



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103314002 B

(45)授权公告日 2016.09.07

(21)申请号 201180064660.0

(22)申请日 2011.11.14

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 103314002 A

(43)申请公布日 2013.09.18

(30)优先权数据  
61/413,176 2010.11.12 US  
61/417,817 2010.11.29 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2013.07.10

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2011/060592 2011.11.14

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02012/065164 EN 2012.05.18

(73)专利权人 宾夕法尼亚大学托管会  
地址 美国宾夕法尼亚州  
专利权人 英诺维欧药业股份有限公司

(72)发明人 D·B·韦纳 严健 B·费拉罗  
N·Y·萨德赛 M·P·拉马纳坦

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公  
司 31100  
代理人 韦东

(51)Int.Cl.

C12N 15/09(2006.01)

G07H 21/00(2006.01)

G07K 14/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 1989149 A,2007.06.27,

CN 101257920 A,2008.09.03,

WO 0125272 A2,2001.04.12,

Dominick J. Laddy,等.Heterosubtypic Protection against Pathogenic Human and Avian Influenza Viruses via In Vivo Electroporation of Synthetic Consensus DNA Antigens.《PLoS One》.2008,第3卷(第6期),第e2517页.

Dominick J. Laddy,等.Immunogenicity of novel consensus-based DNA vaccines against avian influenza.《Vaccine》.2007,第25卷(第16期),第2984-2989页.

审查员 严彤

权利要求书1页 说明书31页  
序列表40页 附图4页

(54)发明名称

共有前列腺抗原、编码所述抗原的核酸分子以及包含所述核酸分子的疫苗及其用途

(57)摘要

本文中提供了能够在被靶向的物种中打断耐受性的前列腺抗原的共有氨基酸序列,包括PSA、PSMA、STEAP和PSCA抗原。还提供了编码前列腺抗原PSA、PSMA、STEAP和PSCA的一种或多种共有氨基酸序列的核酸序列以及表达所述序列的基因构建体/载体和疫苗。本文中还提供了通过施用提供的疫苗、蛋白质和/或核酸序列的一种或多种产生针对前列腺癌细胞的自身免疫反应的方法。

1. 一种核酸分子,其包含编码一种或多种蛋白质的编码序列,所述蛋白质选自:
  - a)SEQ ID NO:2;或
  - b)SEQ ID NO:4;其中,所述一种或多种蛋白质诱导针对前列腺癌抗原的免疫反应。
2. 根据权利要求1所述的核酸分子,其编码一种或多种蛋白质,所述蛋白质选自:选自组分a)或b)的至少一种,和选自组分以下c)或d)的至少一种:
  - c)SEQ ID NO:6;或
  - d)SEQ ID NO:8。
3. 根据权利要求1所述的核酸分子,其包含一种或多种序列,所述序列选自:
  - a)SEQ ID NO:1;或
  - b)SEQ ID NO:3。
4. 根据权利要求3所述的核酸分子,其包含一种或多种核苷酸序列,所述核苷酸序列选自:选自组分a)或b)的至少一种,和选自以下组分c)或d)的至少一种:
  - c)SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250;
  - d)SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301。
5. 根据权利要求1所述的核酸分子,其中所述核酸分子是质粒。
6. 根据权利要求1所述的核酸分子,其中所述核酸分子是表达载体并且编码所述再一种蛋白质的序列有效地连接至调控元件。
7. 权利要求1-6中任一项所述的核酸分子在制备治疗经诊断患有前列腺癌的个体的药物中的用途。
8. 一种蛋白质,其选自:
  - a)SEQ ID NO:2;或
  - b)SEQ ID NO:4;其中,所述蛋白质能诱导针对前列腺癌抗原的免疫反应。
9. 根据权利要求8所述的蛋白质,所述蛋白质还含有选自以下组分c)或d)的至少一种:
  - c)SEQ ID NO:6;
  - d)SEQ ID NO:8。
10. 权利要求8-9中任一项所述的蛋白质在制备治疗经诊断患有前列腺癌的个体的药物中的用途。
11. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-6中任一项所述的核酸分子和药学上可接受的赋形剂。

## 共有前列腺抗原、编码所述抗原的核酸分子以及包含所述核酸分子的疫苗及其用途

### 发明领域

[0001] 本发明涉及编码共有前列腺蛋白及其片段的核酸分子；改进的前列腺癌疫苗、改进的用于诱导针对前列腺癌细胞的免疫反应的方法、改进的用于预防性和/或治疗性免疫个体以抗前列腺癌的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 前列腺癌是重要治疗免疫靶。免疫治疗法的发展非常复杂，因为需要开发能够诱导强免疫反应，包括优选CTL反应的免疫原。

[0004] 已研究了直接施用核酸序列以针对动物和人疾病接种疫苗，并且许多努力集中在核酸递送的有效和高效方法，以产生期望的抗原的必需表达，从而导致免疫原性反应和最终该技术的成功。

[0005] DNA疫苗具有许多优于常规接种法例如活减毒病毒和基于重组蛋白质的疫苗的概念上的有利方面。DNA疫苗是安全的，稳定的，容易产生的，并且在人中可被良好地耐受的，临床前试验显示几乎无质粒整合的证据[Martin, T., 等人, 质粒DNA疟疾疫苗：肌肉注射后基因组整合的潜能. *Hum Gene Ther*, 1999. 10(5): 第759-68页; Nichols, W.W., 等人, 至宿主基因组内的潜在DNA疫苗整合. *Ann N Y Acad Sci*, 1995. 772: 第30-9页]。此外，DNA疫苗因疫苗的效力不受预先存在的针对载体的抗体滴度的影响的事实而十分适合重复施用 [Chattergoon, M., J. Boyer 和 D.B. Weiner, 基因免疫：疫苗和免疫治疗剂的新纪元. *FASEB J*, 1997. 11(10): 第753-63页]。然而，DNA疫苗的临床采用的一个主要障碍一直以来为当转移至更大的动物时平台的免疫原性减弱[Liu, M.A. 和 J.B. Ulmer, 质粒DNA疫苗的人临床试验. *Adv Genet*, 2005. 55: 第25-40页]。DNA疫苗免疫原的工程最近技术进展例如密码子最优化、RNA最优化和免疫球蛋白前导序列的添加已提高了DNA疫苗的表达和免疫原性 [Andre, S., 等人, 通过利用具有最优化的密码子选择的合成gp120序列进行DNA接种引发的增强的免疫反应. *J Virol*, 1998. 72(2): 第1497-503页; Deml, L., 等人, 密码子选择最优化对编码人免疫缺陷病毒1型Gag蛋白DNA候选疫苗的表达和免疫原性的多重效应. *J Virol*, 2001. 75(22): 第10991-1001页; Laddy, D.J., 等人, 基于共有序列的抗禽流感新型DNA疫苗的免疫原性. *Vaccine*, 2007. 25(16): 第2984-9页; Frelin, L., 等人, 密码子最优化和mRNA扩增有效地增强丙型肝炎病毒非结构3/4A基因的免疫原性. *Gene Ther*, 2004. 11(6): 第522-33页]。

[0006] 质粒递送系统的最近技术进步已提高了DNA疫苗的表达和免疫原性，包括技术例如电穿孔[Hirao, L.A., 等人, 通过电穿孔进行的真皮内/皮下免疫提高了质粒疫苗在猪和猕猴中的递送和潜能. *Vaccine*, 2008. 26(3): 第440-8页; Luckay, A., 等人, 质粒DNA疫苗设计和体内电穿孔对猕猴中所得的疫苗特异性免疫反应的效应. *J Virol*, 2007. 81(10): 第5257-69页; Ahlen, G., 等人, 体内电穿孔通过增加的局部DNA摄入增强丙型肝炎病毒非结构3/4A DNA的免疫原性、蛋白质表达、炎症和CD3+T细胞的浸润. *J Immunol*, 2007. 179(7): 第4741-53页]。

[0007] 此外,研究已表明共有免疫原的使用可以能够相较于单独的天然抗原增加细胞免疫反应的宽度(breadth)[Yan,J.,等人,由基于工程HIV-1亚型B共有序列的包膜DAN疫苗引发的增强的细胞免疫反应.Mol Ther,2007.15(2):第411-21页;Rolland,M.,等人,人免疫缺陷病毒1型蛋白的祖先树中心的构建和功能.J Virol,2007.81(16):第8507-14页]。然而,应承认打破癌症抗原的免疫耐受性和产生自身免疫是癌症疫苗的主要障碍。

[0008] 仍然需要编码前列腺癌抗原的核酸构建体和用于诱导抗前列腺癌抗原的免疫反应,从而打破免疫耐受性的组合物。仍然存在对经济有效的抗前列腺癌的有效的预防性和治疗。

[0009] 优选实施方案的概述

[0010] 本发明的方面包括包含编码一种或多种蛋白质的编码序列的核酸分子,所述蛋白质选自:a)SEQ ID NO:2;与SEQ ID NO:2具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:2的至少256个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:2的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;b)SEQ ID NO:4;与SEQ ID NO:4具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:4的至少274个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:4的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275保守的;c)SEQ ID NO:6;与SEQ ID NO:6具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:6的至少735个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:6的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;d)SEQ ID NO:8;与SEQ ID NO:8具有至少98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:8的至少752个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:8的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的;e)SEQ ID NO:10;与SEQ ID NO:10具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:10的至少333个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:10的免疫原性片段;f)SEQ ID NO:12;与SEQ ID NO:12具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:12的至少349个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:12的免疫原性片段;g)SEQ ID NO:14;与SEQ ID NO:14具有98%的同源性的蛋白质或包含相应于SEQ ID NO:14的至少129个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:14的免疫原性片段;或h)连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的信号肽;具有连接至与SEQ ID NO:14的氨基酸19-131具有98%的同源性的氨基酸序列的信号肽的蛋白质;或具有连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的免疫原性片段的信号肽、包含SEQ ID NO:14的至少110个氨基酸残基并且连接至信号肽的片段的蛋白质。在一些实施方案中,核酸分子选自编码蛋白质a)、b)、c)或d)的核酸分子。

[0011] 在另一个方面,本发明包括治疗经诊断患有前列腺癌的个体的方法,所述方法包

括给个体施用本文中描述的核酸分子。

[0012] 在另一个方面,提供了蛋白质,所述蛋白质选自:a)SEQ ID NO:2;与SEQ ID NO:2具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:2的至少261个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:2的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;b)SEQ ID NO:4;与SEQ ID NO:4具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:4的至少274个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:4的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275保守的;c)SEQ ID NO:6;与SEQ ID NO:6具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:6的至少735个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:6的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;d)SEQ ID NO:8;与SEQ ID NO:8具有至少98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:8的至少752个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:8的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的;e)SEQ ID NO:10;与SEQ ID NO:10具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:10的至少333个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:10的免疫原性片段;f)SEQ ID NO:12;与SEQ ID NO:12具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:12的至少349个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:12的免疫原性片段;g)SEQ ID NO:14;与SEQ ID NO:14具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:14的至少129个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:14的免疫原性片段;或h)连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的信号肽;具有连接至与SEQ ID NO:14的氨基酸19-131具有98%的同源性的氨基酸序列的信号肽的蛋白质;或具有连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的免疫原性片段的信号肽、包含SEQ ID NO:14的至少110个氨基酸残基并且连接至信号肽的片段的蛋白质。在一些实施方案中,蛋白质选自蛋白质a)、b)、c)或d)。

[0013] 本发明的一些方面包括治疗经诊断患有前列腺癌的个体的方法,包括给所述个体递送本文中描述的蛋白质。

[0014] 本发明的其它方面是包含本文中提供的核酸分子和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0015] 附图概述

[0016] 图1显示来自被进行以确认PSA和PSMA抗原的表达的体外翻译的结果。

[0017] 图2A显示细胞免疫原性数据。PSA抗原的细胞免疫原性通过干扰素- $\gamma$  ELISpot来进行测定。

[0018] 图2B显示细胞免疫原性数据。PSA抗原的细胞免疫原性通过干扰素- $\gamma$  ELISpot来进行测定。

[0019] 图3A-C显示利用流式细胞术,通过展示显示PSA特异性(左图框)、PSMA特异性(中间图框)和总的疫苗特异性(右图框)细胞因子产生的图表表征的CD4+T细胞反应:产生IFN $\gamma$ 的CD4+T细胞%(图3A);产生IL-2的细胞CD4+T的%(图3B);和产生TNF $\alpha$ 的CD4+T细胞%(图3C)。

[0020] 图4A-C显示利用流式细胞术,通过展示显示PSA特异性(左图框)、PSMA特异性(中间图框)和总的疫苗特异性(右图框)细胞因子产生的图表表征的CD8+T细胞反应:产生IFN $\gamma$ 的CD8+T细胞%(图4A);产生IL-2的CD8+T细胞%(图4B);和产生TNF $\alpha$ 的CD8+T细胞%(图4C)。

[0021] 图5A-B显示在最终的免疫后一周PSA特异性抗体的ELISA数据。(图5A)PSA IgG终点滴度。(图5B)代表性IgG滴定曲线。

[0022] 详细描述

[0023] 本文中提供了前列腺蛋白质的共有序列和编码它们,特别地前列腺抗原前列腺特异性抗原(PSA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、前列腺抗原的六跨膜上皮细胞抗原(STEAP)和前列腺特异性干细胞抗原(PSCA)的分离的核酸分子。

[0024] 本文中描述的前列腺癌抗原是来源于跨多个物种(包括疫苗所靶向的物种)的同源抗原的库的共有序列。应基于系统发生树(phylogenetic tree)上物种的距离接近来选择将来自其的抗原序列对齐以形成共有序列的选择的物种,例如,智人(人)、猕猴(恒河猴)和食蟹猴(食蟹猴(cynomolgus monkey))。共有抗原与天然前列腺抗原不完全相同但具有相近的同一性,其序列共有至少85%,优选90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性。此类描述的共有癌症抗原能够打破被靶向物种的耐受性(或引起自身免疫)并且产生有效的抗前列腺癌抗原免疫反应。本文中提供了产生基于共有癌症抗原的DNA疫苗的方法。

[0025] 本发明的方面包括包含编码一种或多种蛋白质的编码序列的核酸分子,所述蛋白质选自:a)SEQ ID NO:2;与SEQ ID NO:2具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:2的至少256个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:2的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;b)SEQ ID NO:4;与SEQ ID NO:4具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:4的至少274个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:4的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275保守的;c)SEQ ID NO:6;与SEQ ID NO:6具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:6的至少735个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:6的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;d)SEQ ID NO:8;与SEQ ID NO:8具有至少98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:8的至少752个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:8的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的;e)SEQ ID NO:10;与SEQ ID NO:

10具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:10的至少333个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:10的免疫原性片段;f)SEQ ID NO:12;与SEQ ID NO:12具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:12的至少349个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:12的免疫原性片段;g)SEQ ID NO:14;与SEQ ID NO:14具有98%的同源性的蛋白质;或包含相应于SEQ ID NO:14的至少129个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:14的免疫原性片段;或包含SEQ ID NO:14的至少129个氨基酸残基的SEQ ID NO:14的免疫原性片段;或h)连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的信号肽;具有连接至与SEQ ID NO:14的氨基酸19-131具有98%的同源性的氨基酸序列的信号肽的蛋白质;或具有连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的免疫原性片段的信号肽、包含SEQ ID NO:14的至少110个氨基酸残基并且连接至信号肽的片段的蛋白质。公开了PSA的两个共有蛋白质序列:PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:2)和PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:4)。公开了PSMA的两个共有蛋白质序列:PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:6)和PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:8)。公开了STEAP(在本文中也称为STEAP1)的两个共有蛋白质序列:STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:10)和STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:12)。公开了PSCA的一个共有蛋白质序列:PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:14)。SEQ ID NO:14包括IgE信号肽。在一些实施方案中,PSCA共有抗原可包括连接至除SEQ ID NO:14的IgE信号外的信号序列的SEQ ID NO:14的氨基酸19-131。在一些实施方案中,核酸分子选自编码上述蛋白质a)、b)、c)或d)的核酸分子。在其它实施方案中,核酸分子是编码一种或多种蛋白质的核酸分子,所述核酸分子选自:选自编码蛋白质a)或b)的核酸分子的至少一种,和选自编码蛋白质c)或d)的核酸分子的至少一种。

[0026] 核酸分子还可以是编码一种或多种蛋白质的分子,所述蛋白质选自:SEQ ID NO:2;SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:6;SEQ ID NO:8;SEQ ID NO:10;SEQ ID NO:12;或SEQ ID NO:14;优选地,SEQ ID NO:2;SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,核酸分子可以是编码一种或多种蛋白质的核酸分子,所述蛋白质选自:选自SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4的至少一种,和选自SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8的至少一种。

[0027] 在另一个方面,提供了蛋白质,所述蛋白质选自:a)SEQ ID NO:2;与SEQ ID NO:2具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:2的至少256个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:2的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的;b)SEQ ID NO:4;与SEQ ID NO:4具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:4的至少274个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:4的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275保守的;c)SEQ ID NO:6;与SEQ ID NO:6具有98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;或包含相应于SEQ ID NO:6的至少735个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:6的免疫原性片段,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的;d)SEQ ID NO:8;与SEQ ID NO:8具有至少98%的同源性的蛋白质,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、

492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的；或包含相应于SEQ ID NO:8的至少752个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:8的免疫原性片段，只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的；e)SEQ ID NO:10；与SEQ ID NO:10具有98%的同源性的蛋白质；或包含相应于SEQ ID NO:10的至少333个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:10的免疫原性片段；f)SEQ ID NO:12；与SEQ ID NO:12具有98%的同源性的蛋白质；或包含相应于SEQ ID NO:12的至少349个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:12的免疫原性片段；g)SEQ ID NO:14；与SEQ ID NO:14具有98%的同源性的蛋白质；或包含相应于SEQ ID NO:14的至少129个氨基酸残基的氨基酸的SEQ ID NO:14的免疫原性片段；或h)连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的信号肽；具有连接至与SEQ ID NO:14的氨基酸19-131具有98%的同源性的氨基酸序列的信号肽的蛋白质；或具有连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的免疫原性片段的信号肽、包含SEQ ID NO:14的至少110个氨基酸残基并且连接至信号肽的片段的蛋白质。在一些实施方案中，蛋白质选自：蛋白质a)、b)、c)或d)。在其它实施方案中，蛋白质编码一种或多种蛋白质的蛋白质，其选自：选自蛋白质a)或b)的至少一种，和选自蛋白质c)或d)的至少一种。

[0028] 蛋白质还可以是选自SEQ ID NO:2；SEQ ID NO:4；SEQ ID NO:6；SEQ ID NO:8；SEQ ID NO:10；SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:14；优选地，SEQ ID NO:2；SEQ ID NO:4；SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8的蛋白质。在一些实施方案中，蛋白质可以是选自如下蛋白质的蛋白质：选自SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4的至少一种，和选自SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8至少一种。

[0029] 核酸编码序列已被产生来提高和最优化表达。此类核酸分子中使用的密码子被选择来产生具有减少的因分子内杂交而导致的二级结构形成的RNA。公开了编码PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:1)和PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:3)的核酸序列。同样地，提供了PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250)和PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301)以及STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:9)、STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:11)和PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:13)的核酸编码序列。还提供了与SEQ ID NO:1具有98%的同源性，并且编码PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:2)或与SEQ ID NO:2具有高达98%的同源性的蛋白质(优选包括SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248)的核酸序列，和与SEQ ID NO:3具有98%的同源性，并且编码PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:4)或与SEQ ID NO:4具有高达98%的同源性的蛋白质(优选包括SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275)的核酸序列。同样地，与SEQ ID NO:5的核苷酸2250具有至少98%的同源性，并且编码PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:6)或与SEQ ID NO:6的具有高达98%的同源性的蛋白质(优选包括SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734)的核酸序列，或与SEQ ID NO:7的核苷酸2301具有98%的同源性，并且编码PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:8)或与SEQ ID NO:8具有高达98%的同源性的蛋白质(优选包括SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751)的核酸序列，以及与SEQ ID NO:9具有98%的同源性，并且编码STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:10)或与SEQ ID NO:10具有高达98%的同源性的蛋白质的核苷酸，与SEQ ID NO:11具有



