



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101899416 A

(43) 申请公布日 2010. 12. 01

(21) 申请号 201010184728. 6	<i>A61P 11/00</i> (2006. 01)
(22) 申请日 2010. 05. 27	<i>A61P 19/02</i> (2006. 01)
(83) 生物保藏信息	<i>A61P 19/04</i> (2006. 01)
3846 2010. 05. 24	<i>A61P 3/10</i> (2006. 01)
(71) 申请人 中国科学院生物物理研究所	<i>A61P 17/00</i> (2006. 01)
地址 100026 北京市朝阳区大屯路 15 号	<i>A61P 9/10</i> (2006. 01)
(72) 发明人 唐捷 杭海英 王云波 贾俊英	<i>A61P 1/16</i> (2006. 01)
索塔林 周洪哲	<i>A61P 31/12</i> (2006. 01)
(74) 专利代理机构 杭州新源专利事务所 (普通 合伙) 33234	<i>G01N 33/577</i> (2006. 01)
代理人 李大刚 孙玉英	
(51) Int. Cl.	
<i>C12N 5/10</i> (2006. 01)	
<i>C07K 16/24</i> (2006. 01)	
<i>C12N 15/13</i> (2006. 01)	
<i>A61K 39/395</i> (2006. 01)	
<i>A61P 29/00</i> (2006. 01)	
<i>A61P 37/02</i> (2006. 01)	
<i>A61P 31/00</i> (2006. 01)	

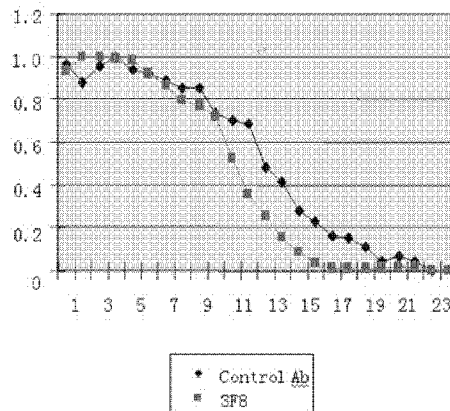
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 1 页

(54) 发明名称

重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 及其应用

(57) 摘要

本发明公开了重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 及其应用。一种抗体,其重链可变区具有序列表中序列 1 所示的氨基酸残基序列,其轻链可变区具有序列表中序列 3 所示的氨基酸残基序列。实验证明重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 分泌的单克隆抗体与人 TNF  $\alpha$  的解离常数分别为 3nM,生物活性 EC50 为 0.6nM。上述单克隆抗体及其衍生物能够高亲和力和特异性识别肿瘤坏死因子  $\alpha$ ,并中和其生物学活性,可以用于治疗类风湿关节炎和强直性脊柱炎等自身免疫性疾病。



1. 重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 CGMCC No. 3846。
2. 重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 CGMCC No. 3846 分泌的单克隆抗体及其衍生物,所述单克隆抗体的衍生物为单链抗体、Fab 片段或人-鼠嵌合抗体。
3. 根据权利要求 2 所述的单克隆抗体及其衍生物,其特征在于:所述重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 CGMCC No. 3846 分泌的单克隆抗体、由所述单克隆抗体衍生的 Fab 片段或人-鼠嵌合抗体的重链可变区具有序列表中序列 1 的氨基酸残基序列,轻链可变区具有序列表中序列 2 的氨基酸残基序列。
4. 根据权利要求 3 所述的单克隆抗体衍生物,其特征在于:由所述单克隆抗体衍生的人-鼠嵌合抗体的轻链具有序列表中序列 8 的氨基酸残基序列,重链具有序列表中序列 9 的氨基酸残基序列。
5. 根据权利要求 2 所述的单克隆抗体及其衍生物,其特征在于:由所述单克隆抗体衍生的单链抗体具有序列表中序列 3 的氨基酸残基序列。
6. 权利要求 2-5 中任一项所述的单克隆抗体及其衍生物的编码基因。
7. 根据权利要求 6 所述的编码基因,其特征在于:由所述单克隆抗体衍生的人-鼠嵌合抗体的轻链编码基因具有序列表中序列 6 的核苷酸序列,重链编码基因具有序列表中序列 7 的核苷酸序列。
8. 权利要求 2-5 中任一项所述的单克隆抗体及其衍生物在制备药物中的应用,所述药物为治疗由人 TNF- $\alpha$  参与的炎症反应的药物、由人 TNF- $\alpha$  参与的自身免疫性疾病或器官损伤性疾病的药物。
9. 根据权利要求 8 所述的应用,其特征在于:所述炎症反应为败血症,全身炎症反应综合症或急性肺损伤;所述自身免疫性疾病为类风湿性关节炎,糖尿病或红斑狼疮;所述器官损伤性疾病为心肌梗塞,脑梗,药物性或病毒性肝损伤。
10. 权利要求 2-5 中任一项所述的单克隆抗体及其衍生物在检验人 TNF- $\alpha$  中的应用。

