



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118715325 A

(43) 申请公布日 2024. 09. 27

(21) 申请号 202280091565.8
(22) 申请日 2022.12.16
(30) 优先权数据
2118464.3 2021.12.17 GB
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2024.08.13
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2022/053275 2022.12.16
(87) PCT国际申请的公布数据
W02023/111592 EN 2023.06.22
(71) 申请人 帝国理工创新有限公司
地址 英国伦敦
(72) 发明人 保罗·麦凯 罗宾·沙托克

(74) 专利代理机构 北京汇思诚业知识产权代理有限公司 11444
专利代理师 韩飞 葛强

(51) Int.Cl.
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 15/87 (2006.01)
A61K 39/193 (2006.01)

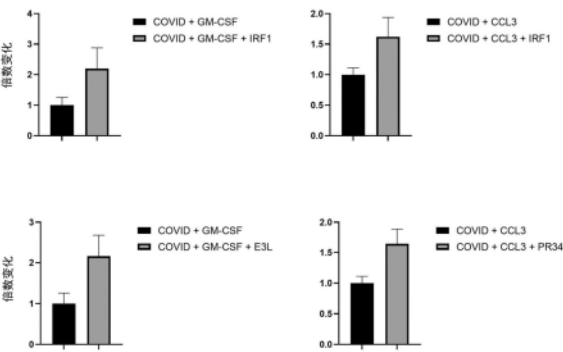
权利要求书2页 说明书90页
序列表（电子公布） 附图8页

(54) 发明名称

RNA构建体

(57) 摘要

本发明涉及RNA构建体,尤其,尽管不是唯一地,涉及mRNA构建体和saRNA复制子以及编码此类RNA构建体的核酸和表达载体。本发明延伸到此类RNA构建体在治疗中,例如在治疗疾病和/或在疫苗递送中的用途。本发明延伸至包含此类RNA构建体的药物组合物以及其方法及其用途。



1. 一种重组RNA构建体,其编码:
 - (a) (i) 至少一种治疗性生物分子;
 - (ii) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP), 和
任选地, (iii) 至少一种人先天调节蛋白 (IMP) 和/或至少一种病毒免疫抑制蛋白 (IIP);或者
 - (b) (i) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP); 和/或
 - (ii) 至少一种人先天调节蛋白 (IMP) 和/或至少一种病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。
2. 根据权利要求1所述的RNA构建体, 其中, 所述构建体包含mRNA或saRNA, 优选为saRNA。
3. 根据前述权利要求中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述RNA构建体包含或衍生自正链RNA病毒, 所述正链RNA病毒选自由以下组成的属的组: 甲病毒属; 小核糖核酸病毒属; 黄病毒属; 风疹病毒属; 瘟病毒属; 肝炎病毒属; 杯状病毒属和冠状病毒属, 优选地为甲病毒属, 任选地VEEV。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述免疫刺激蛋白 (ISP) 是哺乳动物ISP, 优选地为人ISP。
5. 根据前述权利要求中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP是细胞因子或趋化因子。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP是选自以下的甲种趋化因子: CXCL1、CXCL8、CXCL11和CXCL12, 或其直系同源物。
7. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP是选自以下的乙种趋化因子: CCL1、CCL2、CCL3、CCL20和CCL21, 或其直系同源物。
8. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP是丁种趋化因子, 任选地为CX3CL1, 或其直系同源物。
9. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP是丙种趋化因子, 任选地为XCL1或XCL2, 或其直系同源物。
10. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP是白介素, 任选地, 其中所述白介素是IL-7或IL1-38, 或其直系同源物。
11. 根据权利要求10的RNA构建体, 其中, 所述白介素选自: IL-1b、IL-2、IL-18(37-93)、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-33和IL-36 α , 或其直系同源物。
12. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP选自: 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF); 肿瘤坏死因子 (TNF) α ; 肿瘤坏死因子, 膜型; 肿瘤坏死因子, 可溶形式; TNF β ; BAFF; CD30配体; CD40配体; CD27配体; 和TNFFS10, 或其直系同源物。
13. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP选自: 转化生长因子 α (TGF α); 转化生长因子 β (TGF β); 集落刺激因子 (CSF) 1; CSF2; CSF3, 或其直系同源物。
14. 根据权利要求1至5中任一项所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP选自: 前胸腺素 α ; 胸腺素 α 1; 跨膜Flt3L; 和可溶性sFlt3L。
15. 根据任何前述权利要求所述的RNA构建体, 其中, 所述saRNA包含编码ISP的核苷酸序列和编码IIP的核苷酸序列。
16. 根据权利要求15所述的RNA构建体, 其中, 所述ISP选自由以下组成的组: CCL2、

CCL3、IL-7和GM-CSF。

17. 根据权利要求15或16所述的RNA构建体,其中,IIP选自以下组成的组:IRF-1、E3L和PR34。

18. 根据权利要求15-17中任一项所述的RNA构建体,其中,编码ISP的核苷酸序列设置在编码IIP的核苷酸序列的5'处。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的RNA构建体,其中,所述治疗性生物分子包含治疗性蛋白质,优选地所述蛋白质或肽是抗原,更优选地是病毒抗原。

20. 一种核酸序列,其编码根据前述权利要求任一项所述的RNA构建体。

21. 一种表达盒,其包含根据权利要求20所述的核酸序列。

22. 一种重组载体,其包含根据权利要求21所述的表达盒。

23. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体、根据权利要求20所述的核酸序列、根据权利要求21所述的表达盒或根据权利要求22所述的载体、以及药学上可接受的赋形剂。

24. 一种制备根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体的方法,所述方法包括:

a) i) 将根据权利要求22所述的载体引入到宿主细胞中;和
ii) 在导致产生根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体的条件下培养所述宿主细胞;或
者

b) 根据权利要求22所述的载体转录RNA构建体。

25. 根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体、根据权利要求20所述的核酸序列、根据权利要求21所述的表达盒、根据权利要求22所述的载体或根据权利要求23所述的药物组合物,其用作药物或用于治疗的用途。

26. 根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体、根据权利要求20所述的核酸序列、根据权利要求21所述的表达盒、根据权利要求22所述的载体或根据权利要求23所述的药物组合物,其用于预防、改善或治疗原生动物的、真菌、细菌或病毒感染中的用途。

27. 根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体、根据权利要求20所述的核酸序列、根据权利要求21所述的表达盒、根据权利要求22所述的载体或根据权利要求23所述的药物组合物,其用于预防、改善或治疗癌症的用途。

28. 一种疫苗,其包含根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体、根据权利要求20所述的核酸序列、根据权利要求21所述的表达盒、根据权利要求22所述的载体或根据权利要求23所述的药物组合物。

29. 根据权利要求1至19中任一项所述的RNA构建体、根据权利要求20所述的核酸序列、根据权利要求21所述的表达盒、根据权利要求22所述的载体或根据权利要求23所述的药物组合物,其用于在受试者中刺激免疫应答的用途。

RNA构建体

技术领域

[0001] 本发明涉及RNA构建体,尤其,尽管不是唯一地,涉及mRNA构建体和saRNA复制子,以及编码此类RNA构建体的核酸和表达载体。本发明延伸到此类RNA构建体在治疗中,例如在治疗疾病和/或在疫苗递送中的用途。本发明延伸至包含此类RNA构建体的药物组合物以及其方法及其用途。

背景技术

[0002] 信使RNA (mRNA) 和自扩增 (saRNA) 构建体越来越多地被测试用于疫苗制剂中。然而,如图3和4中所示,使用标准mRNA和saRNA疫苗的问题是与诱导抗病毒(即,干扰素)应答相关的不良事件已经限制了人类中可能有效的RNA的剂量的增加。其原因尚不清楚,但本发明人假设人体先天感知的差异对RNA疗法从实验室转化到临床构成障碍。此外,RNA的先天感知与蛋白质表达抑制相关。

[0003] 如果能够在宿主体内阻断这种先天性免疫应答,那么编码的蛋白就可能得到很好的表达,这对生物治疗是有利的。然而,仍然存在着不能够激发稳健的免疫应答的问题。

