggggatt cgggccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
	gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgccgtacg tctcggctc tgcgcaccag	1080
	ggctgcctcc ctccgttccc ggcgagcgtg ttcattgattc cgcaatacgg ctacctgacg	1140
	ctcaacaatg gcagccaggc agtgggacgg tcattctttt actgcctgga atatttccca	1200
	tgcagatgc tgagaacggg caataacttt accttcagct acattttga ggacgttcct	1260
	ttccacagca gctacgtca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac	1320
	cagtacctgt attacctgaa cagaactcag aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgtgggtc tccaactggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
	ggacctgtt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct	1560
[0107]	ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc	1620
	atgatttttg gaaaggagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatc	1680
	acagacgaag aggaaatcaa agccactaac cccgtggcca ctgaaagatt tgggactgtg	1740
	gcagtcaatc tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgccatggga	1800
	gccttacctg gaatggtgtg gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc tatttgggcc	1860
	aaaattcttc acacggatgg acattttcac ccgtctctc tcattggcgg ctttggactt	1920
	aagcaccgc ctcctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttgcgaa tcctccggca	1980
	gagttttcgg ctacaaagt tgccttcatc atcaccagc attccacagg acaagtgagc	2040
	gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag	2100
	tatacatcta actatgcaaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctgcgccat tggcacccgt tacctcacc gteccctgta a	2211

	<210> 36
	<211> 2208
	<212> DNA
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成核酸序列
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (955)..(955)
	<223> n 是 a, c, g 或 t
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (971)..(972)
	<223> n 是 a, c, g 或 t
	<220>
[0108]	<221> misc_feature
	<222> (981)..(981)
	<223> n 是 a, c, g 或 t
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (986)..(986)
	<223> n 是 a, c, g 或 t
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1235)..(1235)
	<223> n 是 a, c, g 或 t
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1694)..(1696)
	<223> n 是 a, c, g 或 t
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1698)..(1698)

	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1763)..(1765)	
	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1778)..(1778)	
	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (2204)..(2204)	
	<223> n 是 a, c, g 或 t	
	<400> 36	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
	gaatggtggg acttgaaacc tggagccccg aaacccaaag tcaaccagca aaagcaggac	120
[0109]	aacgctcggg gtcttgtgct tccgggttac aaatacctcg gacccttcaa cggaactcgac	180
	aagggggagc cgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
	cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctccggtata accacgccga cgccgagttt	300
	caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc ttggacgagc agtcttccag	360
	gccaaagaaga gggttctcga accttttggg ctggttgagg aagtgctaa gacggctcct	420
	ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctctc ggcattggc	480
	aagacaggcc agcagcccg ctaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
	tcagtccccg acccacaacc tctcgagaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600
	actacaatgg cttcaggcgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
	accaccagca ccgaacatg ggccttgcac acctataaca accacctcta caagcaaatc	780

	tccagtgtt caacggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag cacccttg	840
	gggtattttg atttcaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcagcgactc	900
	atcaataaca attggggatt cgggccaag agactcaact tcaaactctt caantccaa	960
	gtcaaggagg nnacgacgaa ngatgncgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
	gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ctccgtacg tctcggctc tgcgcaccag	1080
	ggctgcctcc ctccgttccc ggcgagctg ttcattgattc cgcaatacgg ctacctgacg	1140
	ctcaacaatg gcagccagc agtgggacgg tcctcctttt actgcctgga atatttccca	1200
	tcgcagatgc tgagaacggg caataacttt acctncagct acacttttga ggacgttctt	1260
	ttccacagca gctacgtca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac	1320
	cagtacctgt attacctgaa cagaactcag aatcagtccg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgtgggtc tccaactggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
[0110]	ggacctgtt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaacct	1560
	ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtc	1620
	atgatTTTTT gaaaggagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatc	1680
	acagacgaag aganncnaa gccactaacc ccgtggccac tgaaagattt gggactgtgg	1740
	cagtcaatct ccaagcagca cannnacct gcgaccgnag atgtgcatgc catgggagcc	1800
	ttacctgga tgggtgtgca agacagagac gtatactgc aggttcctat ttgggcaaaa	1860
	attcctcaca cggatggaca ctttcacccg tctcctctca tgggcggctt tggacttaag	1920
	caccgcctc ctcagatcct catcaaaaac acgcctgttc ctgcgaatcc tccggcagag	1980
	ttttcggeta caaagtttgc ttcatcctc acccagtatt ccacaggaca agtgagcgtg	2040
	gagattgaat gggagctgca gaaagaaaac agcaaagct ggaatccga agtgagctat	2100



	acatctaact atgcaaaatc tgccaacggt gatttcactg tggacaacaa tggactttat	2160
	actgagcctc gccccattgg cacccggttac ctcacccgtc ccngtaa	2208
	<210> 37	
	<211> 2211	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
	<400> 37	
	atggettcg atggttatct tccagattgg ctgaggaca acctctctga gggcatccgc	60
	gagtgggtggg acttgaaacc tggagccccg aaacccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
	gacggccggg gtctggtgct tcctggctac aagtacctcg gacccttcaa cgactcgac	180
	aagggggagc ccgtcaacgc ggcggtatgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
[0111]	cagcagctca gagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt	300
	caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttcag	360
	gccaaagaaga gggttctcga accttttggg ctggttgagg aagggtgctaa gacggctcct	420
	ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctctc gggcattggc	480
	aagacaggcc agcagcccg ctaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
	tcagtccccg acccacaacc tctcgagaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600
	actacaatgg cttcaggcgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
	accaccagca ccgaacatg ggccttgccc acctataaca accacctcta caagcaaate	780
	tccagtgett caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggtacag cccccctgg	840
	gggtattttg atttcaacag attccactgc catttctcac cacgtgactg gcagcgactc	900

	atcaacaaca attggggatt cggcccaag agactcaact tcaaactctt caacatccaa	960
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
	gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag cttccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag	1080
	ggctgcctcc ctccgttccc ggcggaagtg ttcattgattc cgcagtacgg ctacctaacg	1140
	ctcaacaatg gcagccaggc agtgggacgg tcattctttt actgcctgga atatttccca	1200
	tcgcagatgc tgagaacggg caataacttt accttcagct acaccttcga ggacgtgcct	1260
	ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac	1320
	cagtacctgt attacctgaa cagaactcag aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgggggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
	ggacctgtt accggcagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct	1560
[0112]	ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac aaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc	1620
	atgatttttg gaaaggagag cgccggagct tcaaactctg cattggacaa tgtcatgac	1680
	acagacgaag aggaaatcaa agccactaac cccgtggcca ccgaaagatt tgggactgtg	1740
	gcagtcaatc tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga	1800
	gccttacctg gaatggtgtg gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc catttgggcc	1860
	aaaattcctc acacagatgg acactttcac ccgtctcctc ttatgggcgg ctttggactt	1920
	aagcaccgc ctcctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttgcgaa tcctccggca	1980
	gagttttcgg ctacaaagt tgccttcatc atcaccagc attctactgg ccaagtcagc	2040
	gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag	2100
	tatacatcta actatgcaaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctctgccat tggcacccgt tacctcacc gtcccctgta a	2211

	<210>	38	
	<211>	2211	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成核酸序列	
	<400>	38	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60	
	cagtgggtgga agctcaaacc tggcccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120	
	gacagcaggg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180	
	aaggagagagc cggatcaacga ggcagacgcc gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240	
	cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt	300	
	caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttcag	360	
[0113]	gccaaagaagc gggttctcga acctctcggt ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct	420	
	ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctcctc gggcatcggc	480	
	aagacaggcc agcagcccgc taaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540	
	tcagtccccg acccacaacc tctcgagaaa cctccagcaa cccccgtgc tgtgggacct	600	
	actacaatgg cttcaggcgg tggcgcacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660	
	gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720	
	accaccagca cccgaacatg ggccttgccc acctataaca accacctcta caagcaaate	780	
	tccagtgcct cgacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag cccccctgg	840	
	gggtattttg actttaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcagcgactc	900	
	atcaacaata actggggatt ccggcccaag agactcagct tcaagctctt caacatccag	960	
	gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020	

	gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag cttccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag	1080
	ggctgcctcc ctccgttccc ggccggacgtg ttcatgattc cgcaatacgg ctacctgacg	1140
	ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttcct	1200
	tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacctttga ggaagtgcct	1260
	ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatgat	1320
	caatacctgt attacctgaa cagaactcaa aatcagtcg gaagtgccca aaacaaggac	1380
	ttgctgttta gccgtgggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
	ggaccctgtt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat	1500
	tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac ctcaatgggc gtgaatccat catcaaccct	1560
	ggcactgcta tgccctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc	1620
	atgatttttg gaaaagagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatt	1680
[0114]	acggacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg	1740
	gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgctatggga	1800
	gcattacctg gcatggtgtg gcaagataga gacgtgtacc tgcaggggcc catttgggcc	1860
	aaaattcttc acacagatgg acactttcac ccgtctctc ttatgggcgg ctttggactc	1920
	aagaacccgc ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttcgaa tcctccggcg	1980
	gagttttcag ctacaaagtt tgcttcattc atcactcaat actccacagg acaagtgagc	2040
	gtggaaattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag	2100
	tatacatcta actatgcaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
	tatactgagc ctgcgcccat tggcaccgt tacctcacc gtcacctgta a	2211
<210>	39	
<211>	2208	
<212>	DNA	

<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成核酸序列		
<400> 39		
atggetgceg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60	
cagtgggtgga agctcaaacc tggcccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120	
gacagcaggg gtcttgtgct tcttgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180	
aaggagagac cgggtcaacga ggcagacgcc gcggccctcg agcacgacaa agcctatgac	240	
cggcagctcg acagcggaga caacccttac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt	300	
caggagcgcc ttaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggacgagc agtcttccag	360	
gcgaaaaaga gggttcttga acctctgggc ctggttgagg aacctgttaa gacggctccg	420	
ggaaaaaaga ggccggtaga gcactctcct gtggagccag actcctcctc gggaaccgga	480	
aaggcgggcc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaattttg gtcagactgg agacgcagac	540	
tcagtacctg atccccagcc tctcggacag ccaccagcag cccctcttgg tctgggaact	600	
aatacagatg ctacaggcag tggcgcacca atggcagaca ataacgaggg cgccgacgga	660	
gtgggtaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggatgggcga cagagtcac	720	
accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780	
tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg	840	
tattttgact tcaacagatt cacttgcac ttttcaccac gtgactggca aagactcatc	900	
aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaagtta agctctttta cattcaagtc	960	
aaagaggtca cgcagaatga cggtagcagc acgattgccataaaccttac cagcacggtt	1020	
cagggtgtta ctgactcgga gtaccagctc ccgtatgtcc tcggctcggc gcatcaagga	1080	
tgctccccgc cgttcccagc agacgtcttc atggtgccac agtatggata cctcaccctg	1140	

[0115]

	aacaacggga gtcaggcagt aggacgtctt tcattttact gcctggagta ctttccttct	1200
	cagatgctgc gtaccggtaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttcctttc	1260
	cacagcagct acgctcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag	1320
	tacctgtatt acttgagcag aacagacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt	1380
	cagttttctc aggccggagc gagtgcattt cgggaccagt ctaggaactg gcttcctgga	1440
	ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgcgg ataacaaca cagtgaatac	1500
	tcgtggactg gagctaccaa gtaccacctc aatggcagag actctctggt gaatccgggc	1560
	ccggccatgg caagccacaa ggacgatgaa gaaaagtttt ttcctcagag cggggttctc	1620
	atctttggga agcaaggctc agagaaaaca agtgtggaca ttgaaaagg catgattaca	1680
	gacgaagagg aaatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct	1740
	accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcgtt	1800
[0116]	cttcaggca tggctctgga ggacagagat gtgtacctt aggggcccac ctgggcaaag	1860
	attccacaca cggacggaca ttttaccctc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa	1920
	cacctctctc cacagattct catcaagaac accccggtac ctgcgaatcc ttcgaccacc	1980
	ttcagtgcgg caaagtttgc ttccttcac acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg	2040
	gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaacgt ggaatcccga agttcagtac	2100
	acttccaact acaacaagtc tgtaaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat	2160
	tcagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa	2208