## 重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及抗瘤坏死因子的单克隆抗体及其应用。

### 背景技术

[0002] 自身免疫性疾病是威胁人类健康的慢性病,由于类风湿关节炎和强直性脊柱炎等病致残的人数超出交通事故。

[0003] 早期用于治疗类风湿性关节炎症状以及维持患者生活质量的药物为非甾体类抗炎药,比如阿司匹林、奈普生和 COX-2 抑制剂,这些药物都可以缓解疼痛和炎症反应。甾体激素也和非甾体类抗炎药联合使用已进一步减轻炎症反应,这种联合治疗可以获得更强的短期抗炎效果,但这种效果随着时间推移而逐渐减少直至消失。

[0004] 另一类治疗类风湿性关节炎的药物称为 DMARDs(disease-modifying antirheumatic drugs),这一类药物不仅是缓解症状,而且可以阻断疾病的发展进程。最常使用的药物为甲氨喋呤,其他药物包括金盐、抗疟药、柳氮磺胺吡啶(Sulphasalazine)、四环素和环孢素。

[0005] 尽管甲氨喋呤对大多数类风湿性关节炎病人都有效,但许多病人无法耐受该药的副作用,大约 50% 的病人最终会停止使用该药。这些病人可以使用一些比较新的生物反应调节剂,如来氟米特(Leflunomide, Arava),但其作用机制和不良反应与甲氨喋呤类似,作为二线治疗药物用于甲氨喋呤无法耐受或治疗失败的患者。

[0006] 上述提及的都属于使用多年的老药,疗效确切,使用量大,但由于为非专利药,价格低廉,因此销售额并不高。近几年开发成功一系列免疫调节剂,这些免疫调节剂属专利药,价格高,为开发厂家带来了巨额利润。最成功的当属肿瘤坏死因子(TNF)抑制剂,大约 30% 中到重度类风湿性关节炎患者会接受 TNF 抑制剂治疗,并且还将往轻到中度患者群渗透。

[0007] 本发明以人 TNF 重组蛋白为抗原免疫小鼠,成功获得多株杂交瘤,能够分泌中和 TNF 生物活性的单克隆抗体,其中一株亲和力达到 3nM,生物活性 EC<sub>50</sub> 为 0.6nM。这个抗体已足以作为我们抗体药物的前体,目前人源化步骤已完成。

### 发明内容

[0008] 本发明的一个目的是提供分泌特异性结合人肿瘤坏死因子的单克隆抗体。

[0009] 本发明所提供的抗体可以为如下 1)、2) 所述的抗体:

[0010] 1) 一种抗体,其重链可变区具有序列表中序列 1 所示的氨基酸残基序列,其轻链可变区具有序列表中序列 3 所示的氨基酸残基序列。

[0011] 2) 由重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 分泌得到的单克隆抗体。

[0012] 上述 1) 中所述抗体的重链可变区的编码基因和轻链可变区的编码基因也属于本发明的保护范围。

[0013] 本发明的另一个目的是提供一种分泌特异性结合人肿瘤坏死因子  $\alpha$  的单克隆抗

体的细胞系。

[0014] 实验证明重组鼠骨髓瘤细胞 NS0-F10 分泌的单克隆抗体人 TNF  $\alpha$  的解离常数为 3nM, 生物活性 EC50 为 0.6nM。

[0015] 上述单克隆抗体能够高亲和力特异性识别肿瘤坏死因子, 并中和其生物学活性, 可以用于治疗类风湿关节炎和强直性脊柱炎等自身免疫性疾病。

### 附图说明

[0016] 图 1 为 ELISA 检测杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体与人 TNF  $\alpha$  的解离曲线 (纵坐标是 ELISA 显色后的光吸收值)