[0004] 因此,本领域需要产生新方法,通过所述方法可以在患者体内递送和表达(基于mRNA或基于saRNA的)RNA疗法,使得能够在宿主体内激发稳健的免疫应答。

发明内容

[0005] 本发明人已经研究了包含在本文中称为免疫刺激蛋白(ISP)的分子佐剂,其被并入RNA疫苗中,并且认为其将导致在患者中激发更大的免疫应答。如示例中所述且如图1和图2中所示,本发明人已生产了RNA构建体的众多实施方式,其编码治疗性生物分子(即,目的基因,GOI)和ISP,且在一些实施方式中,还有人先天调节蛋白(IMP)或病毒免疫抑制蛋白(IIP)。ISP驱动或引导对表达的GOI或免疫原,或其中共编码IMP或IIP阻断导致干扰素产生和ISRE刺激或干扰素信号传导的先天信号传导途径的免疫应答的诱导。本质上,所述ISP是分子佐剂,其单独或与GOI一起使用,或与IMP或IIP和GOI一起使用。

[0006] 本领域技术人员将理解,佐剂是一种药理学或免疫学制剂,可以提高疫苗的免疫应答,包括RNA疫苗。可以将佐剂添加到疫苗以增强免疫应答,以产生更多的抗体和更持久的免疫,从而尽量减少所需的特定抗原的剂量,例如病毒、细菌或真菌外壳蛋白等。分子佐剂还可以用于通过帮助在特定类型的免疫系统细胞中修饰免疫应答来增强疫苗的功效,例如,根据疫苗的目的,通过激活T细胞而不是分泌抗体的B细胞。

[0007] 因此,在本发明的第一方面,提供了一种重组RNA构建体,其编码:

[0008] (a) (i) 至少一种治疗性生物分子;

[0009] (ii) 至少一种免疫刺激蛋白(ISP),和

[0010] 任选地,(iii) 至少一种人先天调节蛋白(IMP)和/或至少一种病毒免疫抑制蛋白(IIP);或者

[0011] (b) (i) 至少一种免疫刺激蛋白(ISP);和/或

[0012] (ii) 至少一种人先天调节蛋白 (IMP) 和/或至少一种病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。

[0013] 有利地,并且优选地,本文所述的免疫刺激蛋白 (ISP) 被设计为增强和/或调节对由RNA构建体上的目的基因 (GOI) 编码的治疗性生物分子 (例如,抗原) 的免疫应答。增加对驱动适应性免疫应答的分子事件的理解有助于设计根据本发明的用于RNA疫苗和相应RNA构建体的ISP。此类ISP佐剂可包含RNA编码的信号传导分子,例如细胞因子、趋化因子、免疫共刺激分子、先天免疫或toll样受体激动剂的组分。为了在本文中的RNA疫苗接种中有效,编码的ISP旨在避免对宿主中的RNA表达本身产生任何负面影响。因此,优选地在由GOI编码的治疗性生物分子 (例如,抗原) 的表达、免疫应答的增强之间存在最佳平衡,同时避免或规避RNA翻译和/或复制的任何先天抑制 (例如,在saRNA的情况下)。这可以通过仔细选择不具有或主动抑制限制或减少RNA表达的途径的表达的ISP来实现。在这方面,所述编码治疗性生物分子的GOI可以以增强表达和免疫原性的方式与ISP组合。

[0014] 然而,额外纳入直接阻断RNA表达的先天抑制的因子 (即IMP和/或IIP) 可提供额外的优势。此外,在某些特定的配置中,使用ISP可能会受益于对适应性免疫应答的有利调节,还会触发限制RNA表达的细胞内途径。在这里,ISP与人IMP和/或病毒IIP的结合可以提供额外的优势,确保ISP的正调节功能得到维持,同时减少任何导致RNA GOI表达降低的负先天信号途径的影响。

[0015] 在一个优选的实施方式中,所述重组RNA构建体包含编码以下的核苷酸序列: (i) 至少一种治疗性生物分子; (ii) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP) 和任选的 (iii) 人先天调节蛋白 (IMP) 和/或病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。更优选地,所述重组RNA构建体包含编码以下的核苷酸序列: (i) 至少一种治疗性生物分子; (ii) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP) 和 (iii) 人先天调节蛋白 (IMP) 和/或病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。

[0016] 然而,在另一个实施方式中,所述重组RNA构建体包含编码以下的核苷酸序列: (i) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP) 和/或 (ii) 人先天调节蛋白 (IMP) 和/或病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。因此,所述重组RNA构建体可包含编码以下的核苷酸序列: (i) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP); 或 (ii) 人先天调节蛋白 (IMP) 和/或病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。然而,优选地,所述重组RNA构建体包含编码以下的核苷酸序列: (i) 至少一种免疫刺激蛋白 (ISP) 和 (ii) 人先天调节蛋白 (IMP) 和/或病毒免疫抑制蛋白 (IIP)。优选地,在该实施方式中,所述构建体不编码或包含编码治疗性生物分子的核苷酸序列。

[0017] 已经假定RNA构建体,例如mRNA和saRNA复制子是递送和表达用于疫苗和治疗剂的目的基因的潜在工具。然而,单链mRNA (ssRNA) 和双链RNA (dsRNA) 在细胞内被引发抑制蛋白翻译的应答的先天检测机制检测。因此,所述RNA构建体编码的目的基因的表达显著受损,因此包括saRNA和mRNA的RNA构建体的免疫原性或治疗潜力是有限的。有利地,本发明所述的RNA构建体克服了这个问题,因为它们在各种实施方式中编码 (i) 一种或多种免疫刺激蛋白 (ISP),其增强或修饰对编码的治疗性生物分子的免疫应答和/或 (ii) 一种或多种人先天调节蛋白 (IMP) 或病毒免疫抑制蛋白 (IIP),其减少或消融宿主细胞内转基因表达的下游先天抑制。

[0018] 优选地,所述至少一种IMP和/或IIP能够在用本发明所述的RNA构建体治疗的受试者中抑制对RNA的先天免疫应答。因此,所述IMP可以被描述为先天免疫的调节剂,所述IIP可以被描述为先天免疫抑制剂。

[0019] 有利地,在第一方面所述的RNA构建体中,一种或多种IMP或IIP的存在使得能够与生物治疗分子(即,目标肽或蛋白质)进行双蛋白表达。

[0020] 如实施方式中所述,与常规VEEV RNA复制子或常规RNA相比,令人惊讶地显示了编码GOI和ISP的本发明所述的RNA构建体(也称为“Stealthicon”)增加了GOI表达和/或免疫原性。此外,当IIP或IMP与ISP一起被表达为相同的saRNA或RNA的一部分时,它们已被证明在体外可以增加GOI和ISP表达,从而招募免疫细胞。此外,与单独表达ISP和GOI的RNA相比,这些saRNA或RNA的GOI和/或免疫原性进一步增加。

[0021] 任何方面所述的RNA构建体都可以是单链RNA或双链RNA。

[0022] 本文所述的RNA构建体是“重组的”,这意味着它们不是天然存在的,而是使用了分子生物学技术合成的,例如遗传重组和分子克隆,从而产生自然界中不存在的序列和序列的组合。

[0023] 任何方面所述的RNA构建体都可以包含mRNA或saRNA系统。

[0024] 在一个实施方式中,所述RNA构建体包含mRNA。图1(右侧)示出了所述RNA构建体作为mRNA分子的各种实施方式。

[0025] 在优选的实施方式中,RNA构建体包含自扩增RNA(saRNA)。图1(左侧)示出了所述RNA构建体作为saRNA分子的各种实施方式。技术人员将理解,这样的RNA构建体也可以被称为自复制RNA病毒载体或RNA复制子。

[0026] 优选地,所述saRNA构建体包含或衍生自正链RNA病毒,其选自由以下组成的属的组:甲病毒属;小核糖核酸病毒属;黄病毒属;风疹病毒属;瘟病毒属;肝炎病毒属;杯状病毒属和冠状病毒属。