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 2208

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成核酸序列

[0117]	<400> 40	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60
	cagtgggtgga agctcaaacc tggcccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120
	gacagcaggg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
	aagggagagc cggatcaacga ggcagacgcc gcggccctcg agcacgacaa agcctatgac	240
	cggcagctcg acagcggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt	300
	caggagcgcc ttaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggacgagc agtcttccag	360
	gcgaaaaaga gggttcttga acctctgggc ctggttgagg aacctgttaa gacggctccg	420
	ggaaaaaaga ggccggtaga gcactctcct gtggagccag actcctcctc gggaaccgga	480
	aaggcgggcc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaattttg gtcagactgg agacgcaaac	540
	tcagtacctg acccccagcc tctcggacag ccaccagcag cccctcttg tctgggaact	600
	aatacgatgg ctacaggcag tggcgacca atggcagaca ataacgaggg cgccgacgga	660
	gtgggttaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggaigggcga cagagtcac	720
	accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780
	tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg	840
	tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca aagactcac	900
	aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaagtta agctctttaa cattcaagtc	960
	aaagaggtca cgcagaatga cggtagcagc acgattgcc aataccttac cagcacggtt	1020
	caggtgttta ctgactcgga gtaccagctc ccgtacgtcc tcggctcggc gcatcaagga	1080
	tgctcccgcc cgttcccagc agacgtcttc atggtgccac agtatggata cctcacctg	1140
	aacaacggga gtcgggcagt aggacgtctc tcattttact gcctggagta ctttccttct	1200
	cagatgctgc gtaccggtaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttccttct	1260

	cacagcagct acgctcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag	1320
	tacctgtatt acttgagcag aacagacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt	1380
	cagttttctc aggccggagc gagtgcatt cgggaccagt ctaggaactg gcttcctgga	1440
	ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgcgg ataacaacaa cagtgaatac	1500
	tcgtggactg gagctaccaa gtaccacctc aatggcagag actctctggt gaatccgggc	1560
	ccggccatgg caagccacaa ggacgatgaa gaaaagtttt ttctcagag cggggttctc	1620
	atctttggga agcaaggctc agagaaaaca agtgtggaca ttgaaaaggt catgattaca	1680
	gacgaagagg aaatcaggac gaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct	1740
	accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcgtt	1800
	cttcaggca tggctcggca ggacagagat gtgtacctc aggggccccat ctgggcaaag	1860
	attccacaca cggacggaca ttttcacccc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa	1920
[0118]	cacctctc cccagattct catcaagaac accccggtac ctgcgaatcc ttcgaccacc	1980
	ttcagtgcgg caaagtttgc ttcttcacac acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg	2040
	gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaagct ggaatccga agttcagtac	2100
	acttccaact acaacaagtc tgttaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat	2160
	acagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa	2208
	<210> 41	
	<211> 2208	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成核酸序列	
	<400> 41	
	atggctgccg atggttatct tccagattgg ctgcaggaca ctctctctga aggaataaga	60



	cagtgggtgga agctcaaacc tggcccacca ccaccaaagc cgcagagcgc gcataaggac	120
	gacagcaggg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
	aaggagagc cggatcaacga ggcagacgcc gcggccctcg agcacgacaa agcctatgac	240
	cggcagctcg acagcggaga caacccttac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt	300
	caggagcgcc ttaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggacgagc agtcttccag	360
	gcgaaaaaga gggttcttga acctctgggc ctggttgagg aacctgttaa gacggctccg	420
	ggaaaaaaga ggccggtaga gcactctcct gtggagccag actcctctc gggaaccgga	480
	aaggcgggtc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaattttg gtcagactgg agacgcagac	540
	tcagtacctg acccccagcc tctcggacag ccaccagcag cccctcttg tctgggaact	600
	aatacgatgg ctacaggcag tggcgcacca atggcagaca ataacgaggg cgccgacgga	660
	gtgggtaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggatgggcga cagagtcac	720
[0119]	accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780
	tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg	840
	tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca aagactcac	900
	aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaagtta agctctttta cattcaagtc	960
	aaagaggta cgcagaatga cggtagcagc acgattgcca ataaccttac cagcaggtt	1020
	cagggtttta ctgactcgga gtaccagctc ccgtacgtcc tcggctcggc gcatcaagga	1080
	tgctccccgc cgttcccagc agacgtcttc atgggtccac agtatggata cctcaccctg	1140
	aacaacggga gtcaggcagt aggacgtctt tcattttact gcctggagta ctttcttct	1200
	cagatgctgc gtaccggtaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttctttc	1260
	cacagcagct acgtcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag	1320
	tacctgtatt acttgagcag aacagacgt ccaagtggaa ccaccagca gtcaagctt	1380

[0120]

cagttttctc aggccggagc gagtgcatt cgggaccagt ctaggaactg gcttcctgga	1440
ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgcgg ataacaaca cagtgaatac	1500
tcgtggactg gagctacca gtaccacctc aatggcagag actctctggt gaatccgggc	1560
ccggccatgg caagccacaa ggacgatgaa gaaaagtitt ttcttcagag cggggttctc	1620
atctttggga agcaaggctc agagaaaaca agtgtggaca ttgaaaaggt catgattaca	1680
gacgaagagg aaatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct	1740
accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcggt	1800
cttccaggca tggctcggca ggacagagat gtgtacctc aggggcccac ctgggcaaag	1860
attccacaca cggacggaca ttttcacccc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa	1920
cacctcctc cacagattct catcaagaac accccgtac ctgcgaatcc ttcgaccacc	1980
ttcagtcggg caaagtttgc ttccttcac acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg	2040
gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaacgt ggaatcccga agttcagtac	2100
acttccaact acaacaagtc tgttaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat	2160
tcagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa	2208

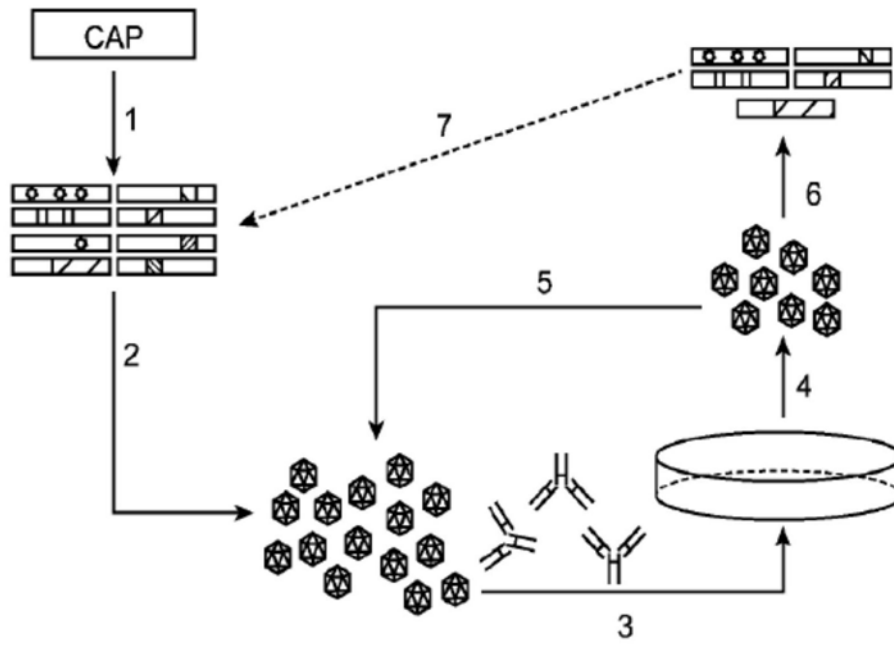


图1A

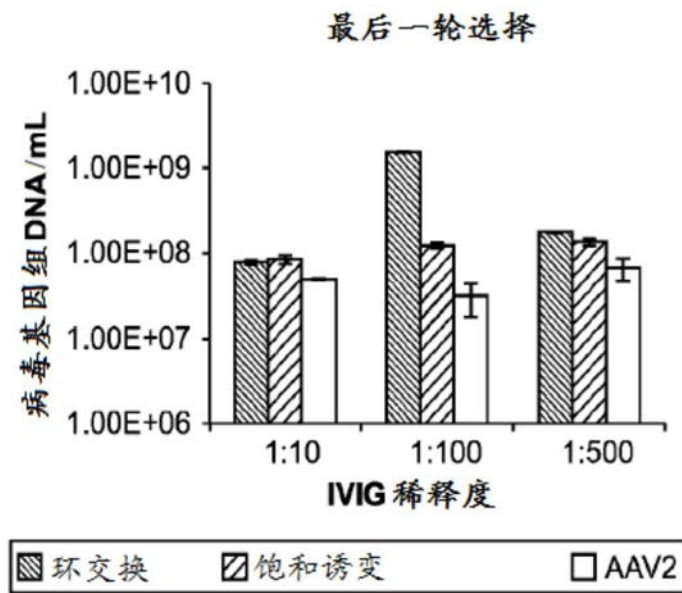


图1B

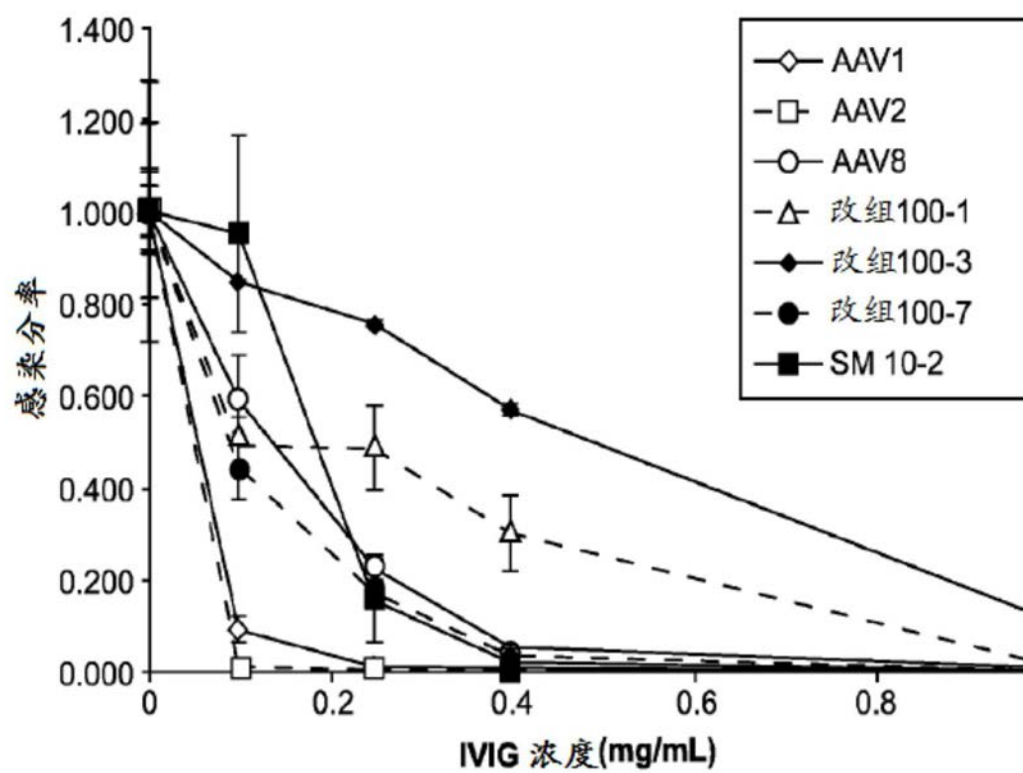


图2A






















	AAV1	AAV2	AAV8	改组 100-1	改组 100-3	改组 100-7	SM 10-2
1 mg/mL IVIG							
0.25 mg/mL IVIG							
无血清							