[0017] 图 2 为杂交瘤细胞株 3f8 生物活性的测定。

### 具体实施方式

[0018] 下述实验方法, 如无特别说明, 均为常规方法。

[0019] 下述实施例中所使用的试剂等, 如无特殊说明, 均可从商业途径购买。

[0020] 实施例 1、鼠杂交瘤 3f8 及其分泌的抗肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) 的单克隆抗体的制备和鉴定

[0021] 一、杂交瘤细胞株鼠杂交瘤 3f8 的制备

[0022] 1、抗原的制备:

[0023] 人 TNF  $\alpha$  与结核杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MT) Psts-1 蛋白氨基酸 326-344 小肽 (DQVHFQPLPPAVVKLSDAL) 的融合蛋白 (TNF  $\alpha$ -MT) 的获得: 将编码人 TNF  $\alpha$  的 cDNA 与小肽通过 PCR 方法重组, 得到融合基因 TNF  $\alpha$ -MT; 将融合基因克隆至删除了 GST 编码区的 PET-41a 载体 (Novagen, USA), 克隆的质粒在 DH5  $\alpha$  里扩增, 再经由 BL21 中表达, 得到融合蛋白 TNF  $\alpha$ 。融合蛋白中带有 6 $\times$ his Tag, 通过 Ni-NTA 亲和层析纯化。

[0024] 2、免疫:

[0025] 以步骤 1 得到的融合蛋白作为抗原免疫 NZB/W F1 小鼠, 共免疫三次: 10 微克 TNF  $\alpha$ -MT 加完全弗氏佐剂皮下免疫 (第一次免疫), 14 天后 5 微克 HMGB1-MT 加不完全弗氏佐剂皮下免疫 (第二次免疫)。14 天后 5 微克 HMGB1-MT 加不完全弗氏佐剂皮下第三次免疫; 3 天后的 NZB/W F1 小鼠取脾中的免疫细胞与鼠骨髓瘤 SP2/0 细胞以 5 : 1 比例混合, 用聚乙二醇进行融合, HAT 筛选后得到杂交瘤。

[0026] 3、杂交瘤筛选

[0027] GST-TNF  $\alpha$  重组蛋白的制备: 将人 TNF  $\alpha$  的编码区 (序列如序列表中序列 5 所示) 克隆至 PET-41a 载体 (Novagen, USA) 的 EcoR I 和 HindIII 酶切位点, 转化至 DH5  $\alpha$ , 抗性筛选得到阳性克隆, 提取阳性克隆的质粒, 测序, 结果质粒中 TNF  $\alpha$  的序列及插入方向正确; 将阳性质粒转入大肠杆菌 BL21, 1mM IPTG 诱导表达; 纯化: 融合蛋白中带有 GST Tag, 通过谷胱甘肽亲和层析纯化, 具体步骤是, 将诱导后的菌液 5000rpm 10min 离心收集, 弃上清, 用 PBS 将菌体重悬, 超声破碎, 5000rpm 离心 10min, 弃沉淀, 将上清缓慢通过谷胱甘肽层析柱 (Sigma), 用谷胱甘肽洗脱液将挂在谷胱甘肽层析柱上的融合蛋白洗脱下来, 得到 GST-TNF  $\alpha$  重组蛋白。

[0028] 分泌特异性结合 TNF  $\alpha$  抗体的杂交瘤检测: 以 GST-TNF  $\alpha$  重组蛋白 (10 微克 / 毫

升)作为包被原包板,杂交瘤上清(进行梯度稀释)为一抗,HRP 偶联的羊抗小鼠 IgG 多克隆抗体(R&D Systems)为二抗进行 ELISA 检测。

[0029] 亚克隆:用限制性稀释法多次克隆分泌特异性抗体的杂交瘤细胞,最后获得杂交瘤细胞株鼠杂交瘤抗人 TNF $\alpha$  杂交瘤细胞株 3f8。

[0030] 4、单克隆抗体的制备

[0031] (1) 腹水的制备方法:Balb/C 小鼠腹腔注射降植烷 0.5ml/只十天后,将杂交瘤细胞悬液接种于小鼠腹腔,待小鼠腹腔有明显肿胀后收集腹水,离心取上清。通过蛋白 A/G 亲和层析柱(Pierce)纯化抗体,0.1M Glycine/HCl (pH2.5)洗脱