[0027] 优选地,所述RNA构建体包含或衍生自甲病毒属。合适的野生型甲病毒属序列是熟知的。合适的甲病毒属的代表性实例包括奥拉病毒、比巴鲁病毒、卡巴斯欧病毒、基孔肯雅病毒、东部马脑炎病毒、摩根堡病毒(Fort Morgan)、盖他病毒、孜拉加奇病毒、马雅罗、马雅罗病毒、米德尔堡(Middleburg)、穆坎布病毒、恩杜茂病毒、皮克斯纳病(Pixuna virus)、罗斯河病毒、塞姆利基森林病毒、辛德毕斯病毒、图那特病毒、特里尼蒂病毒(Trinititi)、Una、委内瑞拉马脑炎、西部马脑炎、瓦塔罗阿病毒和Y-62-33。因此,优选地,所述RNA构建体包含或衍生自这些甲病毒属中的任意一种。

[0028] 优选地,所述RNA构建体包含或衍生自病毒,所述病毒选自由以下组成的物种的组的:委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV);肠道病毒71;脑心肌炎病毒;库京病毒以及中东呼吸道综合征病毒。在一个优选地实施方式中,所述RNA构建体包含或衍生自库京病毒。优选地,所述RNA构建体包含或衍生自VEEV。

[0029] 所述免疫刺激蛋白(ISP)优选为哺乳动物ISP。更优选地,所述ISP是灵长类ISP。最优选地,所述ISP是人ISP。应当理解,所述至少一种ISP可以是分子佐剂。

[0030] 所述ISP可以是细胞因子。ISP可以是趋化因子,其可以是甲种趋化因子、乙种趋化因子、丁种趋化因子或丙种趋化因子。

[0031] 在一个优选的实施方式中,所述ISP是甲种趋化因子。因此,在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CXCL1(NCBI参考序列:NM_001511.4;UniProtKB-P09341(GROA_HUMAN)),或其直系同源物。CXCL1的多肽序列(具有跨越残基1-34的信号肽)的一个实施方式在本文中表示为SEQ IDNo:1,如下:

[0032] MARAALSAAPSNPRLLRVALLLLLLVAAGRRAAGASVATELRQCQLQLQGIHPKNIQSVNVKSPG P
HCAQTEVIATLKNGRKACLNPAPIVKKIIIEKMLNSDKSN

[0033] [SEQ ID No:1]

[0034] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:1所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0035] 在一个实施方式中,所述CXCL1多肽由如下所示的SEQ ID No:2的DNA核苷酸序列编码:

[0036] ATGCCCCGCGCTGCTCTCTCCGCCGCCCCCAGCAATCCCCGGCTCCTGCGAGTGGCACTGCTGCTCCTG
CTCCTGGTAGCCGCTGGCCGGCGCGCAGCAGGAGCGTCCGTGGCCACTGAACTGCGCTGCCAGTGCTTGCAGACCCT
GCAGGGAATTACCCCAAGAACATCCAAAGTGTGAACGTGAAGTCCCCCGGACCCCACTGCGCCCAAACCGAAGTCA
TAGCCACACTCAAGAATGGGCGGAAAGCTTGCTCAATCCTGCATCCCCCATAGTTAAGAAAATCATCGAAAAGATG
CTGAACAGTGACAAATCCAAC

[0037] [SEQ ID No:2]

[0038] 因此,优选地,所述CXCL1多肽由基本上如SEQ ID No:2所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0039] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:3的RNA核苷酸序列:

[0040] AUGCCCCGCGCUGCUCUCUCCGCCGCCCCAGCAAUCCCCGGCUCCUGCGAGUGGCACUGCUGCUCUG
CUCCUGGUAGCCGUGGCCGGCGCGCAGCAGGAGCGUCCGUGGCCACUGAACUGCGCUGCCAGUGCUUGCAGACCCU
GCAGGGAAUUCACCCCAAGAACAUCCAAAGUGUGAACGUGAAGUCCCCCGGACCCACUGCGCCCAAACCGAAGUCA
UAGCCACACUCAAGAAUGGGCGGAAAGCUUGCCUCAUCCUGCAUCCCCCAUAGUUAAGAAAAUCAUCGAAAAGAUG
CUGAACAGUGACAAAUCCAAC

[0041] [SEQ ID No:3]

[0042] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:3所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0043] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CXCL8 (IL8) (NCBI参考序列:NM_000584.4;UniProtKB-P10145 (IL8_HUMAN)),或其直系同源物。CXCL8的多肽序列的一个实施方式(具有跨越残基1-20的信号肽)在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:4:

[0044] MTSKLAVALLAFLISAALCEGAVLPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVK
LSDGRELCCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENS

[0045] [SEQ ID No:4]

[0046] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:4所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0047] 在一个实施方式中,所述CXCL8多肽由如下所示的SEQ ID No:5的DNA核苷酸序列编码:

[0048] ATGACTTCCAAGCTGGCCGTGGCTCTCTTGGCAGCCTTCCTGATTTCTGCAGCTCTGTGTGAAGGTGCA
GTTTTGCCAAGGAGTGCTAAAGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAATTTAT
CAAAGAACTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAAATTATTGTAAAGCTTTCTGATGGAAGAG
AGCTCTGTCTGGACCCCAAGGAAAAGTGGGTGCAGAGGGTTGTGGAGAAGTTTTTGAAGAGGGCTGAGAATTCA

[0049] [SEQ ID No:5]

[0050] 因此,优选地,所述CXCL8多肽由基本上如SEQ ID No:5所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0051] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:6的RNA核苷酸序列:

[0052] AUGACUCCAAGCUGGCCGUGGCUCUCUUGGCAGCCUCCUGAUUUCUGCAGCUCUGUGUGAAGGUGCA
GUUUUGCCAAGGAGUGCUAAAAGAACUUAGAUGUCAGUGCAUAAAGACAUACUCCAAACCUUCCACCCCAAUUUUAU
CAAAGAACUGAGAGUGAUUGAGAGUGGACCACACUGCGCCAACACAGAAUUAUUGUAAAGCUUUCUGAUGGAAGAG
AGCUCUGUCUGGACCCCAAGGAAAACUGGGUGCAGAGGGUUGUGGAGAAGUUUUUGAAGAGGGCUGAGAAUUA

[0053] [SEQ ID No:6]

[0054] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:6所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0055] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CXCL10 (NCBI参考序列:NM_001565.4;UniProtKB-P02778(CXL10_HUMAN)),或其直系同源物。CXCL10的多肽序列(信号肽是残基1-

[0056] 21)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:7:

[0057] MNQTAILICCLIFLTLSGIQGVPLSRTVRCISISNPVNPRSLEKLEIIPASQFCPRVEIIATMKK
KGE KRCLNPESKAIKNLLKAVSKERSKRSP

[0058] [SEQ ID No:7]

[0059] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:7所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0060] 在一个实施方式中,CXCL10多肽由如下所示的SEQ ID No:8的DNA核苷酸序列编码:

[0061] ATGAATCAAACCTGCCATTCTGATTTGCTGCCTTATCTTTCTGACTCTAAGTGGCATTCAAGGAGTACCT
CTCTCTAGAACTGTACGCTGTACCTGCATCAGCATTAGTAATCAACCTGTTAATCCAAGGTCTTTAGAAAACTTGA
AATTATTCTGCAAGCCAATTTTGTCCACGTGTTGAGATCATTGCTACAATGAAAAAGAAGGGTGAGAAGAGATGTC
TGAATCCAGAATCGAAGGCCATCAAGAATTTACTGAAAGCAGTTAGCAAGGAAAGGTCTAAAAGATCTCCT

[0062] [SEQ ID No:8]

[0063] 因此,优选CXCL10多肽由基本上如SEQ ID No:8所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0064] 因此,RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:9的RNA核苷酸序列:

[0065] AUGAAUCAAACUGCCAUUCUGAUUUGCUGCCUUAUCUUUCUGACUCUAAGUGGCAUUAAGGAGUACCU
CUCUCUAGAACUGUACGCUGUACCUUGCAUCAGCAUUAAGUAAUCAACCUGUUAUCCAAGGUCUUUAGAAAAACUUGA
AAUUAUCCUGCAAGCCAAUUUUGUCCACGUGUUGAGAUAUUGCUACAAUGAAAAAGAAGGGUGAGAAGAGAUGUC
UGAAUCCAGAAUCGAAGGCCAUCAAGAAUUUACUGAAAGCAGUUAGCAAGGAAAGGUCUAAAAGAUCUCCU

[0066] [SEQ ID No:9]

[0067] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:9所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0068] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CXCL11 (NCBI参考序列:NM_005409.5;UniProtKB-O14625(CXL11_HUMAN)),或其直系同源物。CXCL11的多肽序列(信号肽是残基1-21)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:10:

[0069] MSVKGMAIALAVILCATVVQGFPMPFKRGRCLCIGPGVKAVKVADIEKASIMYPSNNCDKIEVIITLK
ENKGQRCLNPKSKQARLI IKKVERKNF

[0070] [SEQ ID No:10]

[0071] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:10所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0072] 在一个实施方式中,所述CXCL11多肽由如下所示的SEQ ID No:11的DNA核苷酸序列编码:

[0073] ATGAGTGTGAAGGGCATGGCTATAGCCTTGGCTGTGATATTGTGTGCTACAGTTGTTCAAGGCTTCCCC
ATGTTCAAAAGAGGACGCTGTCTTTGCATAGGCCCTGGGGTAAAAGCAGTGAAAGTGGCAGATATTGAGAAAGCCTC
CATAATGTACCCAAGTAACAACGTGACAAAAATAGAAGTGATTATTACCCTGAAAGAAAATAAAGGACAACGATGCC
TAAATCCCAAATCGAAGCAAGCAAGGCTTATAATCAAAAAAGTTGAAAGAAAGAATTTT

[0074] [SEQ ID No:11]

[0075] 因此,优选地,所述CXCL11多肽由基本上如SEQ ID No:11所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0076] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:12的RNA核苷酸序列:

[0077] AUGAGUGUGAAGGGCAUGGCUAUAGCCUUGGCUGUGAUUUGUGUGCUACAGUUGUUAAGGCUUCCCC
AUGUUCAAAAGAGGACGUGUCUUUGCAUAGGCCUGGGGUAAAAGCAGUGAAAGUGGCAGAUUUGAGAAAGCCUC
CAUAAUGUACCCAAGUAACAACUGUGACAAAAUAGAAGUGAUUUAUACCCUGAAAGAAAUAAGGACAACGAUGCC
UAAAUCCCAAUUGAAGCAAGCAAGGCUUAAUUAUAAAAAGUUGAAAGAAAGAAUUUU

[0078] [SEQ ID No:12]

[0079] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:12所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0080] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CXCL12 (NCBI参考序列:NM_000609.7;UniProtKB-P48061(SDF1_HUMAN)),或其直系同源物。CXCL12的多肽序列(信号肽是残基1-21)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:13:

[0081] MNAKVVVVLVLVLTALCLSDGKPVSLSYRCPFRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKN
NRQVCIDPKLKWIQEYLEKALNKRFKM

[0082] [SEQ ID No:13]

[0083] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:13所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0084] 在一个实施方式中,所述CXCL12多肽由如下所示的SEQ ID No:14的DNA核苷酸序列编码:

[0085] ATGAACGCCAAGGTCGTGGTCGTGCTGGTCCTCGTGCTGACCGCGCTCTGCCTCAGCGACGGGAAGCCC
GTCAGCCTGAGCTACAGATGCCCATGCCGATTCTTCGAAAGCCATGTTGCCAGAGCCAACGTCAAGCATCTCAAAAT
TCTCAAACTCCAACTGTGCCCTTCAGATTGTAGCCCGGCTGAAGAACAACAACAGACAAGTGTGCATTGACCCGA
AGCTAAAGTGGATTACAGGAGTACCTGGAGAAAGCTTTAAACAAGAGGTTCAAGATG

[0086] [SEQ ID No:14]

[0087] 因此,优选地,所述CXCL12多肽由基本上如SEQ ID No:14所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0088] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:15的RNA核苷酸序列:

[0089] AUGAACGCCAAGGUCGUGGUCGUGCUGGUCCUCGUGCUGACCGCGCUCUGCCUCAGCGACGGGAAGCCC
GUCAGCCUGAGCUACAGAUGCCCAUGCCGAUUCUUCGAAAGCCAUGUUGCCAGAGCCAACGUCAAGCAUCUAAAAU
UCUCAACACUCCAAACUGUGCCCUUCAGAUUGUAGCCCGGCUGAAGAACAACAACAGACAAGUGUGCAUUGACCCGA
AGCUAAAGUGGAUUCAGGAGUACCUGGAGAAAGCUUUAACAAGAGGUUCAAGAUG

[0090] [SEQ ID No:15]

[0091] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:15所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0092] 在优选的实施方式中,所述ISP是乙种趋化因子,优选CCL1-18中的任意一种,或其直系同源物。因此,在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CCL1 (NCBI参考序列:NM_002981.2;UniProtKB-P22362 (CCL1_HUMAN)),或其直系同源物。CCL1的多肽序列(信号肽跨越残基1-23)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:16:

[0093] MQIITTLVCLLLAGMWPEDVDSKSMQVPFSRCCFSFAEQEIPLRAILCYRNTSSICSNEGLIFKLKRG
KEACALDTVGVQRHRKMLRHCP SKRK

[0094] [SEQ ID No:16]

[0095] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:16所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0096] 在一个实施方式中,所述CCL1多肽由如下所示的SEQ ID No:17的DNA核苷酸序列编码:

[0097] ATGCAGATCATCACACAGCCCTGGTGTGCTTGCTGCTAGCTGGGATGTGGCCGGAAGATGTGGACAGC
AAGAGCATGCAGGTACCTTCTCCAGATGTTGCTTCTCATTGCGGAGCAAGAGATTCCCCTGAGGGCAATCCTGTG
TTACAGAAATACCAGCTCCATCTGCTCCAATGAGGGCTTAATATTCAAGCTGAAGAGAGGCAAAGAGGCCTGCGCCT
TGGACACAGTTGGATGGGTTTCAAGGCACAGAAAAATGCTGAGGCACTGCCCGTCAAAAAGAAAA

[0098] [SEQ ID No:17]

[0099] 因此,优选地,所述CCL1多肽由基本上如SEQ ID No:17所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0100] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:18的RNA核苷酸序列:

[0101] AUGCAGAUCAUACCACAGCCUGGUGUGCUUGCUGCUAGCUGGGAUGUGGCCGGAAGAUGUGGACAGC
AAGAGCAUGCAGGUACCCUUCUCCAGAUUGUUCUUCUUAUUGCGGAGCAAGAGAUUCCCCUGAGGGCAAUCCUGUG
UUACAGAAAAUACCAGCUCAUCUGCUCCAAUGAGGGCUUAAUUAUUAAGCUGAAGAGAGGCAAAGAGGCCUGCGCCU
UGGACACAGUUGGAUGGGUUCAGAGGCACAGAAAAAUGCUGAGGCACUGCCCGUCAAAAAGAAAA

[0102] [SEQ ID No:18]

[0103] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:18所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0104] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CCL2 (NCBI参考序列:NM_002982.3;UniProtKB-P13500 (CCL2_HUMAN)),或其直系同系物。CCL2的多肽序列(信号肽为1-23)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:163:

[0105] MKVSAALLCLLLIAATFIPQGLAQPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCPKEAVIFKTI
VAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQTQTPKT

[0106] [SEQ ID No:163]

[0107] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:163所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0108] 在一个实施方式中,所述CCL2多肽由如下所示的SEQ ID No:164的DNA核苷酸序列编码:

[0109] ATGAAAGTCTCTGCCGCCCTTCTGTGCCTGCTGCTCATAGCAGCCACCTTCATTCCCCAAGGGCTCGCT
CAGCCAGATGCAATCAATGCCCCAGTCACCTGCTGTTATAACTTCACCAATAGGAAGATCTCAGTGCAGAGGCTCGC
GAGCTATAGAAGAATCACCAGCAGCAAGTGTCCCAAAGAAGCTGTGATCTTCAAGACCATTGTGGCCAAGGAGATCT
GTGCTGACCCCAAGCAGAAGTGGGTTTCAGGATTCCATGGACCACCTGGACAAGCAAACCCAAACTCCGAAGACT