图2B

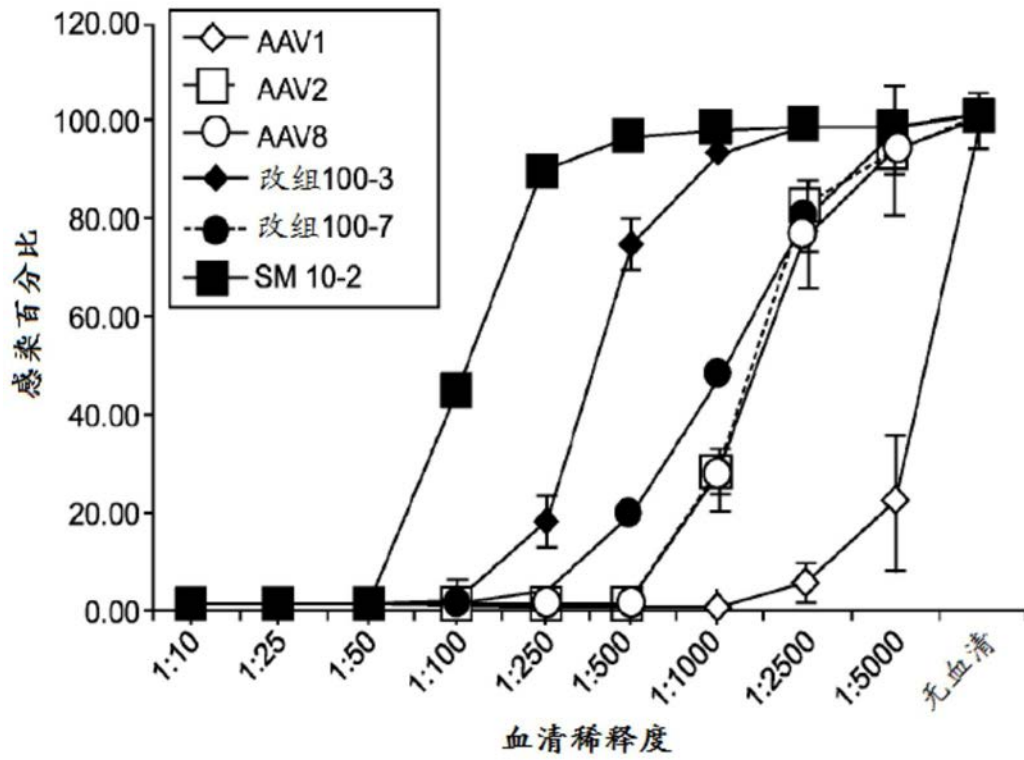


图3A

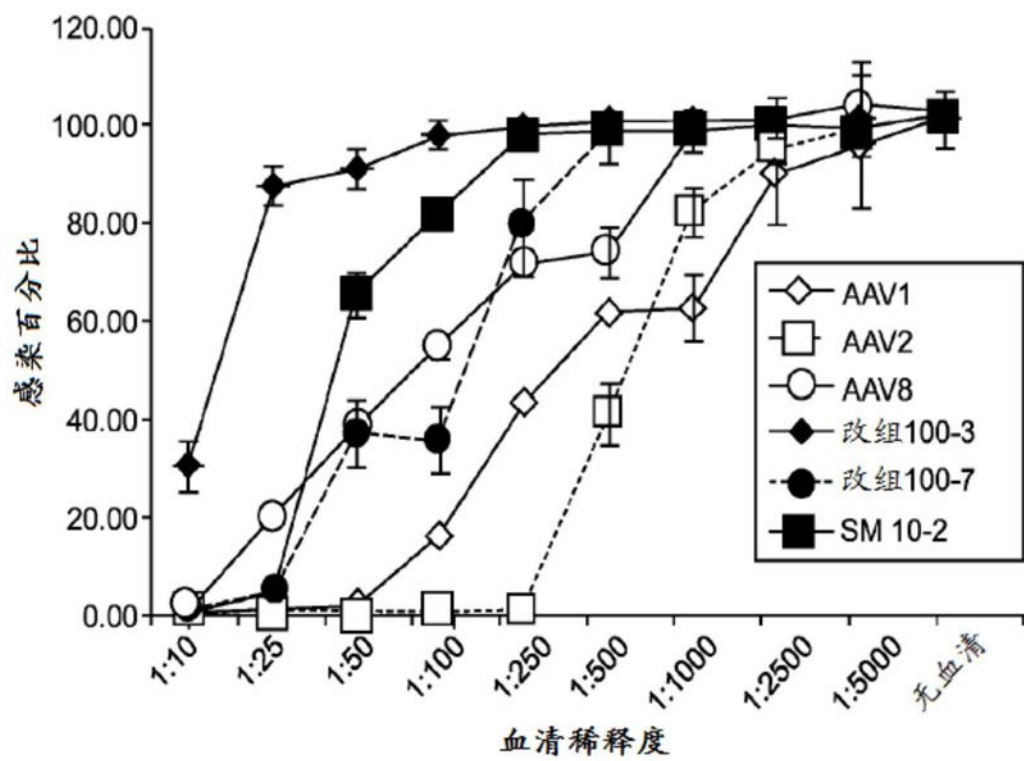


图3B

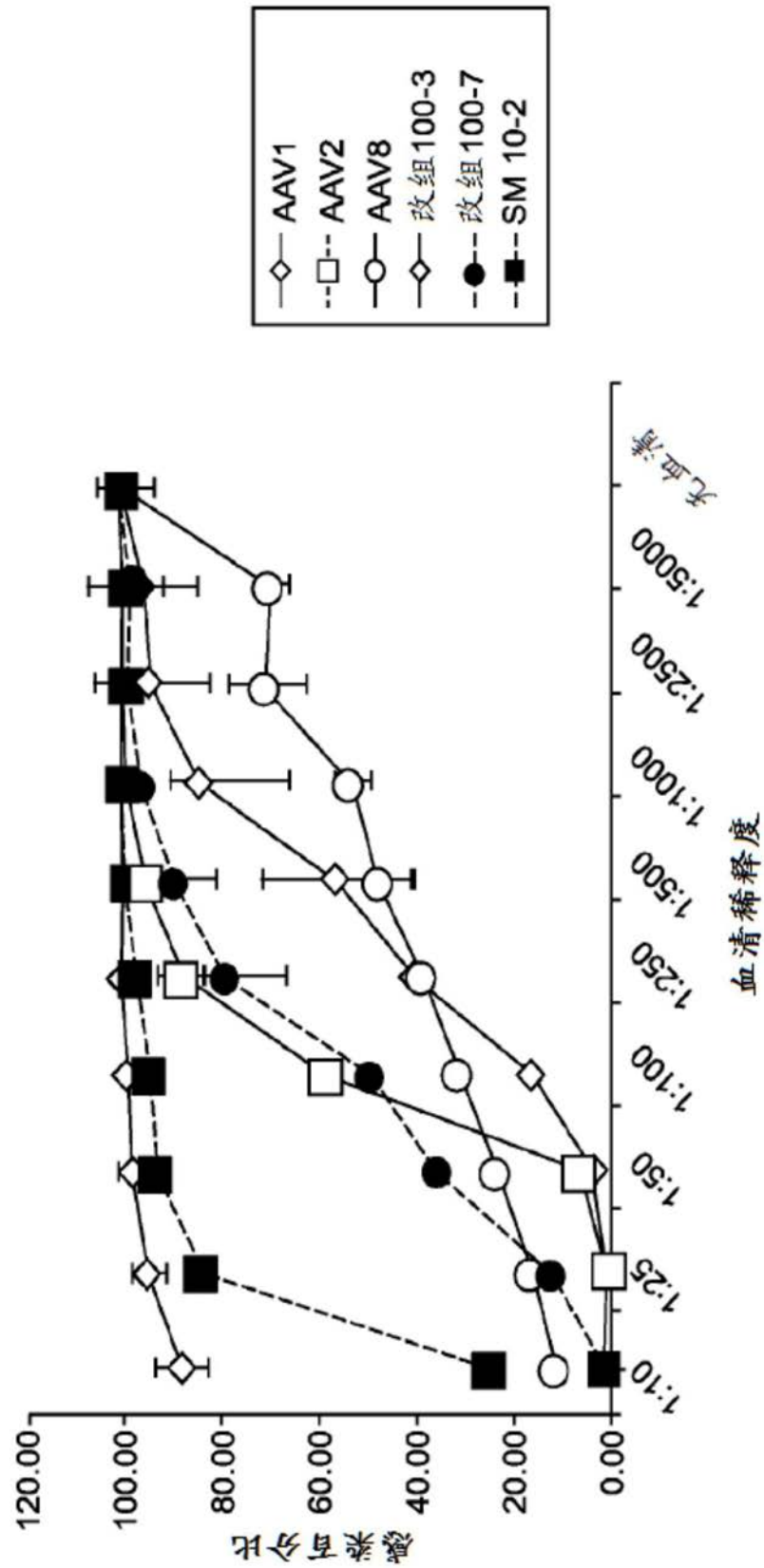


图3C



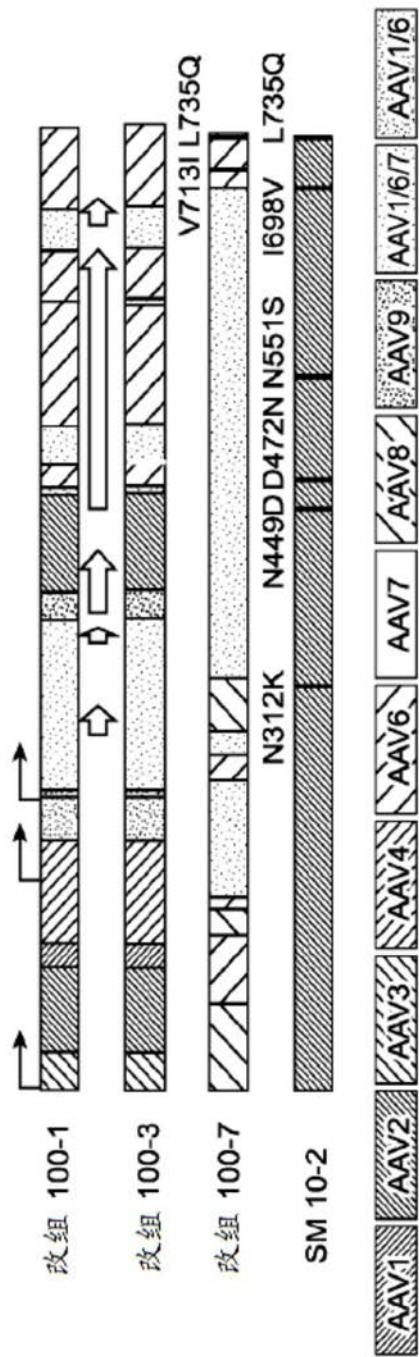


图4A



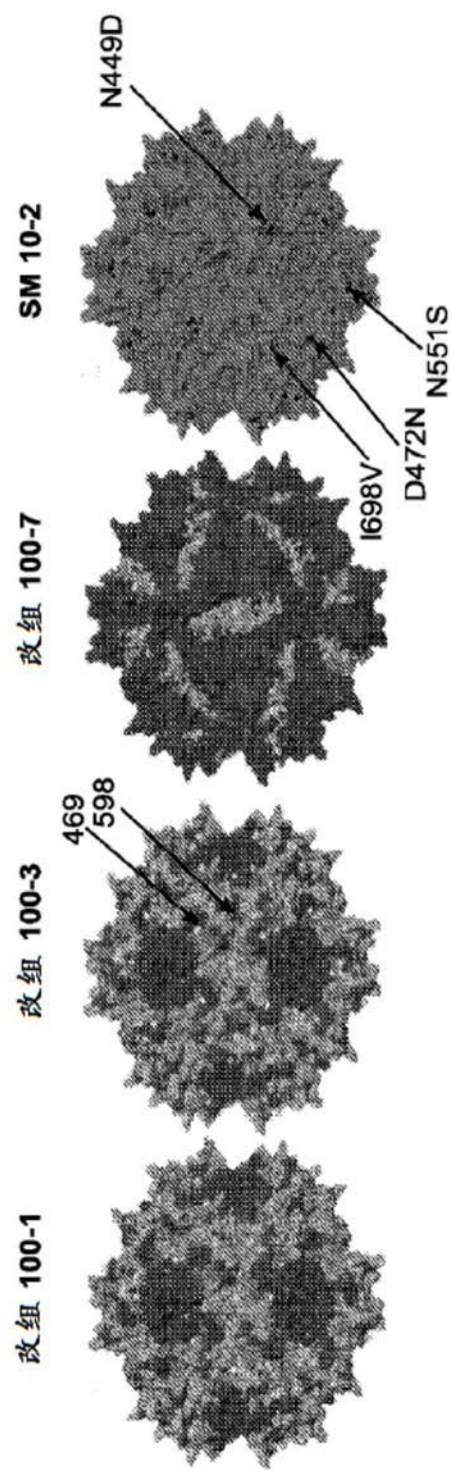


图4B

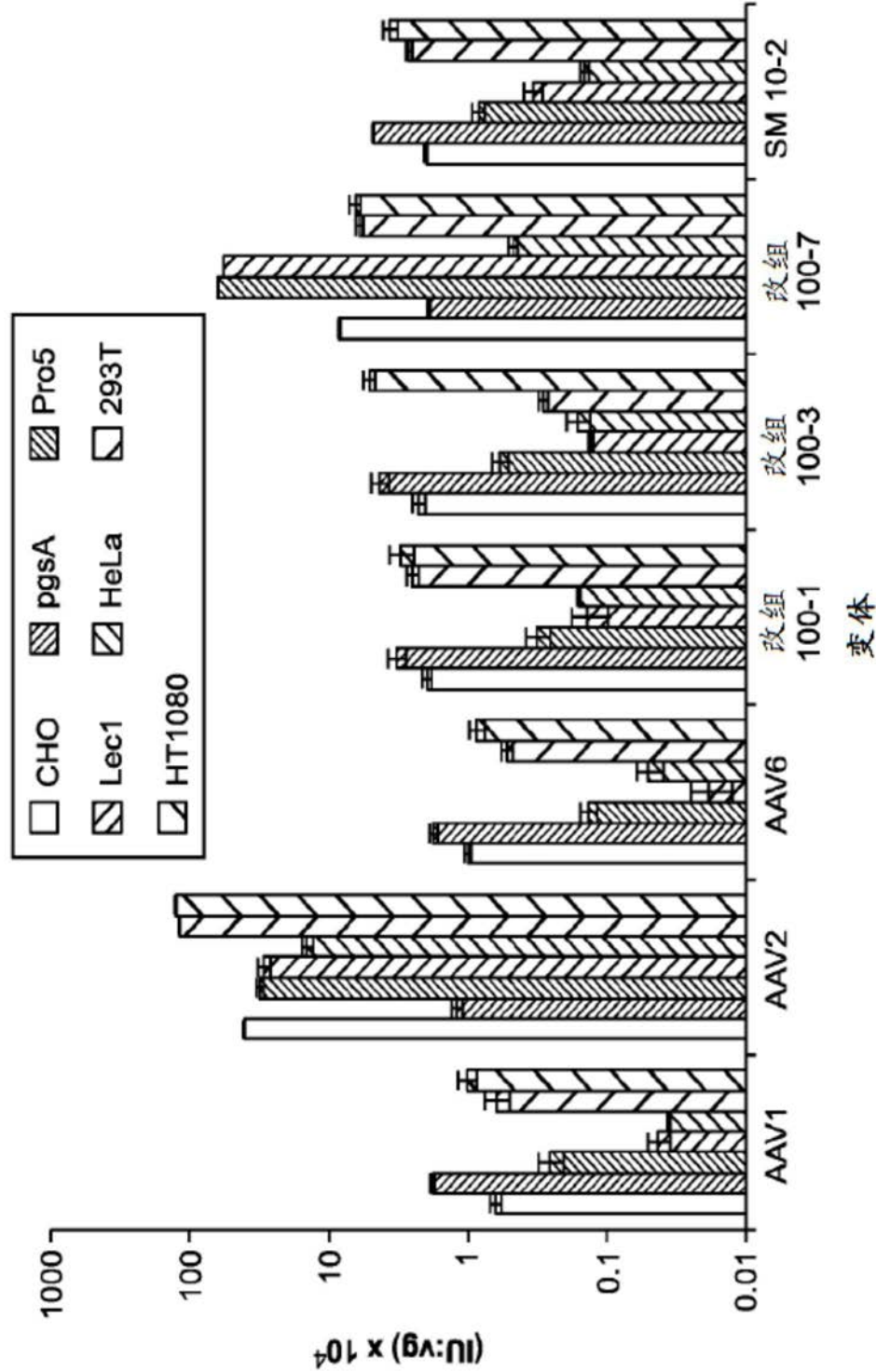


图5

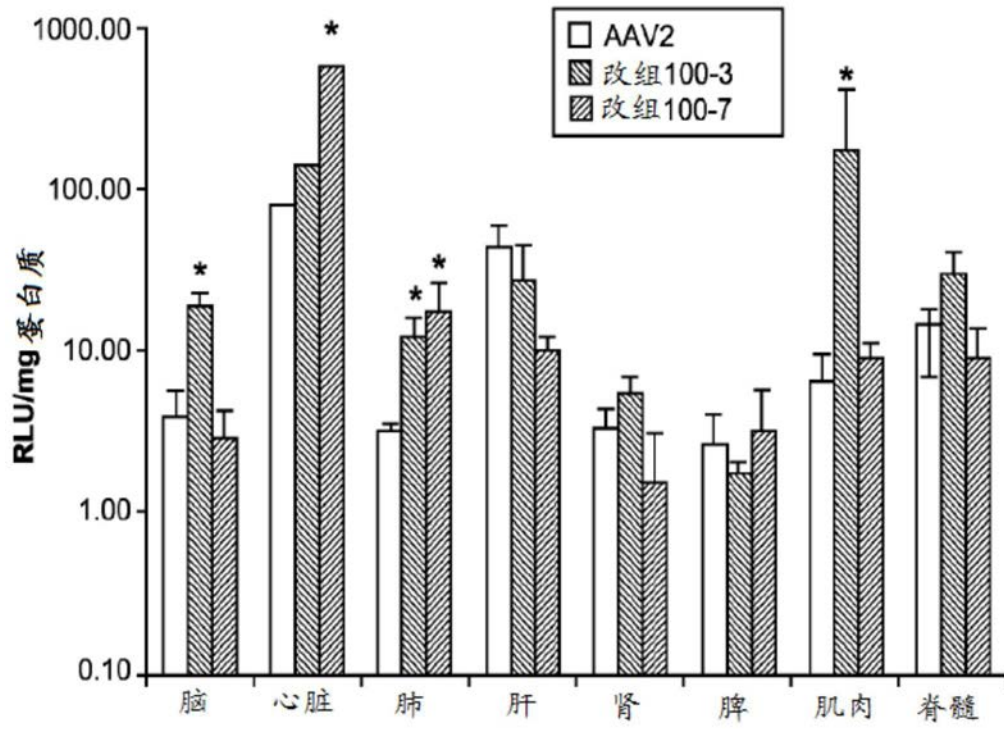


图6A

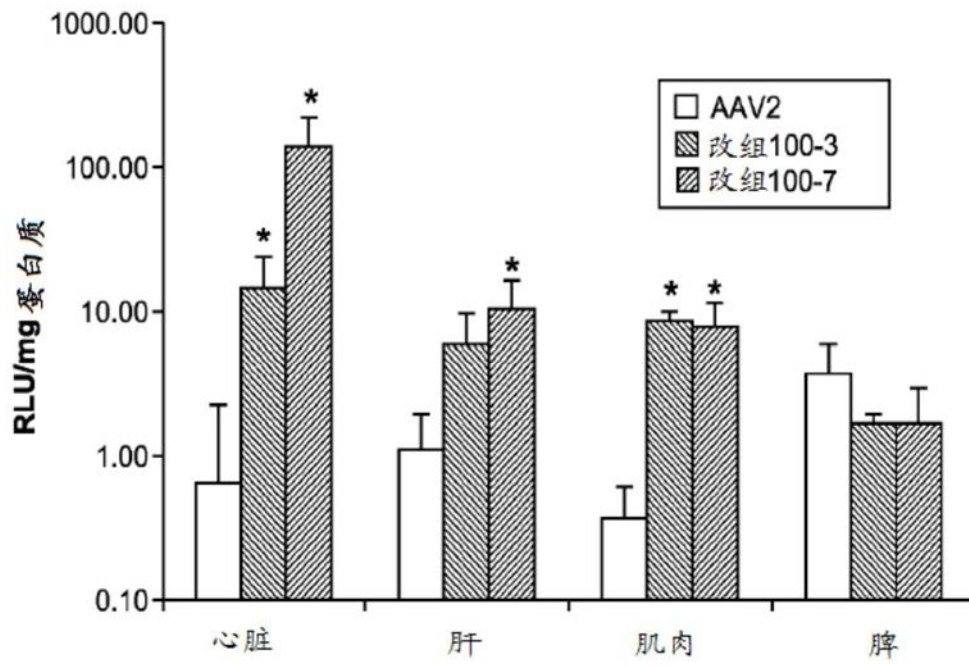


图6B

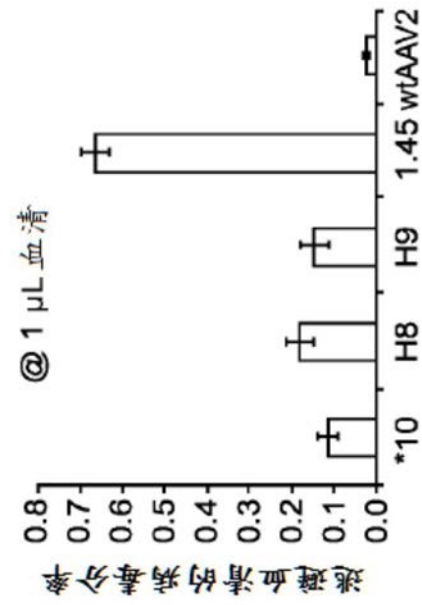


图7A

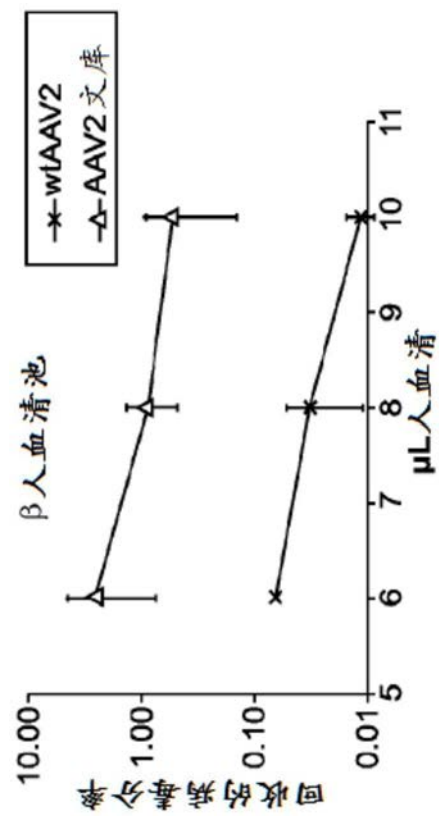


图7B

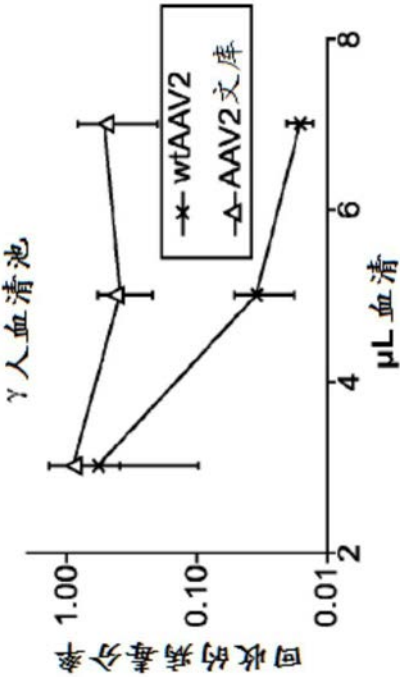


图7C

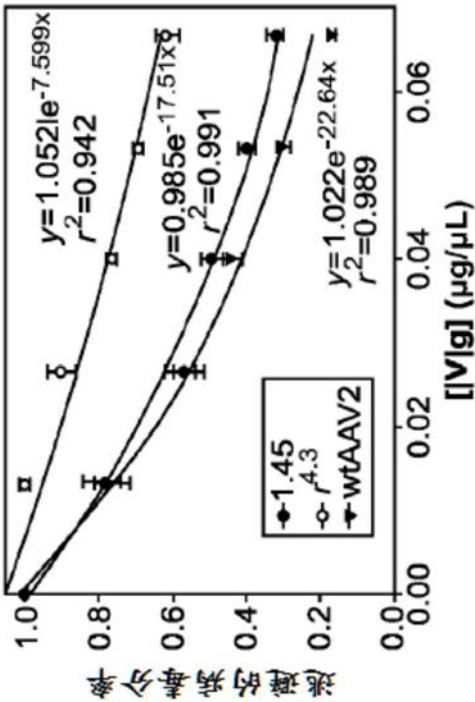


图7D



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

```

1      10      20      30
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREQWWKLKPGPP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGVP
MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAP
MSFVDHPPDWLEE-VGEGLREFLGLEAGPP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREQWWKLKPGPP
A... AAV

```

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

```

40      50      60
KPKANQQHQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD
PPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD
QPKANQQHQDNRRGLVLPGYKYLGPFNGLD
KPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPFNGLD
KPKPNQQHQDQARGLVLPGYNYLGPFNGLD
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD
KPKANQQKQDNRRGLVLPGYKYLGPFNGLD
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD
QPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPFNGLD
PPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD
AAV2