98%的同源性,并且编码STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:12)或与SEQ ID NO:12具有高达98%的同源性的蛋白质的核苷酸,以及与SEQ ID NO:13具有98%的同源性,并且编码PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:14)或与SEQ ID NO:14具有高达98%的同源性的蛋白质核苷酸。在一些实施方案中,核酸分子编码包含IgE信号肽的蛋白质(例如,编码SEQ ID NO:4的SEQ ID NO:3;编码SEQ ID NO:8的SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301;编码SEQ ID NO:12的SEQ ID NO:11和编码SEQ ID NO:14的SEQ ID NO:13)。

[0030] 包含含有本文中提供了的分离的核酸分子的编码序列的核酸分子的组合物可用于诱导针对前列腺蛋白的免疫反应(当施用至动物体内时)。包含此类核酸序列的一个或多个的组合物可用作疫苗或疫苗组分来预防性或治疗性引发对前列腺癌的免疫。同样地,当施用至动物体内时,包含共有蛋白质的组合物可用于诱导针对前列腺蛋白的免疫反应。包含含有本文中提供的分离的核酸分子的编码序列的核酸分子的组合物的组合可用于诱导针对前列腺蛋白的免疫反应,并且可一起用作疫苗或疫苗组分来预防性或治疗性地引发针对前列腺癌的免疫。同样地,当施用至动物体内时,包含共有蛋白质的组合物可用于诱导针对前列腺蛋白的免疫反应。包含此类共有蛋白质的一种或多种的组合物可用作疫苗或疫苗组分来预防性或治疗性引发针对前列腺癌的免疫。

[0031] 提供了包含本文中提供了的核酸序列的疫苗。在一些实施方案中,提供了包含编码一种或多种选自如下抗原的共有前列腺抗原的核酸序列的疫苗:共有PSA抗原1、共有PSA抗原2、共有PSMA抗原1、共有PSMA抗原2、共有STEAP抗原1、共有STEAP抗原2和共有PSCA。提供了使用编码一种或多种前列腺抗原的核酸序列诱导免疫反应的方法,所述前列腺抗原选自:共有PSA抗原1、共有PSA抗原2、共有PSMA抗原1、共有PSMA抗原2、共有STEAP抗原1、共有STEAP抗原2和共有PSCA。

[0032] 还提供了包含共有PSA抗原1、共有PSA抗原2、共有PSMA抗原1、共有PSMA抗原2、共有STEAP抗原1、共有STEAP抗原2和共有PSCA的一种或多种的疫苗。还提供了使用共有PSA抗原1、共有PSA抗原2、共有PSMA抗原1、共有PSMA抗原2、共有STEAP抗原1、共有STEAP抗原2和共有PSCA的一种或多种诱导免疫反应的方法。

[0033] 提供了保护个体免受前列腺癌或治疗已被鉴定为患有前列腺癌的个体的方法。方法包括步骤:给所述个体施用有效量的包含一种或多种本文中提供的核酸分子的一种或多种核酸分子。在一些方法中,通过靶向组织或接受核酸分子的组织的电穿孔来促进核酸分子的递送。核酸序列在个体的细胞中表达,诱导针对由核酸序列编码的前列腺蛋白的免疫反应。

[0034] 1. 定义

[0035] 本文中使用的术语仅为了描述具体的实施方案而并非旨在限制。如说明书和所附权利要求中所用的,除非另外明确地指出,否则单数形式“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”和“该/所述(the)”包括复数所指物。

[0036] 对于本文中数值范围的引述,明确地包括相同精度的介于其间的每一个介入数字。例如,对于6-9的范围,除了6和9以外还包括数字7和8,对于6.0-7.0的范围,明确地包括数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0037] a. 佐剂

[0038] 如本文中所示,“佐剂”意指添加中至本文中描述的DNA质粒疫苗以增强由DNA质粒

和下文中描述的编码核酸序列编码的抗原的免疫原性的任何分子。

[0039] b. 抗体

[0040] 如本文中所用,“抗体”意指种类IgG、IgM、IgA、IgD或IgE的抗体或片段、其片段或衍生物,包括Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd和单链抗体、双链抗体(diabody)、双特异性抗体、双功能抗体及其衍生物。抗体可以是从小哺乳动物的血清样品分离的抗体、多克隆抗体、亲和纯化的抗体或其混合物,所述抗体显示充足的对期望的表位或来源于其的序列的结合特异性。

[0041] c. 编码序列

[0042] 如本文中所用,“编码序列”或“编码核酸”意指包含编码蛋白质的核苷酸序列的核酸(RNA或DNA分子)。编码序列还可包括有效地连接至能够在核酸被施用至的个体或哺乳动物的细胞中指导表达的调控元件(包括启动子和多腺苷酸化信号)的起始和终止信号。

[0043] d. 互补

[0044] 如本文中所用,“互补”或“互补的”意指可进行核酸分子的核苷酸或核苷酸类似物之间的沃森-克里克(Watson-Crick)(例如,A-T/U和C-G)或胡斯坦碱基配对(Hoogsteen base pairing)的核酸。

[0045] e. 共有或共有序列

[0046] 如本文中所用,“共有”或“共有序列”意指基于特定前列腺抗原的多个亚型的比对的分析的多肽序列。可制备编码共有多肽序列的核酸序列。可将包含含有共有序列的蛋白质和/或编码此类蛋白质的核酸分子的疫苗用于诱导针对特定前列腺抗原的广泛免疫。

[0047] f. 电穿孔

[0048] 如本文中可互换使用的,“电穿孔”、“电透化(electro-permeabilization)”或“电动强化(electro-kinetic enhancement)”(“EP”)意指使用跨膜电场脉冲在生物膜中诱导微观路径(孔);它们的存在允许生物分子例如质粒、寡核苷酸、siRNA、药物、离子和水从细胞膜的一侧穿过至另一侧。

[0049] g. 片段

[0050] 如本文中对于核酸序列所用的,“片段”意指编码能够引发哺乳动物的免疫反应,与全长前列腺抗原交叉反应的多肽的核酸序列或其部分。片段可以是选自各种核苷酸序列的至少一种的DNA片段,所述核苷酸序列编码共有氨基酸序列和包含此类序列的构建体。DNA片段可包含免疫球蛋白前导序列例如IgE或IgG序列的编码序列。DNA片段可编码下文中所示的蛋白质片段。

[0051] 关于多肽序列的“片段”意指能够引发哺乳动物的免疫反应的多肽,所述多肽与前列腺抗原(包括例如PSA、PSMA、STEAP和PSCA)交叉反应。

[0052] 人PSA序列为约261个氨基酸。PSA共有抗原1的片段可包含至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,优选98%或99%的SEQ ID NO:2,只要片段包含氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248的一个或多个。PSA共有抗原1的片段可包含SEQ ID NO:2的255、256、257、258、259或260个氨基酸,但优选256个氨基酸或更多个氨基酸。PSA共有抗原2的片段可包含至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,优选98%或99%的SEQ ID NO:4,只要片段包括氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275的一个或多个。PSA共有抗原2的所有此类片段还可任选地排除氨基酸1-17。在一些实施方案中,PSA共有抗原2的片段可任选地包括氨基酸

1-17的一个或多个,以及来自氨基酸18至氨基酸278的氨基酸的一个或多个,PSA共有抗原2的片段还可包括SEQ ID NO:4的255、256、257、258、259或260个氨基酸,但优选274个氨基酸或更多个氨基酸。

[0053] 人PSMA序列为约749-750个氨基酸。PSMA共有抗原1的片段可包含至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,优选98%或99%的SEQ ID NO:6,只要片段包括氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734的一个或多个。PSMA共有抗原1的片段可包含SEQ ID NO:6的745、746、747、748或749个氨基酸,但优选735个氨基酸或更多个氨基酸。PSMA共有抗原2的片段可包含至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,优选98%或99%的SEQ ID NO:8,只要片段包括氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751的一个或多个。PSA共有抗原2的所有此类片段还可任选地排除氨基酸1-17。在一些实施方案中,PSA共有抗原2的片段可任选地包含氨基酸1-17的一个或多个以及来自氨基酸18至氨基酸767的氨基酸的一个或多个,PSMA共有抗原2的片段还可包括SEQ ID NO:8的761、762、763、764、765或766个氨基酸,但优选752个氨基酸或更多个氨基酸。

[0054] 人STEAP序列为约339个氨基酸。共有STEAP序列可包含免疫球蛋白前导序列例如IgE或IgG的氨基酸序列。共有STEAP抗原2在位置1上包含18个氨基酸前导序列以替代甲硫氨酸。PSMA共有抗原2的片段可包含前导序列和至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,优选98%或99%的SEQ ID NO:12的氨基酸18-356。PSMA共有抗原1的片段可包含SEQ ID NO:12的氨基酸1-350、1-351、1-352、1-353、1-354或1-355。

[0055] 人PSCA序列为约114个氨基酸。共有STEAP序列可包含免疫球蛋白前导序列例如IgE或IgG的氨基酸序列。共有PSCA抗原在位置1上包含18个氨基酸前导序列以替代甲硫氨酸。PSCA共有抗原的片段可包含前导序列和至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,优选98%或99%的SEQ ID NO:14的氨基酸18-131。PSMA共有抗原1的片段可包含SEQ ID NO:14的氨基酸1-125、1-126、1-127、1-128、1-129或1-130。

#### [0056] h. 基因构建体

[0057] 如本文中所示,术语“基因构建体”是指包含编码蛋白质的核苷酸序列的DNA或RNA分子。编码序列包括有效地连接至能够在核酸分子所施用至的个体的细胞中指导表达的调控元件(包括启动子和多腺苷酸化信号)的起始和终止信号。如本文中所示,术语“可表达形式”是指包含有效地连接至编码蛋白质的编码序列的必需调控元件(以便当存在于个体的细胞中时可表达编码序列)的基因构建体。

#### [0058] i. 同源性

[0059] 使用ClustalW(DNA或蛋白质的一般性目的多序列比对程序)产生多序列比对的同源性和系统发育图(phylogram)。

#### [0060] j. 同一的

[0061] 如本文中所示,“同一的”或“同一性”,在两个或更多个核酸或多肽序列的背景中,意指序列具有指定百分比的在指定的区域上为相同的残基。可如下计算百分比:最佳地对齐两个序列,在指定的区域上比较两个序列,测定两条序列中在其上存在相同残基的位置的数目,以产生匹配位置的数目,将匹配位置的数目除以指定的区域中位置的总数,然后将结果乘以100来产生序列同一性的百分比。在其中两个序列具有不同长度或比对产生一个

或多个交错末端以及指定的比较区域仅包括单个序列的情况下,将单个序列的残基包括在计算的分母中而非分子中。当比较DNA与RNA时,胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)可被认为是等同的。可通过人工或使用计算机序列算法例如BLAST或BLAST2.0来计算同一性。

[0062] k. 免疫反应

[0063] 如本文中所示,“免疫反应”意指宿主免疫系统例如哺乳动物的免疫系统响应抗原例如前列腺共有抗原的引入的活化。免疫反应可以以细胞或体液反应或两者的形式存在。

[0064] l. 核酸

[0065] 如本文中所示,“核酸”或“寡核苷酸”或“多核苷酸”意指共价连接在一起的至少两个核苷酸。单链的描述也确定了互补链的序列。因此,核酸还包括描述的单链的互补链。核酸的许多变体可用于与给定的核酸相同的目的。因此,核酸还包括大体上同一的核酸及其互补序列。单链提供了可在严格杂交条件下与靶序列杂交的探针。因此,核酸还包括在严格杂交条件下杂交的探针。

[0066] 核酸可以是单链或双链的,或可包含双链和单链序列的部分。核酸可以是DNA(基因组DNA和cDNA)、RNA或杂交体,其中核酸可包含脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸的组合,以及碱基(包括尿嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、鸟嘌呤、肌苷、黄嘌呤、次黄嘌呤、异胞嘧啶和异鸟嘌呤)的组合。核酸可通过化学合成法或通过重组法获得。

[0067] m. 有效连接的

[0068] 如本文中所示,“有效连接的”意指基因的表达处于在空间上与其连接的启动子的控制之下。启动子可位于处于其控制下的基因的5'(上游)或3'(下游)。启动子与基因之间的距离可与启动子所源自的基因中启动子与其控制的基因之间的距离大致相同。如在本领域中是已知的,该距离的变化可被调节而不丧失启动子功能。

[0069] n. 启动子

[0070] 如本文中所示,“启动子”意指能在细胞中赋予核酸的表达、激活或增强所述表达的合成或天然来源的分子。启动子可包括一个或多个特异性转录调控序列来进一步增强所述基因的表达和/或改变其空间表达和/或时间表达。启动子还可包括远端增强子或阻遏物元件,所述元件可位于远离转录起始位点多达数千个碱基对。启动子可来源于包括病毒、细菌、真菌、植物、昆虫和动物的来源。启动子对于其中发生表达的细胞、组织或器官或对于表达发生所处的发育阶段,或响应外界刺激例如生理应激、病原体、金属离子或诱导剂,可组成型地或差异地调节基因组(gene component)的表达。启动子的代表性实例包括噬菌体T7启动子、噬菌体T3启动子、SP6启动子、lac操纵子-启动子、tac启动子、SV40晚期启动子、SV40早期启动子、RSV-LTR启动子、CMV IE启动子、SV40早期启动子或SV40早期启动子和CMV IE启动子。

[0071] o. 严格杂交条件

[0072] 如本文中所示,“严格杂交条件”意指在其下第一核酸序列(例如,探针)将与第二核酸序列(例如,靶)例如在核酸的复杂混合物中杂交的条件。严格条件是序列依赖性的并且在不同的环境中是不同的。严格条件可经选择比确定离子强度pH下特定序列的热解链温度( $T_m$ )约5-10°C。 $T_m$ 可以是(在确定的离子强度、pH和核酸浓度下)50%的与靶互补的探针与靶序列平衡杂交时所处的温度(当靶序列过量存在时,在 $T_m$ 下,50%的探针被平衡地占据)。严格条件可以是这样的条件,其中在pH7.0至8.3下盐浓度低于约1.0M钠离子,例如约0.01-

1.0M的钠离子浓度(或其它盐),并且温度为至少约30℃(对于短探针,例如约10-50个核苷酸)和至少约60℃(对于长探针,例如,大于约50个核苷酸)。严格条件还可通过添加去稳定剂例如甲酰胺来实现。对于选择性或特异性杂交,阳性信号可以为本底杂交的至少2至10倍。示例性严格杂交条件包括下列:50%的甲酰胺、5x SSC和1%SDS,在42℃下孵育,或5x SSC,1%SDS,在65℃下孵育,在65℃下于0.2x SSC和0.1%SDS中洗涤。

[0073] p. 大体上互补

[0074] 如本文中所示,“大体上互补”意指第一序列与第二序列的互补序列在8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、180、270、360、450、540、630、720、810、900、990、1080、1170、1260、1350、1440、1530、1620、1710、1800、1890、1980、2070或更多个核苷酸或氨基酸的区域范围内具有至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性,或两个序列在严格杂交条件下杂交。

[0075] q. 大体上同一的

[0076] 如本文中所示,“大体上同一的”意指第一序列与第二序列在8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、180、270、360、450、540、630、720、810、900、990、1080、1170、1260、1350、1440、1530、1620、1710、1800、1890、1980、2070或更多个核苷酸或氨基酸的区域范围内具有至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%的同一性,或就核酸而言,第一序列与第二序列的互补序列大体上互补的情况。

[0077] r. 亚型或血清型

[0078] 如本文中所示,“亚型”或“血清型”可互换使用,当提及前列腺癌抗原时,意指前列腺癌抗原的遗传变体(genetic variant),以便一个亚型(或变体)被免疫系统识别而与不同亚型分开。

[0079] s. 变体

[0080] 如本文中所示,关于核酸的“变体”意指(i)参照核酸序列的部分或片段;(ii)参照核苷酸序列或其部分的互补序列;(iii)与参照核酸或其互补序列大体上同一的核酸;或(iv)在严格条件下与参照核酸、其互补序列或与其大体上同一的序列杂交的核酸。

[0081] “变体”是指在氨基酸序列上差异在于氨基酸的插入、缺失或保守置换但保持至少一种生物活性的肽或多肽。变体还可意指其氨基酸序列与参考的蛋白质的氨基酸序列大体上同一的蛋白质,其保留至少一种生物活性。氨基酸的保守置换,即用具有相似性质(例如,亲水性、带电荷区域的程度和分布)的不同氨基酸替代氨基酸,在本领域通常被认为包括小的变化。这些小的变化可部分地通过考虑氨基酸的亲水指数来鉴定,如本领域中所理解的。Kyte等人,J.Mol.Biol.157:105-132(1982)。氨基酸的亲水指数基于其疏水性和电荷的考虑。在本领域中已知具有相似亲水指数的氨基酸可被置换并且仍然保留蛋白质功能。在一个方面,具有±2的亲水指数的氨基酸被置换。氨基酸的亲水性还可用于揭示可产生保留生物功能的蛋白质的置换。在肽的上下文中氨基酸的亲水性的考虑允许计算该肽的最大局部平均亲水性,已报道与抗原性和免疫原性相关的有用的测量。美国专利No.4,554,101,通过引用整体并入本文。具有相似亲水性值的氨基酸的置换可产生保留生物活性例如免疫原性的肽,这在本领域中是被理解的。可利用具有在±2内的亲水性值的氨基酸彼此进行置换。

氨基酸的疏水性指数和亲水性值受该氨基酸的具体侧链影响。与该观察一致,应理解与生物功能相容的氨基酸置换依赖于氨基酸的相对相似性,特别地所述所氨基酸的侧链的相对相似性,如通过疏水性、亲水性、电荷、大小和其它性质显示的。

[0082] t. 载体

[0083] 如本文中所示,“载体”意指包含复制起点的核酸序列。载体可以是载体、噬菌体、细菌人工染色体或酵母人工染色体。载体可以是DNA或RNA载体。载体可以是自主复制的染色体外载体,优选为DNA质粒。

[0084] 2. 共有前列腺抗原

[0085] 本文提供了能够引发哺乳动物的针对前列腺抗原的免疫反应的共有抗原。共有抗原可包含使得它们成为可对其诱导针对前列腺癌细胞的特别有效的免疫原的表位。共有前列腺抗原可包含全长翻译产物、其变体、其片段或其组合。

[0086] 已设计了七种不同的共有前列腺抗原。所述共有前列腺抗原中的两种是共有PSA抗原1(SEQ ID NO:2)和共有PSA抗原2(SEQ ID NO:4)。所述共有前列腺抗原中的两种是共有PSMA抗原1(SEQ ID NO:6)和共有PSMA抗原2(SEQ ID NO:8)。所述共有前列腺抗原中的两种是共有STEAP抗原1(SEQ ID NO:10)和共有STEAP抗原2(SEQ ID NO:12)。所述共有前列腺抗原中的一种是共有PSCA抗原(SEQ ID NO:14)。蛋白质可包含与前列腺抗原同源的序列、前列腺抗原的片段以及具有与前列腺抗原的片段同源的序列的蛋白质。

[0087] 共有PSA抗原1(SEQ ID NO:2)与人PSA序列具有约91%的同源性,与食蟹猴PSA具有约95%的同源性以及与猕猴PSA具有约96%的同源性。共有PSA抗原1与人PSA序列差异在于SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248。

[0088] 共有PSA抗原2(SEQ ID NO:4)与人PSA序列具有约90-91%的同源性,与食蟹猴PSA具有约95%的同源性以及与猕猴PSA具有约95%的同源性。共有PSA抗原2在其N末端具有前导序列。共有PSA抗原2还与人PSA序列差异在于SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275。

[0089] 共有PSMA抗原1(SEQ ID NO:6)与人PSMA序列具有约96%的同源性,与猕猴PSMA具有约94%的同源性。共有PSMA抗原1与人PSMA序列差异在于SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734。