[0110] [SEQ ID No:164]

[0111] 因此,优选地,所述CCL2多肽由基本上如SEQ ID No:164所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0112] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:165的RNA核苷酸序列:

[0113] AUGAAAGUCUCUGCCGCCCUUCUGUGCCUGCUGCUCAUAGCAGCCACCUUCAUCCCCAAGGGCUCGCU
CAGCCAGAUGCAAUCA AUGCCCCAGUCACCUUGCUUUAUAACUUCACCAAUAGGAAGAUCUCAGUGCAGAGGCUCGC
GAGCUAUAAGAAGAAUCACCAGCAGCAAGUGUCCCAAAGAAGCUGUGAUCUUAAGACCAUUGUGGCCAAGGAGAUCU
GUGCUGACCCCAAGCAGAAGUGGGUUCAGGAUCCAUGGACCACCUGGACAAGCAAACCCAAACUCCGAAGACU

[0114] [SEQ ID No:165]

[0115] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:165所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0116] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CCL3 (NCBI参考序列:NM_002983.2; UniProtKB-P10147 (CCL3_HUMAN)),或其直系同源物。CCL3的多肽序列(信号肽为1-23)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:166:

[0117] MQVSTAALAVLLCTMALCNQFSASLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPGVIFLTR
SRQVCADPSEEWVQKYVSDLELSA

[0118] [SEQ ID No:166]

[0119] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:166所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0120] 在一个实施方式中,所述CCL3多肽由如下所示的SEQ ID No:167的DNA核苷酸序列编码:

[0121] ATGCAGGTCTCCACTGCTGCCCTTGCTGTCTCCTCTGCACCATGGCTCTCTGCAACCAGTTCTCTGCA
TCACTTGCTGCTGACACGCCGACCGCTGCTGCTTCAGCTACACCTCCCGGCAGATTCCACAGAATTTTCATAGCTGA
CTACTTTGAGACGAGCAGCCAGTGTCCAAGCCCGGTGTCATCTTCCTAACCAAGCGAAGCCGGCAGGTCTGTGCTG
ACCCAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATATGTCAGCGACCTGGAGCTGAGTGCC

[0122] [SEQ ID No:167]

[0123] 因此,优选地,所述CCL2多肽由基本上如SEQ ID No:167所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0124] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:168的RNA核苷酸序列:

[0125] AUGCAGGUCUCCACUGCUGCCCUUGCUGUCCUCCUCUGCACCAUGGCUCUCUGCAACCAGUUCUCUGCA

UCACUUGCUGCUGACACGCCGACCGCCUGCUGCUUCAGCUACACCUCGCCGAGAUUCCACAGAAUUUCAUAGCUGA
CUACUUUGAGACGAGCAGCCAGUGCUCUCCAGCCGGUGUCAUCUCCUAAACCAAGCGAAGCCGGCAGGUCUGUGCUG
ACCCAGUGAGGAGUGGGUCCAGAAUAUGUCAGCGACCUGGAGCUGAGUGCC

[0126] [SEQ ID No:168]

[0127] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:168所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0128] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CCL20 (NCBI参考序列:NM_004591.3; UniProtKB-P78556 (CCL20_HUMAN)),或其直系同源物。CCL20 (信号肽为1-26)的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:19:

[0129] MCCTKSLLLAALMSVLLHLGGESEAASNFDCCLGYTDRLHPKFIVGFTRQLANEGCDINAIIFHTK
KKLSVCANPKQTWVKYIVRLLSKKVKNM

[0130] [SEQ ID No:19]

[0131] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:19所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0132] 在一个实施方式中,所述CCL20多肽由如下所示的SEQ ID No:20的DNA核苷酸序列编码:

[0133] ATGTGCTGTACCAAGAGTTTGCTCCTGGCTGCTTTGATGTCAGTGCTGCTACTCCACCTCTGCGGCGAA
TCAGAAGCAGCAAGCAACTTTGACTGCTGTCTTGGATACACAGACCGTATTCTTCATCCTAAATTTATTGTGGGCTT
CACACGGCAGCTGGCCAATGAAGGCTGTGACATCAATGCTATCATCTTTCACACAAAGAAAAAGTTGTCTGTGTGCG
CAAATCCAAAACAGACTTGGGTGAAATATATTGTGCGTCTCCTCAGTAAAAAAGTCAAGAACATG

[0134] [SEQ ID No:20]

[0135] 因此,优选地,所述CCL20多肽由基本上如SEQ ID No:20所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0136] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:21的RNA核苷酸序列:

[0137] AUGUGCUGUACCAAGAGUUUGCUCCUGGCUGCUUGAUGUCAGUGCUGCUACUCCACCUCUGCGGCGAA
UCAGAAGCAGCAAGCAACUUUGACUGCUGUCUUGGAUACACAGACCGUAUUCUUAUCCUAAAUUUUAUUGUGGGCUU
CACACGGCAGCUGGCCAAUGAAGGCUUGACAUCAAUGCUAUCUUCACACAAAGAAAAAGUUGUCUGUGUGCG
CAAUCCAAAACAGACUUGGGUGAAAUAAUUGUGCGUCUCCUCAGUAAAAAAGUCAAGAACAUG

[0138] [SEQ ID No:21]

[0139] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:21所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0140] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CCL21 (NCBI参考序列:NM_002989.4; UniProtKB-000585 (CCL21_HUMAN)),或其直系同源物。CCL21 (信号肽为1-23)的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:22:

[0141] MAQSLALSLILVLAFGIPRTQGSDDGAQDCCLKYSQRKIPAKVVRYSYRKQEPSLGCSIPAILFLPRKR
SQAELCADPKELWVQQLMQHLDKTPSPQKPAQGCGRKDRGASKTGKKGKSGSKGCKRTERSQTPKGP

[0142] [SEQ ID No:22]

[0143] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:22所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0144] 在一个实施方式中,所述CCL21多肽由如下所示的SEQ ID No:23的DNA核苷酸序列编码:

[0145] ATGGCTCAGTCACTGGCTCTGAGCCTCCTTATCCTGGTTCTGGCCTTTGGCATCCCCAGGACCCAAGGC
AGTGATGGAGGGGCTCAGGACTGTTGCCTCAAGTACAGCCAAAGGAAGATTCCCGCCAAGGTTGTCCGCAGCTACCG
GAAGCAGGAACCAAGCTTAGGCTGCTCCATCCCAGCTATCCTGTTCTTGCCCCGCAAGCGCTCTCAGGCAGAGCTAT
GTGCAGACCCAAAGGAGCTCTGGGTGCAGCAGCTGATGCAGCATCTGGACAAGACACCATCCCCACAGAAACCAGCC
CAGGGCTGCAGGAAGGACAGGGGGGCTCCAAGACTGGCAAGAAAGGAAAGGGCTCCAAAGGCTGCAAGAGGACTGA
GCGGTCACAGACCCCTAAAGGGCCA

[0146] [SEQ ID No:23]

[0147] 因此,优选地,所述CCL21多肽由基本上如SEQ ID No:23所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0148] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:24的RNA核苷酸序列:

[0149] AUGGCUCAGUCACUGGCUCUGAGCCUCCUUAUCCUGGUUCUGGCCUUUGGCAUCCCCAGGACCCAAGGC
AGUGAUGGAGGGGUCAGGACUGUUGCCUCAAGUACAGCCAAAGGAAGAUUCCCGCCAAGGUUGUCCGCAGCUACCG
GAAGCAGGAACCAAGCUUAGGCUGCUCCAUCCCAGCUAUCCUGUUCUUGCCCCGCAAGCGCUCUCAGGCAGAGCUAU
GUGCAGACCCAAAGGAGCUCUGGGUGCAGCAGCUGAUGCAGCAUCUGGACAAGACACCAUCCCCACAGAAACCAGCC
CAGGGCUGCAGGAAGGACAGGGGGGCCUCCAAGACUGGCAAGAAAGGAAAGGGCUCCAAAGGCUGCAAGAGGACUGA
GCGGUCACAGACCCCUAAAGGGCCA

