

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580031154.6

[51] Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01)

C07H 21/02 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

C12N 15/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 8 月 22 日

[11] 公开号 CN 101023186A

[22] 申请日 2005.9.13

[21] 申请号 200580031154.6

[30] 优先权

[32] 2004. 9. 17 [33] US [31] 60/610,814

[86] 国际申请 PCT/US2005/032744 2005.9.13

[87] 国际公布 WO2006/033918 英 2006.3.30

[85] 进入国家阶段日期 2007.3.16

[71] 申请人 默克公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 A·S·安德森

D·L·蒙特戈梅里

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 郭文洁 梁 谋

权利要求书 2 页 说明书 16 页 序列表 13 页
附图 4 页

[54] 发明名称

可诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答的多肽

[57] 摘要

本发明的特征在于包含与 SEQ ID NO: 1 在结构上相关的氨基酸序列的多肽以及这种多肽的用途。SEQ ID NO: 1 是金黄色葡萄球菌的一个全长多肽的截短衍生物。在本申请中该全长多肽指的是全长青霉素结合蛋白 4 (“PBP4”)。发现 SEQ ID NO: 1 的一个组氨酸标签衍生物可产生针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答。

1. 一种含与 SEQ ID NO: 1 的同一性至少为 85% 的氨基酸序列的多肽免疫原, 其中所述多肽可针对金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 提供保护性免疫, 而且其中如果存在一个或多个额外的多肽区域, 所述额外区域不是含 SEQ ID NO: 3 中羧基末端的 398-431 位氨基酸。

2. 权利要求 1 的多肽, 其中所述多肽由与 SEQ ID NO: 1 的同一性至少为 94% 的氨基酸序列组成。

3. 权利要求 2 的多肽, 其中所述多肽主要由 SEQ ID NO: 1 中 4-385 的氨基酸组成。

4. 权利要求 3 的多肽, 其中所述多肽由 SEQ ID NO: 1、甲硫氨酸-SEQ ID NO: 1、丙氨酸-丝氨酸-SEQ ID NO: 1 或甲硫氨酸-丙氨酸-丝氨酸-SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列组成。

5. 一种免疫原, 其包含与 SEQ ID NO: 1 的同一性至少为 85% 的氨基酸序列及一个或多个与所述氨基酸序列在羧基末端或氨基末端共价连接的额外的区域或基团, 其中每个区域或基团独立地选自具有至少一个以下特性的区域或基团, 所述的特性指: 增强免疫应答, 利于纯化或利于多肽稳定性。

6. 一种能在患者中诱导保护性免疫应答的组合物, 它包含免疫有效剂量的、权利要求 1-5 任何一个中的免疫原以及药物学上可接受的载体。

7. 权利要求 6 的组合物, 其中所述组合物进一步包含佐剂。

8. 一种包含重组核酸的基因, 所述重组基因包含由编码权利要求 1-4 任一项中的多肽的核苷酸序列所组成的重组基因的核酸。

9. 权利要求 8 的核酸, 其中所述核酸是一种表达载体。

10. 一种包含重组基因的重组细胞, 所述重组基因由编码权利要求 1-4 任一项的多肽的核苷酸序列所组成的。

11. 一种制备可提供保护性免疫的金黄色葡萄球菌多肽的方法, 包括步骤:

- (a) 在可表达多肽的条件下培养权利要求 10 中的重组细胞; 及
- (b) 纯化所述多肽。

12. 一种在患者中诱导保护性免疫应答的方法, 包括对所述患者给药免疫有效剂量的、含有与 SEQ ID NO: 1 同一性至少为 85% 的氨基酸

序列的免疫原的步骤。

13. 权利要求 12 中的方法，其中所述患者是人。

14. 权利要求 13 中的方法，其中所述患者针对金黄色葡萄球菌感染进行的是预防性治疗。

15. 一种在患者中诱导保护性免疫应答的方法，包括对所述患者施用免疫有效剂量的、通过权利要求 11 中的方法制备的多肽的步骤。

可诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答的多肽

相关申请的交叉引用

本申请要求 2004 年 9 月 17 日提交的美国临时申请 No. 60/610,814 的优先权，并通过引用并入本发明。

发明背景

本申请中引用的参考文献并非默认为请求保护的发明的现有技术。

金黄色葡萄球菌是一种可以引起广泛疾病和病症的病原体。由金黄色葡萄球菌引起的疾病的例子包括菌血症、感染性心内膜炎、毛囊炎、疔、痈、脓疱病、大疱性脓疱病、蜂窝织炎、葡萄状菌病、中毒性休克综合征、烫伤样皮肤综合征、中枢神经系统感染、感染性和炎性眼病、osteomyelitis 和其它关节及骨骼感染，及呼吸道感染 (*The Staphylococci in Human Disease, Crossley and Archer (eds.), Churchill Livingstone Inc. 1997.*)

基于免疫学的策略可用于控制金黄色葡萄球菌感染及金黄色葡萄球菌的散播。基于免疫学的策略包括被动和主动免疫。被动免疫是输入针对金黄色葡萄球菌的免疫球蛋白。主动免疫是诱导针对金黄色葡萄球菌的免疫应答。

潜在的金黄色葡萄球菌疫苗可作用于金黄色葡萄球菌多糖和多肽。可用合适的金黄色葡萄球菌多糖或多肽为疫苗组分来实现这种作用。潜在的多糖疫苗组分的例子包括金黄色葡萄球菌 5 型和 8 型荚膜多糖 (Shinefield et al, *N. Eng. J. Med.* 346:491-4-96, 2002.)。可能作为疫苗组分的多肽的例子包括胶原蛋白黏附素、纤维蛋白原结合蛋白和聚集因子、(Mamo 等, *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 10:41-54, 1994, Nilsson et al, *J. Clin. Invest.* 101:2640- 2649, 1998, Josefsson et al, *The Journal of Infectious Diseases* 184: 1572-1580, 2001.)。

已通过金黄色葡萄球菌基因组测序获得了关于金黄色葡萄球菌多肽序列的信息 (Kuroda et al, *Lancet* 357:1225-1240, 2001, Baba et al,

Lancet 359:1819-1827, 2000, Kunsch 等, 于 1997 年 7 月 30 日公开的 EP 0 786 519)。生物信息学已在某种程度上用于辅助鉴定从基因组测序中获得的多肽序列 (Kunsch 等, 于 1997 年 7 月 30 日公开的 EP 0 786 519)。

这些涉及展示技术和来源于感染患者血清等的技术方法, 作为工作的一部分, 可用于鉴定编码潜在抗原的基因 (Foster 等, WO 01/98499, 于 2001 年 12 月 27 日公开。Meinke 等, WO 02/059148, 于 2002 年 8 月 1 日公开。Etz 等, PNAS 99:6513-6578, 2002.)

发明概述

本发明的特征在于包含与 SEQ ID NO: 1 在结构上相关的氨基酸序列的多肽以及这种多肽的用途。SEQ ID NO: 1 是金黄色葡萄球菌一个全长多肽的截短衍生物。在本申请中该全长多肽指的是全长青霉素结合蛋白 4 (“PBP4”)。发现 SEQ ID NO: 1 的一个组氨酸标签衍生物可产生针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答。

所述的“保护性”免疫或免疫应答表示的是针对金黄色葡萄球菌感染的可检测水平的保护作用。保护作用的水平可用诸如本申请中所描述的动物模型模型进行评估。

因此, 本发明的第一方面描述了含与 SEQ ID NO: 1 至少 85% 同一的氨基酸序列的多肽免疫原, 其中多肽不包含由 SEQ ID NO: 3 中 398-431 氨基酸所提供的羧基末端, 且该多肽具有针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫。SEQ ID NO: 3 为全长 PBP4 多肽, 其中 398-431 氨基酸为羧基末端区域。

所述的“免疫原”是指可提供保护性免疫的能力。

所述的含至少与 SEQ ID NO: 1 同一性为 85% 的氨基酸序列, 其中所述多肽不包含由 SEQ ID NO: 3 中 398-431 氨基酸所提供的羧基末端, 是指存在 SEQ ID NO: 1 的相关区域, 而且也可以存在额外的多肽区域。如果存在额外的多肽区域, 那么该多肽不包含由 SEQ ID NO: 1 中 398-431 氨基酸所提供的羧基末端。

与参考序列的百分比同一性 (也指同一性百分比) 是通过将多肽序列与参考序列进行比对, 并测定相应区域相同氨基酸的数目而确定的。该数值除以参考序列 (例如 SEQ ID NO: 1) 的氨基酸总数, 然后

乘以 100，并取整为最近的整数。

本发明的另一方面描述了一种免疫原，它含有可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的氨基酸序列，以及一个或多个与该多肽羧基末端或氨基末端共价连接的额外的区域或基团，其中每个区域或基团独立地选自具有至少一个以下特征的区域或基团：增强免疫应答，利于纯化或利于多肽稳定性。