[0090] 共有PSMA抗原2(SEQ ID NO:8)与人PSA序列具有约96%的同源性,与猕猴PSA具有约94%的同源性。共有PSMA抗原2在其N末端包含前导序列。共有PSMA抗原2还与人PSA序列差异在于SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751。

[0091] 共有STEAP抗原1(SEQ ID NO:10)与一些人STEAP序列具有约94%的同源性,与其它人STEAP序列具有约99%的同源性。共有STEAP抗原1(SEQ ID NO:10)还与猕猴PSMA具有约94%的同源性。

[0092] 共有STEAP抗原2(SEQ ID NO:12)与人STEAP序列具有约88%的同源性,与其它人STEAP序列具有约94%的同源性。共有STEAP抗原2(SEQ ID NO:12)还与猕猴PSMA具有约94%的同源性。共有STEAP抗原2在其N末端包含前导序列。

[0093] 共有PSCA抗原(SEQ ID NO:14)与人PSCA具有约87%的同源性。共有PSCA抗原(SEQ ID NO:14)与人PSCA差异在于在其N末端包含前导序列。

[0094] 蛋白质可具有与PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:2)、PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:4)、PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:6)、PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:8)、STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:10)、STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:12)或PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:14)具有98%的同源性的序列。

[0095] 蛋白质可具有与PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:2)、PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:4)、PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:6)、PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:8)、STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:10)、STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:12)或PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:14)具有99%的同源性的序列。

[0096] 如上文中所指出的,一些实施方案在N末端上包含前导序列。在一些实施方案中,前导序列是为SEQ ID NO:16的IgE前导序列。在本文中提供的蛋白质序列的一些实施方案中,从其上除去SEQ ID NO:16。同样地,在本文中提供的核酸序列的一些实施方案中,从其上除去SEQ ID NO:15(其编码SEQ ID NO:16)。

[0097] 因此,一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:10以替代所述权利要求中所示的N末端甲硫氨酸(信号肽的编码序列通常包括编码N末端甲硫氨酸的起始密码子)的信号肽。一些实施方案涉及包含连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的信号肽的蛋白质。一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至与SEQ ID NO:2具有98%的同源性的蛋白质的信号肽,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的。一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至与SEQ ID NO:6具有98%的同源性的蛋白质的信号肽,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的。一些实施方案涉及包含连接至与SEQ ID NO:10具有98%的同源性的蛋白质的信号肽的蛋白质,在其中信号肽以其N末端连接的每一种情况下,其被连接以替代所述权利要求中所示的N末端甲硫氨酸(信号肽的编码序列通常包括编码N末端甲硫氨酸的起始密码子)。一些实施方案涉及包含连接至与SEQ ID NO:14的氨基酸19-131具有98%的同源性的蛋白质的信号肽的蛋白质。一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:2的免疫原性片段(包含相应于SEQ ID NO:2的至少256个氨基酸残基的氨基酸)的信号肽,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的。一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:6的免疫原性片段(包含相应于SEQ ID NO:6的至少735个氨基酸残基的氨基酸)的信号肽,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的。一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:10的免疫原性片段(包含相应于SEQ ID NO:10的至少333个氨基酸残基的氨基酸)的信号肽。一些实施方案涉及蛋白质,所述蛋白质包含连接至具有连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的免疫原性片段、包含SEQ ID NO:14的至少110个氨基酸残基的片段的信号肽的蛋白质的信号肽。

[0098] 3. 基因序列、构建体和质粒

[0099] 产生编码共有氨基酸序列的核酸分子以最优化在人中的稳定性和表达。基于除其它以外,最小化分子内相互作用和二级结构的形成以及使用导致提高的表达的密码子来确定密码子选择。疫苗可包含一种或多种核酸序列,所述核酸序列编码选自该组产生来最优

化在人中的稳定性和表达的序列的免疫原性蛋白质的共有形式的一种或多种形式。产生在最优化的共有编码核酸序列的5'末端包含IgE前导序列的编码序列的核酸序列,所述核酸序列编码在共有氨基酸序列的N末端具有IgE前导序列的蛋白质。在一些实施方案中,编码IgE前导序列的核酸序列是SEQ ID NO:15。

[0100] 提供了核酸序列,所述核酸序列编码PSA共有抗原序列1(蛋白质序列SEQ ID NO:2;核酸序列SEQ ID NO:1)、PSA共有抗原序列2(蛋白质序列SEQ ID NO:4;核酸序列SEQ ID NO:3)、PSMA共有抗原序列1(蛋白质序列SEQ ID NO:6;具有SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250的核酸序列)、PSMA共有抗原序列2(蛋白质序列SEQ ID NO:8;具有SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301的核酸序列)、STEAP共有抗原序列1(蛋白质序列SEQ ID NO:10;核酸序列SEQ ID NO:9)、STEAP共有抗原序列2(蛋白质序列SEQ ID NO:12;核酸序列SEQ ID NO:11)或PSCA共有抗原序列(蛋白质序列SEQ ID NO:14;核酸序列SEQ ID NO:13)。除PSMA编码核苷酸外,编码PSMA共有抗原序列1的核酸序列SEQ ID NO:5还包含正好在终止密码子前的额外9个密码子(27个核苷酸),其编码HA标记(SEQ ID NO:32),未显示于SEQ ID NO:6中。HA标记是相应于用于除其它以外蛋白质表达的检测(使用商购可得的抗-HA标记抗体进行的)的流感表位(influenza epitope)的肽序列。SEQ ID NO:5编码SEQ ID NO:6和以其N末端连接至SEQ ID NO:6的C末端的额外9个氨基酸的序列SEQ ID NO:32。在一些实施方案中,PSMA-1共有抗原由SEQ ID NO:5编码,并且包含具有以其C末端连接至SEQ ID NO:32的N末端的SEQ ID NO:6的氨基酸序列的蛋白质。在一些实施方案中,PSMA-1共有抗原由SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250编码,并且包含具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的蛋白质。具有SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250的编码序列在其3'末端具有一个或多个终止密码子。除编码连接至PSMA的IgE信号的核苷酸外,编码PSMA共有抗原序列2的核酸序列SEQ ID NO:7还包含蛋白质和正好在终止密码子之前的额外9个密码子(27个核苷酸),所述9个密码子编码HA标记(SEQ ID NO:32),未显示于SEQ ID NO:8中。SEQ ID NO:7编码SEQ ID NO:8和以其N末端连接至SEQ ID NO:8的C末端的额外9个氨基酸的序列SEQ ID NO:32。在一些实施方案中,PSMA-2共有抗原由SEQ ID NO:7编码并且包括具有以其C末端连接至SEQ ID NO:32的N末端的SEQ ID NO:8的氨基酸序列的蛋白质。在一些实施方案中,PSMA-2共有抗原由SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301编码,并且包含具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的蛋白质。具有SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301的编码序列在其3'末端具有一个或多个终止密码子。

[0101] 分离的核酸分子可编码具有与PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:2)具有98%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的,具有与PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:4)具有98%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275是保守的,具有与PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:6)具有98%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的,具有与PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:8)具有98%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的,具有与STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:10)、与STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:12)或与PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:14)具有98%的同源性的序列的蛋白质。



[0102] 分离的核酸分子可编码具有与PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:2)具有99%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的,具有与PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:4)具有99%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:4的氨基酸21、86、127、129、154、156、182、195、206、218、220、237、249、255、265、271和275是保守的,具有与PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:6)具有99%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的,具有与PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:8)具有99%的同源性的序列的蛋白质,只要SEQ ID NO:8的氨基酸21、31、32、49、64、75、96、128、174、240、337、367、492、516、565、586、630、641、670、677、680、750和751是保守的,具有与STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:10)、与STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:12)或与PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:14)具有99%的同源性的序列的蛋白质。

[0103] 分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质具有与编码PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:1)、PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:3)、PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:5或优选SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250)、PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:7或优选SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301)、STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:9)、STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:11)或PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:13)的序列具有98%的同源性的序列。

[0104] 分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质具有与编码PSA共有抗原序列1(SEQ ID NO:1)、PSA共有抗原序列2(SEQ ID NO:3)、PSMA共有抗原序列1(SEQ ID NO:5或优选SEQ ID NO:5的核苷酸1-2250)、PSMA共有抗原序列2(SEQ ID NO:7或优选SEQ ID NO:7的核苷酸1-2301)、STEAP共有抗原序列1(SEQ ID NO:9)、STEAP共有抗原序列2(SEQ ID NO:11)或PSCA共有抗原序列(SEQ ID NO:13)的序列具有99%的同源性的序列。

[0105] 分离的核酸分子可编码在N末端包含前导序列的蛋白质。在一些实施方案中,核酸分子可编码为SEQ ID NO:16的IgE前导序列。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:10以替代所述权利要求中所示的N末端甲硫氨酸的信号肽(信号肽的编码序列通常包括编码N末端甲硫氨酸的起始密码子)。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码包含连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的信号肽的蛋白质。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至与SEQ ID NO:2具有98%的同源性的蛋白质的信号肽,只要SEQ ID NO:2的氨基酸69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至与SEQ ID NO:6具有98%的同源性的蛋白质的信号肽,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的。在一些实施方案中,分离的核酸序列可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至与SEQ ID NO:10具有98%的同源性的蛋白质的信号肽。在其中提供信号肽的编码序列的情况下,将信号肽连接至肽序列以替代显示的序列中所示的N末端甲硫氨酸(信号肽的编码序列通常包括编码N末端甲硫氨酸的起始密码子)。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至与SEQ ID NO:14的氨基酸19-131具有98%的同源性的蛋白质的信号肽。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:2的免疫原性片段(包含相应于SEQ ID NO:2的至少256个氨基酸残基的氨基酸)的信号肽,只要SEQ ID NO:2的氨基酸

69、78、80、82、102、110、137、139、165、189、203、220、232和248是保守的。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:6的免疫原性片段(包含相应于SEQ ID NO:6的至少735个氨基酸残基的氨基酸)的信号肽,只要SEQ ID NO:6的氨基酸14、15、32、47、58、79、111、157、223、320、350、475、499、569、613、624、653、660、663、733和734是保守的。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至SEQ ID NO:10的免疫原性片段(包含相应于SEQ ID NO:10的至少333个氨基酸残基的氨基酸)的信号肽。在一些实施方案中,分离的核酸分子可编码蛋白质,所述蛋白质包含连接至具有连接至SEQ ID NO:14的氨基酸19-131的免疫原性片段、包含SEQ ID NO:14的至少110个氨基酸残基的信号肽的蛋白质的信号肽。

[0106] 本文中提供了可包含核酸序列的基因构建体,所述核酸序列编码本文中公开的共有前列腺抗原,包括共有蛋白质序列、与共有蛋白质序列具有同源性的序列、共有蛋白质序列的片段和与共有蛋白质序列的片段同源的序列。基因构建体可作为具有功能的染色体外分子存在于细胞中。基因构建体可以是线性微型染色体(minichromosome),包括着丝粒、端粒或质粒或粘粒。

[0107] 基因构建体还可以是重组病毒载体(重组腺病毒、重组腺病毒相关病毒和重组痘苗病毒)的基因组的部分。基因构建体可以是减毒活微生物中的遗传材料的部分或活在细胞中的重组微生物载体。

[0108] 基因构建体可包含用于核酸的编码序列的基因表达的调控元件。调控元件可以是启动子、增强子、起始密码子、终止密码子或多腺苷酸化信号。

[0109] 核酸序列可组成可以是载体的基因构建体。载体可以能够在哺乳动物的细胞中以有效地引发哺乳动物的免疫反应的量表达抗原。载体可以是重组的。载体可包含编码抗原的异源核酸。载体可以是质粒。载体可用于利用编码抗原的核酸转染细胞,培养该转化的宿主细胞,在其中可表达抗原的条件下维持所述细胞。

[0110] 在一些实施方案中,在单个载体上提供单个共有前列腺抗原的编码序列。在一些实施方案中,在单个载体上提供多个共有前列腺抗原的编码序列。在一些实施方案中,提供了在多个载体上包含多个共有前列腺抗原(每载体一个抗原或每载体多个抗原)的编码序列的组合物。

[0111] 在一些实施方案中,可在单个载体上提供两个或更多个不同共有前列腺抗原的编码序列。在一些实施方案中,编码序列可具有分开的控制表达的启动子。在一些实施方案中,编码序列可具有单个控制表达的启动子和分开编码序列的IRES序列。IRES序列的存在导致转录产物的分开翻译。在一些实施方案中,编码序列可具有单个控制表达的启动子和编码分开抗原的编码序列的蛋白水解切割肽序列的编码序列。产生单个翻译产物,该产物随后被识别蛋白酶切割位点的蛋白酶加工,以产生分开的蛋白质分子。使用的蛋白酶切割位点通常被内源地存在于其中表达发生的细胞中的蛋白酶识别。在一些实施方案中,可包括分开的蛋白酶的编码序列以提供加工多蛋白翻译产物所需的蛋白酶的产生。在一些实施方案中,载体包含1、2、3、4、5、6或全部7个共有前列腺抗原的编码序列。

[0112] 在本文中所示的每一个和每一种情况下,可最优化编码序列的稳定性和高表达水平。在一些情况下,选择密码子以减少RNA的二级结构形成(例如因分子内键合而形成的)。

[0113] 载体可包含编码抗原的异源核酸并且还可包含起始密码子,其可位于抗原编码序

列的上游,和终止密码子,其可位于抗原编码序列的下游。起始和终止密码子可与抗原编码序列在读框内。载体还可包含有效地连接至抗原编码序列的启动子。有效地连接至抗原编码序列的启动子可以是来自猿猴病毒40(SV40)的启动子、小鼠乳腺瘤病毒(MMTV)启动子、人免疫缺陷病毒(HIV)启动子例如牛免疫缺陷病毒(BIV)长末端重复(LTR)启动子、莫洛尼病毒启动子、禽类白血病毒(ALV)启动子、巨细胞病毒(CMV)启动子例如CMV早早期启动子、EB病毒(EBV)启动子或劳斯肉瘤病毒(RSV)启动子。启动子还可以是来自人基因例如人肌动蛋白、人肌球蛋白、人血红蛋白、人肌肉肌酸或人金属硫蛋白的启动子。启动子还可以是组织特异性启动子,例如肌肉或皮肤特异性启动子,天然或合成的。此类启动子的实例描述于美国专利申请公布no.US20040175727,将其内容通过引用整体并入本文。

[0114] 载体还可包含多聚腺苷酸化信号,其可在共有前列腺抗原编码序列的下游。多聚腺苷酸化信号可以是SV40多聚腺苷酸化信号、LTR多聚腺苷酸化信号、牛生长激素(bGH)多聚腺苷酸化信号、人生长激素(hGH)多聚腺苷酸化信号或人 $\beta$ -珠蛋白多聚腺苷酸化信号。SV40多聚腺苷酸化信号可以是来自pCEP4载体的多聚腺苷酸化信号(茵维特罗根,圣地亚哥,加利福尼亚州)。

[0115] 载体还可在共有前列腺抗原编码序列的上游包含增强子。增强子可以是DNA表达所必需的。增强子可以是人肌动蛋白、人肌球蛋白、人血红蛋白、人肌肉肌酸或病毒增强子例如来自CMV、HA、RSV或EBV的增强子。在美国专利No.5,593,972、5,962,428和W094/016737(将每一个专利的内容通过引用整体并入本文)中描述了多核苷酸功能增强。

[0116] 载体还可包含哺乳动物复制起点以便在细胞中使载体保持于染色体外并且产生多个载体的拷贝。质粒可以是来自茵维特罗根(圣地亚哥,加利福尼亚州)的pVAX1、pCEP4或pREP4,其可包含EB病毒复制起点和核抗原EBNA-1编码区,其可产生高拷贝游离型复制而不整合。载体的主链可以是pAV0242。载体可以是复制缺陷型腺病毒5型(Ad5)载体。

[0117] 载体还可包含良好地适应于在向其施用了载体的哺乳动物或人细胞中的基因表达的调控序列。共有前列腺抗原编码序列可包含可允许在宿主细胞中更高效地转录编码序列的密码子。

[0118] 载体可以是pSE420(茵维特罗根,圣地亚哥,加利福尼亚州),其可用于在大肠杆菌(E.coli)中产生蛋白质。载体还可以是pYES2(茵维特罗根,圣地亚哥,加利福尼亚州),其可用于在酵母的酿酒酵母株系中产生蛋白质。载体还可以具有MAXBAC™完全杆状病毒表达系统(茵维特罗根,圣地亚哥,加利福尼亚州),其可用于在昆虫细胞中产生蛋白质。载体还可以是pcDNA 1或pcDNA3(茵维特罗根,圣地亚哥,加利福尼亚州),其可用于在哺乳动物细胞例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中产生蛋白质。载体可以通过常规技术和可容易获得的起始材料,包括Sambrook等人,分子克隆和实验室手册,第2版,冷泉港(1989)(将所述手册通过引用整体并入本文),产生蛋白质的表达载体或系统。

[0119] 疫苗可包含本文中显示的前列腺抗原的一种或多种和/或疫苗可包含编码选自该组的共有前列腺抗原的一种或多种的一种或多种核酸序列。疫苗可包含与本文中显示的共有前列腺抗原的一种或多种与具有除本文中描述的共有序列外(包括天然序列)的序列的其它免疫原性前列腺蛋白的组合,和/或疫苗可包含编码选自该组的共有前列腺抗原的一种或多种的一种或多种核酸序列与编码具有除本文中描述的共有序列外的序列的其它前列腺抗原的核酸分子的组合。

[0120] 然而不受科学理论束缚,可用于引发广泛地针对前列腺癌细胞的免疫反应(体液、细胞或两者)的疫苗可包含下列核酸序列的一种或多种,所述核酸序列编码一种或多种蛋白质,所述蛋白质选自:共有PSA抗原1、共有PSA抗原2、共有PSMA抗原1、共有PSMA抗原2、共有STEAP抗原1、共有STEAP抗原2和共有PSCA抗原1。编码序列还可包括本文中提供的包含同源序列、片段以及片段的同源序列的那些编码序列。

[0121] 一些实施方案提供了产生针对前列腺癌细胞的免疫反应的方法,包括给个体施用一种或多种共同包含一种或多种本文中描述的编码序列或组合的组合物。一些实施方案提供了给个体预防性接种前列腺癌疫苗的方法,包括施用一种或多种共同包含一种或多种本文中描述的编码序列或组合的组合物。一些实施方案提供了治疗性接种患有前列腺癌的个体的方法,所述方法包括施用一种或多种共同包含一种或多种本文中描述的编码序列或组合的组合物。

#### [0122] 4. 药物组合物

[0123] 本文中提供了根据本发明的药物组合物,其包含约1纳克至约10mg的DNA。在一些实施方案中,根据本发明的药物组合物包含:1)至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100纳克,或至少1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、205、210、215、220、225、230、235、240、245、250、255、260、265、270、275、280、285、290、295、300、305、310、315、320、325、330、335、340、345、350、355、360、365、370、375、380、385、390、395、400、405、410、415、420、425、430、435、440、445、450、455、460、465、470、475、480、485、490、495、500、605、610、615、620、625、630、635、640、645、650、655、660、665、670、675、680、685、690、695、700、705、710、715、720、725、730、735、740、745、750、755、760、765、770、775、780、785、790、795、800、805、810、815、820、825、830、835、840、845、850、855、860、865、870、875、880、885、890、895、900、905、910、915、920、925、930、935、940、945、950、955、960、965、970、975、980、985、990、995或1000微克,或至少1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10mg或更多;和2)高达并且包括15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100纳克,高达并且包括1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、205、210、215、220、225、230、235、240、245、250、255、260、265、270、275、280、285、290、295、300、305、310、315、320、325、330、335、340、345、350、355、360、365、370、375、380、385、390、395、400、405、410、415、420、425、430、435、440、445、450、455、460、465、470、475、480、485、490、495、500、605、610、615、620、625、630、635、640、645、650、655、660、665、670、675、680、685、690、695、700、705、710、715、720、725、730、735、740、745、750、755、760、765、770、775、780、785、790、795、800、805、810、815、820、825、830、835、840、845、850、855、860、865、870、875、880、885、890、895、900、905、910、915、920、925、930、935、940、945、950、955、960、965、970、975、980、985、990、995或1000微克,或高达并且包括1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10mg。在一些实施方案中,根据本发明的药物组合物包含约5纳克至约10mg的DNA。在一些实施方案中,根据本发明的药物组合物包含约25纳克至约5mg的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约50纳克至约1mg的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约