```

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

```

70      80      90
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPY
KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
RGEPVNRADDEVAREHDISYNEQLEAGDNPY
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPY
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY
AAV2 {AAV1,6,7}

```

图8A

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

100 110 120  
LKYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E R L K E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q Q R L Q G D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E K L A D D T S F G G N L G K A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E R L K E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q Q R L Q G D T S F G G N L G R A V F Q  
AAV4

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

130 140 150  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEPVK TAPGKKRPVEHSP  
AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKGAVDQSP  
AKKRVLEPLGLVEEQAGETA PGKKRPLIESP  
AKKRVLEPFGGLVEEGAKTAPT GKRI DDHFP  
AKKRVLEPFGGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPAKKRPVEPSP  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSP  
AKKRILLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEQAGETA PGKKRPLIESP  
AAV4

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

150 170 180  
QE-PDSSXGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS  
QE-PDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS  
VE-PDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA  
QE-PDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS  
QQ-PDSS TGIGKKGKQPAKKKLVFE---DE  
KR---KKARTEEDSKPST-----SSDA  
QE-PDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS  
QRSPDSS TGIGKKGKQPAKKRLNFGQTGDS  
QRSPDSS TGIGKKGKQPAKKRLNFGQTGDS  
QE-PDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT  
QQ-PDSS TGIGKKGKQPAKKRLNFGQTGDS  
AAV4 AAV1/6

图8B



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

190 200 210  
ESVPDPQPLGEPAP-SSVGXXTMASGGG  
ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
DSVPDPQPLGQPPAAP-SGLGTNTMATGSG  
ESVPDPQPLGEPAP-TSLGSNTMASGGG  
TGAGDGPPEGSTSGA--MSDDSEMRAAAGG  
EAGPSGSQQIQIPAPASSLGADTMSAGGG  
ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
ESVPDPQPLGEPAP-SSVGS GTVAAGGG  
ESVPDPQPLGEPAP-SGVGPNTMAAGGG  
ESVPDPQPIGEPAP-SGVGS LTMASGGG  
ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
AAV1/6 <A...

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

220 230 240  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
APMADNNEGADGVGNSSGNWHCDS TWMGDR  
APMADNNEGADGVGNSSGNWHCDS QWLGR  
AAV-EGGQGADGVGNASGDWHCDS TWSEGH  
GPLGDNQGADGVGNASGDWHCDS TWMGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
APMADNNEGADGVGSSSGNWHCDS TWLGDR  
APVADNNEGADGVGSSSGNWHCDS QWLGR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
A AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

250 260 270  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSASX-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GA  
VTTTSRTRTWVLPPTYNNHLYKRLGESL----  
VVTKSTRTWVLPPTYNNHLYKQISSAST-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
AAV1

图8C



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

280 290 300  
 SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 -QSNT YNGFS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 SNANA YFGYS TPWGY FDFNR FHS HWS PRDW  
 SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 TNDNT YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 TNDNT YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 SNDNA YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
 AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

310 320 330  
 QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NI QVKEV TTN  
 QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NI QVKEV TTN  
 QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NI QVKEV TQN  
 QRLIN NNWGF RPKKL SFKLF NI QVRGV TQN  
 QRLIN NNWGM RPKAM RVKIF NI QVKEV TTS  
 QRLIN NYWGF RPRSL RVKIF NI QVKEV TVQ  
 QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NI QVKEV TTN  
 QRLIN NNWGF RPKKL RFKLF NI QVKEV TTN  
 QRLIN NNWGF RPKRL SFKLF NI QVKEV TQN  
 QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NI QVKEV TDN  
 QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NI QVKEV TTN  
 AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

340 350 360  
 DGVTTIANN LTSTV QVFTD SEYQLPYVLGS  
 DGVTTIANN LTSTV QVFS DSEYQLPYVLGS  
 DGTTTIANN LTSTV QVFTD SEYQLPYVLGS  
 NGETTVANN LTSTV QIFAD SSYELPYVMDA  
 DSTTTIANN LTSTV QVFTD DDYQLPYVVGN  
 DGVTTIANN LTSTV QVFS DSEYQLPYVLGS  
 DGVTTIANN LTSTI QVFS DSEYQLPYVLGS  
 EGTKTIANN LTSTI QVFTD SEYQLPYVLGS  
 NGVTKTIANN LTSTV QVFTD SDYQLPYVLGS  
 DGVTTIANN LTSTV QVFS DSDYQLPYVLGS  
 AAV1 } AAV9

图8D

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

370 380 390  
AHQGC LPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--NGS  
AHQGC LPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--NGS  
AHQGC LPPFP ADVFMVPQYGYLT LN--NGS  
AHQGC LPPFP ADVFMVPQYGYLT LN--NGS  
GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNTS  
GTEGCLPAFPQVFTLPQYGYATLNRDNTS  
AHQGC LPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--NGS  
AHQGC LPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--NGS  
AHQGC LPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--NGS  
AHQGC LPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--NGS  
AHEGCLPPFP ADVFMIPQYGYLT LN--DGS  
AHEGCLPPFP ADVFMVPQYGYLT LN--NGS  
AAV9 } AAV2

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

400 410 420  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QQQTDRNAFYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
NP-TERSSFFCLEYFPSKMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QS-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
QA-VGRSS FYCLEYFPS QMLRTGNNFTFSY  
AAV2

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

430 440 450  
TFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
TFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
TFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
SFEKVPFHSMYAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
NFEEVPPFHSS FAPSQNLFKLANPLVDQYLY  
TFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
SFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
TFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
EFENVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
TFEDVPPFHSS YAHSQSLDR LMNPLIDQYLY  
AAV2

图8E



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

450 470 480  
YLNRTQN-XSGTAXNKXLLFSQGGPXGMSV  
YLNRTQN-QSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV  
YLSRTNT-PSGTTTQSRLQFSQAGASDIRD  
YLNRTQGTTS GTTNQSRLLSQAGPQSM SL  
GLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKLRPTNFSN  
RFVSTNN-----TGGVQFNKNLAGRYAN  
YLNRTQN-QSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV  
YLARTQSNPGGTAGNRELQFYQGGPSTMAE  
YLSRTQT-TGGTANTQTLGFSQGGPNTMAN  
YLSKTIN--GSGQNQQTLKFSVAGPSNMAV  
YLNRTQN-QSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV  
AAV1/6 AAV6 AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

490 500 510  
QXKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFA  
QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFT  
QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADN-NNSEYS  
QARNWLPGPCYRQQRVSKTANDN-NNSNFP  
FKKNWLPGPSIKQQGFSKTANQNYKIPATG  
TYKNWFP GPMPGR TQGWNLGSGVN-RASVSA  
QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFT  
QAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQN-NNSNFA  
QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQN-NNSNFA  
QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-NNSEFA  
QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFT  
AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

520 530 540  
WTGASKYH----LNGRXSLVNPGPAMASHK  
WTGASKYN----LNGRESIINPGTAMASHK  
WTGATKYH----LNGRDSL VNPGPAMASHK  
WTAASKYH----LNGRDSL VNPGPAMASHK  
SDSLIKYETHSTLDGRWSALTGPPMATAG  
FATTNRME----LEGASYQVPPQPNGMTNN  
WTGASKYN----LNGRESIINPGTAMASHK  
WTGATKYH----LNGRNSLVNPGVAMATHK  
WTAGTKYH----LNGRNSLANPGIAMATHK  
WPGASSWA----LNGRNSLMNPGPAMASHK  
WTGASKYN----LNGRESIINPGTAMASHK  
AAV6

图8F

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

550 560 570  
 DDEDKFFPMSGVLI FGKQGAGASNTAL---  
 DDEDKFFPMSGVMI FGKESAGASNTAL---  
 DDEEKFFPQSGVLI FGKQGSEKTNVDI---  
 DDEEKFFPMHGNLI FGKEGTTASNAEL---  
 PADSKFSNSQLI FAGPKQNGNTATVP----  
 LQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLE  
 DDKDKFFPMSGVMI FGKESAGASNTAL---  
 DDEDRFFPSSGVLI FGKTGATNKTTL----  
 DDEERFFPSNGILI FGKQNAARDNADY---  
 EGEDRFFPLSGSLI FGKQGTGRDNVDA---  
 DDKDKFFPMSGVMI FGKESAGASNTAL---  
 AAV6

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

580 590 600  
 DNVMITDEEEIKXTNPVATERYGTVA XNLQ  
 DNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQ  
 EKVMITDEEEIRT TNPVATEQYGSVSTNLQ  
 DNVMITDEEEIRT TNPVATEQYGTVANNLQ  
 GTLI FTSEEEELAA TNATDTDMWGNLPGGDQ  
 GNMLITSESE TQPVNRVAYNVGGQMATNNQ  
 DNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ  
 ENVLMTNEEEIRT TNPVATEEYGIVSSNLQ  
 SDVMLTSEEEIK TTNPVATEEYGIVADNLQ  
 DKVMITNEEEIK TTNPVATESYGVATNHQ  
 DNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ  
 AAV6 AAV1/6 AAV6

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.1 翻译

610 620 630  
 SSXTAPATG DVNXQ GALPGMVWQDRDVYLQ  
 SSSTDPA TGDVHAMGALPGMVWQDRDVYLQ  
 RGNRQAATADVNTQGVLP GMVWQDRDVYLQ  
 SSNTAPT TGT VNHQ GALPGMVWQDRDVYLQ  
 SNSNLPTVDR L TALGAVPGMVWQNRDIYYQ  
 SSTTAPATGTYNLQ EIVPGSVWMERDVYLQ  
 SSSTDPA TGDVHVMGALPGMVWQDRDVYLQ  
 AANTAAQTQVVNNQ GALPGMVWQNRDVYLQ  
 QQNTAPQIGTVNSQ GALPGMVWQNRDVYLQ  
 SAQAQAQTGWVQNQG I LPGMVWQDRDVYLQ  
 SSSTDPA TGDVHVMGALPGMVWQDRDVYLQ  
 AAV6 AAV6

图8G



193

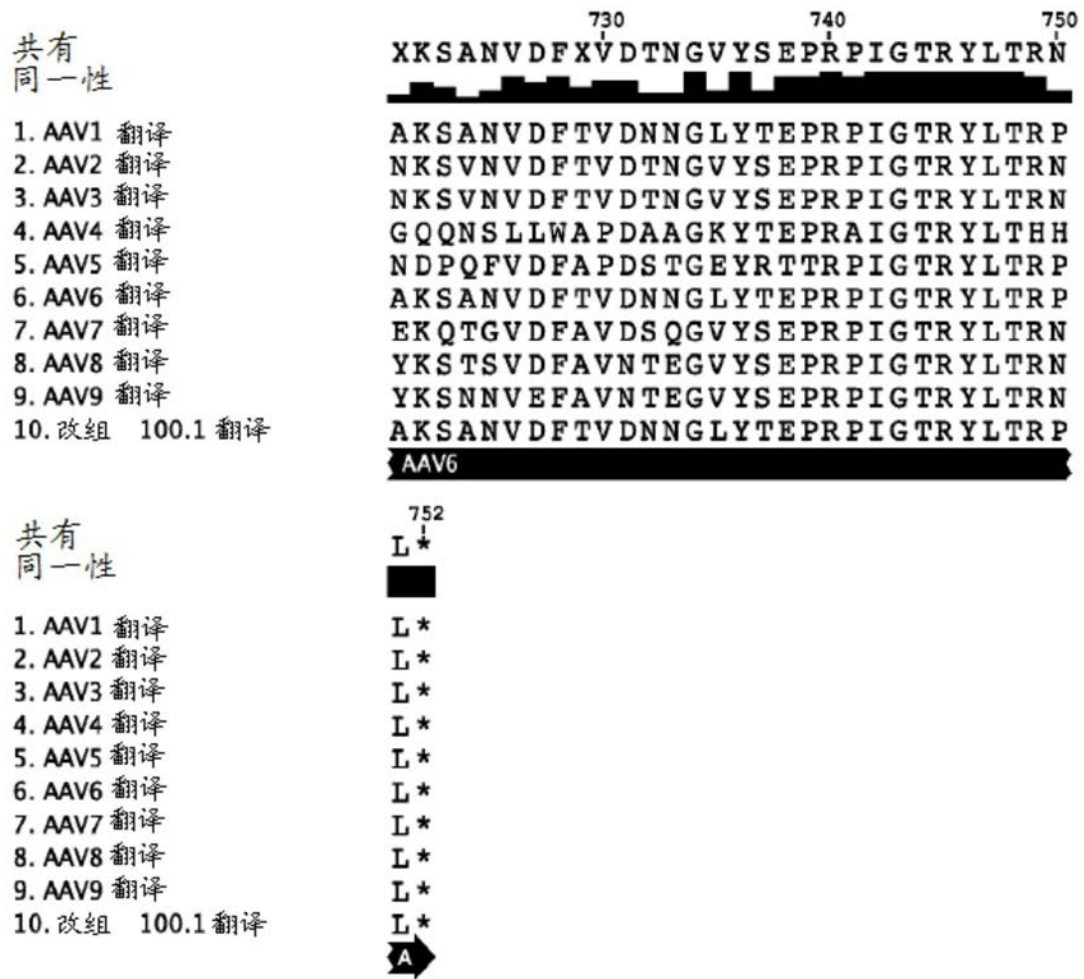


图8I

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

1 10 20 30  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREQWWKLKPGPP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGVP  
MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAP  
MSFVDHPPDWLEE-VGEGLRFLGLEAGPP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREQWWKLKPGPP  
A... AAV2