所述的“额外的区域或基团”是指不同于 PBP4 区域的区域或基团。例如，额外的区域或基团可以是额外的多肽区域或非肽区域。

本发明的另一方面描述了可在患者中诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的组合物。该组合物包括药学上可接受的载体和可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的免疫有效剂量的免疫原。

免疫有效剂量是足以提供针对金黄色葡萄球菌感染的保护性免疫的剂量。该剂量应足以显著性抑制金黄色葡萄球菌感染的可能性或严重程度。

本发明的另一方面描述了包含编码可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的多肽的重组基因的核酸。重组基因包括编码多肽的重组核酸及与正确转录和加工相关的调控元件（可包括翻译和翻译后元件）。该重组基因可独立于宿主基因组或作为宿主基因组一部分而存在。

重组核酸是一种其序列和/或形式在自然界不存在的核酸。重组核酸的例子包括纯化的核酸、两个或多个结合在一起的核酸区域形成了与自然界所发现的有所不同的核酸，以及在天然状态互相连接的核酸区域（例如上游或下游区域）中缺失一个或多个。

本发明的另一方面描述了一种重组细胞。该细胞包括编码可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的多肽的重组基因。

本发明的另一方面描述了制备可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的多肽的方法。该方法包括培养含编码多肽的重组核酸的重组细胞以及纯化多肽。

本发明的另一方面描述了通过下述方法制备的可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的多肽，该方法包括培养在宿主体内的含编码多肽的重组核酸的重组细胞以及纯化多肽的步骤。可使用不同的宿主细胞。

本发明的另一方面描述了在患者中诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答的方法。该方法包括对所述患者给药免疫有效剂量的、可提供针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的免疫原的步骤。

除非特定术语是互相排斥的，所述的“或”是指一种或者两种可能性。有时诸如“和/或”这样的短语是用于强调两种可能性或者其中之一。

所述的诸如“包含”这样的未明确限定的术语可以有其它元件或步骤。有时诸如“一个或多个”这样的短语，同或者未同未明确限定的术语一起使用，用来强调另外元件或步骤的可能性。

除非明确指出，否则所提及诸如“a”或“an”这样的术语并不限定是指一个。例如“一个细胞”并不排除“多个细胞”。有时诸如一个或多个这样的短语是用于强调复数存在的可能性。

通过包括不同的实施例在内的本申请中其它描述可以使本发明的其它特点和优势显而易见。所提供的实施例表明的是实现本发明所用的不同组分和方法。实施例不限定请求保护的发明。基于本发明，熟练人员可确定并使用其它组分和方法来实现本发明。

附图的简要描述

图 1 所示的是 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。粗体部分所示的是 SEQ ID NO: 1。下划线部分添加到 SEQ ID NO: 1 中，从而得到 SEQ ID NO: 2。

图 2A 和 2B 所示的是 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 8 的序列比较。序列之间的氨基酸差异用粗体表示。

图 3 所示的是编码 SEQ ID NO: 2 的核酸序列 (SEQ ID NO: 9)。编码 SEQ ID NO: 1 的区域用粗体表示。编码其它序列的区域用下划线表示。

图 4 所示的是羟基磷酸铝佐剂 (aluminum hydroxyphosphate adjuvant AHP) 中 SEQ ID NO: 2 多肽的存活率数据。

发明的详细描述

以 SEQ ID NO: 2 为例说明与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽提供保护

性免疫的能力。SEQ ID NO: 2 是 SEQ ID NO: 1 的衍生物, 含有在氨基末端增加的甲硫氨酸-丙氨酸-丝氨酸及羧基端的 His-Tag。氨基末端的增加部分源于对编码序列进行的修饰以提供限制性位点。His-Tag 利于对多肽进行纯化和鉴定。

SEQ ID NO: 1 是 PBP4 的衍生物。全长 PBP4 多肽序列如 SEQ ID NO: 3 所示。SEQ ID NO: 1 与 SEQ ID NO: 3 的不同在于缺失氨基末端的甲硫氨酸和 398-431 氨基酸。推测 398-431 氨基酸是参与膜结合的羧基疏水区。

与 SEQ ID NO: 1 在结构上相关的多肽包括含不同金黄色葡萄球菌菌株中的相应区域以及天然区域衍生物的多肽。SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列在图 1 中以粗体部分显示。图 1 也显示了 SEQ ID NO: 2 所示的氨基末端添加甲硫氨酸-丙氨酸-丝氨酸及羧基端添加 His-Tag。

PBP4 序列

PBP4 是青霉素结合蛋白 (Henze et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39:2415-2422, 1995; Domanski 等, *Gene* 167:111-113, 1995; Henze 等, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40:2121-2125, 1996; Henze et al, *Microbial Drug Resistance* 2:193-199, 1996; Domanski et al, *Journal of Bacteriology* 779:2651-2657, 1997.)

通过与已知 PBP4 序列相比较, 根据是否具有高度序列相似性或连续的氨基酸可鉴定其它天然存在的 PBP4 序列。连续的氨基酸可作为特征标签。在不同的实施例, 天然存在的 PBP4 序列是在葡萄球菌, 优选地是在金黄色葡萄球菌中发现的序列, 具有 SEQ ID NO: 1 中至少 20、至少 30 或至少 50 个连续的氨基酸; 和/或与 SEQ ID NO: 1 序列相似性或同一性至少为 85%。

序列相似性可通过本领域中已知的不同算法或技术进行测定。通常, 通过比对两个序列以获得最大的氨基酸同一性、允许在其中一个序列中有间隔、增加或替代的技术来确定序列相似性。

例如, 序列相似性可通过局部比对工具利用 lalign 程序 (由 Huang and Miller 为《sim》程序开发, *Adv. Appl Math.* 72:337-357, 1991) 来测定。选项和环境变量为: -f # 对间隔中第一个残基的罚分 (缺省为-14); -g # 对间隔中每个额外残基的罚分 (缺省为-4); -s str

(SMATRIX) 选择性记分矩阵文件的文件名。对蛋白序列而言, 使用 PAM250, 序列比对的输出行长度为缺省-w # (LINLEN) (60)。

与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽

与 SEQ ID NO: 1 “相关的”多肽含有与全长 PBP4 或其片段在结构上相关的区域。与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽是与天然存在的 PBP4 相应区域序列同一性至少为 85% 的多肽。所述的“多肽”并不限定最小或最大长度。

与 SEQ ID NO: 1 至少 85% 同一的多肽与 SEQ ID NO: 1 相比可含有多达约 56 个氨基酸改变。在不同的实施方案中, 与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽与 SEQ ID NO: 1 有 90%、至少 94% 或至少 99% 的同一性; 与 SEQ ID NO: 1 的不同之处在于有 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个氨基酸改变; 或主要由 SEQ ID NO: 1 的氨基酸组成。每个氨基酸改变是独立的增加、删除或替代。

所述的“主要由.....组成”所指定的氨基酸组成是指存在所指的氨基酸, 并可存在额外的氨基酸。额外的氨基酸可以是羧基或氨基末端。在不同的实施例, 可存在 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个额外的氨基酸, 在另外的实施例中, 多肽包括 SEQ ID NO: 1、甲硫氨酸-SEQ ID NO: 1、丙氨酸-丝氨酸-SEQ ID NO: 1 或甲硫氨酸-丙氨酸-丝氨酸-SEQ ID NO: 1。

可对 SEQ ID NO: 1 进行改变, 以得到可诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的衍生物。例如, 可进行改变以获得保持诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫的能力的衍生物, 或获得除了可提供保护性免疫外, 还具有可实现特定目的的区域衍生物。

图 2 提供的序列比较可用于指导设计针对 SEQ ID NO: 1 的可能的改变。图 2 提供了不同的天然存在的序列: SEQ ID NO: 3 (COL, SA0699; www.tigr.org) ; SEQ ID NO: 4 (MSRA.SAR0652, Holden et al, PNAS 101(26):9786-9791, 2004) ; SEQ ID NO: 5 (SAV0642, Kuroda et al, Lancet 357:1225-1240, 2001) ; SEQ ID NO: 6 (MW2, MW0604 Baba et al, Lancet 359: 1819-1827, 2002, and MSSA, SAS608 Holden et al, PNAS 101(26):9786-9791, 2004) ; SEQ ID NO: 7 (U29454, Domanski

et al *Gene* 167: 111-113 1995) 和 SEQ ID NO: 8 (X91786, Henze et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40: 2121-2125, 1996)。

另外, 可根据其它 PBP4 序列和已知的氨基酸特性来进行改变。通常, 为了在替换不同的氨基酸时仍可保持活性, 优选地是将其改变为具有相同特性的氨基酸。氨基酸替代要考虑的因素包括氨基酸大小、电荷、极性和疏水性。在本领域中不同的氨基酸 R-基团对氨基酸特性的影响是已知的(例如参见 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley, 1987-2002, Appendix 1C.)