0.1至约500微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约1至约350微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约5至约250微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约10至约200微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约15至约150微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约20至约100微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约25至约75微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约30至约50微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约35至约40微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约100至约200微克DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约10微克至约100微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约20微克至约80微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约25微克至约60微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约30纳克至约50微克的DNA。在一些实施方案中,药物组合物包含约35纳克至约45微克的DNA。在一些优选实施方案中,药物组合物包含约0.1至约500微克的DNA。在一些优选实施方案中,药物组合物包含约1至约350微克的DNA。在一些优选实施方案中,药物组合物包含约25至约250微克的DNA。在一些优选实施方案中,药物组合物包含约100至约200微克DNA。

[0124] 根据待使用的施用模式配制根据本发明的药物组合物。在其中药物组合物是可注射药物组合物的情况下,它们是无菌、无热原和无颗粒的。优选使用等渗制剂。一般而言,用于等渗性的添加剂可包括氯化钠、葡萄糖、甘露醇、山梨醇和乳糖。在一些情况下,等渗溶液例如磷酸盐缓冲盐溶液是优选的。稳定剂包括明胶和白蛋白。在一些实施方案中,将血管收缩剂添加至制剂中。

[0125] 优选地药物组合物是疫苗,更优选是DNA疫苗。

[0126] 疫苗可以是DNA疫苗。DNA疫苗可包含多种相同或不同的包含一种或多种共有前列腺抗原的核酸编码序列的质粒。DNA疫苗可包含编码一种或多种共有前列腺抗原的一种或多种核酸序列。当DNA疫苗包含超过一种共有前列腺抗原的编码序列时,所有此类序列可存在于单个质粒上,或每一个这样的序列可存在于不同质粒上。

[0127] 在一些实施方案中,疫苗可包含与共有前列腺抗原的一种或多种组合的编码共有前列腺抗原的一种或多种的核酸序列。

[0128] DNA疫苗公开于美国专利No.5,593,972;5,739,118;5,817,637;5,830,876;5,962,428;5,981,505;5,580,859;5,703,055和5,676,594(将所述美国专利通过引用整体并入本文)中。DNA疫苗还可包含抑制其整合进入染色体的元件或试剂。疫苗可以是前列腺抗原的RNA。可将RNA疫苗引入细胞。

[0129] 疫苗可以是包含上述基因构建体或抗原的重组疫苗。疫苗还可包含以一种或多种蛋白质亚单位形式存在的一种或多种共有前列腺抗原,或包含一种或多种共有前列腺抗原的一种或多种减毒病毒颗粒。减毒疫苗可以是减毒的活疫苗、杀死的疫苗和使用重组载体递送编码一种或多种共有前列腺抗原的外来基因的疫苗,以及亚单位和糖蛋白疫苗。减毒活疫苗、使用重组载体递送前列腺抗原的疫苗、亚单位疫苗和糖蛋白疫苗的实例描述于美国专利No.:4,510,245;4,797,368;4,722,848;4,790,987;4,920,209;5,017,487;5,077,044;5,110,587;5,112,749;5,174,993;5,223,424;5,225,336;5,240,703;5,242,829;5,294,441;5,294,548;5,310,668;5,387,744;5,389,368;5,424,065;5,451,499;5,453,364;5,462,734;5,470,734;5,474,935;5,482,713;5,591,439;5,643,579;5,650,309;5,698,202;5,955,088;6,034,298;6,042,836;6,156,319和6,589,529(将所述专利各自通过

引用并入本文)中。

[0130] 提供的疫苗可用于诱导免疫反应,包括治疗性或预防性免疫反应。可产生针对共有前列腺抗原的抗体和/或杀伤T细胞。可分离此类抗体和细胞。

[0131] 疫苗还可包含药学上可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂可以是功能性分子如媒介物、佐剂、载体或稀释剂。药学上可接受的赋形剂可以是转染促进剂,其可包含表面活性剂例如免疫刺激复合物(ISCOMS)、弗氏不完全佐剂、LPS类似物,包括单磷酸脂质A、胞壁酰肽、醌类似物、小囊泡(vesicles)例如角鲨烯和角鲨烯、透明质酸、脂质、脂质体、钙离子、病毒蛋白质、聚阴离子、聚阳离子或纳米颗粒或其它已知的转染促进剂。

[0132] 转染促进剂为聚阴离子、聚阳离子,包括多聚L-谷氨酸(LGS)或脂质。转染促进剂为聚L-谷氨酸盐,更优选聚L-谷氨酸盐以低于6mg/ml的浓度存在于疫苗中。转染促进剂还可包括表面活性剂例如免疫刺激复合物(ISCOMS)、弗氏不完全佐剂、LPS类似物,包括单磷酸脂质A、胞壁酰肽、醌类似物和小囊泡例如角鲨烯和角鲨烯,并且也可将透明质酸与基因构建体一同施用。在一些实施方案中,DNA载体疫苗还可包含转染促进剂例如脂质、脂质体,包括作为DNA-脂质体混合物的卵磷脂脂质体或其它本领域已知的脂质体(参见例如W09324640)、钙离子、病毒蛋白质、聚阴离子、聚阳离子或纳米颗粒或其它已知的转染促进剂。优选,转染促进剂为聚阴离子、聚阳离子,包括聚L谷氨酸盐(LGS)或脂质。疫苗中转染剂的浓度低于4mg/ml、低于2mg/ml、低于1mg/ml、低于0.750mg/ml、低于0.500mg/ml、低于0.250mg/ml、低于0.100mg/ml、低于0.050mg/ml或低于0.010mg/ml。

[0133] 药学上可接受的赋形剂可以是佐剂。佐剂可以是在替代质粒中表达的其它基因,或作为蛋白质与疫苗中的上述质粒一起递送。佐剂可选自: $\alpha$ -干扰素(IFN- $\alpha$ )、 $\beta$ -干扰素(IFN- $\beta$ ), $\gamma$ -干扰素、血小板源性生长因子(PDGF)、TNF $\alpha$ 、TNF $\beta$ 、GM-CSF、表皮生长因子(EGF)、皮肤T细胞趋化因子(CTACK)、上皮胸腺表达趋化因子(TECK)、粘膜相关上皮趋化因子(MEC)、IL-12、IL-15,MHC、CD80、CD86(包括具有缺失的信号序列以及任选地包括来自IgE的信号肽的IL-15)。佐剂可以是IL-12、IL-15、IL-28、CTACK、TECK、血小板源性生长因子(PDGF)、TNF $\alpha$ 、TNF $\beta$ 、GM-CSF、表皮生长因子(EGF)、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IL-18或其组合。

[0134] 可以有用的佐剂的其它基因包括编码如下物质的基因:MCP-1、MIP-1a、MIP-1p、IL-8、RANTES、L-选择蛋白、P-选择蛋白、E-选择蛋白、CD34、GlyCAM-1、MadCAM-1、LFA-1、VLA-1、Mac-1、p150.95、PECAM、ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3、CD2、LFA-3、M-CSF、G-CSF、IL-4、IL-18的突变形式、CD40、CD40L、血管生长因子、成纤维细胞生长因子、IL-7、神经生长因子、血管内皮生长因子、Fas、TNF受体、Flt、Apo-1、p55、WSL-1、DR3、TRAMP、Apo-3、AIR、LARD、NGRF、DR4、DR5、KILLER、TRAIL-R2、TRICK2、DR6、半胱天冬酶ICE、Fos、c-jun、Sp-1、Ap-1、Ap-2、p38、p65Rel、MyD88、IRAK、TRAF6、I $\kappa$ B、失活的NIK、SAP K、SAP-1、JNK、干扰素应答基因、NF $\kappa$ B、Bax、TRAIL、TRAILrec、TRAILrecDRC5、TRAIL-R3、TRAIL-R4、RANK、RANK配体、Ox40、Ox40配体、NKG2D、MICA、MICB、NKG2A、NKG2B、NKG2C、NKG2E、NKG2F、TAP1、TAP2及其功能性片段。

[0135] 疫苗还可包含1994年4月1日提交的美国序列No.021,579(将其通过引用整体并入本文)中描述的基因疫苗促进剂。

[0136] 5. 递送方法

[0137] 本文中提供了用于递送药物制剂,优选疫苗,以提供包含表位的共有抗原的基因构建体和共有前列腺抗原的方法,所述表位使得所述共有前列腺抗原成为可对其诱导针对前列腺癌细胞的免疫反应的特别有效的免疫原。可提供递送疫苗或接种的方法以诱导治疗性和/或预防性免疫反应。疫苗可被递送至个体以调节哺乳动物的免疫系统的活性和增强免疫反应。

[0138] 在将疫苗递送入哺乳动物后,从而将载体递送至所述哺乳动物的细胞,转染的细胞将表达和分泌相应的前列腺共有蛋白质。此类分泌的蛋白质或合成抗原将被免疫系统识别,这将引起免疫反应,所述免疫反应可包括:针对抗原产生的抗体和特异性针对抗原的T细胞免疫反应。在一些实例中,利用本文中论述的疫苗接种的哺乳动物将具有已接触抗原的免疫系统。可将疫苗递送至个体以调节个体的免疫系统的活性,从而增强免疫反应。

[0139] 可以以DNA疫苗的形式递送疫苗,递送DNA疫苗的方法描述于美国专利No. 4,945,050和5,036,006(将所述两个专利通过引用并入本文)中。

[0140] 可给哺乳动物施用疫苗以引发哺乳动物的免疫反应。哺乳动物可以为人、非人灵长类动物、母牛、猪、绵羊、山羊、羚羊、野牛、水牛、牛科动物、鹿、刺猬、象、美洲驼、羊驼、小鼠、大鼠或鸡,优选为人、母牛、猪或鸡。

[0141] a. 联合治疗

[0142] 可将药物组合物,优选疫苗与一种或多种其它前列腺蛋白质或基因组合施用。可将疫苗与蛋白质或编码佐剂的基因组合施用,所述佐剂包括: $\alpha$ -干扰素(IFN- $\alpha$ )、 $\beta$ -干扰素(IFN- $\beta$ )、 $\gamma$ -干扰素、IL-12、IL-15、IL-28、CTACK、TECK、血小板源性生长因子(PDGF)、TNF $\alpha$ 、TNF $\beta$ 、GM-CSF、表皮生长因子(EGF)、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IL-18、MCP-1、MIP-1a、MIP-1p、IL-8、RANTES、L-选择蛋白、P-选择蛋白、E-选择蛋白、CD34、GlyCAM-1、MadCAM-1、LFA-1、VLA-1、Mac-1、p150.95、PECAM、ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3、CD2、LFA-3、M-CSF、G-CSF、IL-4、IL-18的突变形式、CD40、CD40L、血管生长因子、成纤维细胞生长因子、IL-7、神经生长因子、血管内皮生长因子、Fas、TNF受体、Flt、Apo-1、p55、WSL-1、DR3、TRAMP、Apo-3、AIR、LARD、NGRF、DR4、DR5、KILLER、TRAIL-R2、TRICK2、DR6、半胱天冬酶ICE、Fos、c-jun、Sp-1、Ap-1、Ap-2、p38、p65Rel、MyD88、IRAK、TRAF6、I $\kappa$ B、失活的NIK、SAP K、SAP-1、JNK、干扰素应答基因、NF $\kappa$ B、Bax、TRAIL、TRAILrec、TRAILrecDRC5、TRAIL-R3、TRAIL-R4、RANK、RANK配体、Ox40、Ox40配体、NKG2D、MICA、MICB、NKG2A、NKG2B、NKG2C、NKG2E、NKG2F、TAP1或TAP2或其功能性片段。

[0143] b. 施用途径

[0144] 可通过不同途径包括口服、胃肠外、舌下、经皮肤、经直肠、经粘膜、局部、通过吸入、通过颊部施用、胸膜内、静脉内、动脉内、腹膜内、皮下、肌内、鼻内、硬膜内以及关节内或其组合施用疫苗。对于兽医学使用,可按照正常的兽医学操作将组合物作为适当地可接受的制剂施用。兽医可容易地确定最适合于特定动物的给药方案和施用途径。可利用常规注射器、无针注射设备、“微粒轰击基因枪(microprojectile bombardment gone gun)”或其它物理方法例如电穿孔(“EP”)、“水动力学法”或超声施用疫苗。

[0145] 可利用几种公知的技术将疫苗的载体递送至哺乳动物,所述技术包括利用和不利用体内电穿孔的DNA注射(也称为DNA接种)、脂质体介导的、纳米颗粒促进的重组载体例如重组腺病毒、重组腺病毒相关病毒和重组疫苗。前列腺原抗原可通过DNA注射结合体内电穿孔

来递送。

[0146] c.电穿孔

[0147] 可使用电穿孔设备来实现通过疫苗的质粒的电穿孔施用疫苗,所述电穿孔设备可被有构造将有效地引起可逆的孔在细胞膜上形成的能量脉冲递送至哺乳动物的期望的组织,并且在一些实施方案中能量脉冲是与由用户预设的电流输入相似的恒定电流。

[0148] 在其中使用电穿孔的一些实施方案中,电穿孔设备可包括电穿孔组件和电极部件或操作部件(handle assembly)。电穿孔组件可包括和整合电穿孔设备的各种元件中的一个或多个元件,包括:控制器、电流波形发生器、阻抗检测器、波形记录器、输入元件、状态报告元件、通信端口、存储器组件(memory component)、电源和电源开关。电穿孔可使用体内电穿孔设备例如CELLECTRA®EP系统(因诺维制药公司,布鲁贝尔,宾夕法尼亚州)或Elgen电穿孔仪(因诺维制药公司,布鲁贝尔,宾夕法尼亚州)来实现以有利于质粒对细胞的转染。

[0149] 电穿孔组件可用作电穿孔设备的一个元件,并且其它元件是与电穿孔组件连通的独立元件(或组件)。电穿孔组件可用作电穿孔设备的超过一个的元件,其可与电穿孔设备的与电穿孔组件分开的其它元件连通。作为一个电机或机器设备的部件存在的电穿孔设备的元件可以不受限制,因为所述元件可用作一个设备或用作彼此连通的独立元件。电穿孔组件可以能够递送在期望的组织中产生恒定电流并且包括反馈机制的能量脉冲。电极部件可包括在空间排列中具有多个电极的电极阵列,其中电极部件接收来自电穿孔组件的能量脉冲并且将所述能量脉冲通过电极递送至期望的组织。多个电极的至少一个在能量脉冲的递送过程中是中性的并且测量期望组织的阻抗,将阻抗通信至电穿孔组件。反馈机制可接收测量的阻抗并且可调整通过电穿孔组件递送的能量脉冲以维持恒定电流。

[0150] 多个电极可以以分散模式递送能量脉冲。多个电极可通过在编程序列下控制电极来以分散模式递送能量脉冲,并且所述编程序列由用户输入至电穿孔组件。编程序列可包括多个按顺序递送的脉冲,其中利用至少两个有源电极(一个中性电极测量阻抗)递送多个脉冲的每一个脉冲,并且其中利用至少两个有源电极(一个中性电极测量阻抗)中的不同电极递送多个脉冲的后续脉冲。

[0151] 反馈机制可利用硬件或软件来进行。反馈机制可通过模拟闭环电路来进行。反馈每50 $\mu$ s、20 $\mu$ s、10 $\mu$ s或1 $\mu$ s发生一次,但优选是实时反馈或瞬时反馈(即,大体上同时,如通过用于测定反应时间的可获得的技术测定的)。中性电极可测量期望的组织中的阻抗并将阻抗通信至反馈机制,并且反馈机制对阻抗作出反应并且调整能量脉冲以将恒定电流维持在与预设电流相似的值上。反馈机制可在能量脉冲的递送过程中连续和即时地维持恒定电流。

[0152] 可促进本发明的DNA疫苗递送的电穿孔设备和电穿孔方法的实例包括在Draghia-Akli等人的美国专利No.7,245,963、Smith等人提交的美国专利公布2005/0052630(将所述专利和专利公布的内容通过引用整体并入本文)中所述的那些设备和方法。可用于促进DNA疫苗递送的其它电穿孔设备和电穿孔方法包括提供于2007年10月17日提交的共同未决和共同拥有的美国专利申请序列No.11/874072中的那些设备和方法,所述美国专利申请系列根据35 USC 119(e)要求2006年10月17日提交的美国临时申请序列No.60/852,149和2007年10月10日提交的60/978,982的权益,将全部所述美国临时申请序列通过引用整体并入本



文。

[0153] Draghia-Akli等人的美国专利No.7,245,963描述了标准电极系统及其在用于促进生物分子导入体内或植物的选定组织的细胞中的用途。标准电极系统可包含多个针电极;皮下针;提供从可编程恒定电流脉冲控制器向多个针电极的导电性连接的电插头;和电源。操作员可握住固定在承载结构上的多个针电极并牢固地将其插入至体内或植物的选定组织。然后生物分子经由皮下针递送至选定的组织。激活可编程恒定电流脉冲控制器并将恒定电流电脉冲施加至多个针电极。施加的恒定电流电脉冲促进生物分子导入至多个电极之间的细胞。将美国专利No.7,245,963的全部内容通过引用并入本文。

[0154] 由Smith等人提交的美国专利公布2005/0052630描述了可用于有效地促进生物分子导入体内或植物的选定组织的细胞的电穿孔设备。所述电穿孔设备包含由软件或固件规定其操作的电动设备(“EKD设备”)。EKD设备基于使用者控制和脉冲参数的输入在阵列的电极之间产生一系列可编码恒定电流脉冲模式,并允许存储和获得电流波形数据。电穿孔设备还包括具有针电极阵列的可更换的电极盘、注射针用中心注射通道和可移动导向盘。将美国专利公布2005/0052630的全部内容通过引用并入本文。

[0155] 美国专利No.7,245,963和美国专利公布2005/0052630中所述的电极阵列和方法不仅可适用于深穿透至组织例如肌肉,而且可适用于深穿透至其它组织或器官。由于电极阵列的构造,注射针(用于递送所选生物分子)也可被完全插入靶标器官,并在由电极所预描绘的区域,垂直于所述靶组织进行注射。美国专利No.7,245,963和美国专利公布2005/005263中所述的电极优选为20mm长和21规(gauge)。

[0156] 此外,在一些实施方案中包括了并入的电穿孔设备以及其用途,电穿孔设备有下述专利中所述的那些设备:1993年12月28日公布的美国专利5,273,525、2000年8月29日公布的美国专利6,110,161、2001年7月17日公布的6,261,281和2005年10月25日公布的6,958,060以及2005年9月6日公布的美国专利6,939,862。此外,涵盖主题的专利提供于2004年2月24日公布的美国专利6,697,669,其涉及使用多种设备的任一种递送DNA,和2008年2月5日公布的美国专利7,328,064,其描绘了本文包括的注射DNA的方法。将上述专利通过引用整体并入本文。与本文中描述的癌症抗原一起使用的电穿孔装置的另一个实施方案是Elgen EP设备(因诺维制药公司,布鲁贝尔,宾夕法尼亚州)。

[0157] d. 制备疫苗的方法

[0158] 本文中提供了用于制备包含本文中论述的DNA疫苗的DNA质粒的方法。在最终亚克隆入哺乳动物表达质粒的步骤后,可使用本领域已知的方法将DNA质粒用于在大规模发酵罐中接种细胞培养物。

[0159] 可使用已知设备和技术的组合配制或制备与本发明的EP设备一起使用的DNA质粒,但优选使用在2007年5月23日提交的批准的共同未决的美国临时申请美国序列No.60/939,792中描述的最优化质粒制备技术制备它们。在一些实施例中,可以以大于或等于10mg/mL的浓度配制这些研究中使用的DNA质粒。除了美国序列No.60/939,792中描述的设备 and 方案(包括2007年7月3日发布的批准的专利美国专利No.7,238,522中描述的设备 and 方案)外,制备技术还包括或整合对于本领域技术人员来说通常是已知的各种设备和方案。通过将上述申请和专利(分别地美国序列No.60/939,792和美国专利No.7,238,522)通过引用整体并入本文。