[0032] (2) 体外培养方法:

[0033] 将已经建立的杂交瘤细胞 3f8 置于细胞培养基中,置于 37°C 和 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养,每隔 2d 换一次细胞培养液,待细胞浓度大于 10<sup>5</sup> 个/ml 时停止换液,持续培养到细胞全部死亡。1500rpm,离心 10 分钟,收集培养上清,上清含有高水平的单克隆抗体,-20°C 保存备用。所述细胞培养基为向 DMEM 培养基中添加胎牛血清,使胎牛血清在细胞培养基中的终浓度为 20% (体积百分含量),所述细胞培养基的 pH 为 7.4。

[0034] 纯化:将体外培养得到的上清进行如下纯化,将上述上清缓慢通过蛋白 A/G 亲和层析柱(Pierce),再用 0.1M Glycine/HCl (pH2.5) 将挂在层析柱上的目的蛋白洗脱下来,得到纯化后的蛋白。

[0035] 5、杂交瘤 3f8 分泌的抗体的性能检测

[0036] (1)ELISA 检测杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体与 HMGB1 的解离曲线。

[0037] 实验方法:用 TNF $\alpha$ -MT(制备方法见步骤 1)(2ug/ml) 作为包被抗原,步骤 4 制备纯化的杂交瘤细胞 3f8 分泌的单抗作为一抗(以 160ug/ml 为起始浓度,二倍二倍进行稀释),羊抗小鼠 IgG-HRP (R&D) (1 : 2000) 为二抗进行 ELISA 测定。

[0038] 实验设 3 次重复,结果如图 1 所示,ELISA 最大读数的 50% 相对应的抗体浓度为抗体的解离常数。表明杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体与 TNF $\alpha$  的解离常数为 3nM。图 1 的横坐标是杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体的浓度。

[0039] (2) 抗体亚型鉴别实验:以 GST-TNF $\alpha$  重组蛋白(10 微克/毫升)包板,杂交瘤上清为一抗,HRP 偶联的大鼠抗小鼠 IgG1, IgG2a, 或 IgG2b 单克隆抗体(BD Pharmingen)为二抗进行 ELISA 检测。实验证明杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体为 IgG2b 亚型。

[0040] (3) 抗体生物活性的测定:

[0041] 实验设 3 次重复,结果如图 2 所示,生物活性 EC50 为 0.6nM。

[0042] 实施例 2、抗 TNF $\alpha$  人源化抗体 pCI-DHFRr-gpt-hu3f8 的制备

[0043] 鼠抗体在人体内会产生免疫排斥反应,因此只能用于急症的治疗,一旦人体内产生针对鼠抗体的抗抗体,作为药物的鼠抗体就会失效。为了克服这一缺点,本发明对鼠抗体进行了人源化,制备了人源化抗体 ch-TNF $\alpha$ 。该抗体的可变区序列来自鼠抗体-杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体,不变区序列来自人 IgG1。这种抗体保持了鼠单抗的抗原结合特异性,同时降低了在人体内诱导的免疫排斥反应。

[0044] 制备人源化抗体的步骤如下:

[0045] 从杂交瘤细胞株 3f8 中分离纯化 mRNA,用 oligo-dT 合成第一链 cDNA。用 PCR 方法分别扩增抗体轻链和重链可变区,轻链引物为 5' GAY ATT GTGMTS ACM CAR WCT MCA 3'

和 5' CTC CAG ATG TTA ACT GCT CAC 3';重链引物为:5' ATG SAR GTN MAGCTG SAG SAG TC 3'和 5' GGT CAA GGTCAC TGG CTC AGG3'。其中,R = G 或 A, Y = T 或 C, M = A 或 C, S = G 或 C, W = T 或 A, N = G 或 A 或 C 或 T。将 PCR 产物分别克隆到 T 载体中测序。结果表明杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体的重链可变区的编码基因具有序列表中序列 6 的核苷酸序列,编码具有序列表中序列 7 的氨基酸残基序列的重链可变区;杂交瘤细胞株 3f8 分泌的单克隆抗体的轻链可变区的编码基因具有序列表中序列 8 的核苷酸序列,编码具有序列表中序列 9 的氨基酸残基序列的轻链可变区。