在替换氨基酸并维持活性时, 所替代的氨基酸应该具有一个或多个诸如近似相同的电荷和/或大小和/或极性和/或疏水性这样的相似特性。例如, 将缬氨酸替换为亮氨酸、精氨酸替换为赖氨酸及天冬氨酸替换为谷氨酸都是很好的考虑, 不会引起多肽功能的改变。

实现特定目的的改变包括那些利于多肽生产或功效; 或者克隆编码核酸的改变。通过使用适于重组表达的起始密码子(即编码甲硫氨酸)可利于多肽生产。甲硫氨酸可在以后的细胞加工过程中除去。克隆可利于例如引入限制性位点——这同时会伴随氨基酸的增加或改变。

多肽诱导免疫应答的功效可通过抗原决定簇的增强而增强。可通过诸如改变锚定残基以改善肽对 MHC 分子的亲和性或增加肽-MHC 复合物对 T 细胞受体的亲和性这样的不同的技术, 来实现抗原决定簇的增强 (Berzofsky et al, *Nature Review of immunology* 7:209-219, 2001.)

优选地, 多肽是纯化的多肽。“纯化多肽” 存在于缺少一种或多种可与其天然结合的其它多肽的环境中, 和/或代表了至少 10% 的总蛋白。在不同的实施例, 纯化多肽在样品或制剂中代表至少约 50%、至少约 75% 或至少约 95% 的总蛋白。

在一个实施例中, 多肽是“基本上纯化的”。基本上纯化的多肽存在于缺少与其天然结合的所有或绝大多数多肽的环境中。例如, 充分纯化的金黄色葡萄球菌多肽存在于缺少所有或绝大多数其它金黄色葡萄球菌多肽的环境中。环境可以是, 譬如, 样品或制剂。

所述的“纯化”或“基本上纯化”并不要求多肽必须进行某种纯化, 可以包括, 譬如, 未被纯化的化学合成的多肽。

可通过修饰多肽的羧基或氨基末端来增强多肽的稳定性。可能的修饰的例子包括诸如乙酰基、丙基、琥珀酰、苯甲基、苄基氧基羰基或叔丁氧羰基这样的氨基末端保护基团；和诸如酰胺、甲基酰胺和乙基酰胺这样的羧基末端保护基团。

在本发明的一个实施例中，多肽免疫原是含一个或多个与多肽在羧基末端或氨基末端共价连接的其它区域或基团的免疫原的一部分，其中每个区域或基团独立地选自具有至少一个以下特征的区域或基团：增强免疫应答，利于纯化或利于多肽稳定性。例如，可以通过使用诸如位于氨基或羧基末端的聚乙烯乙二醇这样的基团来增强多肽的稳定性。

可通过在羧基或氨基末端添加利于纯化的基团来增强多肽的纯化。利于纯化的基团的例子包括具有亲和标签的多肽。亲和标签的例子包括 6-组氨酸标签、trpE、谷胱甘肽和麦芽糖结合蛋白。

可用通常增强免疫应答的基团来增强多肽产生免疫应答的能力。可与多肽连接以增强抗该多肽的免疫应答的基团的例子包括诸如 IL-2 等细胞因子 (Buchan et al, 2000, *Molecular Immunology* 37:545-552.)

多肽生产

可通过包括那些化学合成及从产生多肽的细胞中进行纯化等标准技术来生产多肽。多肽的化学合成技术在本领域是已知的 (参见, 例如, Vincent, *Peptide and Protein Drug Delivery*, New York, N. Y., Decker, 1990.)。重组多肽生产及纯化的技术在本领域也是已知的 (参见, 例如 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley, 1987-2002.)。

通过重组核酸技术产生多肽这样的方式可以方便地从细胞中获得多肽。产生多肽的重组核酸技术包括向细胞中导入或产生编码多肽的重组基因以及表达该多肽。

重组基因含有编码多肽的核酸，并带有用于多肽表达的调控元件。重组基因可存在于细胞基因组中或作为表达载体的一部分。

作为重组基因一部分的调控元件包括与多肽编码序列天然结合的元件及不与多肽编码序列天然结合的外源调控元件。诸如外源启动子这样的外源调控元件可用于在特定的宿主中表达重组基因或增加表达

水平。通常，重组基因中的调控元件包括转录启动子、核糖体结合位点、终止子和选择性存在的操作子。在真核细胞加工中的优选元件是多聚腺苷酸化信号。

使用表达载体可利于重组基因在细胞中的表达。优选地，表达载体除了重组基因外还包括在宿主细胞中进行自主复制的复制原点、选择标记、有限个数目可以使用的限制性酶位点及高拷贝数的能力。表达载体的例子是克隆载体、修饰的克隆载体、特别设计的质粒和病毒。

由于遗传密码子具有简并性，所以许多不同的编码核酸序列可用于编码同一个特定的多肽。遗传密码子的简并性的产生是由于几乎所有氨基酸是都由核苷酸三聚体的不同组合或“密码子”编码的。氨基酸是用以下密码子编码的：

A=Ala=丙氨酸：密码子 GCA, GCC, GCG, GCU

C=Cys=半胱氨酸：密码子 UGC, UGU

D=Asp=天冬氨酸：密码子 GAC, GAU

E=Glu=谷氨酸：密码子 GAA, GAG

F=Phe=苯丙氨酸：密码子 UUC, UUU

G=Gly=甘氨酸：密码子 GGA, GGC, GGG, GGU

H=His=组氨酸：密码子 CAC, CAU

I=Ile=异亮氨酸：密码子 AUA, AUC, AUU

K=Lys=赖氨酸：密码子 AAA, AAG

L=Leu=亮氨酸：密码子 UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU

M=Met=甲硫氨酸：密码子 AUG

N=Asn=天冬酰胺：密码子 AAC, AAU

P=Pro=脯氨酸：密码子 CCA, CCC, CCG, CCU

Q=Gln=谷氨酰胺：密码子 CAA, CAG

R=Arg=精氨酸：密码子 AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU

S=Ser=丝氨酸：密码子 AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU

T=Thr=苏氨酸：密码子 ACA, ACC, ACG, ACU

V=Val=缬氨酸：密码子 GUA, GUC, GUG, GUU

W=Trp=色氨酸：密码子 UGG

Y=Tyr=酪氨酸：密码子 UAC, UAU

用于表达与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽的重组核酸的合适细胞是原

核细胞和真核细胞。原核细胞的例子包括大肠杆菌；诸如金黄色葡萄球菌这样的葡萄球菌属成员；诸如植物乳杆菌 (*L. plantarum*) 这样的乳酸菌属成员；诸如乳酸乳杆菌 (*L. lactis*) 这样的乳球菌属成员；及诸如枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 这样的芽孢杆菌属成员。真核细胞的例子包括哺乳动物细胞；昆虫细胞；诸如酵母属成员（例如酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)）这样的酵母细胞，毕赤氏酵母属成员（例如巴斯德毕赤氏酵母 (*P. pastoris*)），汉逊酵母属成员（例如多形汉逊酵母 (*H. polymorpha*)），克鲁维酵母属成员（例如乳克鲁维酵母 (*K. lactis*) 或脆壁克鲁维酵母 (*K. fragilis*)）和裂殖酵母属成员（例如粟酒裂殖酵母 (*S. pombe*)）。

重组基因产生、导入到细胞中及重组基因表达的技术在本领域中是已知的。通过诸如 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology* John Wiley, 1987-2002, 及 Sambrook 等, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 这样的参考文献, 提供了这些技术的例子。

如果需要, 可通过密码子优化来增强在特定宿主中的表达。密码子优化包括使用更优选的密码子。在不同宿主中进行密码子优化的技术在本领域中是众所周知的。

与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽可以包含翻译后的修饰, 例如 N-连接的糖基化, O-连接的糖基化或乙酰化。所述的“多肽”或多肽的“氨基酸”序列包括来自诸如哺乳动物、昆虫或酵母宿主细胞这样的宿主细胞、含一个或多个具有翻译后修饰结构的氨基酸的多肽。

翻译后修饰可通过化学方法产生或使用合适的宿主产生。例如, 在酿酒酵母中, 倒数第二个氨基酸的性质可用来判定 N 末端甲硫氨酸是否被除去。另外, 倒数第二个氨基酸的性质也可用来判定 N 末端氨基酸是否是 N^α-乙酰化的 (Huang 等, *Biochemistry* 26:8242-8246, 1987)。另一个例子包括由于存在分泌引导序列 (例如信号肽) 而可进行分泌的多肽, 其中多肽是通过 N-连接或 O-连接糖基化进行修饰的 (Kukuruzinska 等, *Ann. Rev. Biochem.* 56:915-944, 1987.)。