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

40 50 60  
KPKANQQHQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
PPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
QPKANQQHQDNRRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKPNQQHQDQARGLVLPGYNYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDNRRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
QPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPFNGLD  
PPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
AAV2

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

70 80 90  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPY  
KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
RGEPVNRADDEVAREHDISYNEQLEAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
AAV2 } AAV1,6,7 }

图9A



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

100 110 120  
LKYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E R L K E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q Q R L Q G D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E K L A D D T S F G G N L G K A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LRYNHADA E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q E R L K E D T S F G G N L G R A V F Q  
LKYNHADA E F Q Q R L Q G D T S F G G N L G R A V F Q  
AAV4

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

130 140 150  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEPVK TAPGKKRPVEHSP  
AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKGAVDQSP  
AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESP  
AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPTGKRIDDHFP  
AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPAKKRPVEPSP  
AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSP  
AKKRILLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSP  
AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESP  
AAV4

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

160 170 180  
QE-PDSSXGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS  
QE-PDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS  
VE-PDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA  
QE-PDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS  
QQ-PDSSTGIGKKGKQPAKKKLVFE---DE  
KR---KKARTEEDSKPST-----SSDA  
QE-PDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS  
QRS PDSS TGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS  
QRS PDSS TGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS  
QE-PDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT  
QQ-PDSS TGIGKKGKQPAKKRLNFGQTGDS  
AAV4 AAV1/6

图9B



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

190 200 210  
ESVPDPQPLGEP<sup>190</sup>PAAP-SSV<sup>200</sup>GXX<sup>210</sup>TMASGGG  
ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
DSVPDPQPLGQPPAAP-SGLGTNTMATGSG  
ESVPDPQPLGEP<sup>190</sup>PAAP-TSLGSNTMASGGG  
TGAGDGPPEGSTSGA--MSDDSEMRAAAGG  
EAGPSGSQQLQIPAQPASSLGADTMSAGGG  
ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
ESVPDPQPLGEP<sup>190</sup>PAAP-SSVGS<sup>200</sup>GTVAAGGG  
ESVPDPQPLGEP<sup>190</sup>PAAP-SGVGPNTMAAGGG  
ESVPDPQPIGEP<sup>190</sup>PAAP-SGVGS<sup>200</sup>LTMASGGG  
ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
AAV1/6 } A...

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

220 230 240  
APMADNNEGADGVGNASGN<sup>220</sup>WH<sup>230</sup>CDS<sup>240</sup>TWLGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS<sup>220</sup>TWLGDR  
APMADNNEGADGVGNSSGNWHCDS<sup>220</sup>TWMGDR  
APMADNNEGADGVGNSSGNWHCDS<sup>220</sup>QWLGDR  
AAV-EGGQ<sup>220</sup>GADGVGNASGDWHCDS<sup>220</sup>TWSEGH  
GPLGD<sup>220</sup>NNQGADGVGNASGDWHCDS<sup>220</sup>TWMGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS<sup>220</sup>TWLGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS<sup>220</sup>TWLGDR  
APMADNNEGADGVGSSSGNWHCDS<sup>220</sup>TWLGDR  
APVADNNEGADGVGSSSGNWHCDS<sup>220</sup>QWLGDR  
APMADNNEGADGVGNASGNWHCDS<sup>220</sup>TWLGDR  
A AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

250 260 270  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSASX-GA  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSAST-GA  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSQS--GA  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSQS--GA  
VTTTSTRTWVLPTYN<sup>250</sup>NHLYK<sup>260</sup>R<sup>270</sup>LGESL----  
VVTKS<sup>250</sup>TRTWVLPSYNNH<sup>260</sup>QYREIKSGSV<sup>270</sup>DG-  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSAST-GA  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSE<sup>270</sup>TA-GS  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISNG<sup>270</sup>TSGGA  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISNSTSGGS  
VITTS<sup>250</sup>TRTWALPTYN<sup>260</sup>NHLYK<sup>270</sup>QISSAST-GA  
AAV1

图9C

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

280 290 300  
SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
- QSNTY NGFST PWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
SNANA YFGYS TPWGY FDFNR FHS HWS PRDW  
SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
TNDNT YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
TNDNT YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
SNDNA YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
SNDNH YFGYS TPWGY FDFNR FHCHFS PRDW  
AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

310 320 330  
QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NIQVKEV TTN  
QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NIQVKEV TTN  
QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NIQVKEV TQN  
QRLIN NNWGF RPKKLS FKLFI NIQVRGV TQN  
QRLIN NYWGF RPRSL RVKIF NIQVKEV TVQ  
QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NIQVKEV TTN  
QRLIN NNWGF RPKKLR FKLFI NIQVKEV TTN  
QRLIN NNWGF RPKRLS FKLFI NIQVKEV TQN  
QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NIQVKEV TDN  
QRLIN NNWGF RPKRL NFKLF NIQVKEV TTN  
AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

340 350 360  
DGVTTIANN LTS TVQVF TDSEY QLPYVLGS  
DGVTTIANN LTS TVQVF SDSEY QLPYVLGS  
DGTTTIANNN LTS TVQVF TDSEY QLPYVLGS  
DGETTVANN LTS TVQIF ADSSY ELPYVMDA  
DSTTTIANNN LTS TVQVF TDDDY QLPYVVG  
DGVTTIANN LTS TVQVF SDSEY QLPYVLGS  
DGVTTIANN LTS TIQVF SDSEY QLPYVLGS  
EGTKTIANNN LTS TIQVF TDSEY QLPYVLGS  
NGVKTIANNN LTS TVQVF TDS DYQLPYVLGS  
DGVTTIANN LTS TVQVF SDS DYQLPYVLGS  
AAV1 AAV9

图9D



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

370                      380                      390

AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS

AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS

AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTNL--NGS

AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTNL--NGS

GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNST

GTEGCLPAFPFPQVFTLPQYGYATLNRDNTE

AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS

AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS

AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS

AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--DGS

AHEGCLPPFPADVFMVPQYGYLTNL--NGS

AAV9                      AAV2

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

400                      410                      420

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY

QQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNNFEITY

NP-TERSSFYCLEYFPSKMLRTGNNFEITY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY

QS-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFTY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY

QA-VGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY

AAV2

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

430                      440                      450

TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

TFEEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

SFEKVPFHSMYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

NFEEDVPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLY

TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

SFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY

AAV2

图9E

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

460 470 480  
YLNRTQN-XSGTAXNKXLLFSQGGPSGMSV  
YLNRTQN-QSGSAQNKDLLFSRGS PAGMSV  
YLSRTNT-PSGTTTQSRLLQFSQAGASDIRD  
YLNRTQGTTS GTTNQSRLLFSQAGPQMSL  
GLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKLRPTNFSN  
RFVSTNN-----TGGVQFNKNLAGRYAN  
YLNRTQN-QSGSAQNKDLLFSRGS PAGMSV  
YLARTQSNPGGTAGNRELQFYQGGPSTMAE  
YLSRTQT-TGGTANTQTLGFSQGGPNTMAN  
YLSKTIN--GSGQNQQTLKF SVAGPSNMAV  
YLNRTQN-QSGSAQNKDLLFSRGSPTGMSV  
AAV1/6 AAV6 AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

490 500 510  
QXKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFA  
QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFT  
QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADN-NNSEYS  
QARNWLPGPCYRQQRLSKTANDN-NNSNFP  
FKKNWLPGPSIKQQGFSKTANQNYKIPATG  
TYKNWFPGPMGRTQGWNLGSGVN-RASVSA  
QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFT  
QAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQN-NNSNFA  
QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQN-NNSNFA  
QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-NNSEFA  
QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-NNSNFT  
AAV1 A...

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

520 530 540  
WTGASKYH----LNGRXSLVNPGPAMASHK  
WTGASKYN----LNGRESIINPGTAMASHK  
WTGATKYH----LNGRDSL VNPGPAMASHK  
WTAASKYH----LNGRDSL VNPGPAMASHK  
SDSLIKYETHSTLDGRWSALTPGPPMATAG  
FATTNRME----LEGASYQVPPQPNGMTNN  
WTGASKYN----LNGRESIINPGTAMASHK  
WTGATKYH----LNGRNSLVNPGVAMATHK  
WTAGTKYH----LNGRNSLANPGIAMATHK  
WPGASSWA----LNGRNSLMNPGPAMASHK  
WTGASKYN----LNGRESIINPGTAMASHK  
AAV6

图9F



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

550 560 570  
DDEDKFFPMSGVLI FGKQGAGASNTAL---

DDDEDKFFPMSGVMI FGKESAGASNTAL---  
DDEEKFFPQSGVLI FGKQGSSEKTNVDI---  
DDEEKFFPMHGNLI FGKEGTTASNAEL---  
PADSKFSNSQLI FAGPKQNGNTATVP----  
LQGSNTYALENTMI FNSQPANPGTTATYLE  
DDKDKFFPMSGVMI FGKESAGASNTAL---  
DDEDRFFPSSGVLI FGKTGATNKTTL---  
DDEERFFPSNGILI FGKQNAARDNADY---  
EGEDRFFPLSGSLI FGKQGTGRDNVDA---  
DDKDKFFPMSGVMI FGKESAGASNTAL---

AAV6

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

580 590 600  
DNVMITDEEEIKXTNPVATER YGTVAXNLQ

DNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQ  
EKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQ  
DNVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANLQ  
GTLIFTSEEEELAATNATD TDMWGNLPGGDQ  
GNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNNQ  
DNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ  
ENVLMTNEEEIRPTNPVATEEYGI VSSNLQ  
SDVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGI VADNLQ  
DKVMITNEEEIKTTNPVATESYQVATNHQ  
DNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ

AAV6 AAV1/6 AAV6

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

610 620 630  
SSXTAPATG DVNAQGALPGMVWQDRDVYLQ

SSSTDPA TG DVHAMGALPGMVWQDRDVYLQ  
RGNRQAATADVNTQGVLP GMVWQDRDVYLQ  
SSNTAPT TGT VNHQ GALPGMVWQDRDVYLQ  
SNSNLPTVDR L TALGAVPGMVWQNRDIYYQ  
SSTTAPATG TYNLQEIVPGSVWMERDVYLQ  
SSSTDPA TG DVHVMGALPGMVWQDRDVYLQ  
AANTAAQTQVVNNQGALPGMVWQNRDVYLQ  
QQNTAPQIGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQ  
SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQ  
SSSTDPA TG DVHAMGALPGMVWQDRDVYLQ

AAV6 AAV1 AAV6

图9G

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

640                      650                      660

GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP

GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPPP

GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPETGAHFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP

AAV6                      AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

670                      680                      690

QILIKNTPVPANPPTTFSA TKFASFITQYS

QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYS

QILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYS

QIMIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYS

QIFIKNTPVPANPATTFSSTPVNSFITQYS

MMLIKNTPVPGN-ITSFSDVPVSSFITQYS

QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYS

QILIKNTPVPANPPEVFTPAKFASFITQYS

QILIKNTPVPADPPTTFNQSKLNSFITQYS

QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYS

QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYS

AAV1                      A...