## 实施例

[0160] 在下列实施例中进一步对本发明进行了举例说明。应当理解,这些实施例虽然表示本发明的优选实施方案,但仅以举例说明的方式给出。根据上文中的论述和这些实施例,本领域技术人员可确定本发明的基本特征,并且在不背离其精神和范围下,可对本发明进行各种改变和变动以使之适合于各种用法和条件。因此,根据上述说明,除了本文中显示和描述的变动外的本发明的各种变动对于本领域技术人员来说是很显然的。此类变动也意欲落在所附权利要求的范围内。。

[0161] 实施例1

[0162] 根据GenBank数据库中的可获得的全长人和猕猴序列设计PSA和PSMA的共有免疫原,所述数据库先前描述于Laddy,D.J.,Yan,J.,Corbitt,N.,Kobasa,D.,Kobinger,G.P.,Weiner,D.B.(2007).针对禽流感的基于共有序列的新型DNA疫苗的免疫原性.25,2984-2989,和Laddy,D.J.,Yan,J.,Kutzler,M.,Kobasa,D.,Kobinger,G.P.,Khan,A.S.,Greenhouse,J.,Sardesai,N.Y.,Draghia-Akli,R.,Weiner,D.B.(2008).通过合成的共有DNA抗原的体内电穿孔进行的针对病原性人和禽流感病毒的异亚型保护作用.PLoS ONE.3, e2517.中。

[0163] 通过GeneScript(皮斯卡塔韦,新泽西州)合成共有抗原序列。将HA标记包括在抗原序列的C末端。最优化抗原序列在人中的mRNA稳定性和密码子选择。将最终的序列克隆入pVAX1载体(茵维特罗根,卡尔斯巴德,加利福尼亚州)的BamHI与XhoI位点之间。

[0164] 产生共有PSA抗原1(SEQ ID NO:2)。将包含261个氨基酸的该序列与表1中所示的每一个PSA序列相比较。使用的PSA序列包括两个人序列、来自食蟹猴的序列和来自猕猴的序列。表1包括用于与共有PSA抗原1(SEQ ID NO:2)比较的每一个序列的SEQ ID NO:和登录号。

[0165] 表1

<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO:2 的同源性%</u>
17	智人 PSA 同种型 1	NP001639.1	261	91
[0166] 18	智人 PSA	gbAAA60193.1	262	91
19	食蟹猴 KLK3	Q6DT45.1	261	95
20	猕猴 PSA	NP001036241.1 p	261	96

[0167] 产生智人(SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18)、猕猴(SEQ ID NO:20)和食蟹猴(SEQ ID NO:19)PSA序列与共有PSA抗原1(SEQ ID NO:2)的多重序列比对。KLK3(激肽释放酶3)是编码PSA的基因并且以PSA为假名。PSA抗原1与智人全长PSA蛋白质序列具有91%的同源性,与猕猴全长PSA蛋白质序列具有96%的同源性,以及与食蟹猴全长PSA蛋白质序列具有95%的同源性。

[0168] 实施例2

[0169] 产生共有PSA抗原2(SEQ ID NO:4)。将包含包括IgE前导序列的279个氨基酸的该序列与表2中所示的每一个PSA序列相比较。使用的PSA序列包括两个人序列、来自食蟹猴的序列和来自猕猴的序列。表2包括用于与共有PSA抗原2(SEQ ID NO:4)比较的每一个序列的SEQ ID NO:和登录号。

[0170] 表2

[0171]	<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO: 4 的同源性%</u>
	17	智人 PSA 同种型 1	NP001639.1	261	91
[0172]	18	智人 PSA	gbAAA601.93.1	262	90
	19	食蟹猴 KLK3	Q6DT45.1	261	95
	21	猕猴 PSA	AAZ82258.1	244	95

[0173] 产生智人(SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18)、猕猴(SEQ ID NO:21)和食蟹猴(SEQ ID NO:19)PSA序列与共有PSA抗原1(SEQ ID NO:4)的多重序列比对。KLK3(激肽释放酶3)是编码PSA的基因并且以PSA为假名。PSA抗原1与智人全长PSA蛋白序列具有90-91%的同源性,与食蟹猴全长PSA蛋白序列具有95%的同源性,以及与猕猴部分PSA蛋白序列具有95%的同源性。

[0174] 实施例3

[0175] 产生共有PSMA抗原1(SEQ ID NO:6)。将包含750个氨基酸的该序列与表3中所示的每一个PSMA序列相比较。使用的PSMA序列包括两个人序列和来自猕猴的序列。表3包括用于与共有PSMA抗原1(SEQ ID NO:6)比较的每一个序列的SEQ ID NO:和登录号。

[0176] 表3

[0177]	<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO: 6 的同源性%</u>
	22	智人 PSMA GCPII_ 同种型 1	NP_004467.1	750	96
	23	智人 PSMA	AAC83972.1	749	96
	24	猕猴 GCPII 同种型 1	XP_001096.141.2	735	94

[0178] 产生智人和猕猴PSMA序列与PSMA抗原1的多重序列比对。PSMA抗原1共有序列(SEQ ID NO:6)与智人PSMA蛋白序列(SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23)具有96%的同源性,以及与猕猴全长PSMA蛋白序列(SEQ ID NO:24)具有94%的同源性。

## [0179] 实施例4

[0180] 产生共有PSMA抗原2(SEQ ID NO:8)。将包含包括IgE前导序列的767个氨基酸的该序列与表4中所示的每一个PSMA序列相比较。使用的PSMA序列包括两个人序列和来自猕猴的序列。表4包括用于与共有PSMA抗原2(SEQ ID NO:8)比较的每一个序列的SEQ ID NO:和登录号。

## [0181] 表4

<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO: 8 的同源性%</u>
22	智人 PSMA GCPII_同种型 1	NP_004467.1	750	96
[0182] 23	智人 PSMA	AAC83972.1	749	96
24	猕猴 GCPII 同种型 1	XP_001096.141.2	735	94
25	猕猴 GCPII 同种型 2	XP_002799.784.1	704	94

[0183] 产生智人(SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23)和猕猴PSMA序列(SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25)与PSMA抗原2的多重序列比对。PSMA抗原2共有序列(SEQ ID NO:8)与智人PSMA蛋白序列具有96%的同源性以及与猕猴PSMA蛋白序列具有94%的同源性。

## [0184] 实施例5

[0185] 产生共有STEAP抗原1(SEQ ID NO:10)。将包含339个氨基酸的该序列与表5中所示的每一个STEAP序列相比较。使用的STEAP序列包括两个全长人序列、来自猕猴的全长序列和两个更短的人序列。表5包括用于与共有STEAP抗原1(SEQ ID NO:10)比较的每一个序列的SEQ ID NO:和登录号。

## [0186] 表5

<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO: 10 的同源性%</u>
26	智人 STEAP1	NP_036581.1	339	99
27	智人 STEAP1	Gb_EAL24.167.1	339	99
28	猕猴 STEAP1	XP_001103.605.1	339	98
29	智人 STEAP1 CRA b	EAW93751.1	259	94
30	智人 STEAP1 同种型(isoform)	EAW93749.1	258	94

[0188] 产生智人和猕猴STEAP序列与共有STEAP抗原1的多重序列比对。STEAP抗原1共有序列(SEQ ID NO:10)与人全长同种型STEAP1蛋白序列(SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27)具有99%的同源性,与更短的智人同种型STEAP1蛋白序列(SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30)具有94%的同源性,以及与猕猴全长STEAP1蛋白序列(SEQ ID NO:28)具有94%的同源性。

[0189] 实施例6

[0190] 产生共有STEAP抗原2(SEQ ID NO:12)。将包含356个氨基酸的该序列与表6中所示的每一个STEAP序列相比较。使用的STEAP序列包括两个全长人序列、来自猕猴的全长序列和两个更短的人序列。表6包括用于与共有STEAP抗原2(SEQ ID NO:12)比较的每一个序列的SEQ ID NO:和登录号。

[0191] 表6

<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO: 12 的同源性%</u>
26	智人 STEAP1	NP_036581.1	339	94
27	智人 STEAP1	Gb_EAL24.167.1	339	94
28	猕猴 STEAP1	XP_001103.605.1	339	94
29	智人 STEAP1 CRA b	EAW93751.1	259	88
30	智人 STEAP1 同种型	EAW93749.1	258	88

[0193] 产生智人和猕猴STEAP1序列与共有STEAP1抗原2的多重序列比对。STEAP1抗原2共有序列(SEQ ID NO:12)与全长人同种型STEAP1蛋白序列(SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27)

具有94%的同源性,与更短的智人同种型STEAP1蛋白序列(SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30)具有88%的同源性,以及与猕猴全长STEAP1蛋白序列(SEQ ID NO:28)具有94%的同源性。

[0194] 实施例7

[0195] 产生共有PSCA抗原(SEQ ID NO:14)。将包含包括IgE前导序列的131个氨基酸的该序列与表7中所示的每一个PSCA序列相比较。使用的PSCA序列是全长人序列。表7包括用于与共有PSCA抗原(SEQ ID NO:14)比较的序列的SEQ ID NO:和登录号。

[0196] 表7

[0197]	<u>SEQ ID NO</u>	<u>物种和蛋白质</u>	<u>登录号</u>	<u>氨基酸的数目</u>	<u>与 SEQ ID NO: 14 的同源性%</u>
[0198]	31	智人 PSCA	NP_00566 3.2	114	87

[0199] 产生智人PSCA序列(SEQ ID NO:31)与共有PSCA抗原(SEQ ID NO:14)的多重序列比对。PSCA抗原共有序列与全长智人PSCA具有87%的同源性。

[0200] 实施例8

[0201] 进行体外翻译以确认PSA和PSMA抗原的表达。使用TNT®快速偶联转录/翻译系统和35S-甲硫氨酸(普洛麦格)。按照制造商的说明书,将单独的pVAX载体(阴性对照)或与PSA或PSMA抗原插入物和35S-甲硫氨酸一起的pVAX主链添加至反应混合物中。在30°C下进行反应2小时。通过在4°C下,在放射免疫沉淀测定(RIPA)缓冲液中旋转过夜,利用抗-HA亲和凝胶(西格玛,圣路易斯,密苏里州)免疫沉淀标记的蛋白质。将免疫沉淀的蛋白质在SDS-PAGE凝胶上进行电泳,随后固定和干燥所述凝胶。通过放射自显影术检测35S标记的蛋白质的表达。结果示于图1中。

[0202] 实施例9

[0203] 通过干扰素 $\gamma$  ELISpot测定PSA和PSMA抗原的细胞免疫原性。

[0204] 雌性4至6周龄BALB/c小鼠购自杰克逊实验室(巴港,缅因州)。将所有动物关养在宾夕法尼亚大学的温度受控制、周期性光照的设施中。按照美国国立卫生研究院和宾夕法尼亚大学的协会动物护养和用途委员会(Institutional Care and Use Committee)的指导方针进行动物护养。

[0205] 为了进行细胞免疫原性研究,通过肌内注射,随后使用CELLECTRA®适应性恒定电流电穿孔设备(adaptive constant current electroporation device)(因诺维制药公司,布鲁贝尔,宾夕法尼亚州)通过电穿孔将10或20 $\mu$ g的每一种抗原递送至Balb/c小鼠的胫前肌。小鼠(n=5/组)在第0和2周接受2次免疫。通过由26-规固体不锈钢电极组成的三角形3-电极阵列递送两个0.1安培恒定电流方波脉冲。每一个脉冲在长度上为52毫秒,脉冲之间延迟1秒。小鼠接受总共2次免疫(间隔2周施用所述免疫)。在第二次免疫后1周人道地处死小鼠以进行细胞和体液免疫反应的分析。

[0206] 在最后一次免疫后1周(第5周)评估细胞和反应。使用ELISpot分析测定IFN $\gamma$ 的抗原特异性分泌。将小鼠IFN $\gamma$ 捕获抗体(R&D系统,明尼阿波利斯,明尼苏达州)用于涂覆平底Immobilon-P板(密理博,比尔里卡,马萨诸塞州),在4°C下过夜。无菌分离脾细胞,将其重悬浮于R10培养基(补充有10%胎牛血清、1%抗生素-抗霉菌素和0.1%2-巯基乙醇的皇家公园纪

念研究所培养基1640(Rosewell Park Memorial Institute medium1640))。将来自免疫的小鼠的 $2 \times 10^5$ 个脾细胞添加至96孔板的每一个孔,在R10(阴性对照)、伴刀豆球蛋白A(阳性对照)(西格玛,圣路易斯,密苏里州)或抗原特异性肽混合物存在的情况下在 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 中刺激所述细胞,进行过夜。第二天,将小鼠 $\text{IFN } \gamma$ 检测抗体(R&D系统,明尼阿波利斯,明尼苏达州)添加至板中,随后将板在 $4^\circ\text{C}$ 下孵育过夜。第二天,将链酶亲和素-ALP(单克隆抗体技术公司(MabTech),瑞典)添加至板中进行2小时,利用BCIP/NPT底物(单克隆抗体技术公司,瑞典)显现抗原特异性点。PSA和PSMA肽为覆盖共有免疫原的全长的15聚体肽,其不包括HA标记或前导序列,重叠11个氨基酸,并且GenScript(皮斯卡塔韦,新泽西州)合成。对于每一种肽,以 $1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的终浓度使用PSA和PSMA肽。在最后1次免疫后1周,将 $\text{IFN } \gamma$  ELISpot用于评估抗原特异性细胞反应。对于PSA, $\text{IFN } \gamma$ 反应对于 $10 \mu\text{g}$ ( $772.2 \pm 138.2 \text{ SFU}$ )和 $20 \mu\text{g}$ ( $771.1 \pm 155.2 \text{ SFU}$ )疫苗剂量是相似的(图2A)。相反地,对于20微克的疫苗( $1585.0 \pm 194.0 \text{ SFU}$ ),与 $10 \mu\text{g}$ 的疫苗( $1047.2 \pm 160.7 \text{ SFU}$ )相比较在PSMA特异性 $\text{IFN } \gamma$ 反应上存在剂量依赖性增加(图2B)。在初次接受试验的小鼠中对于PSA或PSMA反应观察到最小的本底。

#### [0207] 实施例10

[0208]  $\text{IFN } \gamma$ 、IL-2和 $\text{TNF}\alpha$ 的疫苗诱导的 $\text{CD4}^+$ 和 $\text{CD8}^+$ T细胞产生

[0209] 利用流式细胞术来进一步表征PSA和PSMA疫苗的共递送的细胞免疫原性。测定总的疫苗特异性反应和总的疫苗特异性反应的PSA和PSMA组分的 $\text{IFN } \gamma$ 、IL-2和 $\text{TNF}\alpha$ 的抗原特异性 $\text{CD4}^+$ 和 $\text{CD8}^+$ T细胞产生( $n=5$ )。

[0210] 按照制造商的说明书(BD生物科学,圣地亚哥,加利福尼亚州)使用CytoFix/CytoPerm试剂盒,通过细胞内细胞因子染色和流式细胞术测定细胞免疫反应。利用PBS洗涤从免疫的小鼠收获的脾细胞,随后将其重悬浮于R10培养基中至 $10^7$ 个细胞/ml的终浓度。将细胞于 $100 \mu\text{l}$ 的体积中接种在96孔圆底平板中,添加额外的 $100 \mu\text{l}$ 的R10培养基(阴性对照)、含有抗原特异性肽混合物的培养基或含有豆蔻酸-佛波醇-乙酸酯(PMA, $10 \text{ ng}/\text{ml}$ )和离子霉素( $250 \text{ ng}/\text{ml}$ ;阳性对照)(西格玛,圣路易斯,密苏里州)的培养基,将板在 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 下孵育6小时。所有刺激培养基包含 $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的每一种GolgiPlug和GolgiStop(BD生物科学,圣地亚哥,加利福尼亚州)。在孵育期结束时,将板离心沉淀,利用PBS洗涤2次。随后用活力的紫色染料(LIVE/DEAD紫色活力染料,茵维特罗根,卡尔斯巴德,加利福尼亚州)在 $4^\circ\text{C}$ 下对细胞染色30分钟。在如上用PBS洗涤后,用抗- $\text{CD4}$ PerCPCy5.5和抗- $\text{CD8}$ APC在 $4^\circ\text{C}$ 下对细胞进行外部染色,进行30分钟,随后固定和透化细胞。添加抗- $\text{CD3}$ PE-Cy5、抗-IL-2PE、抗- $\text{IFN } \gamma$  AlexaFluor-700和抗- $\text{TNF}\alpha$ FITC(BD生物科学,圣地亚哥,加利福尼亚州),将其在 $4^\circ\text{C}$ 下再孵育30分钟。利用PBS对细胞进行最后一次洗涤,在1%PFA中固定细胞。

[0211] PSA和PSMA疫苗的共递送诱导强劲的 $\text{IFN } \gamma$ 、IL-2和 $\text{TNF}\alpha$ 的 $\text{CD4}^+$ 分泌。产生PSA特异性(0.21%)和PSMA特异性(0.24%) $\text{IFN } \gamma$ 的 $\text{CD4}^+$ T细胞的百分比对总的疫苗特异性 $\text{CD4}^+$ T细胞 $\text{IFN } \gamma$ 反应(0.44%)作出等同的贡献(图3A)。产生IL-2(1.08%)的PSMA特异性 $\text{CD4}^+$ T细胞构成大部分的总百分比的产生疫苗特异性IL-2(1.40%)的 $\text{CD4}^+$ T细胞(图3B)。 $\text{TNF}\alpha$ 的PSA(0.31%)和PSMA(0.29%)诱导的 $\text{CD4}^+$ T细胞产生的百分比对总的疫苗特异性反应(0.60%)作出等同贡献(图3C)。总体上,除PSMA诱导大部分疫苗特异性 $\text{CD4}^+$ T细胞IL-2产生外, $\text{CD4}^+$ T细胞反应在PSA与PSMA之间取得良好平衡。

[0212] 疫苗诱导 $\text{IFN } \gamma$ 和IL-2的强抗原特异性 $\text{CD8}^+$ T细胞产生和在更低的程度上 $\text{TNF}\alpha$ 的

产生。PSA(0.70%)和PSMA(0.67%)诱导强劲的CD8+T细胞IFN $\gamma$ 产生。事实上,IFN $\gamma$ 的疫苗特异性CD8+T细胞分泌构成1.37%的总CD8+T细胞群体(图4A)。疫苗还诱导强CD8+T细胞IL-2反应(1.54%)。与CD4+T细胞IL-2反应类似,分泌IL-2的PSMA特异性(1.06%)CD8+T细胞的百分比大致为PSA特异性(0.47%)的2倍(图4B)。TNF $\alpha$ 的疫苗特异性CD8+T细胞产生的总百分比(0.11%)响应于疫苗的PSA组分(图4C)。总之,存在高百分比的IFN $\gamma$ 和IL-2的疫苗特异性CD8+T细胞产生。与CD4+T细胞反应类似,IFN $\gamma$ 的产生在PSA与PSMA之间同等地取得平衡,并且IL-2/PSMA特异性反应的量级大于PSA特异性反应的量级。