佐剂

佐剂是可协助免疫原产生免疫应答的物质。佐剂可通过诸如以下

一个或多个不同的机制来行使功能：增强抗原的生物学或免疫学半衰期；提高抗原对抗原呈递细胞的递送；提高通过抗原呈递细胞对抗原的加工和呈递；及诱导产生免疫调节的细胞因子（*Vogel, Clinical Infectious Diseases* 30(suppl. 3):S266-270, 2000.）。

可使用多种不同类型的佐剂来辅助产生免疫应答。特定佐剂的例子包括氢氧化铝、磷酸铝或其它铝盐、磷酸钙、DNA CpG 元件、单磷酸酯酰脂 A、霍乱毒素、大肠杆菌不耐热肠毒素、百日咳毒素、胞壁酰二肽、弗氏不完全佐剂、MF59、SAF、免疫刺激复合物、脂质体、可生物降解的微体、皂甙、非离子阻断共聚物、胞壁酰肽类似物、聚磷腈、合成的多聚核苷酸、IFN- γ 、IL-2、IL-12 和 ISCOMS（*Vogel Clinical Infectious Diseases* 30(suppl 3):S266-270, 2000, Klein 等, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 89:311-321, 2000, Rimmelzwaan 等, *Vaccine* 79:1180-1187, 2001, Kersten *Vaccine* 27:915-920, 2003, O'Hagen *Curr. Drug Target Infect. Disord.*, 7:273-286, 2001.）

诱导保护性免疫的患者

“患者”是指能被金黄色葡萄球菌感染的哺乳动物。患者可进行预防性或治疗性治疗。预防性治疗可提供足够的降低金黄色葡萄球菌感染的可能性或严重性的保护性免疫。治疗性治疗可用来降低金黄色葡萄球菌感染的严重性。

可用含本申请所述的免疫原的疫苗进行预防性治疗。这种治疗优选地用于人。可对普通人群或对感染金黄色葡萄球菌具有更高风险的人施用疫苗。

对感染金黄色葡萄球菌具有更高风险的人包括健康护理人员；医院患者；免疫系统虚弱的患者；进行手术的患者；接受外源身体移植，例如导尿管或血管装置的患者；面临导致会削弱免疫的治疗的患者；及所从事职业具有更高烧伤或创伤风险的人（*The Staphylococci in Human Disease*, Crossley and Archer (ed.), Churchill Livingstone Inc. 1997.）。

可感染金黄色葡萄球菌的非人类患者包括牛、猪、绵羊、山羊、兔、马、狗、猫和鼠。对非人类患者的治疗用于保护宠物和家畜，及评估特定治疗方法的有效性。

联合疫苗

与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽可单独使用, 或其它免疫原联合使用, 来诱导免疫应答。其它免疫原包括: 一个或多个诸如在上述发明背景中所述的其它金黄色葡萄球菌免疫原; 一个或多个针对一个或多个诸如表皮葡萄球菌 (*S.epidermidis*)、溶血性葡萄球菌 (*S.haemolyticus*)、沃氏葡萄球菌 (*S.warneri*) 或路邓氏葡萄球菌 (*S.lugunensis*) 这样的其它葡萄球菌微生物的免疫原; 及一个或多个针对其它感染微生物的免疫原。

动物模型系统

动物模型系统用于评估免疫原产生针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答的有效性。动物模型是一种慢动力学致死模型, 包括在静止期从细胞中制备金黄色葡萄球菌, 合适的滴定及静脉内给药。该死亡慢动力学可提供足够的时间产生特定的免疫保护来对抗细菌感染 (例如 10 天而不是 24 小时)。

可从生长在固体培养基上的细胞中获得静止期的金黄色葡萄球菌细胞。也可从液体中获得这种细胞, 但生长在固体培养基上的细胞其结果更具有重复性。细胞可在固体培养基上很方便地生长过夜。例如, 金黄色葡萄球菌可在加倍时间约为 20-30 分钟的条件 下生长约 18 到 24 小时。

可用标准技术从固体或液体培养基中分离金黄色葡萄球菌, 并维持金黄色葡萄球菌的效力。分离的金黄色葡萄球菌可在含甘油的磷酸缓冲盐中以洗涤的高密度悬浮液 ($>10^9$ 克隆形成单位(CFU)/mL) 保存在例如 -70°C 。

金黄色葡萄球菌的激发应从第一天或第二天开始, 在约 7 到 10 天的时间内在动物模型中具有 80 到 90% 致死率的效力。可用动物模型进行滴定实验, 来监测储存的金黄色葡萄球菌接种物的效力。在接种实验 1 到 2 周之前进行滴定实验。

给药

可根据本申请提供的指导及本领域已知的技术配置免疫原并对患

者给药。药物给药的说明通常在例如 *Vaccines* Eds. Plotkin and Orenstein, W.B. Sanders Company, 1999; *Remington's Pharmaceutical Sciences* 20th Edition, Ed. Gennaro, Mack Publishing, 2000; 及 *Modern Pharmaceutics* 2nd Edition, Eds. Banker and Rhodes, Marcel Dekker, Inc., 1990 中提供, 它们都通过参考整合在文中。

药学上可接受的载体利于储存以及将免疫原施用于患者。药学上可接受的载体可以包含诸如缓冲液、用于注射的灭菌水、普通盐或磷酸缓冲盐、蔗糖、组氨酸、盐和聚山梨醇酯这样的不同成分。

免疫原可通过诸如皮下、肌肉内或黏膜这样的不同途径给药。皮下和肌肉内给药可通过例如注射器或射流泵 (jet injector) 进行。

根据本领域中已知的因素——包括年龄、体重、性别和患者的疾病状况; 给药途径; 期望效果和所用的特定混合物, 来确定合适的剂量用法。可以多剂量疫苗方式使用免疫原。期望每剂可含有范围为 1.0 μg 到 1.0 mg 的总多肽, 在本发明的不同实施例中, 该范围是 0.01 mg 到 1.0 mg 和 0.1 mg 到 1.0 mg。

剂量时间依赖于本领域中已知的因素。在最初给药后, 可随后给药一次或多次加强剂量来维持或加强抗体滴度。剂量用法的例子可以是第一天、1 个月、第三剂在 4、6 或 12 个月, 如果需要可在间隔的时间给药额外的加强剂量。

抗体产生

与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽可用于产生与多肽或金黄色葡萄球菌结合的抗体和抗体片段。这种抗体和抗体片段具有不同的用途, 包括用于多肽纯化、金黄色葡萄球菌鉴定、或针对金黄色葡萄球菌感染的治疗性或预防性治疗。

抗体可以是多克隆或单克隆的。产生和使用抗体的技术在本领域中是众所周知的。这些技术的例子在 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley, 1987-2002, Harlow 等, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988, and Kohler et al, *Nature* 256:495- 497, 1975. 中有描述。

实施例

以下提供的实施例进一步阐释本发明的不同特征。实施例也阐述了实现本发明的可用方法。这些实施例并不作为对本发明的限定。

实施例 1: 保护性免疫

本实施例阐述了与 SEQ ID NO: 1 相关的多肽在动物模型中提供保护性免疫的能力。作为 SEQ ID NO: 1 衍生物的 SEQ ID NO: 2, 用于提供保护性免疫。

SEQ ID NO: 2 的克隆和表达

将蛋白用具有载体编码的 His 标签残基的 pET24b 载体 (Novagen) 来进行表达。载体提供了起始的 Met 密码子, 随后是在 N 末端的 Ala 和 Ser 密码子, 并在 C 末端添加了 Leu、Glu、(His)6 和终止密码子 (SEQ ID NO: 2 的 378-385 氨基酸)。所设计的 DNA 序列编码 385 个氨基酸的成熟 pbp4 的变型 (COL-SA0699)。

pbp4 DNA 序列通过 Vector NTI 软件翻译, 对得到的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 1) 进行分析。设计 PCR 引物来扩增从第 25 个残基 (Thr) 起始以除去信号肽序列、到第 398 个密码子 (Glu) 终止以除去 C 末端膜结合位点的基因。正向 PCR 引物含有 NheI 限制位点以利于克隆到表达载体中。反向 PCR 引物含有 XhoI 限制位点以利于克隆到表达载体中。

将 PCR 扩增序列用 NheI 和 XhoI 消化, 并连接到用相同的两个酶消化的 pET24b 载体 (Novagen) 中。将连接反应物转入大肠杆菌 NovaBlue, 并在含 50 µg/mL 卡那霉素的 LB 中通过生长状况来筛选克隆。制备 DNA (Qiagen), 并通过限制消化和序列测定来确定插入片段的完整性。从所需序列中筛选 DNA 没有发生改变的克隆。