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100-3 翻译

700                      710                      720

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY

AAV6

图9H

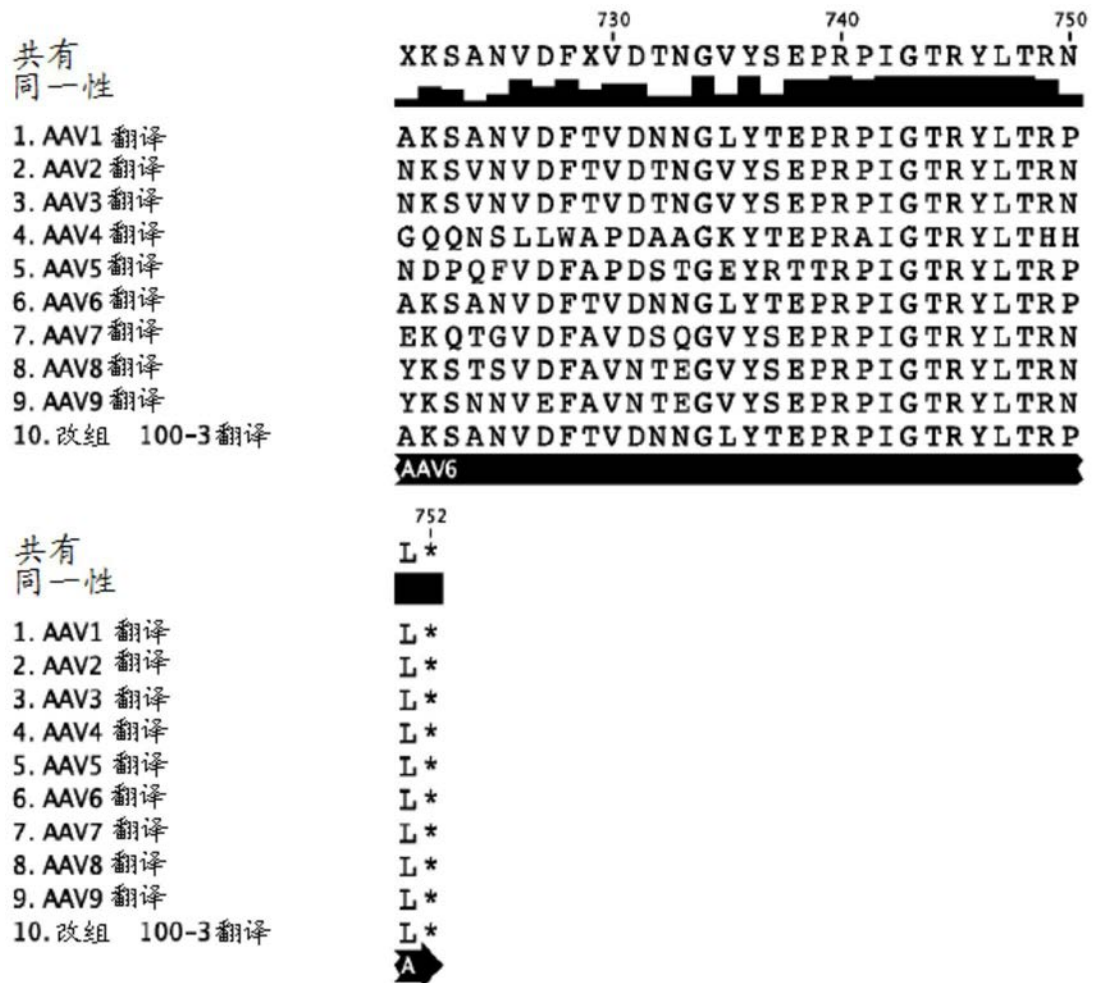


图9I



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

1 10 20 30  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREQWKLKPGPP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGVP  
MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAP  
MSFVDHPPDWLEE-VGEGLEFLGLEAGPP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAP  
AAV8

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

40 50 60  
KPKANQQXQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
PPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
QPKANQQHQDNRRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKPNQQHQDQARGLVLPGYNYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDNRRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
QPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPFNGLD  
KPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD  
AAV8

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

70 80 90  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPY  
KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
RGE PVNRADEVAREHDISYNEQLEAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPY  
AAV8 AAV6

图10A



共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

100 110 120  
L X Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
L R Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
L K Y N H A D A E F Q E R L K E D T S F G G N L G R A V F Q  
L K Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
L K Y N H A D A E F Q Q R L Q G D T S F G G N L G R A V F Q  
L K Y N H A D A E F Q E K L A D D T S F G G N L G K A V F Q  
L R Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
L R Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
L R Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
L K Y N H A D A E F Q E R L K E D T S F G G N L G R A V F Q  
L R Y N H A D A E F Q E R L Q E D T S F G G N L G R A V F Q  
AAV6

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

130 140 150  
A K K R V L E P L G L V E E G A K T A P G K K R P V E Q S P  
A K K R V L E P L G L V E E G A K T A P G K K R P V E Q S P  
A K K R V L E P L G L V E E P V K T A P G K K R P V E H S P  
A K K R I L E P L G L V E E A A K T A P G K K G A V D Q S P  
A K K R V L E P L G L V E Q A G E T A P G K K R P L I E S P  
A K K R V L E P F G L V E E G A K T A P T G K R I D D H F P  
A K K R V L E P F G L V E E G A K T A P G K K R P V E Q S P  
A K K R V L E P L G L V E E G A K T A P A K K R P V E P S P  
A K K R V L E P L G L V E E G A K T A P G K K R P V E P S P  
A K K R L L E P L G L V E E A A K T A P G K K R P V E Q S P  
A K K R V L E P L G L V E E G A K T A P G K K R P V E Q S P  
A... AAV8 AAV6

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

160 170 180  
Q E - P D S S S G I G K X G Q Q P A K K R L N F G Q T G D S  
Q E - P D S S S G I G K T G Q Q P A K K R L N F G Q T G D S  
V E - P D S S S G T G K A G Q Q P A R K R L N F G Q T G D A  
Q E - P D S S S G V G K S G K Q P A R K R L N F G Q T G D S  
Q Q - P D S S T G I G K K G K Q P A K K K L V F - - - E D E  
K R - - - - K K A R T E E D S K P S T - - - - - S S D A  
Q E - P D S S S G I G K T G Q Q P A K K R L N F G Q T G D S  
Q R S P D S S T G I G K K G Q Q P A R K R L N F G Q T G D S  
Q R S P D S S T G I G K K G Q Q P A R K R L N F G Q T G D S  
Q E - P D S S A G I G K S G A Q P A K K R L N F G Q T G D T  
Q E - P D S S S G I G K T G Q Q P A K K R L N F G Q T G D S  
A AAV1

图10B

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

190 200 210  
 ESVPDPQPLGEPAP-SSVGXXTMASGGG  
 ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
 DSVDPDPQPLGQPPAAP-SGLGTNTMATGSG  
 ESVPDPQPLGEPAP-TSLGSNTMASGGG  
 TGAGDGPPEGSTSGA--MSDDSEMRAAAGG  
 EAGPSGSQQQLQIPAPASSLGADTMSAGGG  
 ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
 ESVPDPQPLGEPAP-SSVGS GTVAAGGG  
 ESVPDPQPLGEPAP-SGVGPN TMAAGGG  
 ESVPDPQPIGEPAP-SGVGSL TMAAGGG  
 ESVPDPQPLGEPATP-AAVGPTTMASGGG  
 AAV1 } AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

220 230 240  
 AP MADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
 AP MADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
 AP MADNNEGADGVGNSSGNWHCDS TWMGDR  
 AP MADNNEGADGVGNSSGNWHCDS QWLGDR  
 AAV-EGGQGADGVGNASGDWHCDS TWSEGH  
 GPLGDNNQGADGVGNASGDWHCDS TWMGDR  
 AP MADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
 AP MADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
 AP MADNNEGADGVGSSSGNWHCDS TWLGDR  
 AP VADNNEGADGVGSSSGNWHCDS QWLGDR  
 AP MADNNEGADGVGNASGNWHCDS TWLGDR  
 AAV1

共有  
同一性

1. AAV1 翻译
2. AAV2 翻译
3. AAV3 翻译
4. AAV4 翻译
5. AAV5 翻译
6. AAV6 翻译
7. AAV7 翻译
8. AAV8 翻译
9. AAV9 翻译
10. 改组 100.7 翻译

250 260 270  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSASX-GA  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GA  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GA  
 VTTTSRTRTWVLPPTYNNHLYKRLGES-----  
 VVTKSRTRTWVLP SYNNHQYREIKSGSVDG-  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSE TA-GS  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGA  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGS  
 VITTSRTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GA  
 AAV1 } AAV6

图10C

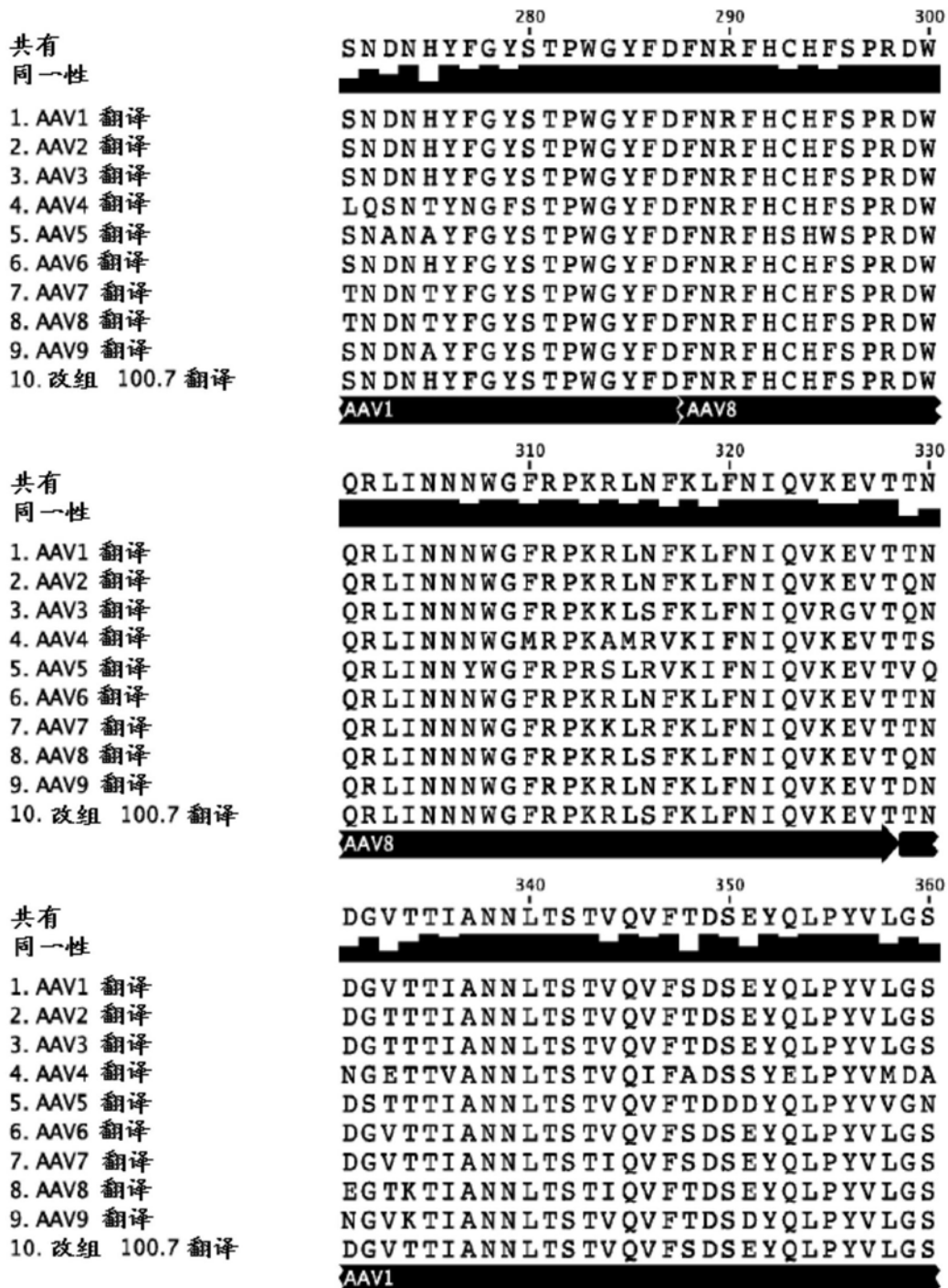


图10D

共有 同一性	<div> <div>370380390</div> <div>AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS</div> <div></div> </div>
1. AAV1 翻译	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS
2. AAV2 翻译	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTNL--NGS
3. AAV3 翻译	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTNL--NGS
4. AAV4 翻译	GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNTS
5. AAV5 翻译	GTEGCLPAFPQVFTLPQYGYATLNRDNTS
6. AAV6 翻译	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS
7. AAV7 翻译	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS
8. AAV8 翻译	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS
9. AAV9 翻译	AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--DGS
10. 改组 100.7 翻译	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTNL--NGS
	AAV1
共有 同一性	<div> <div>400410420</div> <div>-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY</div> <div></div> </div>
1. AAV1 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY
2. AAV2 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY
3. AAV3 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY
4. AAV4 翻译	QQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNNFEITY
5. AAV5 翻译	-NPTERRSFFCLEYFPSKMLRTGNNFEITY
6. AAV6 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY
7. AAV7 翻译	-QSVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY
8. AAV8 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFTY
9. AAV9 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY
10. 改组 100.7 翻译	-QAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY
	AAV1
共有 同一性	<div> <div>430440450</div> <div>TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY</div> <div></div> </div>
1. AAV1 翻译	TFEEVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
2. AAV2 翻译	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
3. AAV3 翻译	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
4. AAV4 翻译	SFEKVPFHSMYAHSQSLDRLMNPLIDQYLW
5. AAV5 翻译	NFEEVPPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLY
6. AAV6 翻译	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
7. AAV7 翻译	SFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
8. AAV8 翻译	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
9. AAV9 翻译	EFENVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
10. 改组 100.7 翻译	TFEEVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLY
	AAV1 A...