[0213] 实施例11

[0214] PSA特异性IgG血清转化

[0215] 抗体反应可在肿瘤免疫疗法中起着重要作用。因此,我们随后基于蛋白质靶的可用度检查针对PSA抗原的免疫反应的该参数。

[0216] 为了测定PSA特异性血清抗体滴度,用1 $\mu$ g/孔的于PBS中稀释的重组PSA蛋白(菲茨杰拉德工业,阿克顿,马萨诸塞州)在4 $^{\circ}$ C涂覆96孔Nunc-Immuno MaxiSorp板(Nunc,罗切斯特,纽约州)。用PBS、0.05%Tween20(PBST)洗涤板,在室温下用10%BSA/PBST封闭板,进行1小时,在室温下用来自免疫的或初次接受试验的动物的血清的系列稀释物孵育1小时。随后用PBST洗涤板3次,以1:5,000的PBST中的稀释度添加山羊抗-小鼠IgG(圣克鲁兹,圣克鲁兹,加利福尼亚州)。通过SigmaFAST邻-苯二胺二盐酸盐(OPD;西格玛-奥德里奇,圣路易斯,密苏里州)检测结合的酶,在图5B中显示的Biotek(威努斯基,佛蒙特州)反阅读器上于450nm测定光密度。如先前所述(Frey, A.等人1998),测定终点滴度。简而言之,使用学生t分布计算预测上限。确定预测上限(upper prediction limit)的数学公式表示为标准差乘以基于阴性对照的数目(n=5)和置信水平(95%)的因数。终点滴度报告为高于预测上限的最终稀释度的倒数。

[0217] 除了赋予强劲的细胞介导的免疫外,PSA疫苗还诱导强抗原特异性体液反应。在最后一次免疫后1周,利用ELISA测定从小鼠分离的血清的抗体滴度(n=5)。疫苗诱导为4,427(范围1581-15,811)的平均PSA特异性抗体终点滴度(图5A)。此类反应的寿命同样可以是非常重要的。

[0218] 实施例12

[0219] 可在GenBank上获得的前列腺特异性抗原氨基酸序列包括下列序列:gb\_EAW71923.1\_智人\_klk3\_CRAb;\_001639.1\_智人\_PSA\_同种型1\_前蛋白原;gb\_AAA59995.1\_智人\_PSA\_前体;gb\_AAA60193.1\_智人\_PSA;gb\_EAW71933.1\_智人\_klk3\_CRA\_1;NP\_001025218.1\_智人\_PSA\_同种型3\_前蛋白原;gb\_CAD54617.1\_智人\_PSA;gb\_CAD30844.1\_智人\_PSA;gb\_AAA59996.1\_智人\_PSA\_前体;gb\_AAD14185.1\_智人\_PSA;Q6DT45.1\_食蟹猴\_KLK3;NP\_001036241.1\_猕猴\_PSA\_前体;AAZ82258.1\_猕猴\_PSA;AAZ82255.1\_西部大猩猩(G.gorilla)\_PSA;gi|163838666|ref|NP\_001106216.1|血浆激肽释放酶[猎神狒狒(Papioanubis)];gi|73746696|gb|AAZ82261.1|前列腺特异性抗原[猎神狒狒];i|73746692|gb|AAZ82259.1|前列腺特异性抗原[赤猴];gi|73746694|gb|AAZ82260.1|前列腺特异性抗原[髭长尾猴(Cercopithecus cephus)];gi|73746682|gb|AAZ82254.1|前列腺特异性抗原[倭黑猩猩(Pan paniscus)];gi|73746680|gb|AAZ82253.1|前列腺特异性抗原[黑猩猩(Pan troglodytes)];gi|73746686|gb|AAZ82256.1|前列腺特异性抗原[红毛猩猩



(*Pongo pygmaeus*)]和3746688|gb|AAZ82257.1|前列腺特异性抗原[红颊长臂猿(*Nomascus gabriellae*)]。

[0220] 可在GenBank上获得的PSMA氨基酸序列包括下列序列:NP\_004467.1\_人\_GCPII\_同种型1;人\_PSMA\_AAC83972.1;猕猴\_GCPII\_同种型1XP\_001096141.2和猕猴\_GCPII\_同种型2\_XP\_002799784.1。

[0221] 可在GenBank上获得的STEAP氨基酸序列包括下列序列:NP036581.1\_人\_STEAP1;EAL24167.1\_人\_STEAP1;XP001103605.1\_猕猴\_STEAP1\_同种型3;EAW93751.1\_人\_STEAP1\_CRAb;EAW93749.1\_人\_STEAP1\_CRAa;XP001164838.1\_黑猩猩\_STEAP同种型2;XP002818311.1\_苏门达腊猩猩(*P. abelii*)\_STEAP1;NP001162459.1\_东非狒狒(*P. anubis*)\_STEAP1;NP\_999470.1\_野猪(*S. scrofa*)\_STEAP1和NP\_081675.2\_小家鼠(*M. musculus*)\_STEAP1。

[0222] NP\_005663.2\_人\_PSCA是可在GenBank上获得的PSCA氨基酸序列的登录号。

[0001]

## 序列表

<110> 宾夕法尼亚大学托管会  
 D·B·韦纳  
 严健  
 B·费拉罗  
 N·Y·萨德赛  
 M·P·拉马纳坦

<120> 共有前列腺抗原、编码所述抗原的核酸分子以及包含所述核酸分子的疫苗及其用途

<130> UPVG0036US

<140> US 13/883,978

<141> 2013-05-07

<150> PCT/US11/60592

<151> 2010-11-12

<150> US 61/413,176

<151> 2010-11-12

<150> US 61/417,817

<151> 2010-11-29

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 789

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PSA 抗原 1 核酸共有序列

<400> 1

```

atgtgggtcc  tgggtggtgtt  cctgactctg  agcgtcacat  ggatcgggcg  cgctccactg      60
attctgagcc  gcctggtggg  cgggtgggag  tgcgaaaagc  actcccagcc  atggcaggtg      120
ctggtcgctt  ctaggggccg  agcagtgtgc  ggaggcgtgc  tggtcacccc  tcagtgggtc      180

```

[0002]

```

ctgaccgcag cccattgtat ccgacagaag agcgtgattc tgctggggcg acaccagcca      240
ttetaceccg aggacacagg acaggtgttc caggtctctc acagttttcc ceatectctg      300
tacaacatga gcttgetgaa aaacagatat ctgggacctg gcgacgatag ctcccatgat      360
ctgatgetgc tgaggetgtc cgagccagcc gaactgactg acgetgtgca ggtectggat      420
ctgeccacc aggagcctgc cctgggaacc acatgttatg cttcaggctg ggggagcate      480
gaaccagagg aacatctgac tccaagaaa ctgcagtgcg tggacctgca cctgattagt      540
aacgatgtgt gtgcacaggt ccattcacag aaggtgacaa agttcatgct gtgcgccggc      600
tcttggatgg gggcaagtc aacttgcagc ggggactccg gggggccact ggtgtgtgat      660
ggagtectgc agggcatcac ctcttggggc agtcagcett gtgccctgcc teggagacca      720
agtetgtaca ctaaggtggt ccggtatagg aaatggattc aggacaetat tgeegetaac      780
cctgataa                                     789

```

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 261

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PSA 抗原 1 氨基酸共有序列

&lt;400&gt; 2

```

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

```

[0003]

145		150		155		160
Glu Pro Glu Glu His Leu Thr Pro Lys Lys Leu Gln Cys Val Asp Leu						
		165		170		175
His Leu Ile Ser Asn Asp Val Cys Ala Gln Val His Ser Gln Lys Val						
		180		185		190
Thr Lys Phe Met Leu Cys Ala Gly Ser Trp Met Gly Gly Lys Ser Thr						
		195		200		205
Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asp Gly Val Leu Gln						
		210		215		220
Gly Ile Thr Ser Trp Gly Ser Gln Pro Cys Ala Leu Pro Arg Arg Pro						
225		230		235		240
Ser Leu Tyr Thr Lys Val Val Arg Tyr Arg Lys Trp Ile Gln Asp Thr						
		245		250		255
Ile Ala Ala Asn Pro						
		260				

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 840

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PSA 抗原 2 核酸共有序列

&lt;400&gt; 3

atggactgga catggattet gttcctgggc gccgcccga ctegegtgca ttcttgggtc	60
ctggtgggtgt tcctgactet gagegtcaca tggatcggcg ccgtccact gattctgagc	120
cgcttgggtg ggggtggga gtgcgaaaag cactcccagc catggcaggt gctggctcgt	180
tctaggggcc gagcagtgtg cggagcgtg ctggtccacc ctcagtgggt cctgaccgca	240
gcccattgta tccgacagaa gagegtgatt ctgctggggc gacaccagcc attctacccc	300
gaggacacag gacaggtgtt ccaggtctct cacagfctt cccatctct gtacaacatg	360
agcctgtgta aaaacagata tctgggacct ggcgacgata gctcccata tetgatgtg	420
ctgaggctgt ccgagccagc cgaactgact gacgctgtgc aggtcctgga tctgcccacc	480
caggagcctg ccctgggaac cacatgatat gcttcaggct gggggagcat egaaccagag	540
gaacatctga ctcccagaa actgcagtgc gtggacctgc acctgattag taacgatgtg	600
tgtgcacagg tccattcaca gaaggtgaca aagttcatgc tgtgcgccg cctttggatg	660
ggcggcaagt caacttgcag cggggactcc ggcgggccac tgggtgtgta tggagtctg	720
cagggeatca cctcttgggg cagtcagcct tgtgccctgc cteggagacc aagtctgtac	780
actaaggtg tccgtatag gaaatggatt caggacacta ttgccetaa cccctgataa	840

<210> 4  
 <211> 278  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> PSA 抗原 2 氨基酸共有序列

<400> 4

[0004] Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Trp Val Leu Val Val Phe Leu Thr Leu Ser Val Thr Trp Ile  
 20 25 30  
 Gly Ala Ala Pro Leu Ile Leu Ser Arg Leu Val Gly Gly Trp Glu Cys  
 35 40 45  
 Glu Lys His Ser Gln Pro Trp Gln Val Leu Val Ala Ser Arg Gly Arg  
 50 55 60  
 Ala Val Cys Gly Gly Val Leu Val His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala  
 65 70 75 80  
 Ala His Cys Ile Arg Gln Lys Ser Val Ile Leu Leu Gly Arg His Gln  
 85 90 95  
 Pro Phe Tyr Pro Glu Asp Thr Gly Gln Val Phe Gln Val Ser His Ser  
 100 105 110  
 Phe Pro His Pro Leu Tyr Asn Met Ser Leu Leu Lys Asn Arg Tyr Leu  
 115 120 125  
 Gly Pro Gly Asp Asp Ser Ser His Asp Leu Met Leu Leu Arg Leu Ser  
 130 135 140  
 Glu Pro Ala Glu Leu Thr Asp Ala Val Gln Val Leu Asp Leu Pro Thr  
 145 150 155 160  
 Gln Glu Pro Ala Leu Gly Thr Thr Cys Tyr Ala Ser Gly Trp Gly Ser  
 165 170 175  
 Ile Glu Pro Glu Glu His Leu Thr Pro Lys Lys Leu Gln Cys Val Asp  
 180 185 190  
 Leu His Leu Ile Ser Asn Asp Val Cys Ala Gln Val His Ser Gln Lys  
 195 200 205  
 Val Thr Lys Phe Met Leu Cys Ala Gly Ser Trp Met Gly Gly Lys Ser  
 210 215 220  
 Thr Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asp Gly Val Leu  
 225 230 235 240  
 Gln Gly Ile Thr Ser Trp Gly Ser Gln Pro Cys Ala Leu Pro Arg Arg



[0006]

```

agcccatccc ccgaattcag cggcatgcct aggatctcta agctgggcag tgggaacgat      1560
tttgagggtgt tctttcagcg cctgggaatt gcctctggcc gagctcggta cacaaaaaat      1620
tgggagacta acaagttctc ctettaccca ctgtatcaca gcgtgtacga gacttatgaa      1680
ctggtcgaga aattctacga cccactttt aagtatcate tgaccgtggc acaggtcagg      1740
ggcgggatgg tgttcgaact ggccaatage atcgtcctgc catttgactg tegagattac      1800
gctgtggtec tgcggaagta cgcagacaag atctataaca tctccatgaa gcacccccag      1860
gagatgaagg cctattctgt gagtttegat tccctgtttt ctgccgtcaa aaatttcacc      1920
gaaatcgeta gtaagttttc agagcgcctg caggacctgg ataagtccaa tcccatectg      1980
ctgeggatta tgaacgatea gctgatgttc ctggaaagag cttttatcga ccctctgggc      2040
ctgectgata gaccattcta caggeacgtg atctacgcac ctagtteaca taacaagtac      2100
gceggcgagt ctttcccagg gatctatgac gctctgtttg atattgaate aaaggtggac      2160
cccagcaaag catggggcga ggtcaagaga cagatcagca ttgcagcctt tacagtgcag      2220
gccgcgcgcg aaacctgtc egaagtcgct tacccatagc atgtecccg ttaagcatga      2280
taa

```

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 750

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PSMA 抗原 1 氨基酸共有序列

&lt;400&gt; 6

```

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

```

	Ser	Ile	Ile	Asn	Glu	Asp	Gly	Asn	Glu	Ile	Phe	Asn	Thr	Ser	Leu	Phe
	130						135					140				
	Glu	Pro	Pro	Pro	Pro	Gly	Tyr	Glu	Asn	Val	Ser	Asp	Val	Val	Pro	Pro
	145					150					155				160	
	Phe	Ser	Ala	Phe	Ser	Pro	Gln	Gly	Met	Pro	Glu	Gly	Asp	Leu	Val	Tyr
					165				170					175		
	Val	Asn	Tyr	Ala	Arg	Thr	Glu	Asp	Phe	Phe	Lys	Leu	Glu	Arg	Asp	Met
				180					185					190		
	Lys	Ile	Asn	Cys	Ser	Gly	Lys	Ile	Val	Ile	Ala	Arg	Tyr	Gly	Lys	Val
		195						200					205			
	Phe	Arg	Gly	Asn	Lys	Val	Lys	Asn	Ala	Gln	Leu	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly
	210						215					220				
	Val	Ile	Leu	Tyr	Ser	Asp	Pro	Ala	Asp	Tyr	Phe	Ala	Pro	Gly	Val	Lys
	225					230					235				240	
	Ser	Tyr	Pro	Asp	Gly	Trp	Asn	Leu	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Gln	Arg	Gly
					245					250				255		
	Asn	Ile	Leu	Asn	Leu	Asn	Gly	Ala	Gly	Asp	Pro	Leu	Thr	Pro	Gly	Tyr
			260					265					270			
	Pro	Ala	Asn	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Arg	Arg	Gly	Ile	Ala	Glu	Ala	Val	Gly
			275					280					285			
[0007]	Leu	Pro	Ser	Ile	Pro	Val	His	Pro	Ile	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Gln	Lys
	290						295					300				
	Leu	Leu	Glu	Lys	Met	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Pro	Asp	Ser	Ser	Trp	Lys
	305					310					315				320	
	Gly	Ser	Leu	Lys	Val	Pro	Tyr	Asn	Val	Gly	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Asn
					325					330				335		
	Phe	Ser	Thr	Gln	Lys	Val	Lys	Met	His	Ile	His	Ser	Thr	Ser	Glu	Val
				340					345				350			
	Thr	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Ile	Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Ala	Val	Glu	Pro
		355						360					365			
	Asp	Arg	Tyr	Val	Ile	Leu	Gly	Gly	His	Arg	Asp	Ser	Trp	Val	Phe	Gly
	370						375					380				
	Gly	Ile	Asp	Pro	Gln	Ser	Gly	Ala	Ala	Val	Val	His	Glu	Ile	Val	Arg
	385					390					395				400	
	Ser	Phe	Gly	Thr	Leu	Lys	Lys	Glu	Gly	Trp	Arg	Pro	Arg	Arg	Thr	Ile
					405					410				415		
	Leu	Phe	Ala	Ser	Trp	Asp	Ala	Glu	Glu	Phe	Gly	Leu	Leu	Gly	Ser	Thr
					420				425					430		
	Glu	Trp	Ala	Glu	Glu	Asn	Ser	Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Arg	Gly	Val	Ala
		435						440					445			
	Tyr	Ile	Asn	Ala	Asp	Ser	Ser	Ile	Glu	Gly	Asn	Tyr	Thr	Leu	Arg	Val



450	455	460
Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys Glu		
465	470	475
Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser		
	485	490
Trp Thr Glu Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile		
	500	505
Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu		
	515	520
Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn		
	530	535
Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu		
545	550	555
Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Thr Phe Lys Tyr His Leu Thr Val		
	565	570
Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val		
	580	585
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala		
	595	600
Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Ala		
[0008] 610	615	620
Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr		
625	630	635
Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Leu Asp Lys Ser		
	645	650
Asn Pro Ile Leu Leu Arg Ile Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu		
	660	665
Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg		
	675	680
His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser		
	690	695
Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp		
705	710	715
Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Ser Ile Ala Ala		
	725	730
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala		
	740	745
		750

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 2334

[0009]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PSMA 抗原 2 核酸共有序列

&lt;400&gt; 7

atggactgga	catggattct	gttcctggte	gccgccgcaa	ctcgegtgca	ttectggaac	60
gcaactgcatg	agactgatte	tgetgtcgca	ctgggacgga	gaccccggtg	gctgtgcgct	120
ggagcaactgg	tgctggcccg	cgggggatte	ctgctgggat	tectgtttgg	ctggtttate	180
aaaagctcca	gcgaggctac	caatattacc	cctaagcaca	ataagaaagc	attectggat	240
gaactgaaag	ccgagaacat	caagaaatte	ctgtacaact	tcacaagaat	tccacatctg	300
gctggcactg	agcagaactt	ccagctggca	aacagatcc	agagtcagtg	gaaggaattt	360
gggctggact	cagtggagct	gacccactac	gatgtcctgc	tgtectatcc	aaataagact	420
catcccaact	aatctctat	cattaacgaa	gacggaaatg	agattttcaa	cacctctctg	480
tttgaacccc	ctccaccg	ctatgagaat	gtcagtgacg	tggtccctcc	attctcagcc	540
ttcagccccc	aggggatgcc	tgagggatg	ctgggtgtacg	tcaattatgc	tagaacagaa	600
gacttcttta	agctggagag	ggatatgaaa	atcaactggt	ccggcaagat	cgtgattgcc	660
cggtacggga	aggtgttcag	aggaaataag	gtcaaaaacg	ctcagctggc	cggagctacc	720
ggcgtgatcc	gtacacgcga	ccccgctgat	tatthttgcac	ctggcgtgaa	gtcctatcca	780
gacggatgga	atctgcccg	cgggggagtg	cagaggggaa	acatectgaa	cctgaatgga	840
gccggcgatc	ctctgactcc	aggatacccc	gccaacgaat	acgcttatcg	ccggggaatt	900
gcagaggccg	tgggctgcc	tageatcccc	gtccatecca	ttggetatta	cgatgcccag	960
aagctgctgg	agaaaatggg	egggagegct	ccccctgact	ctagttggaa	gggctccctg	1020
aaagtgcctt	acaatgtcgg	gccaggatte	aetgggaact	tttctaceca	gaagtgaaa	1080
atgcacatcc	atagtaccag	cgaggtgaca	egaatctaca	acgtcattgg	cacctgaga	1140
ggcgcctgg	agcctgatcg	ctatgtcatt	ctgggaggcc	acagagactc	atgggtgttc	1200
gggggaatcg	atccacagag	cggagcagct	gtggtccatg	aaattgtgeg	cagctttggg	1260
acctgaaga	aagagggatg	gcgaccag	cgcaaatcc	tgttcgcac	ctgggacgcc	1320
gaggaatttg	ggctgctggg	cagcacagaa	tgggccgagg	aaaattctcg	cctgctgcag	1380
gagcgagggg	tggcttacat	caatgcagac	tcaagcattg	aaggaaacta	tacctgcgg	1440
gtggattgca	cacctgat	gtacagtctg	gtctataacc	tgacaaagga	gctgaaatca	1500
cctgaecagg	gcttccaagg	gaaaagcctg	tacgaatect	ggactgagaa	gagccatcc	1560
cccgaattca	gcggcatgcc	taggatctct	aagctgggca	gtgggaacga	ttttgaggtg	1620
ttctttcagc	gcctgggaat	tgctctggc	cgagctcggg	acacaaaaaa	ttgggagact	1680
aacaagttct	cctcttacc	actgtatcac	agcgtgtacg	agacttatga	actggtcgag	1740
aaattctacg	accccacttt	taagtatcat	ctgaccgtgg	cacaggtcag	ggcggggatg	1800
gtgttcgaac	tggccaatag	catcgtcctg	ccatttgact	gtcgagatta	cgctgtggtc	1860
ctgcggaagt	acgcagacaa	gatctataac	atctccatga	agcaccceca	ggagatgaag	1920
gcctattctg	tgagtttoga	tteectgttt	tctgcegtca	aaaatttca	cgaatctgct	1980
agtaagtttt	cagagcgct	gcaggacctg	gataagtcca	atccatctct	gctgcggatt	2040