转化大肠杆菌 BLR (DE3) 细胞 (Novagen), 并在含卡那霉素 (50 µg/ml) 的 LB 平板上培养。从 LB (卡那霉素) 平板上挑取单克隆接种到液体 LB (卡那霉素) 培养基中, 并在 37°C, 250 rpm 培养过夜。将过夜培养物稀释到新鲜 LB (卡那霉素) 中, 培养至 A600 在 0.6 到 1.0 之间, 回收未诱导细胞的沉淀, 将其余培养物加入 IPTG 至终浓度 1 mM 进行诱导, 并使其表达 3 小时。通过在 5000 × g 室温下离心 3 分钟, 从 1 ml 培养物中回收细胞沉淀。将细胞沉淀重悬在 200 µl 裂解缓冲液

(Bugbuster, 具有蛋白酶抑制剂, Novagen) 中, 然后回收诱导样品的可溶性和不溶性组分。在 90℃ 加热样品 3 分钟前加入等体积上样缓冲液 (添加 β -巯基乙醇至终浓度 5%)。在 Novex 4-12% Tris-甘氨酸凝胶中分离提取物, 分析蛋白 (考马斯兰染色), 并在硝化纤维素上进行印迹反应, 以抗 HIS6 抗体 (Zymed) 为探针。

SEQ ID NO: 2 纯化

将冻存的重组大肠杆菌细胞 (39.7 克) 溶解, 并重悬在 100 ml 裂解缓冲液 (蛋白酶抑制剂混合物 (Roche #1873580, 每 10 克细胞用 1 片), 50 mM 磷酸钠, pH 8.0、0.15 M NaCl、2 mM 氯化镁、10 mM 咪唑、0.1% Tween-80 和 0.02% 叠氮化钠) 中。

向细胞悬浮液中以每克细胞浆 1 毫升的量加入 Benzonase (250 单位/毫升, EM #1.10697.O002)。用微射流机制备裂解物。将裂解物在 4℃ 振荡 2.5 小时。然后通过 4℃, 10,000 × g 离心 10 分钟而纯化裂解物。通过 5 微米玻璃纤维过滤器 (Millipore #AP2504700) 过滤上清。向滤液中加入 5 M NaCl 储液至终浓度 0.5 M。将滤液与 Ni-NTA 琼脂糖色谱树脂 (Qiagen #30250) 混合, 在 4℃ 搅拌过夜。

将色谱树脂浆加到色谱柱上, 从柱出口通过重力收集未结合组分。用 50 mM 磷酸钠、pH 8.0、0.5 M NaCl、2 mM 氯化镁、10 mM 咪唑及 0.1% Tween-80 洗涤柱, 并用洗脱缓冲液 (0.3 M 咪唑, 0.15 M NaCl 和 20 mM Tris-HCl, pH 8.0) 洗脱柱。含蛋白产物的组分通过在硝化纤维素膜上通过点印迹用 Ponceau-S 染色而鉴定。将含蛋白的组分收集而得到 Ni-IMAC 产物。通过 SEC 对 Ni-IMAC 产物进行分馏, 含产物的组分通过 SDS/PAGE 及考马斯兰染色进行鉴定。收集纯度和浓度最高的 SEC 组分而得到 SEC 产物。将 SEC 产物灭菌过滤, 并吸附在羟基磷酸铝佐剂上至终浓度为 0.2 mg/ml。

金黄色葡萄球菌激发的制备

将金黄色葡萄球菌在 TSA 平板上于 37℃ 培养过夜。向平板上加入 5 ml PBS 将细菌从 TSA 平板上洗下, 并用灭菌涂布器将细菌轻轻重悬。将细菌重悬物于 6000 rpm 用 Sorvall RC-5B 离心机 (DuPont Instruments) 离心 20 分钟。将沉淀重悬在 16% 甘油中, 并等分冷冻储

存在-70℃。

在使用前，将菌液溶解，适当稀释后用于感染。每个储液至少滴定 3 次，以确定在空白小鼠中诱导慢动力致死的合适剂量。持续监测细菌菌液的效力（80-90%致死率），以确定模型的重复性。在每次激发实验 10 天前，对 10 个对照动物（单独用佐剂免疫）的组进行激发和监测。

SEQ ID NO: 2 多肽的保护性研究

将 20 只 BALB/c 鼠用 3 个剂量的于羟基磷酸铝佐剂（每个剂量 450 μg ）上的 SEQ ID NO: 2 多肽（每个剂量 20 μg ）进行免疫。羟基磷酸铝佐剂（AHP）在 Klein 等, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 89, 311-321, 2000 有所描述。剂量按照在 0、7 和 21 天给药 100 微升含 20 微克肌肉内注射剂（每条腿 50 微升）的方式给药。在 28 天对鼠采血，通过 ELISA 对与 SEQ ID NO: 2 产生应答的抗体血清进行定量。

在实验的第 35 天用金黄色葡萄球菌（ $5-9 \times 10^8$ CFU/鼠）激发鼠，并针对仅用 AHP 免疫的 20 只鼠的对照组进行评估。以 10 天为一个周期监测鼠的存活。在实验结束时，SEQ ID NO: 2 免疫组有 5 只鼠存活，而相比较 AHP 组有 1 只存活。结果如图 4 所示。

其它的实施方案在以下权利要求范围内。虽然已给出并描述了几个实施例，但仍可在不偏离本发明主旨和范围的情况下进行各种改变。

<110> Merck & Co., Inc.

<120> 可诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答的多肽

<130> PCT 21675

<150> 60/610,814

<151> 2004-09-17

<160> 9

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 374

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>金黄色葡萄球菌 (S. Aureus) 全长序列的衍生物

<400> 1

```

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

```

```

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

```

<210> 2

<211> 385

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 含有在氨基末端增加的甲硫氨酸-丙氨酸-丝氨酸及羧基端的 His-Tag 的 SEQ
ID NO: 1 的衍生物

<400> 2

```

Met Ala Ser Thr Asn Ser Asp Val Thr Pro Val Gln Ala Ala Asn Gln
  1              5              10              15
Tyr Gly Tyr Ala Gly Leu Ser Ala Ala Tyr Glu Pro Thr Ser Ala Val

```

20	25	30
Asn Val Ser Gln Thr Gly Gln Leu Leu Tyr Gln Tyr Asn Ile Asp Thr		
35	40	45
Lys Trp Asn Pro Ala Ser Met Thr Lys Leu Met Thr Met Tyr Leu Thr		
50	55	60
Leu Glu Ala Val Asn Lys Gly Gln Leu Ser Leu Asp Asp Thr Val Thr		
65	70	75
Met Thr Asn Lys Glu Tyr Ile Met Ser Thr Leu Pro Glu Leu Ser Asn		
85	90	95
Thr Lys Leu Tyr Pro Gly Gln Val Trp Thr Ile Ala Asp Leu Leu Gln		
100	105	110
Ile Thr Val Ser Asn Ser Ser Asn Ala Ala Ala Leu Ile Leu Ala Lys		
115	120	125
Lys Val Ser Lys Asn Thr Ser Asp Phe Val Asp Leu Met Asn Asn Lys		
130	135	140
Ala Lys Ala Ile Gly Met Lys Asn Thr His Phe Val Asn Pro Thr Gly		
145	150	155
Ala Glu Asn Ser Arg Leu Arg Thr Phe Ala Pro Thr Lys Tyr Lys Asp		
165	170	175
Gln Glu Arg Thr Val Thr Thr Ala Arg Asp Tyr Ala Ile Leu Asp Leu		
180	185	190
His Val Ile Lys Glu Thr Pro Lys Ile Leu Asp Phe Thr Lys Gln Leu		
195	200	205
Ala Pro Thr Thr His Ala Val Thr Tyr Tyr Thr Phe Asn Phe Ser Leu		
210	215	220
Glu Gly Ala Lys Met Ser Leu Pro Gly Thr Asp Gly Leu Lys Thr Gly		
225	230	235
Ser Ser Asp Thr Ala Asn Tyr Asn His Thr Ile Thr Thr Lys Arg Gly		
245	250	255
Lys Phe Arg Ile Asn Gln Val Ile Met Gly Ala Gly Asp Tyr Lys Asn		
260	265	270
Leu Gly Gly Glu Lys Gln Arg Asn Met Met Gly Asn Ala Leu Met Glu		
275	280	285
Arg Ser Phe Asp Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Ile Leu Ser Lys Gly Glu		
290	295	300
Gln Arg Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Val Glu Asn Asp Leu Tyr Asp		
305	310	315
Val Leu Pro Ser Asp Phe Ser Lys Lys Asp Tyr Lys Leu Val Val Glu		
325	330	335
Asp Gly Lys Val His Ala Asp Tyr Pro Arg Glu Phe Ile Asn Lys Asp		
340	345	350
Tyr Gly Pro Pro Thr Val Glu Val His Gln Pro Ile Ile Gln Lys Ala		
355	360	365
Asn Thr Val Ala Lys Ser Met Trp Glu Leu Glu His His His His His		