[0046] 将得到的抗体重链可变区基因和轻链可变区基因人源化,抗体重链可变区的编码基因具有序列表中序列 2 的核苷酸序列,编码具有序列表中序列 1 的氨基酸残基序列。抗体轻链可变区的编码基因具有序列表中序列 4 的核苷酸序列,编码具有序列表中序列 3 的氨基酸残基序列。

[0047] 人源化的单克隆抗体 3f8 的轻链可变区基因与轻链载体 pCI-gpt 的连接:用 PCR 方法将人源化轻链可变区引入 Sal I 和 Xba I 两个酶切位点,引物为 5' ccc agg gtc gac cgg aga cat tgt gct cac cca gtc tcc agcttc 3'和 5' gaa ttt cta gaa gac aat agt gaa aaa tta ctt tgc agc atc3'。人源化的单克隆抗体 3f8 的轻链可变区基因可通过 Sal I 和 Xba I 两个酶切位点插入到载体 pCI-gpt 中,得到 pCI-gpt-hu3f8-VL

[0048] 人源化的单克隆抗体 3f8 的重链可变区基因与轻链载体 pCI-DHFRr 的连接:用 PCR 方法将人源化轻链可变区引入 Not I 和 Xba I 两个酶切位点,引物为 5' ggt ggc ggc cgc aac agg tgc cca ctc cca ggt cca act ggtcca g 3'和 5' aag ctc tag aag aca ata gtg aaa aat tac tta ccg cttgag gag ac3'。人源化的单克隆抗体 3f8 的重链链可变区基因可通过 SalI 和 Xba I 两个酶切位点插入到载体 pCI-DHFRr 中,得到 pCI-DHFRr-hu3f8-VH。

[0049] 将 pCI-DHFRr-hu3f8-VH 中的可变区部分和不变区部分用内切酶 NotI/Xho I 切下,插入到 pCI-gpt-hu3f8-VL 的 Not I/Xho I 两个酶切位点中,从而构建出人源化抗体 pCI-DHFRr-gpt-hu3f8。

[0050] 用电转染的方法将含有人源化抗体基因的表达载体 pCI-DHFRr-gpt-hu3f8 导入到哺乳动物细胞 NS/0 (ECACC 购买) 中。用霉酚酸酯 (Mycophenolate) 在含黄嘌呤 (Xanthine) 的培养基中筛选转化细胞,获得稳定转染的细胞株,记作 NS/3f8。