图10E



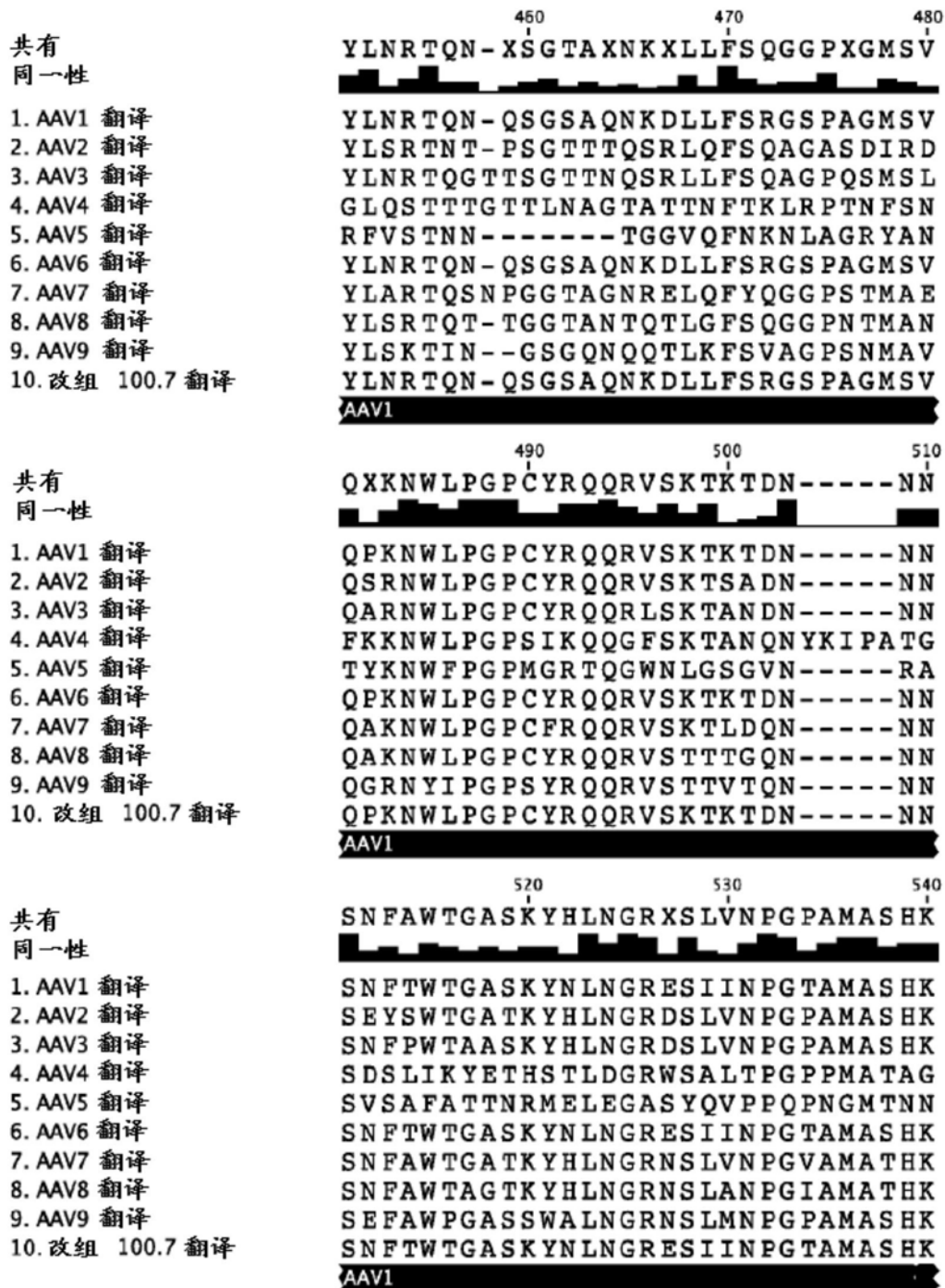


图10F

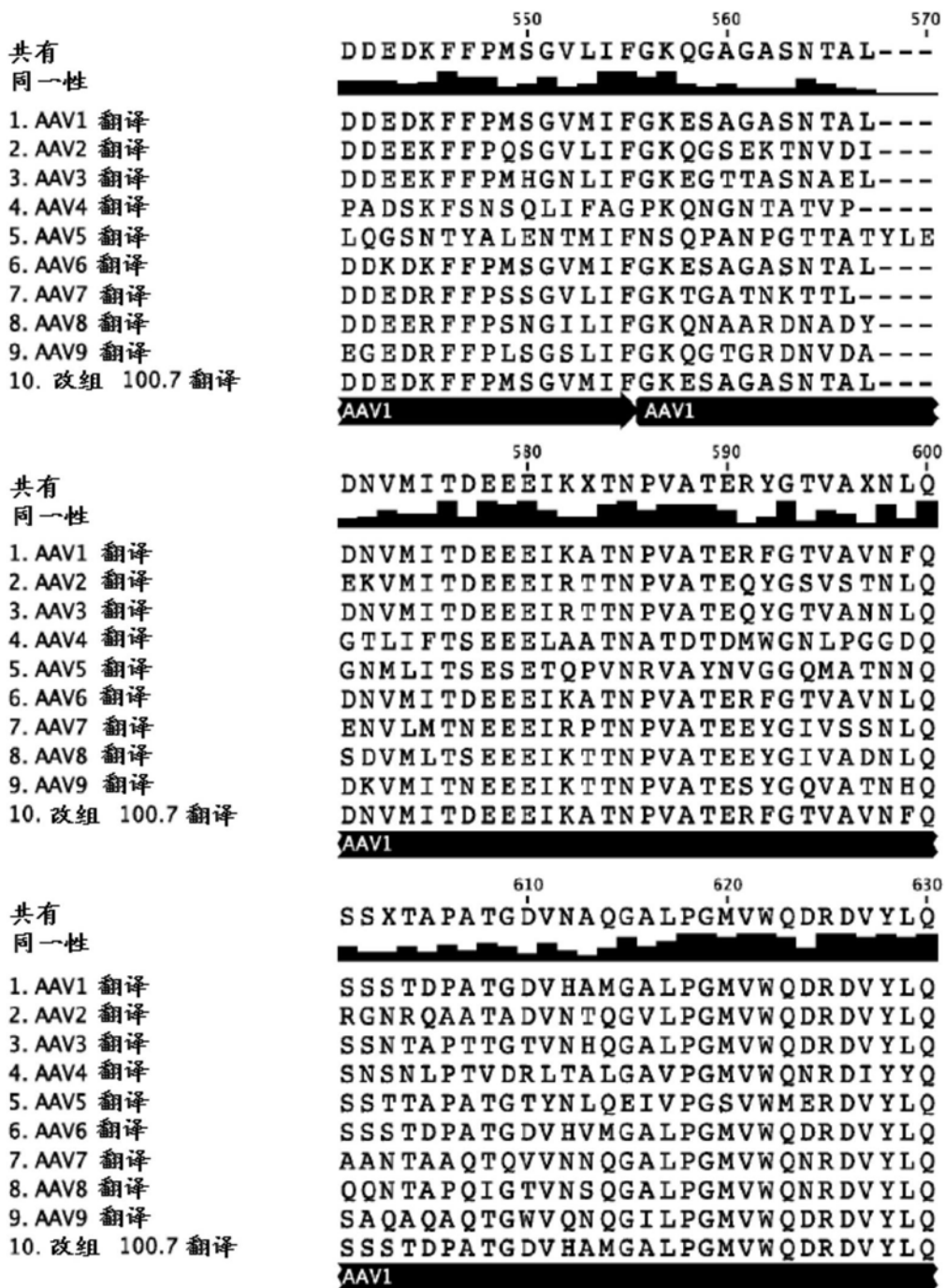


图10G

共有 同一性	<div>640 650 660</div> <div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div></div>
1. AAV1 翻译 2. AAV2 翻译 3. AAV3 翻译 4. AAV4 翻译 5. AAV5 翻译 6. AAV6 翻译 7. AAV7 翻译 8. AAV8 翻译 9. AAV9 翻译 10. 改组 100.7 翻译	<div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPETGAHFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP</div> <div>GPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPPP</div> <div>AAV1</div>
共有 同一性	<div>670 680 690</div> <div>QILIKNTPVPANPPTTFSATKFASFITQYS</div> <div></div>
1. AAV1 翻译 2. AAV2 翻译 3. AAV3 翻译 4. AAV4 翻译 5. AAV5 翻译 6. AAV6 翻译 7. AAV7 翻译 8. AAV8 翻译 9. AAV9 翻译 10. 改组 100.7 翻译	<div>QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYS</div> <div>QILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYS</div> <div>QIMIKNTPVPANPPTTFSAPAKFASFITQYS</div> <div>QIFIKNTPVPANPATTFSSTPVNSFITQYS</div> <div>MMLIKNTPVPGN-ITSFSDVPVSSFITQYS</div> <div>QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYS</div> <div>QILIKNTPVPANPPEVFTPAKFASFITQYS</div> <div>QILIKNTPVPADPPTTFNQSKLNSFITQYS</div> <div>QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYS</div> <div>QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYS</div> <div>AAV1</div>
共有 同一性	<div>700 710 720</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY</div> <div></div>
1. AAV1 翻译 2. AAV2 翻译 3. AAV3 翻译 4. AAV4 翻译 5. AAV5 翻译 6. AAV6 翻译 7. AAV7 翻译 8. AAV8 翻译 9. AAV9 翻译 10. 改组 100.7 翻译	<div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY</div> <div>TGQVSVQIDWEIQKERSKRWNPEVQFTSNY</div> <div>TGQVTVEMEWELKKENS KRWNPEIQYTNNY</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNF</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY</div> <div>TGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY</div> <div>AAV1 AAV6</div>

图10H

图10I



		中和血清稀释					
血清型	动物	AAV1	AAV2	AAV8	改组 100-3	改组 100-7	SM 10-2
AAV1	1	1:1000	无	1:250	1:250	1:1000	无
	2	1:1000	1:25	1:250	1:250	1:1000	无
	3	1:1000	无	1:250	1:250	1:1000	无
AAV2	1	1:50	1:500	1:100	无	无	1:250
	2	1:50	1:500	1:100	无	1:25	1:500
	3	1:1000	1:1000	1:100	无	1:100	1:500
AAV8	1	1:100	无	1:250	无	1:100	无
	2	1:250	无	1:100	无	1:100	无
	3	1:250	无	1:250	无	1:250	无
改组 100-3	1	1:1000	无	1:500	1:100	1:1000	无
	2	1:1000	无	1:500	1:100	1:1000	无
	3	1:1000	无	1:100	1:250	1:1000	无
改组 100-7	1	1:1000	无	1:100	1:100	1:500	无
	2	1:1000	无	1:100	1:250	1:1000	无
	3	1:1000	无	1:50	1:100	1:1000	无

图11