370 375 380
 His
 385

 <210> 3
 <211> 431
 <212> PRT
 <213> 金黄色葡萄球菌

 <400> 3
 Met Lys Asn Leu Ile Ser Ile Ile Ile Ile Leu Cys Leu Thr Leu Ser
 1 5 10 15
 Ile Met Thr Pro Tyr Ala Gln Ala Thr Asn Ser Asp Val Thr Pro Val
 20 25 30
 Gln Ala Ala Asn Gln Tyr Gly Tyr Ala Gly Leu Ser Ala Ala Tyr Glu
 35 40 45
 Pro Thr Ser Ala Val Asn Val Ser Gln Thr Gly Gln Leu Leu Tyr Gln
 50 55 60
 Tyr Asn Ile Asp Thr Lys Trp Asn Pro Ala Ser Met Thr Lys Leu Met
 65 70 75 80
 Thr Met Tyr Leu Thr Leu Glu Ala Val Asn Lys Gly Gln Leu Ser Leu
 85 90 95
 Asp Asp Thr Val Thr Met Thr Asn Lys Glu Tyr Ile Met Ser Thr Leu
 100 105 110
 Pro Glu Leu Ser Asn Thr Lys Leu Tyr Pro Gly Gln Val Trp Thr Ile
 115 120 125
 Ala Asp Leu Leu Gln Ile Thr Val Ser Asn Ser Ser Asn Ala Ala Ala
 130 135 140
 Leu Ile Leu Ala Lys Lys Val Ser Lys Asn Thr Ser Asp Phe Val Asp
 145 150 155 160
 Leu Met Asn Asn Lys Ala Lys Ala Ile Gly Met Lys Asn Thr His Phe
 165 170 175
 Val Asn Pro Thr Gly Ala Glu Asn Ser Arg Leu Arg Thr Phe Ala Pro
 180 185 190
 Thr Lys Tyr Lys Asp Gln Glu Arg Thr Val Thr Thr Ala Arg Asp Tyr
 195 200 205
 Ala Ile Leu Asp Leu His Val Ile Lys Glu Thr Pro Lys Ile Leu Asp
 210 215 220
 Phe Thr Lys Gln Leu Ala Pro Thr Thr His Ala Val Thr Tyr Tyr Thr
 225 230 235 240
 Phe Asn Phe Ser Leu Glu Gly Ala Lys Met Ser Leu Pro Gly Thr Asp
 245 250 255
 Gly Leu Lys Thr Gly Ser Ser Asp Thr Ala Asn Tyr Asn His Thr Ile

260	265	270
Thr Thr Lys Arg Gly Lys Phe Arg Ile Asn Gln Val Ile Met Gly Ala		
275	280	285
Gly Asp Tyr Lys Asn Leu Gly Gly Glu Lys Gln Arg Asn Met Met Gly		
290	295	300
Asn Ala Leu Met Glu Arg Ser Phe Asp Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Ile		
305	310	315
Leu Ser Lys Gly Glu Gln Arg Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Val Glu		
325	330	335
Asn Asp Leu Tyr Asp Val Leu Pro Ser Asp Phe Ser Lys Lys Asp Tyr		
340	345	350
Lys Leu Val Val Glu Asp Gly Lys Val His Ala Asp Tyr Pro Arg Glu		
355	360	365
Phe Ile Asn Lys Asp Tyr Gly Pro Pro Thr Val Glu Val His Gln Pro		
370	375	380
Ile Ile Gln Lys Ala Asn Thr Val Ala Lys Ser Met Trp Glu Glu His		
385	390	395
Pro Leu Phe Thr Ile Ile Gly Gly Thr Cys Leu Val Ala Gly Leu Ala		
405	410	415
Leu Ile Val His Met Ile Ile Asn Arg Leu Phe Arg Lys Arg Lys		
420	425	430

<210> 4

<211> 431

<212> PRT

<213> 金黄色葡萄球菌

<400> 4

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

115	120	125
Ala Asp Leu Leu Gln Ile Thr Val Ser Asn Ser Ser Asn Ala Ala Ala		
130	135	140
Leu Ile Leu Ala Lys Lys Val Ser Lys Asn Thr Ser Asp Phe Val Asp		
145	150	155
Leu Met Asn Asn Lys Ala Lys Ala Ile Gly Met Lys Asn Thr His Phe		
165	170	175
Val Asn Pro Thr Gly Ala Glu Asn Ser Arg Leu Arg Thr Phe Ala Pro		
180	185	190
Thr Lys Tyr Lys Asp Gln Glu Arg Thr Val Thr Thr Ala Arg Asp Tyr		
195	200	205
Ala Ile Leu Asp Leu His Val Ile Lys Glu Thr Pro Lys Ile Leu Asp		
210	215	220
Phe Thr Lys Gln Leu Ala Pro Thr Thr His Ala Val Thr Tyr Tyr Thr		
225	230	235
Phe Asn Phe Ser Leu Glu Gly Ala Lys Met Ser Leu Pro Gly Thr Asp		
245	250	255
Gly Leu Lys Thr Gly Ser Ser Asp Thr Ala Asn Tyr Asn His Thr Ile		
260	265	270
Thr Thr Lys Arg Gly Lys Phe Arg Ile Asn Gln Val Ile Met Gly Ala		
275	280	285
Gly Asp Tyr Lys Asn Leu Gly Gly Glu Lys Gln Arg Asn Met Met Gly		
290	295	300
Asn Ala Leu Met Glu Arg Ser Phe Asp Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Ile		
305	310	315
Leu Pro Lys Gly Glu Gln Arg Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Val Glu		
325	330	335
Asn Asp Leu Tyr Asp Val Leu Pro Ser Asp Phe Ser Lys Lys Asp Tyr		
340	345	350
Lys Leu Val Val Glu Asp Gly Lys Val His Ala Asp Tyr Pro Arg Glu		
355	360	365
Phe Ile Asn Lys Asp Tyr Gly Pro Pro Thr Val Glu Val His Gln Pro		
370	375	380
Ile Ile Gln Lys Ala Asn Thr Val Ala Lys Ser Met Trp Glu Glu His		
385	390	395
Pro Leu Phe Thr Ile Ile Gly Gly Ala Cys Leu Val Ala Gly Leu Ala		
405	410	415
Leu Ile Val His Met Ile Ile Asn Arg Leu Phe Arg Lys Arg Lys		
420	425	430

<210> 5

<211> 431

<212> PRT

<213> 金黄色葡萄球菌

<400> 5

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

```

          325          330          335
Asn Asp Leu Tyr Asp Val Leu Pro Ser Asp Phe Ser Lys Lys Asp Tyr
          340          345          350
Lys Leu Val Val Glu Asp Gly Lys Val His Ala Asp Tyr Pro Arg Glu
          355          360          365
Phe Ile Asn Lys Asp Tyr Gly Pro Pro Thr Val Glu Val His Gln Pro
          370          375          380
Ile Ile Gln Lys Ala Asn Thr Val Ala Lys Ser Met Trp Glu Glu His
385          390          395          400
Pro Leu Phe Thr Ile Ile Gly Gly Ala Cys Leu Val Ala Gly Leu Ala
          405          410          415
Leu Ile Val His Met Ile Ile Asn Arg Leu Phe Arg Lys Arg Lys
          420          425          430