[0010]

```

atgaacgatac agctgatggtt cctggaaaga gcctttatcg accctctggg cctgcctgat 2100
agaccattct acaggcacgt gatctacgca cctagttcac ataacaagta cgccggcgag 2160
tctttcccag ggatctatga cgctctgttt gatattgaat caaagtgga ccccagcaaa 2220
gcatggggcg aggtcaagag acagatcage attgcagcct ttacagtgca ggccgcccgc 2280
gaaacctgt ccgaagtcgc ttaccatac gatgtcccg attacgatg ataa 2334

```

<210> 8  
 <211> 767  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> PSMA 抗原 2 氨基酸共有序列

<400> 8  
 Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Trp Asn Ala Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Leu Gly  
 20 25 30  
 Arg Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly  
 35 40 45  
 Gly Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Ser  
 50 55 60  
 Glu Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Lys Lys Ala Phe Leu Asp  
 65 70 75 80  
 Glu Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Arg  
 85 90 95  
 Ile Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln  
 100 105 110  
 Ile Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Thr  
 115 120 125  
 His Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr  
 130 135 140  
 Ile Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu  
 145 150 155 160  
 Phe Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Val Val Pro  
 165 170 175  
 Pro Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val  
 180 185 190  
 Tyr Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp





## [0013]

```

atggagagcc gcaaggacat cacaaateag gaagagctgt ggaagatgaa accacggaga      60
aacctggagg aagacgatta cctgcacaag gacaccggcg aaacaagtat gctgaaaaga      120
ccagtgctgc tgcacctgca teagactgct catgcagacg agtttgattg cccctctgaa      180
ctgcageaca cccaggagct gtcccacag tggcatctgc ccatcaagat tgecctatc      240
attgetteac tgacatttet gtatactctg ctgagagaag tgatccacce tetggccacc      300
agccatcagc agtaetteta taagatccct attctggtea teaacaaggt cctgccaatg      360
gtgagcatca cactgctggc cctggcttac ctgcctggcg tgategcagc cattgtccag      420
ctgcacaacg gaacaaagta caagaagttc ccacattggc tggataagtg gatgetgact      480
aggaaacagt tcgggctgct gtecttcttt ttgcctgctg tgcacgctat ctacagcctg      540
tcctatecca tgaggcgtc ttaccgatat aagctgctga actgggctta ccagcaggtg      600
cagcagaaca aggaggacgc atggattgaa cacgatgtgt ggcggatgga aatctatgtg      660
tctctgggca ttgtcgggct ggccatcctg gctctgctgg cagtgaccag tatccctct      720
gtcagtgaact cactgacatg gcgcgagttt cactacattc agagcaagct gggaatcgtg      780
tcctetgetg tgggcaccat ccatgcactg atttttgcct ggaataagtg gatcgatata      840
aagcagttcg tgtggtatac tccccctacc tttatgattg ccgtcttctt gcccacgtg      900
gtcctgattt ttaagtccat cctgttctct ccttgtctgc gaaagaaaat cctgaaaatc      960
cgacatgggt gggaagacgt gacaaaaatc aataagaccg aaatctcaag ccagctgtga     1020
taa                                                                                   1023

```

<210> 10

<211> 339

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> STEAP 抗原 I 氨基酸共有序列

<400> 10

```

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

```

Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu  
                   100                                  105                                  110  
 Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu  
                   115                                  120                                  125  
 Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly  
                   130                                  135                                  140  
 Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr  
                   145                                  150                                  155                                  160  
 Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala  
                                   165                                  170                                  175  
 Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu  
                                   180                                  185                                  190  
 Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp  
                   195                                  200                                  205  
 Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile  
                   210                                  215                                  220  
 Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser  
                   225                                  230                                  235                                  240  
 Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys  
                                   245                                  250                                  255  
 [0014] Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe  
                                   260                                  265                                  270  
 Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro  
                   275                                  280                                  285  
 Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe  
                   290                                  295                                  300  
 Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile  
                   305                                  310                                  315                                  320  
 Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Ser  
                                   325                                  330                                  335  
 Ser Gln Leu

<210> 11

<211> 1074

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> STEAP 抗原 2 核酸共有序列

[0015]

&lt;400&gt; 11

```

atggactgga catggattct gtttctggtc gctgccgcaa cccgcgtgca ttcagagagc      60
cgcaaggaca tcacaaatea ggaagagctg tggaagatga aaccacggag aaacctggag      120
gaagacgatt acctgcacaa ggacaccggc gaaacaagta tgetgaaaag accagtgtctg      180
ctgcacctgc atcagactgc teatgcagac gagtttgatt gccctctga actgcagcac      240
accaggagc tgttcccaca gtggcatctg cccatcaaga ttgeegetat cattgettca      300
ctgacatttc igtatactct gctgagagaa gtgatccacc ctctggccac cagccatcag      360
cagtacttct ataagatccc tattctggtc atcaacaagg tcttgccaat ggtgagcate      420
aactgtctgg ccctggtcta cctgcctggc gtgatcgcag ccattgtcca gctgcacaac      480
ggaacaaagt acaagaagtt cccacattgg ctggataagt ggatgctgac taggaaacag      540
ttcgggctgc tgtccttctt ttctgccgtg ctgcacgcta tctacagcct gtccatccc      600
atgaggeget cttaccgata taagctgctg aactgggctt accagcaggt gcagcagaac      660
aaggaggacg catggattga acacgatgtg tggcggatgg aaatctatgt gtctctgggc      720
attgtcgggc tggccatcct ggctctgctg gcagtgacca gtatcccttc tgtcagtgac      780
tactgacat ggcgcgagtt teactacatt cagagcaage tgggaatcgt gtccctgtctg      840
ctgggcacca tccatgcact gatTTTTTgce tggaaataagt ggatcgatat caagcagttc      900
gtgtggtata ctccccctac ctttatgatt gccgtcttcc tgeccatcgt ggtcctgatt      960
tttaagteca tctgttctct gccttgtctg cgaaagaaaa tctgaaaat ccgacatggg      1020
tggaagacg tgacaaaaat caataagacc gaaatctcaa gccagctgtg ataa      1074

```

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 356

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; STEAP 抗原 2 氨基酸共有序列

&lt;400&gt; 12

```

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

```



Thr Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala  
 85 90 95  
 Ile Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile  
 100 105 110  
 His Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile  
 115 120 125  
 Leu Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala  
 130 135 140  
 Leu Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn  
 145 150 155 160  
 Gly Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu  
 165 170 175  
 Thr Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His  
 180 185 190  
 Ala Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala  
 210 215 220  
 Trp Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly  
 225 230 235 240  
 [0016] Ile Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro  
 245 250 255  
 Ser Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser  
 260 265 270  
 Lys Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile  
 275 280 285  
 Phe Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr  
 290 295 300  
 Pro Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile  
 305 310 315 320  
 Phe Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys  
 325 330 335  
 Ile Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile  
 340 345 350  
 Ser Ser Gln Leu  
 355

<210> 13

<211> 399

<212> DNA

[0017]

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PSCA 抗原核酸共有序列

&lt;400&gt; 13

atggactgga	catggattct	gtttctggtc	gccgccgcaa	cccgegtgca	ttctgctggc	60
ctggcaactgc	agcctggaac	cgccctgctg	tgctactctt	gtaaggccca	ggtgagtaac	120
gaggactgcc	tgcagtcga	aaattgtact	cagctgggag	agcagtgtct	gaccgcacgg	180
atcagagcag	tgggactgct	gacagtcatt	agcaaagggt	gctccctgaa	ctgtgtggac	240
gatagccagg	attactatgt	cggaaagaaa	aacateacct	gctgtgacac	agatctgtgt	300
aatgcttctg	gcgcccacgc	tctgcagccc	gcagccgcta	ttctggctct	gctgcccgtc	360
ctgggactgc	tgctgtgggg	accggacag	ctgtgataa			399

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 131

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PSCA 抗原氨基酸共有序列

&lt;400&gt; 14

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

[0018]

130

<210> 15  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> IgE 前导序列核酸序列

<400> 15  
 atggactgga catggattet gtttctggtc gctgccgcaa cccgcgtgca ttea 54

<210> 16  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> IgE 前导序列氨基酸序列

<400> 16  
 Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val  
 1 5 10 15  
 His Ser

<210> 17  
 <211> 261  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 17  
 Met Trp Val Pro Val Val Phe Leu Thr Leu Ser Val Thr Trp Ile Gly  
 1 5 10 15  
 Ala Ala Pro Leu Ile Leu Ser Arg Ile Val Gly Gly Trp Glu Cys Glu  
 20 25 30  
 Lys His Ser Gln Pro Trp Gln Val Leu Val Ala Ser Arg Gly Arg Ala



Lys His Ser Gln Pro Trp Gln Val Leu Val Ala Ser Arg Gly Arg Ala  
 35 40 45  
 Val Cys Gly Gly Val Leu Val His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala  
 50 55 60  
 His Cys Ile Arg Lys Cys Lys Ser Val Ile Leu Leu Gly Arg His Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Phe His Pro Glu Asp Thr Gly Gln Val Phe Gln Val Ser His Ser  
 85 90 95  
 Phe Pro His Pro Leu Tyr Asp Met Ser Leu Leu Lys Asn Arg Phe Leu  
 100 105 110  
 Arg Pro Gly Asp Asp Ser Ser His Asp Leu Met Leu Leu Arg Leu Ser  
 115 120 125  
 Glu Pro Ala Glu Leu Thr Asp Ala Val Lys Val Met Asp Leu Pro Thr  
 130 135 140  
 Gln Glu Pro Ala Leu Gly Thr Thr Cys Tyr Ala Ser Gly Trp Gly Ser  
 145 150 155 160  
 Ile Glu Pro Glu Glu Phe Leu Thr Pro Lys Lys Leu Gln Cys Val Asp  
 165 170 175  
 Leu His Val Ile Ser Asn Asp Val Cys Ala Gln Val His Pro Gln Lys  
 180 185 190  
 [0020] Val Thr Lys Phe Met Leu Cys Ala Gly Arg Trp Thr Gly Gly Lys Ser  
 195 200 205  
 Thr Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Gly Val Leu  
 210 215 220  
 Gln Gly Ile Thr Ser Trp Gly Ser Glu Pro Cys Ala Leu Pro Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Pro Ser Leu Tyr Thr Lys Val Val His Tyr Arg Lys Trp Ile Lys Asp  
 245 250 255  
 Thr Ile Val Ala Asn Pro  
 260

<210> 19

<211> 261

<212> PRT

<213> 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)

<400> 19

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





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

[0023]

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 750

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人 (Homo sapiens)

&lt;400&gt; 22

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg			
1	5	10	15



Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe  
 20 25 30  
 Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu  
 35 40 45  
 Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu  
 50 55 60  
 Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile  
 65 70 75 80  
 Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile  
 85 90 95  
 Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His  
 100 105 110  
 Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile  
 115 120 125  
 Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe  
 130 135 140  
 Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro  
 145 150 155 160  
 Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr  
 165 170 175  
 [0024] Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met  
 180 185 190  
 Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val  
 195 200 205  
 Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly  
 210 215 220  
 Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys  
 225 230 235 240  
 Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly  
 245 250 255  
 Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr  
 260 265 270  
 Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly  
 275 280 285  
 Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys  
 290 295 300  
 Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg  
 305 310 315 320  
 Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn  
 325 330 335  
 Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val

		340						345						350					
	Thr	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Ile	Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Ala	Val	Glu	Pro			
			355					360						365					
	Asp	Arg	Tyr	Val	Ile	Leu	Gly	Gly	His	Arg	Asp	Ser	Trp	Val	Phe	Gly			
			370					375						380					
	Gly	Ile	Asp	Pro	Gln	Ser	Gly	Ala	Ala	Val	Val	His	Glu	Ile	Val	Arg			
	385						390					395				400			
	Ser	Phe	Gly	Thr	Leu	Lys	Lys	Glu	Gly	Trp	Arg	Pro	Arg	Arg	Thr	Ile			
					405					410					415				
	Leu	Phe	Ala	Ser	Trp	Asp	Ala	Glu	Glu	Phe	Gly	Leu	Leu	Gly	Ser	Thr			
					420					425					430				
	Glu	Trp	Ala	Glu	Glu	Asn	Ser	Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Arg	Gly	Val	Ala			
			435					440						445					
	Tyr	Ile	Asn	Ala	Asp	Ser	Ser	Ile	Glu	Gly	Asn	Tyr	Thr	Leu	Arg	Val			
	450							455						460					
	Asp	Cys	Thr	Pro	Leu	Met	Tyr	Ser	Leu	Val	His	Asn	Leu	Thr	Lys	Glu			
	465						470					475				480			
	Leu	Lys	Ser	Pro	Asp	Glu	Gly	Phe	Glu	Gly	Lys	Ser	Leu	Tyr	Glu	Ser			
					485						490				495				
	Trp	Thr	Lys	Lys	Ser	Pro	Ser	Pro	Glu	Phe	Ser	Gly	Met	Pro	Arg	Ile			
[0025]					500				505					510					
	Ser	Lys	Leu	Gly	Ser	Gly	Asn	Asp	Phe	Glu	Val	Phe	Phe	Gln	Arg	Leu			
			515					520						525					
	Gly	Ile	Ala	Ser	Gly	Arg	Ala	Arg	Tyr	Thr	Lys	Asn	Trp	Glu	Thr	Asn			
	530						535							540					
	Lys	Phe	Ser	Gly	Tyr	Pro	Leu	Tyr	His	Ser	Val	Tyr	Glu	Thr	Tyr	Glu			
	545					550						555				560			
	Leu	Val	Glu	Lys	Phe	Tyr	Asp	Pro	Met	Phe	Lys	Tyr	His	Leu	Thr	Val			
					565						570				575				
	Ala	Gln	Val	Arg	Gly	Gly	Met	Val	Phe	Glu	Leu	Ala	Asn	Ser	Ile	Val			
					580					585					590				
	Leu	Pro	Phe	Asp	Cys	Arg	Asp	Tyr	Ala	Val	Val	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala			
			595					600						605					
	Asp	Lys	Ile	Tyr	Ser	Ile	Ser	Met	Lys	His	Pro	Gln	Glu	Met	Lys	Thr			
	610							615						620					
	Tyr	Ser	Val	Ser	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Ser	Ala	Val	Lys	Asn	Phe	Thr			
	625					630					635				640				
	Glu	Ile	Ala	Ser	Lys	Phe	Ser	Glu	Arg	Leu	Gln	Asp	Phe	Asp	Lys	Ser			
					645						650				655				
	Asn	Pro	Ile	Val	Leu	Arg	Met	Met	Asn	Asp	Gln	Leu	Met	Phe	Leu	Glu			
					660						665				670				

Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg  
 675 680 685  
 His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser  
 690 695 700  
 Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp  
 705 710 715 720  
 Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala  
 725 730 735  
 Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala  
 740 745 750

<210> 23

<211> 749

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 23

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg  
 1 5 10 15  
 [0026] Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe  
 20 25 30  
 Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu  
 35 40 45  
 Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu  
 50 55 60  
 Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu His Asn Phe Thr Gln Ile  
 65 70 75 80  
 Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile  
 85 90 95  
 Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His  
 100 105 110  
 Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile  
 115 120 125  
 Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe  
 130 135 140  
 Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro  
 145 150 155 160  
 Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr  
 165 170 175  
 Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met

	180		185		190
	Lys Ile Asn Cys Ser Gly	Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val			
	195	200	205		
	Phe Arg Gly Asn Lys Val	Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly			
	210	215	220		
	Val Ile Leu Tyr Ser Asp	Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys			
	225	230	235	240	
	Ser Tyr Pro Asp Gly Trp	Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly			
	245	250	255		
	Asn Ile Leu Asn Leu Asn	Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr			
	260	265	270		
	Pro Ala Asn Glu Tyr Ala	Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly			
	275	280	285		
	Leu Pro Ser Ile Pro Val	His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys			
	290	295	300		
	Leu Leu Glu Lys Met Gly	Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg			
	305	310	315	320	
	Gly Ser Leu Lys Val Pro	Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn			
	325	330	335		
	Phe Ser Thr Gln Lys Val	Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val			
[0027]	340	345	350		
	Thr Arg Ile Tyr Asn Val	Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro			
	355	360	365		
	Asp Arg Tyr Val Ile Leu	Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly			
	370	375	380		
	Gly Ile Asp Pro Gln Ser	Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg			
	385	390	395	400	
	Ser Phe Gly Thr Leu Lys	Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile			
	405	410	415		
	Leu Phe Ala Ser Trp Asp	Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr			
	420	425	430		
	Glu Trp Ala Glu Glu Asn	Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala			
	435	440	445		
	Tyr Ile Asn Ala Asp Ser	Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val			
	450	455	460		
	Asp Cys Thr Pro Leu Met	Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu			
	465	470	475	480	
	Leu Lys Ser Pro Asp Glu	Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser			
	485	490	495		
	Trp Thr Lys Lys Ser Pro	Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile			
	500	505	510		

Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu  
 515 520 525  
 Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn  
 530 535 540  
 Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu Leu  
 545 550 555 560  
 Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val Ala  
 565 570 575  
 Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val Leu  
 580 585 590  
 Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala Asp  
 595 600 605  
 Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr Tyr  
 610 615 620  
 Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr Glu  
 625 630 635 640  
 Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser Asn  
 645 650 655  
 Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu Arg  
 660 665 670  
 [0028] Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg His  
 675 680 685  
 Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser Phe  
 690 695 700  
 Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp Pro  
 705 710 715 720  
 Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala Phe  
 725 730 735  
 Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala  
 740 745

<210> 24

<211> 735

<212> PRT

<213> 猕猴 (Macaca mulatta)

<400> 24

Met Ile Ala Gly Ser Ser Tyr Pro Leu Leu Leu Ala Ala Tyr Ala Cys  
 1 5 10 15  
 Thr Gly Cys Leu Ala Glu Arg Leu Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Ser



Pro Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe  
 355 360 365  
 Gly Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val  
 370 375 380  
 Arg Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr  
 385 390 395 400  
 Ile Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser  
 405 410 415  
 Thr Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val  
 420 425 430  
 Ala Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg  
 435 440 445  
 Val Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys  
 450 455 460  
 Glu Leu Glu Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu  
 465 470 475 480  
 Ser Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg  
 485 490 495  
 Ile Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg  
 500 505 510  
 [0030] Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr  
 515 520 525  
 Asn Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr  
 530 535 540  
 Glu Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr  
 545 550 555 560  
 Val Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Val  
 565 570 575  
 Val Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr  
 580 585 590  
 Ala Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys  
 595 600 605  
 Thr Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe  
 610 615 620  
 Thr Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Arg Asp Phe Asp Lys  
 625 630 635 640  
 Ser Asn Pro Ile Leu Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu  
 645 650 655  
 Glu Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr  
 660 665 670  
 Arg His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu





Gly Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val  
 210 215 220  
 Lys Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg  
 225 230 235 240  
 Gly Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly  
 245 250 255  
 Tyr Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Met Ala Glu Ala Val  
 260 265 270  
 Gly Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln  
 275 280 285  
 Lys Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Ser Pro Asp Ser Ser Trp  
 290 295 300  
 Arg Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly  
 305 310 315 320  
 Asn Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Ser Glu  
 325 330 335  
 Val Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu  
 340 345 350  
 Pro Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe  
 355 360 365  
 [0032] Gly Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val  
 370 375 380  
 Arg Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr  
 385 390 395 400  
 Ile Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser  
 405 410 415  
 Thr Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val  
 420 425 430  
 Ala Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg  
 435 440 445  
 Val Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys  
 450 455 460  
 Glu Leu Glu Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu  
 465 470 475 480  
 Ser Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg  
 485 490 495  
 Ile Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg  
 500 505 510  
 Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr  
 515 520 525  
 Asn Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr



Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu  
                   100                                  105                                  110  
 Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu  
                   115                                  120                                  125  
 Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly  
                   130                                  135                                  140  
 Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr  
                   145                                  150                                  155                                  160  
 Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala  
                                   165                                  170                                  175  
 Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu  
                                   180                                  185                                  190  
 Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp  
                   195                                  200                                  205  
 Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile  
                   210                                  215                                  220  
 Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser  
                   225                                  230                                  235                                  240  
 Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys  
                                   245                                  250                                  255  
 [0034] Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe  
                                   260                                  265                                  270  
 Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro  
                   275                                  280                                  285  
 Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe  
                   290                                  295                                  300  
 Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile  
                   305                                  310                                  315                                  320  
 Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys  
                                   325                                  330                                  335  
 Ser Gln Leu

<210> 27

<211> 339

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 27

Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Leu Trp Lys Met

1	5	10	15
Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr			
	20	25	30
Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu Gln Gln			
	35	40	45
Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr			
	50	55	60
Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Ile			
65	70	75	80
Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His			
	85	90	95
Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu			
	100	105	110
Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu			
	115	120	125
Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly			
	130	135	140
Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr			
145	150	155	160
Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala			
	165	170	175
Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu			
	180	185	190
Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp			
	195	200	205
Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile			
	210	215	220
Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser			
225	230	235	240
Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys			
	245	250	255
Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe			
	260	265	270
Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro			
	275	280	285
Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe			
	290	295	300
Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile			
305	310	315	320
Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys			
	325	330	335

[0035]

Ser Gln Leu

<210> 28

<211> 339

<212> PRT

<213> 猕猴 (Macaca mulatta)

<400> 28

Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Glu Glu Glu Leu Trp Lys Met  
1 5 10 15

Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr  
20 25 30

Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu His Gln  
35 40 45

Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr  
50 55 60

Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Ile  
65 70 75 80

[0036] Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His  
85 90 95

Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu  
100 105 110

Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu  
115 120 125

Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly  
130 135 140

Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr  
145 150 155 160

Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala  
165 170 175

Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu  
180 185 190

Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp  
195 200 205

Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile  
210 215 220

Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser  
225 230 235 240

Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys

	245		250		255
Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Ala Thr Ile His Ala Leu Ile Phe					
	260		265		270
Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro					
	275		280		285
Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Val Val Val Leu Ile Phe					
	290		295		300
Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile					
305		310		315	320
Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Met Glu Ile Ser					
	325		330		335
Ser Gln Leu					

<210> 29  
 <211> 259  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

[0037] <400> 29

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

Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Leu Phe Phe Ala Val Leu His Ala  
 165 170 175  
 Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Ala Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu  
 180 185 190  
 Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp  
 195 200 205  
 Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile  
 210 215 220  
 Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser  
 225 230 235 240  
 Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Arg Leu  
 245 250 255  
 Leu Gln Glu

<210> 30  
 <211> 258  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

[0038]

<400> 30  
 Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Ile Trp Lys Met  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Asp Asn Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr  
 20 25 30  
 Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu Gln Gln  
 35 40 45  
 Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Ala  
 50 55 60  
 Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Val  
 65 70 75 80  
 Met Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His  
 85 90 95  
 Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu  
 100 105 110  
 Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu  
 115 120 125  
 Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Val His Asn Gly  
 130 135 140  
 Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr

145	150	155	160
Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Leu Phe Phe Ala Val Leu His Ala			
	165	170	175
Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Ala Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu			
	180	185	190
Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp			
	195	200	205
Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile			
	210	215	220
Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser			
225	230	235	240
Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Val Asn			
	245	250	255
Asn Ile			

[0039]

<210> 31  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 31  
 Met Ala Gly Leu Ala Leu Gln Pro Gly Thr Ala Leu Leu Cys Tyr Ser  
 1 5 10 15  
 Cys Lys Ala Gln Val Ser Asn Glu Asp Cys Leu Gln Val Glu Asn Cys  
 20 25 30  
 Thr Gln Leu Gly Glu Gln Cys Trp Thr Ala Arg Ile Arg Ala Val Gly  
 35 40 45  
 Leu Leu Thr Val Ile Ser Lys Gly Cys Ser Leu Asn Cys Val Asp Asp  
 50 55 60  
 Ser Gln Asp Tyr Tyr Val Gly Lys Lys Asn Ile Thr Cys Cys Asp Thr  
 65 70 75 80  
 Asp Leu Cys Asn Ala Ser Gly Ala His Ala Leu Gln Pro Ala Ala Ala  
 85 90 95  
 Ile Leu Ala Leu Leu Pro Ala Leu Gly Leu Leu Leu Trp Gly Pro Gly  
 100 105 110  
 Gln Leu





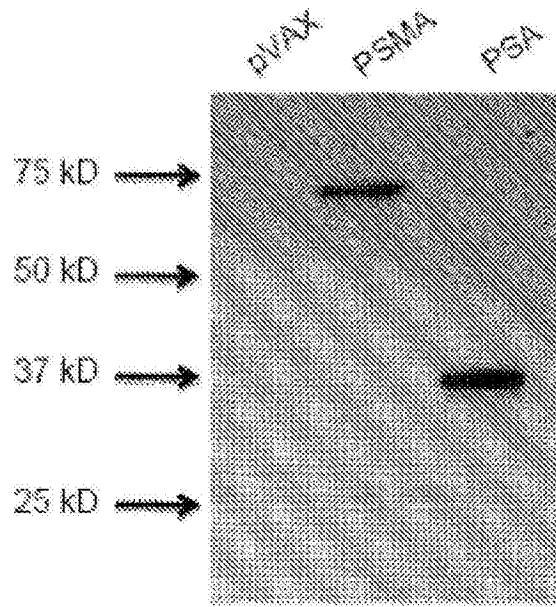


图1

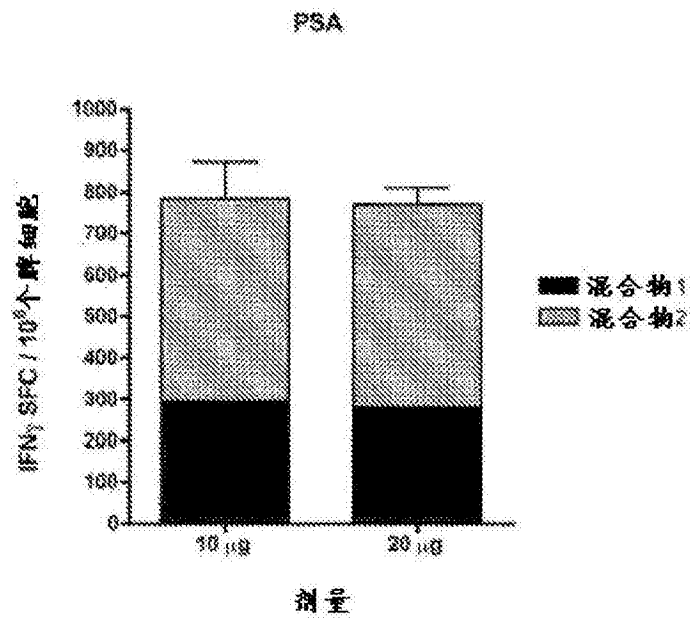


图2A

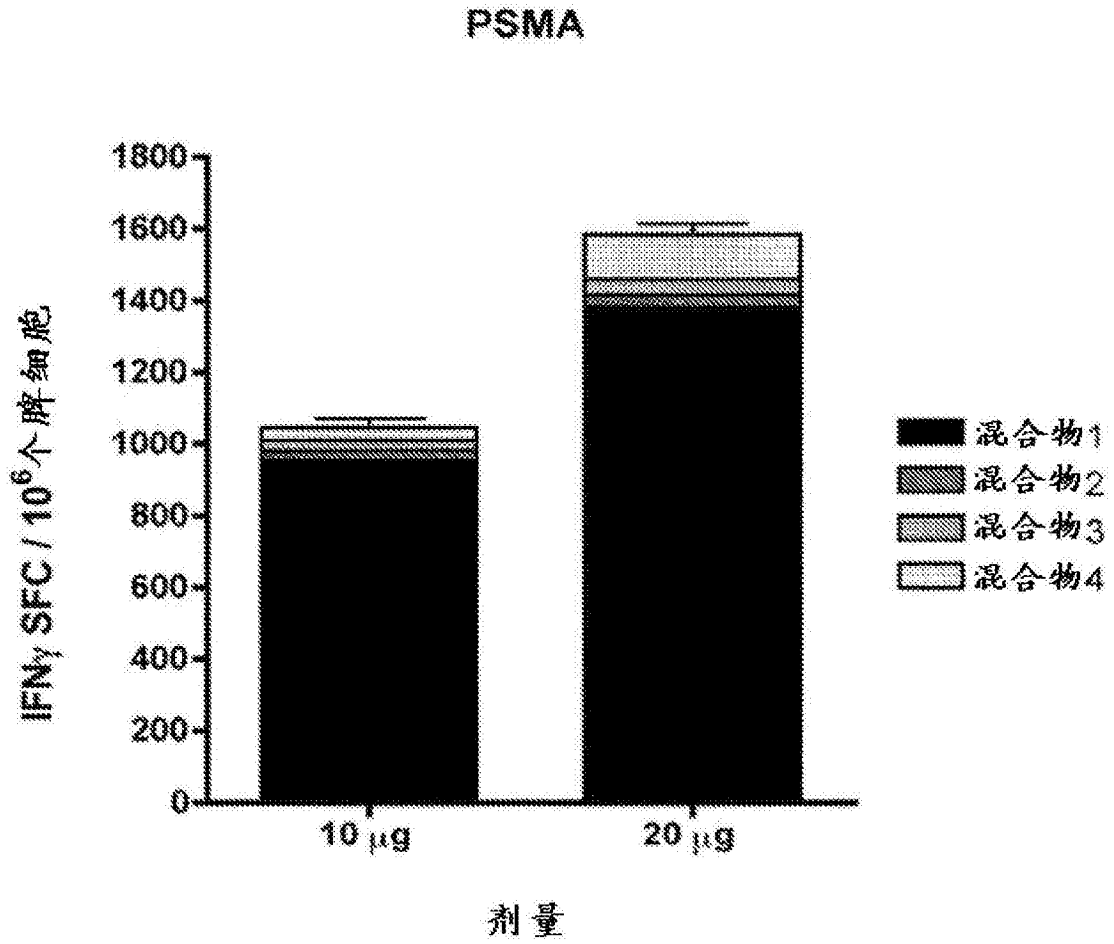


图2B

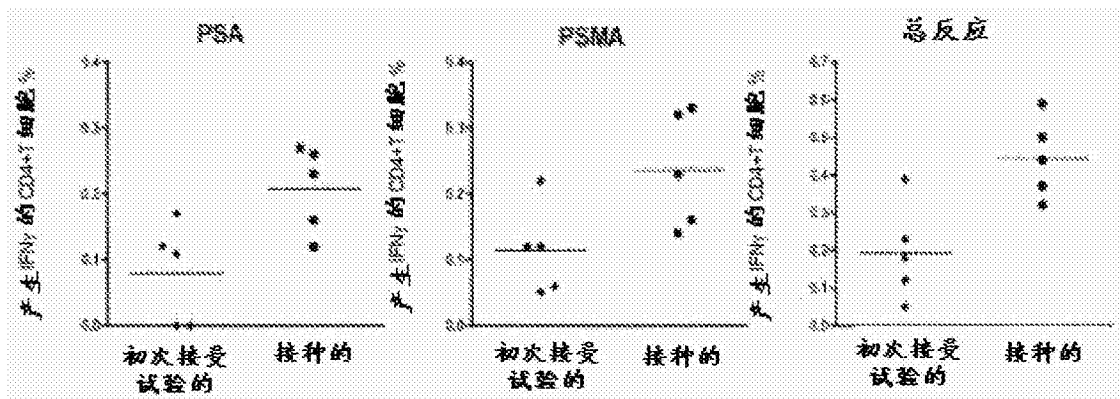


图3A

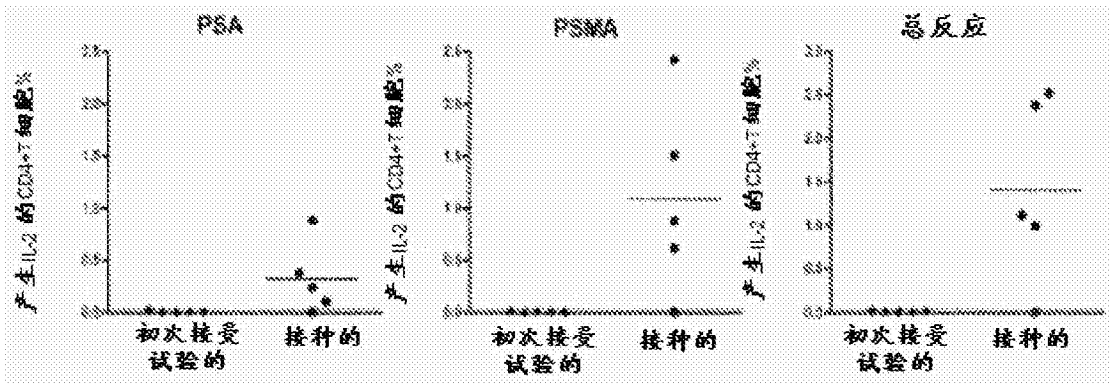


图3B

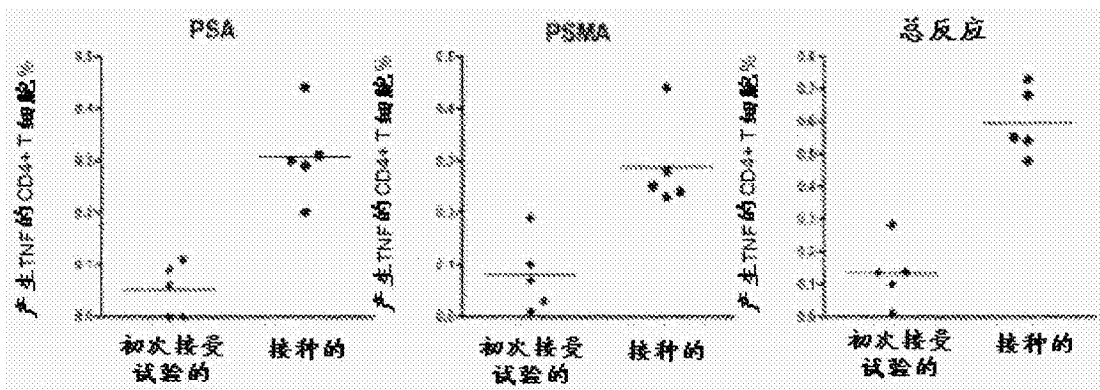


图3C

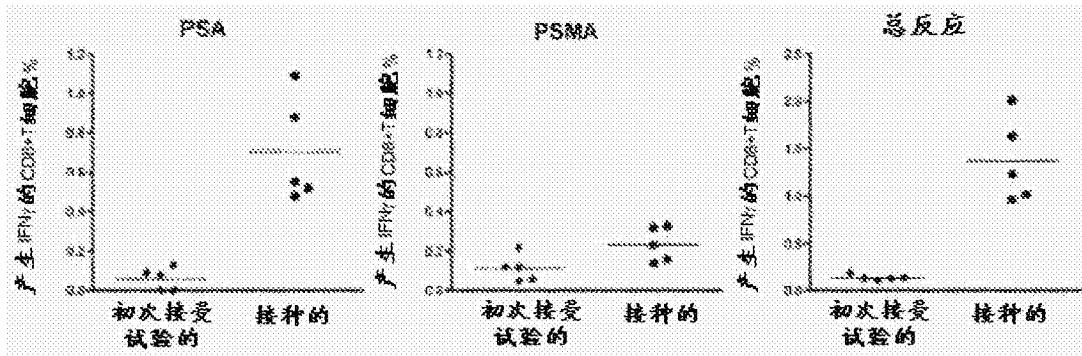


图4A

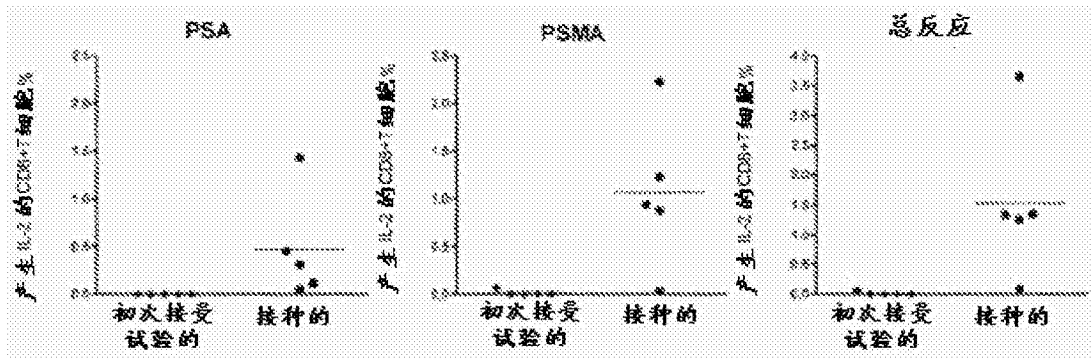


图4B

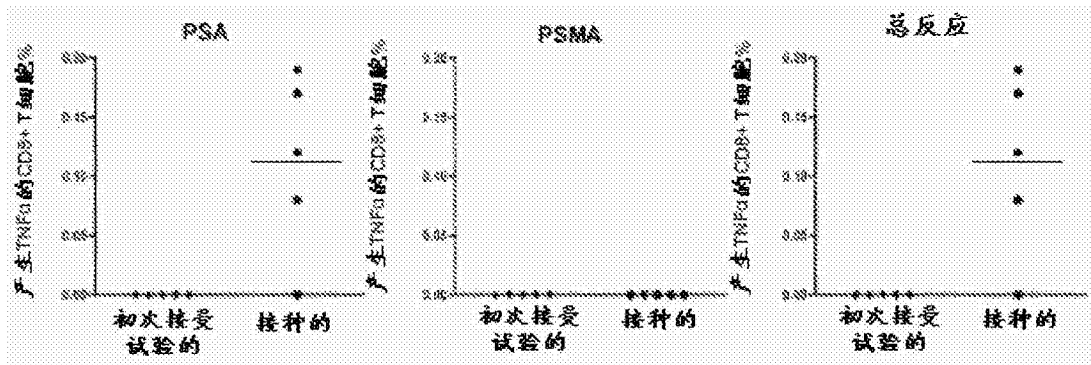


图4C

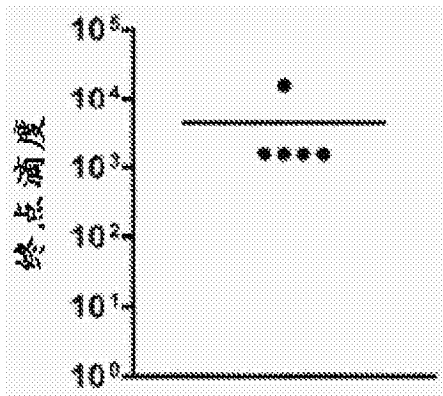


图5A

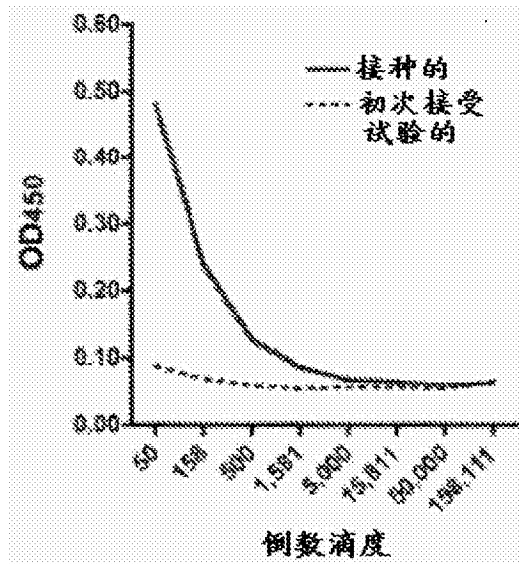


图5B