[0051] 细胞 NS/3f8 的培养方法:用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养。

[0052] 序列表

[0053] 序列 1

[0054] Qvqlvqsgselkkpgasvkisckasgytftnygmnwvrqapgkglewmgwintytgeptyadd

[0055] fkgrfvfsltdsvstaylqisslkaedtavyycarrrrsydydvamdywgqgtlvtvss

[0056] 序列 2

[0057] Cagggtccaactgggtccagctctggatctgagctgaagaagcctggagcttctgtcaagatctcc

[0058] tgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgcggcaggtccagga

[0059] aagggttttagagtggatgggctggataaacacctacactggagagccaacatatgctgatgac

[0060] ttcaagggacgggtttgtcttctctttggatacctctgtcagcaactgcctatttgcagatctcg

[0061] tcgctcaaagctgaggacacagctgtctattactgtgcaagaagaagaagctatgattacgac

[0062] gtggctatggactactgggggtcaaggaaccctagtcaccgtctctca

[0063] 序列 3

[0064] Divmtqspdslavslgqratincrasesvdsygnymhwyqqkpgppklliyrasnlesgvp

[0065] drfsgsgsgtdftltiisslqaedvatyyccqsneep1tfgggk1eikradaa

[0066] 序列 4

[0067] Gacattgtgatgaccagctctccagattctttggctgtgtctcttagggcagagggccaccata

[0068] aactgcagagccagtgaaagtgttgatagttatggcaattattttatgcactggatcagcag

[0069] aaaccaggacagccaccaactcctcatctatcgtgcatccaacctagaatctggggtcct

[0070] gacaggttcagtggcagtggtctgggacagacttcacctcaccattagtagtctgcaggt

[0071] gaagatgttgcaacctattactgtcaacaaagtaatgaggagcctctcacgttcggccagggg

[0072] acaaagttggaaataaaacgggctgatgtgca

[0073] 序列 5

[0074] ctccctcagcaaggacagcagaggaccagctaagagggagagaagcaactacagacccccct

[0075] gaaaacaacctcagacgccacatccccctgacaagctgccaggcaggttctcttctctcaca

[0076] tactgaccacggctccacctctctccccctggaaaggacaccatgagcactgaaagcatgat

[0077] ccgggacgtggagctggccgaggaggcgctcccccaagaagacaggggggccccagggctccag

[0078] gcggtgcttgttccctcagcctctctctctctctctgatcgtggcagggcaccaccgctcttctg

[0079] cctgctgcactttggagtgatcgccccccagaggggaagagttccccagggacctctctctaat

[0080] cagccctctggcccaggcagtcagatcatctctctcgaacccccagtgacaagcctgtagccca

[0081] tgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggtgaaccgccgggccaatgcct

[0082] cctggccaatggcgtggagctgagagataaccagctgggtggtgccatcagagggcctgtacct

[0083] catctactcccaggctctcttcaagggccaaggctgccccctccacctgtgctcctcaccia

[0084] caccatcagccgatcgccgtctctaccagaccaaggtcaacctctctctgccaatcaagag

[0085] cccctgccagagggagaccccagagggggctgaggccaagccctgggatgagcccatctatct

[0086] gggaggggtcttccagctggagaagggtgaccgactcagcgtgagatcaatcgccccgacta

[0087] tctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgccccgtgaggaggacgaac

[0088] atccaaccttcccaaacgcctccccctgccccaatcccccttattacccccctctcagacacc

[0089] tcaacctcttctggctcaaaaagagaattgggggcttagggctggaacccaagcttagaactt

[0090] taagcaacaagaccaccacttcgaaacctgggattcaggaatgtgtggcctgcacagtgaagt

[0091] gctggcaaccactaagaattcaaactggggcctccagaactcactggggcctacagctttgat

[0092] cctgacatctggaatctggagaccagggagcctttgggtctggccagaatgctgcaggactt

[0093] gagaagacctcacctagaaattgacacaagtgacccttaggccttctctctccagatgtttc

[0094] cagacttcttgagacacggagcccagccccccatggagccagctccctctatttatgttt

[0095] gcacttgtgattatattatattatattatattatattatattacagatgaatgtatttatttg

[0096] ggagaccgggtatcctgggggaccaatgtaggagctgccttggctcagacatgttttccgt

[0097] gaaaacggagctgaacaataggctgttcccatgtagccccctggcctctgtgcttcttttga

[0098] ttatgttttttaaaatattatctgattaagttgtctaaacaatgctgatttggtgaccaact

[0099] gtcactcattgctgagcctctgctccccaggggagttgtgtctgtaategccctactattcag

[0100] tggcgagaaataaagtttgcttagaaaagaa

[0101] 序列 6

- [0102] Cagtctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaagatctcctgcaaggcttctggg  
[0103] tataccttcacaaactatggaatgaactgggtgaagcaggctccaggaaagggtttaaagtgg  
[0104] atgggctggataaacacctacactggagagccaacatatgctgatgacttcaaggacggttt  
[0105] gccttctctttggaaacctctgccagcactgcctatTTgcagatcaacaacctcaaaaatgag  
[0106] gactcggctacatatttctgtgcaggaagaagaagctatgattacgacgtggctatggactac  
[0107] tggggtcaaggaacctcagtcacccatctcctca  
[0108] 序列 7  
[0109] qsgpelkkpgetvki sckasgytftnygmwvkqapkgklkwmgwintytgeptyaddfkgrf  
[0110] afsletsastaylqinnlknedSATYfcagrrsydydvandywgqtsvtiss  
[0111] 序列 8  
[0112] gacattgtgctcaccagctctccagcttctttggctgtgtctctagggcagagggccaccata  
[0113] tcctgcagagccagtgaaagtgttgatagtTatggcaattatTTTatgcactggtatcagcag  
[0114] aaaccaggacagccacccaaactcctcatctatcgtgcatccaacctagaatctgggatcct  
[0115] gccaggttcagtggcagtggtctgggacagacttcacctcaccattaatcctgtggaggct  
[0116] gatgatgttgcaacctattactgtcaacaaagtaatgaggagcctctcacgttcggctcgggg  
[0117] acaaagttggaaataaaaacgggctgatgctgca  
[0118] 序列 9  
[0119] divltqspaslavslgqratiscrasesvdsygnymhwyqqkpgppklliyrasnlesgip  
[0120] arfsgsgsgtdftltinpvaddvatyyccqsneepLtfsggtkleikradaa