```

<210> 6

<211> 431

<212> PRT

<213> 金黄色葡萄球菌

<400> 6

```

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

```

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

<210> 7

<211> 431

<212> PRT

<213> 金黄色葡萄球菌

<400> 7

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

35	40	45
Pro Thr Ser Ala Val Asn Val Ser Gln Thr Gly Gln Leu Leu Tyr Gln		
50	55	60
Tyr Asn Ile Asp Thr Lys Trp Asn Pro Ala Ser Met Thr Lys Leu Met		
65	70	75
Thr Met Tyr Leu Thr Leu Glu Ala Val Asn Lys Gly Gln Leu Ser Leu		
85	90	95
Asp Asp Thr Val Thr Met Thr Asn Lys Glu Tyr Ile Met Ser Thr Leu		
100	105	110
Pro Glu Leu Ser Asn Thr Lys Leu Tyr Pro Gly Gln Val Trp Thr Ile		
115	120	125
Ala Asp Leu Leu Gln Ile Thr Val Ser Asn Ser Ser Asn Ala Ala Ala		
130	135	140
Leu Ile Leu Ala Lys Lys Val Ser Lys Asn Thr Ser Asp Phe Val Asp		
145	150	155
Leu Met Asn Asn Lys Ala Lys Ala Ile Gly Met Lys Asn Thr His Phe		
165	170	175
Val Asn Pro Thr Gly Ala Glu Asn Ser Arg Leu Arg Thr Phe Ala Pro		
180	185	190
Thr Lys Tyr Lys Asp Gln Glu Ala Thr Val Ser Thr Ala Arg Asp Tyr		
195	200	205
Ala Ile Leu Asp Leu His Val Ile Lys Glu Thr Pro Lys Ile Leu Asp		
210	215	220
Phe Thr Lys Gln Leu Ala Pro Thr Thr His Ala Val Thr Tyr Tyr Thr		
225	230	235
Phe Asn Phe Ser Leu Glu Gly Ala Lys Met Ser Leu Pro Gly Thr Asp		
245	250	255
Gly Leu Lys Thr Gly Ser Ser Asp Thr Ala Asn Tyr Asn His Thr Ile		
260	265	270
Thr Thr Lys Arg Gly Lys Phe Arg Ile Asn Gln Val Ile Met Gly Ala		
275	280	285
Gly Asp Tyr Lys Asn Leu Gly Gly Glu Lys Gln Arg Asn Met Met Gly		
290	295	300
Asn Ala Leu Met Glu Arg Ser Phe Asp Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Ile		
305	310	315
Leu Ser Lys Gly Glu Gln Arg Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Val Glu		
325	330	335
Asn Asp Leu Tyr Asp Val Leu Pro Ser Asp Phe Ser Lys Lys Asp Tyr		
340	345	350
Lys Leu Val Val Glu Asp Gly Lys Val His Ala Asp Tyr Pro Arg Glu		
355	360	365
Phe Ile Asn Lys Asp Tyr Gly Pro Pro Thr Val Glu Val His Gln Pro		
370	375	380
Ile Ile Gln Lys Ala Asn Thr Val Ala Lys Ser Met Trp Glu Glu His		

385	390	395	400
Pro Leu Phe Thr Ile Ile Gly Gly Thr Cys Leu Val Ala Gly Leu Ala			
	405	410	415
Leu Ile Val His Met Ile Ile Asn Arg Leu Phe Arg Lys Arg Lys			
	420	425	430

<210> 8

<211> 431

<212> PRT

<213> 金黄色葡萄球菌

<400> 8

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

245	250	255
Gly Leu Lys Thr Gly Ser Ser Asp Thr Ala Asn Tyr Asn His Thr Ile		
260	265	270
Thr Thr Lys Arg Gly Lys Phe Arg Ile Asn Gln Val Ile Met Gly Ala		
275	280	285
Gly Asp Tyr Lys Asn Leu Gly Gly Glu Lys Gln Arg Asn Met Met Gly		
290	295	300
Asn Ala Leu Met Glu Arg Ser Phe Asp Gln Tyr Lys Tyr Val Lys Ile		
305	310	315
Leu Ser Lys Gly Glu Gln Arg Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Val Glu		
325	330	335
Asn Asp Leu Tyr Asp Val Leu Pro Ser Asp Phe Ser Lys Lys Asp Tyr		
340	345	350
Lys Leu Val Val Glu Asp Gly Lys Val His Ala Asp Tyr Pro Arg Glu		
355	360	365
Phe Ile Asn Lys Asp Tyr Gly Pro Pro Thr Val Glu Val His Gln Pro		
370	375	380
Ile Ile Gln Lys Ala Asn Thr Val Ala Lys Ser Met Trp Glu Glu His		
385	390	395
Pro Leu Phe Thr Ile Ile Gly Gly Thr Cys Leu Val Ala Gly Leu Ala		
405	410	415
Leu Ile Val His Met Ile Ile Asn Arg Leu Phe Arg Lys Arg Lys		
420	425	430

<210> 9

<211> 1158

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码 SEQ ID NO: 2 的核酸

<400> 9

```

atggetagca ctaacagtga cgtaaccocot gtacaagcag caaatcaata tggttatgca 60
ggtttgtcgg ctgcatacga accgacgagt gctgttaatg taagtcaaac tggacaatta 120
ctgtatcaat acaatatcga tactaagtgg aatccagcgt ctatgactaa attaatgaca 180
atgtacttaa cattggaagc tgtaaataag gggcagcttt cacttgatga cacagtcaca 240
atgacgaaca aagaatatat tatgtctaca ctacctgagt tgagtaatac gaaactatat 300
cctggacaag tatggacaat cgcagaccta ttacaaatta cagtatctaa ttctagtaat 360
gcgcggcat taatttttagc taagaagggt tcaaaaaaca ccagcgattt cgttgattta 420
atgaataaca aagctaaagc tatcggaatg aaaaatacac atttcgtcaa tccaacgggt 480
gctgaaaatt caagattacg tacatttgca ccaacaaagt ataaagacca agaacgtact 540
gtaacgactg ctagagacta tgccatttta gatttacacg tgattaaaga gacacctaaa 600

```

```
atattagact ttacaaagca gttagcacca acaogcatg cagttacgta ttacacattc 660
aacttttcat tggaagggtc aaaaatgagt ttgccgggta cagatgggtt aaaaactgga 720
tcaagtgata cagcaaatta caaccatacg attactacca aacgaggtaa atttagaatt 780
aatcaagtta tcatgggtgc aggagactat aaaaaccttg gtggcgagaa gcaacgtaat 840
atgatgggga atgcattaat ggaacgctca tttgatcagt ataaatatgt aaaaatattg 900
tctaaagggtg agcaaaggat aaatggtaag aaatattatg ttgaaaatga tctttacgat 960
gttttaccaa gtgattttag taaaaaagat tataaacttg tagtogaaga tggtaaagta 1020
cacgoggact atccaagaga atttattaat aaagattatg gacotccaac tgtagaagtt 1080
catcagccaa ttattcaaaa ggcaaatact gttgctaaaa gtatgtggga actcgagcac 1140
caccaccacc accactga 1158
```

MASTNSDVTFPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVVSQTGQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTMYLTLEAVNKGQLSL
DDTVTMTNKEYIMSTLPELSNTKLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVSKNTSDFVDLMNNKAKAIGM
KNTHFVNPTGAENSRLRTFAPTKYKDQERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTYTTFNFSLE
GAKMSLPGTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEKQRNMGMGNALMERSFDQYKYVKIL
SKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSCKDYKLVVEDGKVHADYPREFINKDYGPPTVEVEHQPIIQKANTVAKSM
WELEHHHHHH

图 1

```

SEQ ID NO: 7 --MKNLISIIIIILCLTSLIMTPYAQATNSDVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
SEQ ID NO: 8 --MKNLISIIIIILCLTSLIMTPYAQATNSDVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
SEQ ID NO: 3 --MKNLISIIIIILCLTSLIMTPYAQATNSDVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
SEQ ID NO: 1 -----TNSDVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
SEQ ID NO: 4 --MKNLISIIIIILCLTSLIMTPYAQAANS DVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
SEQ ID NO: 6 --MKNLISIIIIILCLTSLIMTPYAQAANS DVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
SEQ ID NO: 5 --MKNLISIIIIILCLTSLIMTPYAQATNSDVTTPVQAANQYGYAGLSAAYEPTSAVNVQSQT
1.....10.....20.....30.....40.....50.....

SEQ ID NO: 7 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
SEQ ID NO: 8 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
SEQ ID NO: 3 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
SEQ ID NO: 1 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
SEQ ID NO: 4 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
SEQ ID NO: 6 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
SEQ ID NO: 5 GQLLYQYNIDTKWNPASMTKLMTYLTL EAVNKGQSLDDTVTMTNKEYIMSTLPELSNT
61.....70.....80.....90.....100.....110.....

SEQ ID NO: 7 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
SEQ ID NO: 8 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
SEQ ID NO: 3 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
SEQ ID NO: 1 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
SEQ ID NO: 4 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
SEQ ID NO: 6 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
SEQ ID NO: 5 KLYPGQVWTIADLLQITVSNSSNAAALILAKKVS KNTSDFV DLMNNKAKAIGMKNTHFVN
121.....130.....140.....150.....160.....170.....

SEQ ID NO: 7 PTGAENSRLRTFAPTKYKDQ EATVSTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
SEQ ID NO: 8 PTGAENSRLRTFAPTKYKDQ ERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
SEQ ID NO: 3 PTGAENSRLRTFAPTKYKDQ ERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
SEQ ID NO: 1 PTGAENSRLRTFAPTKYKDQ ERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
SEQ ID NO: 4 PTGAENSRLRTFAPTKYKDQ ERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
SEQ ID NO: 6 PTGAENSRLRSFAPTKYKDQ ERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
SEQ ID NO: 5 PTGAENSRLRSFAPTKYKDQ ERTVTTARDYAILDLHVIKETPKILDFTKQLAPTTHAVTY
181.....190.....200.....210.....220.....230.....

SEQ ID NO: 7 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
SEQ ID NO: 8 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
SEQ ID NO: 3 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
SEQ ID NO: 1 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
SEQ ID NO: 4 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
SEQ ID NO: 6 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
SEQ ID NO: 5 YTFNFSLEGAKMSLP GTDGLKTGSSDTANYNHTITTKRGKFRINQVIMGAGDYKNLGGEK
241.....250.....260.....270.....280.....290.....

SEQ ID NO: 7 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILSKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
SEQ ID NO: 8 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILSKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
SEQ ID NO: 3 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILSKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
SEQ ID NO: 1 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILSKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
SEQ ID NO: 4 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILPKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
SEQ ID NO: 6 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILSKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
SEQ ID NO: 5 QRNMGNALMERSFDQYKYVKILSKGEQRINGKKYYVENDLYDVLPSDFSKKDYKLVVED
301.....310.....320.....330.....340.....350.....