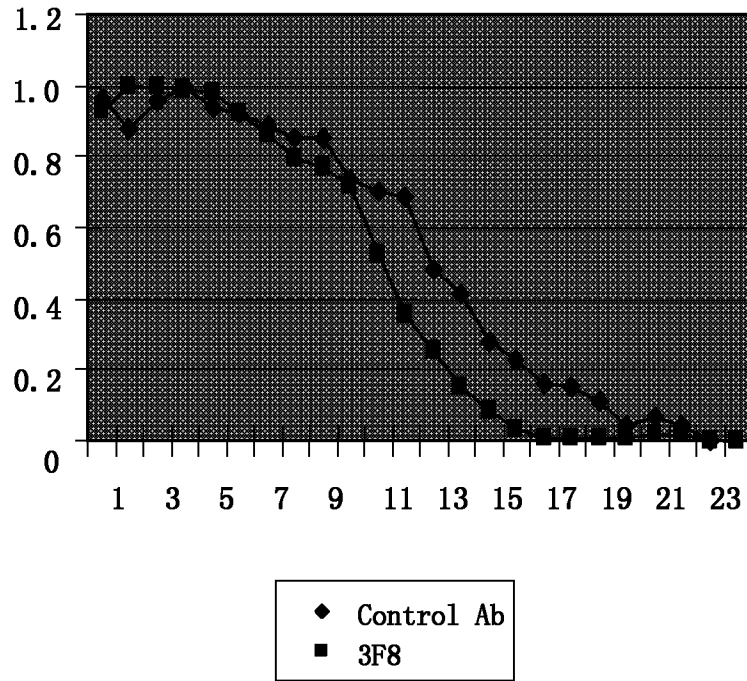


图 1

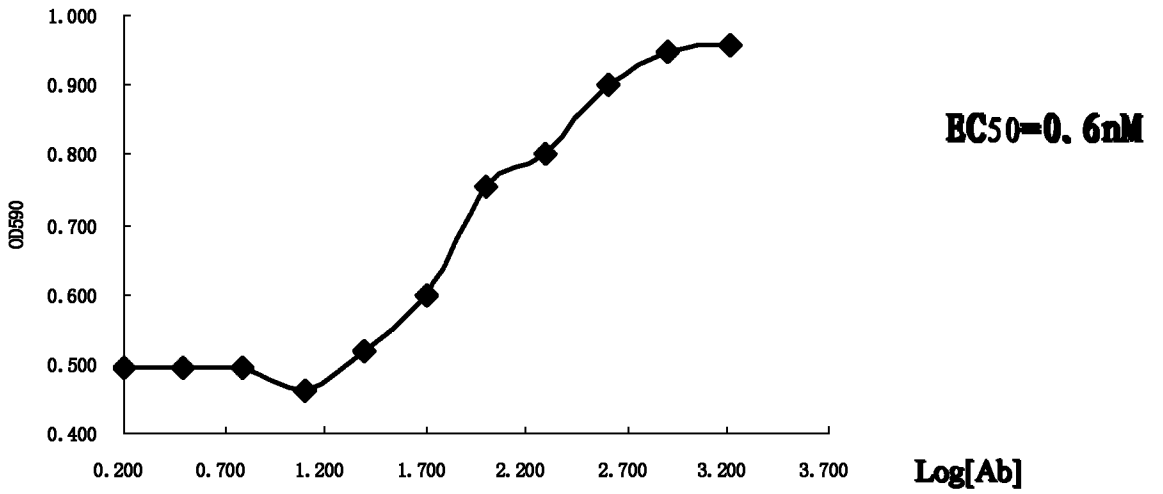


图 2