```

图 2A

SEQ ID NO: 7 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWEEHPLFTTIIGGTCLVAGLALI
SEQ ID NO: 8 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWEEHPLFTTIIGGTCLVAGLALI
SEQ ID NO: 3 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWEEHPLFTTIIGGTCLVAGLALI
SEQ ID NO: 1 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWE-----
SEQ ID NO: 4 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWEEHPLFTTIIGGACLVAGLALI
SEQ ID NO: 6 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWEEHPLFTTIIGGACLVAGLALI
SEQ ID NO: 5 GKVDHADYPREFINKDYGPPPTVEVHQPIIQKANTVAKSMWEEHPLFTTIIGGACLVAGLALI
361.....370.....380.....390.....400.....410.....

SEQ ID NO: 7 VHMIINRLFRKRK
SEQ ID NO: 8 VHMIINRLFRKRK
SEQ ID NO: 3 VHMIINRLFRKRK
SEQ ID NO: 1 -----
SEQ ID NO: 4 VHMIINRLFRKRK
SEQ ID NO: 6 VHMIINRLFRKRK
SEQ ID NO: 5 VHMIINRLFRKRK
421.....430.

图 2B

ATGGCTAGCACTAACAGTGACGTAACCCCTGTACAAGCAGCAAATCAATATGGTTATGCA GGT TTGTCGGCTGCA
 TACGAACCGACGAGTGCTGTTAATGTAAGTCAAACCTGGACAATTACTGTATCAATACAATATCGATACTAAGTGG
 AATCCAGCGTCTATGACTAAATTAATGACAATGTACTTAACATTGGAAGCTGTAAATAAGGGGCAGCTTTCACCTT
 GATGACACAGTCACAATGACGAACAAGAATATATTATGTCTACACTACCTGAGTTGAGTAATACGAAACTATAT
 CCTGGACAAGTATGGACAATCGCAGACCTATTACAAATTACAGTATCTAATTCTAGTAATGCCGCGGCATTAATT
 TTAGCTAAGAAGGTTTCAAAAAACACCAGCGATTTTCGTTGATTTAATGAATAACAAGCTAAAGCTATCGGAATG
 AAAAATACACATTTTCGTCATCCAACGGGTGCTGAAAATTCAAGATTACGTACATTTGCA CCAACAAGTATAAA
 GACCAAGAACGTACTGTAACGACTGCTAGAGACTATGCCATTTTAGATTTACACGTGATTAAGAGACACCTAAA
 ATATTAGACTTTACAAAGCAGTTAGCACCAACAACGCATGCAGTTACGTATTACACATTC AACTTTTCATTGGAA
 GGTGCAAAAATGAGTTTGCCGGGTACAGATGGTTTAAAAACTGGATCAAGTGATACAGCA AATTACAACCATACG
 ATTACTACCAAACGAGGTAAATTTAGAATTAATCAAGTTATCATGGGTGCAGGAGACTATAAAAACCTTGGTGGC
 GAGAAGCAACGTAATATGATGGGGAATGCATTAATGGAACGCTCATTTGATCAGTATAAATATGTAAAAATATTG
 TCTAAAGGTGAGCAAAGGATAAATGGTAAGAAATATTATGTTGAAAATGATCTTTACGATGTTTACCAAGTGAT
 TTTAGTAAAAAAGATTATAAACTTGTAGTCGAAGATGGTAAAGTACACGCGGACTATCCAAGAGAATTTATTAAT
 AAAGATTATGGACCTCCAACCTGTAGAAGTTCATCAGCCAATTATTCAAAAGGCAAATACT GTTGCTAAAAGTATG
 TGGGAAC TCGAGCACCACCACCACCACCCTGA

图 3

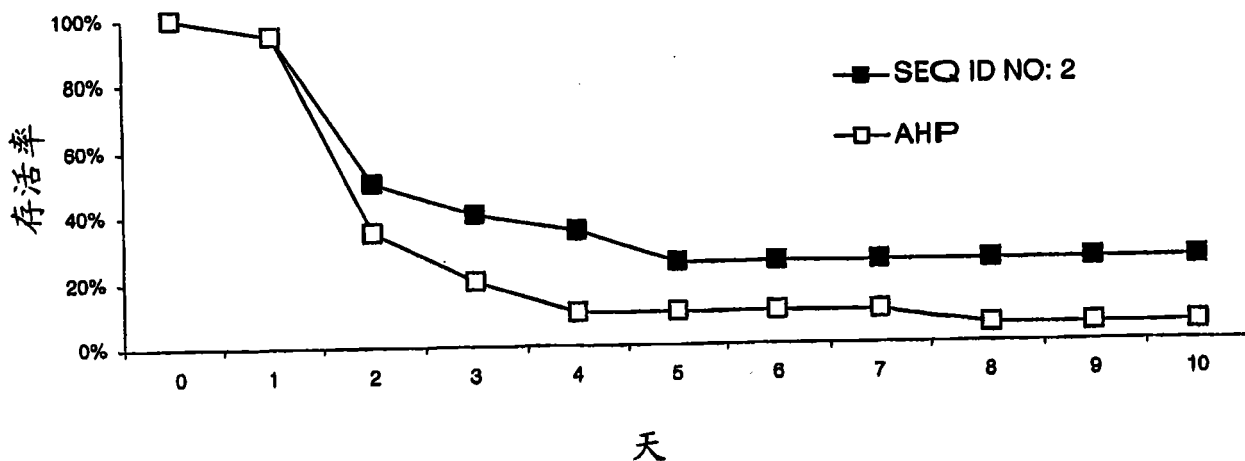


图 4

专利名称(译)	可诱导针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答的多肽		
公开(公告)号	CN101023186A	公开(公告)日	2007-08-22
申请号	CN200580031154.6	申请日	2005-09-13
申请(专利权)人(译)	默克公司		
当前申请(专利权)人(译)	默克公司		
[标]发明人	AS安德森 DL蒙特戈梅里		
发明人	A· S· 安德森 D· L· 蒙特戈梅里		
IPC分类号	C12Q1/68 C07H21/02 G01N33/53 C12N15/00		
CPC分类号	C07K14/31 A61K39/00		
代理人(译)	郭文洁 梁谋		
优先权	60/610814 2004-09-17 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明的特征在于包含与SEQ ID NO：1在结构上相关的氨基酸序列的多肽以及这种多肽的用途。SEQ ID NO：1是金黄色葡萄球菌的一个全长多肽的截短衍生物。在本申请中该全长多肽指的是全长青霉素结合蛋白4 (“PBP4”)。发现SEQ ID NO：1的一个组氨酸标签衍生物可产生针对金黄色葡萄球菌的保护性免疫应答。

MASTNSDVTTFVQAANQYGYAGLSAAETPTSAVWVSQTGQLLYQVNIPTKWNPASHTKLMTHYITLNAVNGQLSL
DDTYTWTKKEYIMSTLPELGNTKLYPQVWYIADLLQITVNSGNAALLILAKTVSKNTSDFTLNNKAKAIQM
KNTFTVNPISAEISRLETFAPTKYDQERTVYIADYALDLAVIKETPKILDFTTKQLAPTHAVTYTTFNFSLE
GAKMSLPQTDGLKTSSTANTYNTHTYTKRGTFRINQYIMGAGDYKSLGCKQRMMGMALMERSTDQYKYKIL
SKGEQRINGKITYYENDLYDVLPSDFSKDYKLIVEDGKYHADYPRFTINKDYQPPPTVEVEQPIIQANTVAKSM
WELKHIIHHHH