[0150] [SEQ ID No:24]

[0151] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:24所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0152] 在一个优选的实施方式中,所述ISP是丁种趋化因子。因此,在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CX3CL1或Fractalkine (NCBI参考序列:NM_002996.6;UniProtKB-P78423

[0153] (X3CL1_HUMAN)),或其直系同源物。CX3CL1 (信号肽为1-24)的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:25:

[0154] MAPISLSWLLRLATFCHLTVLLAGQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIIILETRQ
HRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNGGTFEKQIGEVKPRTPPAAGGMDESIVLEPEATGESSSLEPTSSQE
AQRALGTSPLEPTGVTGSSGTRLPPTPKAQDGGPVGTELFRVPPVSTAATWQSSAPHQPGPSLWAEAKTSEAPSTQD
PSTQASTASSPAPEENAPSEGQRVWGQGGSPRPENSLEREEMGPVPAHTDAFQDWGPGSMAHVSVPVSSEGTPSRE
PVASGSWTPKAEEPIHATMDPQRLGVLI TPVPDAQAATRRQAVGLLAFLGLLFC LGVAMFTYQSLQGCPRKMAGEMA
EGLRYIPRSCGSNSYVLVPV

[0155] [SEQ ID No:25]

[0156] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:25所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0157] 在一个实施方式中,所述CX3CL1多肽由如下所示的SEQ ID No:26的DNA核苷酸序列编码:

[0158] ATGGCTCCGATATCTCTGTGCTGGCTGCTCCGCTTGGCCACCTTCTGCCATCTGACTGTCCTGCTGGCT
GGACAGCACCGGTGTGACGAAATGCAACATCACGTGCAGCAAGATGACATCAAAGATACCTGTAGCTTTGCTCAT

CCACTATCAACAGAACCAGGCATCATGCGGCAAACGCGCAATCATCTTGGAGACGAGACAGCACAGGCTGTTCTGTG
CCGACCCGAAGGAGCAATGGGTCAAGGACGCGATGCAGCATCTGGACCGCCAGGCTGCTGCCCTAACTCGAAATGGC
GGCACCTTCGAGAAGCAGATCGGCGAGGTGAAGCCCAGGACCACCCCTGCCGCCGGGGGAATGGACGAGTCTGTGGT
CCTGGAGCCCGAAGCCACAGGCGAAAGCAGTAGCCTGGAGCCGACTCCTTCTTCCCAGGAAGCACAGAGGGCCCTGG
GGACCTCCCCAGAGCTGCCGACGGGCGTGACTGGTTCCCTCAGGGACCAGGCTCCCCCGACGCCAAAGGCTCAGGAT
GGAGGGCCTGTGGGCACGGAGCTTTTCCGAGTGCTCCCGTCTCCACTGCCGCCACGTGGCAGAGTTCTGCTCCCCA
CCAACCTGGGCCCAGCCTCTGGGCTGAGGCAAAGACCTCTGAGGCCCCGTCCACCCAGGACCCCTCCACCCAGGCCT
CCACTGCGTCTCTCCCCAGCCCCAGAGGAGAATGCTCCGTCTGAAGGCCAGCGTGTGTGGGGTCAGGGACAGAGCCCC
AGGCCAGAGAACTCTCTGGAGCGGGAGGAGATGGGTCCCGTGCCAGCGCACACGGATGCCTTCCAGGACTGGGGGCC
TGGCAGCATGGCCACGTCTCTGTGGTCCCTGTCTCCTCAGAAGGGACCCCCAGCAGGGAGCCAGTGGCTTCAGGCA
GCTGGACCCCTAAGGCTGAGGAACCCATCCATGCCACCATGGACCCCCAGAGGCTGGGCGTCCTTATCACTCCTGTCT
CCTGACGCCCAGGCTGCCACCCGGAGGCAGGCGGTGGGGCTGCTGGCCTTCCTTGGCCTCCTTCTTGCCTGGGGGT
GGCCATGTTACCTACCAGAGCCTCCAGGGCTGCCCTCGAAAGATGGCAGGAGAGATGGCGGAGGGCCTTCGCTACA
TCCCCCGGAGCTGTGGTAGTAATTCATATGTCCTGGTGCCCGTG

[0159] [SEQ ID No:26]

[0160] 因此,优选地,所述CX3CL1多肽由基本上如SEQ ID No:26所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0161] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:27的RNA核苷酸序列:

[0162] AUGGCUCGUAUCUCUGUCGUGGUCGUCUCCGCUUGGCCACCUUCUGCCAUCUGACUGUCCUGCUGGCU
GGACAGCACACGGUGUGACGAAAUGCAACAUCACGUGCAGCAAGAUGACAUAAGAUACCUGUAGCUUUGCUCAU
CCACUAUCAACAGAACCAGGCAUCAUGCGGCAAACGCGCAAUCAUCUUGGAGACGAGACAGCACAGGCUGUUCUGUG
CCGACCCGAAGGAGCAAUGGGUCAAGGACGCGAUGCAGCAUCUGGACCGCCAGGCUGCUGCCUAACUCGAAAUGGC
GGCACCUUCGAGAAGCAGAUCCGCGAGGUGAAGCCCAGGACCACCCUGCCGCCGGGGGAUUGGACGAGUCUGUGGU
CCUGGAGCCCGAAGCCACAGGCGAAAGCAGUAGCCUGGAGCCGACUCCUUCUUCCCAGGAAGCACAGAGGGCCCUGG
GGACCUCCCCAGAGCUGCCGACGGGCGUGACUGGUUCCUCAGGGACCAGGCUCUCCCCCGACGCCAAAGGCUCAGGAU
GGAGGGCCUGUGGGCACGGAGCUUUUCCGAGUGCCUCCCGUCUCCACUGCCGCCACGUGGCAGAGUUCUGCUCCCCA
CCAACCUGGGCCCAGCCUCUGGGCUGAGGCAAAGACCUCUGAGGCCCCGUCCACCCAGGACCCCUCCACCCAGGCCU
CCACUGCGUCCUCCCCAGCCCCAGAGGAGAAUGCUCCGUCUGAAGGCCAGCGUGUGUGGGGUCAGGGACAGAGCCCC
AGGCCAGAGAACUCUCUGGAGCGGGAGGAGAUUGGUUCCCGUGCCAGCGCACACGGAUGCCUCCAGGACUGGGGGCC
UGGCAGCAUGGGCCACGUCUCUGUGGUCCUGUCUCCUCAGAAGGGACCCCCAGCAGGGAGCCAGUGGCUUCAGGCA
GCUGGACCCCUAAGGCUGAGGAACCCAUCCAUGCCACCAUGGACCCCCAGAGGCUGGGCGUCCUUAUCACUCCUGUC
CCUGACGCCCAGGCUGCCACCCGGAGGCAGGCGGUGGGGUCUGUGGCCUCCUUGGCCUCCUCUUCUGCCUGGGGGU
GGCCAUGUUCACCUACCAGAGCCUCCAGGGCUGCCUCGAAAGAUGGCAGGAGAGAUGGCGGAGGGCCUUCGCUACA
UCCCCCGGAGCUGUGGUAGUAAUUAUAUGUCCUGGUGCCCGUG

[0163] [SEQ ID No:27]

[0164] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:27所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0165] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CX3CL1或Fracalkine (分泌型;NCBI参考序列:NM 002996.6;UniProtKB-P78423 (X3CL1 HUMAN)),或其直系同源物。分泌CX3CL1

(信号为1-20)的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:28:

[0166] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQAQHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETQRHRLF
CADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNGGTFEKQIGEVKPRTPAAGGMDESIVLEPEATGESSSLEPTPSSQEAQRA
LGTSPLEPTGVTGSSGTRLPPTPKAQDGGPVGTELFRVPPVSTAATWQSSAPHQPGPSLWAEAKTSEAPSTQDPSTQ
ASTASSPAPEENAPSEGQRVWGGQSPRPENSLEREEMGPVPAHTDAFQDWGPGSMAHVSVPVSSEGTPSREPVAS
GSWTPKAEEPIHATMDPQRLGLITPVPDAQAATRRQ

[0167] [SEQ ID No:28]

[0168] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:28所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0169] 在一个实施方式中,所述分泌的CX3CL1多肽由如下所示的SEQ ID No:29的DNA核苷酸序列编码:

[0170] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTCAGCACCAC
GGTGTGACGAAATGCAACATCACGTGCAGCAAGATGACATCAAAGATACCTGTAGCTTTGCTCATCCACTATCAACA
GAACCAGGCATCATGCGGCAAACGCGCAATCATCTTGAGACGAGACAGCACAGGCTGTTCTGTGCCGACCCGAAGG
AGCAATGGGTCAAGGACGCGATGCAGCATCTGGACCGCCAGGCTGCTGCCCTAACTCGAAATGGCGGCACCTTCGAG
AAGCAGATCGGCGAGGTGAAGCCCAGGACCAACCCCTGCCGCCGGGGGAATGGACGAGTCTGTGGTCCTGGAGCCCGA
AGCCACAGGCGAAAGCAGTAGCCTGGAGCCGACTCCTTCTTCCCAGGAAGCACAGAGGGCCCTGGGGACCTCCCCAG
AGCTGCCGACGGGCGTGACTGGTTCCCTCAGGGACCAGGCTCCCCCGACGCCAAAGGCTCAGGATGGAGGGCCTGTG
GGCAGCGAGCTTTTCCGAGTGCTCCCGTCTCCACTGCCGCCACGTGGCAGAGTTCTGCTCCCCACCAACCTGGGCC
CAGCCTCTGGGCTGAGGCAAAGACCTCTGAGGCCCGTCCACCCAGGACCCCTCCACCCAGGCCTCCACTGCGTCTCT
CCCCAGCCCCAGAGGAGAATGCTCCGTCTGAAGGCCAGCGTGTGTGGGGTCAGGGACAGAGCCCCAGGCCAGAGAAC
TCTCTGGAGCGGGAGGAGATGGGTCCCGTGCCAGCGCACACGGATGCCTTCCAGGACTGGGGGCCTGGCAGCATGGC
CCACGTCTCTGTGGTCCCTGTCTCCTCAGAAGGGACCCCCAGCAGGGAGCCAGTGGCTTCAGGCAGCTGGACCCCTA
AGGCTGAGGAACCCATCCATGCCACCATGGACCCCCAGAGGCTGGGCGTCCTTATCACTCCTGTCCCTGACGCCAG
GCTGCCACCCGGAGGCAG

[0171] [SEQ ID No:29]

[0172] 因此,优选地,所述分泌的CX3CL1多肽由基本上如SEQ ID No:29中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0173] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:30的RNA核苷酸序列:

[0174] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUCAGCACCAC
GGUGUGACGAAAUGCAACAUCACGUGCAGCAAGAUGACAUCAAAGAUACCUGUAGCUUUGCUCAUCCACUAUCAACA
GAACCAGGCAUCAUGCGGCAAACGCGCAAUAUCUUGGAGACGAGACAGCACAGGCUGUUCUGUGCCGACCCGAAGG
AGCAAUGGGUCAAGGACGCGAUGCAGCAUCUGGACCGCCAGGCUGCUGCCCUAACUCGAAAUGGCGGCACCUUCGAG
AAGCAGAUCCGCGAGGUGAAGCCAGGACCAACCCUGCCGCCGGGGGAUUGGACGAGUCUGUGGUCCUGGAGCCCGA
AGCCACAGGCGAAAGCAGUAGCCUGGAGCCGACUCCUUCUUCCCAGGAAGCACAGAGGGCCCUGGGGACCUCCCCAG
AGCUGCCGACGGGCGUGACUGGUUCCUCAGGGACCAGGCUCUCCCCGACGCCAAAGGCUCAGGAUGGAGGGCCUGUG
GGCACGGAGCUUUUCCGAGUGCCUCCCGUCUCCACUGCCGCCACUGGCAGAGUUCUGCUCUCCCCACCAACCUGGGCC
CAGCCUCUGGGCUGAGGCAAAGACCUCUGAGGCCCGGUCCACCCAGGACCCUCCACCCAGGCCUCCACUGCGUCCU
CCCCAGCCCCAGAGGAGAAUGCUCCGUCUGAAGGCCAGCGUGUGUGGGGUCAGGGACAGAGCCCCAGGCCAGAGAAC

UCUCUGGAGCGGGAGGAGAUGGGUCCCGUGCCAGCGCACACGGAUGCCUCCAGGACUGGGGGCCUGGCAGCAUGGC
CCACGUCUCUGUGGUCCUGUCUCCUCAGAAGGGACCCCCAGCAGGGAGCCAGUGGCUUCAGGCAGCUGGACCCUA
AGGCUGAGGAACCAUCCAUGCCACCAUGGACCCCCAGAGGCUGGGCGUCCUUAUCACUCCUGUCCUGACGCCAG
GCUGCCACCCGGAGGCAG

[0175] [SEQ ID No:30]

[0176] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:30所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0177] 在一个优选的实施方式中,所述ISP是丙种趋化因子。在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是XCL1 (NCBI参考序列:NM_002995.3;UniProtKB-P47992 (XCL1_HUMAN)),或其直系同源物。XCL1 (信号为1-21)的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:31:

[0178] MRLILALLGICSLTAYIVEGVGSEVSDKRTCVSLLTQRLPVSRIKTYTITEGSLRAVIFITKRGLKV
CA DPQATWVRDVVRSMRKSNTNRNMIQTKPTGTQQSTNTAVTLTG

[0179] [SEQ ID No:31]

[0180] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:31所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0181] 在一个实施方式中,所述XCL1多肽由如下所示的SEQ ID No:32的DNA核苷酸序列编码:

[0182] ATGAGACTTCTCATCCTGGCCCTCCTTGGCATCTGCTCTCTCACTGCATACATTGTGGAAGGTGTAGGG
AGTGAAGTCTCAGATAAGAGGACCTGTGTGAGCCTCACTACCCAGCGACTGCCGTTAGCAGAATCAAGACCTACAC
CATCACGGAAGGCTCCTTGAGAGCAGTAATTTTTATTACCAAACGTGGCCTAAAAGTCTGTGCTGATCCACAAGCCA
CATGGGTGAGAGACGTGGTCAGGAGCATGGACAGGAAATCCAACACCAGAAATAACATGATCCAGACCAAGCCAACA
GGAACCCAGCAATCGACCAATACAGCTGTGACTCTGACTGGC

[0183] [SEQ ID No:32]

[0184] 因此,优选地,所述XCL1多肽由基本上如SEQ ID No:32中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0185] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:33的RNA核苷酸序列:

[0186] AUGAGACUUCUCAUCCUGGCCCCUCCUUGGCAUCUGCUCUCUCACUGCAUACAUUGUGGAAGGUGUAGGG
AGUGAAGUCUCAGAUAAAGAGGACCUGUGUGAGCCUCACUACCCAGCGACUGCCGUAAGCAGAAUCAAGACCUACAC
CAUCACGGAAGGCUCCUUGAGAGCAGUAAUUUUUAUUACCAAACGUGGCCUAAAAGUCUGUGCUGAUCCACAAGCCA
CAUGGGUGAGAGACGUGGUCAGGAGCAUGGACAGGAAAUCCAACACCAGAAUAACAUGAUCCAGACCAAGCCAACA
GGAACCCAGCAAUCGACCAAUACAGCUGUGACUCUGACUGGC

[0187] [SEQ ID No:33]

[0188] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:33所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0189] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是XCL2 (NCBI参考序列:NM_003175.4;UniProtKB-Q9UBD3 (XCL2_HUMAN)),或其直系同源物。XCL2的多肽序列 (信号1-21)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:34:

[0190] MRLILALLGICSLTAYIVEGVGSEVSHRRTCVSLLTQRLPVSRIKTYTITEGSLRAVIFITKRGLKV

CA DPQATWVRDVVRSMRKSNTNRNMIQTKPTGTQQSTNTAVTLTG

[0191] [SEQ ID No:34]

[0192] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:34所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0193] 在一个实施方式中,所述XCL2多肽由如下所示的SEQ ID No:35的DNA核苷酸序列编码:

[0194] ATGAGACTTCTCATCCTGGCCCTCCTTGGCATCTGCTCTCTCACTGCATACATTGTGGAAGGTGTAGGG
AGTGAAGTCTCACATAGGAGGACCTGTGTGAGCCTCACTACCCAGCGACTGCCAGTTAGCAGAATCAAGACCTACAC
CATCACGGAAGGCTCCTTGAGAGCAGTAATTTTTATTACCAAACGTGGCCTAAAAGTCTGTGCTGATCCACAAGCCA
CGTGGGTGAGAGACGTGGTCAGGAGCATGGACAGGAAATCCAACACCAGAAATAACATGATCCAGACCAAGCCAACA
GGAACCCAGCAATCGACCAATACAGCTGTGACCCTGACTGGC

[0195] [SEQ ID No:35]

[0196] 因此,优选地,所述XCL2多肽由基本上如SEQ ID No:35中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0197] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:36的RNA核苷酸序列:

[0198] AUGAGACUUCUCAUCCUGGCCCUCUUGGCAUCUGCUCUCUCACUGCAUACAUUGUGGAAGGUGUAGGG
AGUGAAGUCUCACAUAGGAGGACCUGUGUGAGCCUCACUACCCAGCGACUGCCAGUUAGCAGAAUCAAGACCUACAC
CAUCACGGAAGGCUCCUUGAGAGCAGUAAUUUUUAUACCAAACGUGGCCUAAAAGUCUGUGCUGAUCCACAAGCCA
CGUGGGUGAGAGACGUGGUCAGGAGCAUGGACAGGAAAUCCAACACCAGAAUAACAUGAUCCAGACCAAGCCAACA
GGAACCCAGCAAUCGACCAAUACAGCUGUGACCCUGACUGGC

[0199] [SEQ ID No:36]

[0200] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:36所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0201] 或者,所述ISP可以是白细胞介素。所述白介素可以是IL-138中的任一种,或其直系同源物。在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-1b (NCBI参考序列:NM_000576.3;UniProtKB-P01584(IL1B_HUMAN)),或其直系同源物。IL-1b的多肽序列(可受益于添加的分泌信号的活性形式)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:37:

[0202] MAPVRLNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQDMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLY
LSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEINNKLFESEAQFPNWIISTSAENMPVFLGGTKGGQDITD
FTMQFVSS

[0203] [SEQ ID No:37]

[0204] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:37所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0205] 在一个实施方式中,所述IL-1b多肽由如下所示的SEQ ID No:38的DNA核苷酸序列编码:

[0206] ATGGCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTCCGGGACTCACAGCAAAAAAGCTTGGTGATGTCTGGT
CCATATGAACTGAAAGCTCTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAAGTGGTGTTCTCCATGTCCTTTGTACA
AGGAGAAGAAAGTAATGACAAAATACCTGTGGCCTTGGGCCTCAAGGAAAAGAATCTGTACCTGTCCTGCGTGTTGA

AAGATGATAAGCCCACTCTACAGCTGGAGAGTGTAGATCCCCAAAATTACCCAAAGAAGAAGATGGAAAAGCGATTTGTCTTCAACAAGATAGAAATCAATAACAAGCTGGAATTTGAGTCTGCCAGTTCCCCAACTGGTACATCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCCGTCTTCCTGGGAGGGACCAAAGGCGGCCAGGATATAACTGACTTCACCATGCAATTTGTGTCTTC

[0207] [SEQ ID No:38]

[0208] 因此,优选地,所述IL-1b多肽由基本上如SEQ ID No:38所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0209] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:39的RNA核苷酸序列:

[0210] AUGGCACCUGUACGAUCACUGAACUGCACGCUCCGGGACUCACAGCAAAAAAGCUUGGUGAUGUCUGGUCCAUAUGAACUGAAAGCUCUCCACCUCAGGGACAGGAUAUGGAGCAACAAGUGGUGUUCUCCAUGUCCUUUGUACAAGGAGAAGAAAGUAAUGACAAAAUACCUGUGGCCUUGGGCCUCAAGGAAAAGAAUCUGUACCUGUCCUGCGUGUUGAAGAUGAUAAGCCACUCUACAGCUGGAGAGUGUAGAUCACAAAAAUUACCCAAAGAAGAAGUGGAAAAGCGAUUUGUCUUAACAAGAUAGAAAUCAUAACAAGCUGGAAUUUGAGUCUGCCAGUUCACCAACUGGUACAUCAGCACCCUCAAGCAGAAAACAUGCCCCGUCUCCUGGGAGGGACCAAAGGCGGCCAGGAUAUAACUGACUUCACCAUGCAAUUUGUGUCUCC

[0211] [SEQ ID No:39]

[0212] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:39所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0213] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是具有增强分泌信号的IL-1b(NCBI参考序列:NM_000576.3;UniProtKB-P01584(IL1B_HUMAN)),或其直系同源物。IL-1b的多肽序列(具有添加的分泌信号)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:40:

[0214] MDRAKLLLLLLLLLPQAQAAPVRSNLNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQDMEQQVVFMSFVQG EESNDKIPVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEINNKLFEFSAQFPNWIYSTQ AENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSS

[0215] [SEQ ID No:40]

[0216] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:40所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0217] 在一个实施方式中,所述具有增强分泌信号的IL-1b多肽由如下所示的SEQ ID No:41的DNA核苷酸序列编码:

[0218] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTCCGGGACTCACAGCAAAAAAGCTTGGTGATGTCTGGTCCATATGAACTGAAAGCTCTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAAGTGGTGTCTCCATGTCCTTTGTACAAGGAGAAGAAAGTAATGACAAATACCTGTGGCCTTGGGCCTCAAGGAAAAGAATCTGTACCTGTCCTGCGTGTTGAAAGATGATAAGCCCACTCTACAGCTGGAGAGTGTAGATCCCCAAAATTACCCAAAGAAGAAGATGGAAAAGCGATTTGTCTTCAACAAGATAGAAATCAATAACAAGCTGGAATTTGAGTCTGCCAGTTCCCCAACTGGTACATCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCCGTCTTCCTGGGAGGGACCAAAGGCGGCCAGGATATAACTGACTTCACCATGCAATTTGTGTCTTC

[0219] [SEQ ID No:41]

[0220] 因此,优选地,所述具有增强分泌信号的IL-1b多肽由基本上如SEQ ID No:41所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0221] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:42的RNA核苷酸序列:

[0222] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUCCUUCUGCUGCUGGCCUCAGGCUCAAGCUGCACCUGUACGAUCACUGAACUGCACGCUCGCCGGGACUCACAGCAAAAAAGCUUGGUGAUGUCUGGUCCAUAUGAACUGAAAGCUCUCCACCUCAGGGACAGGAUAUGGAGCAACAAGUGGUGUUCUCCAUGUCCUUUGUACAAGGAGAAGAAAGUAAUGACAAAUAACCUGUGGCCUUGGGCCUCAAGGAAAAAGAAUCUGUACCUGUCCUGCGUGUUGAAAGAUGAUAAAGCCACUCUACAGCUGGAGAGUGUAGAUCCCCAAAAAUUACCCAAAAGAAGAUGGAAAAGCGAUUUGUCUUAACAAGAUAGAAAAUCAAUAACAAGCUGGAAUUUGAGUCUGCCCAGUUCUCCCAACUGGUACAUCAGCACCUCUCAAGCAGAAAAACAUGCCCGUCUUCUGGGAGGGACCAAAGGCGGCCAGGAUAUAACUGACUUCACCAUGCAAUUUGUGUCUUC

[0223] [SEQ ID No:42]

[0224] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:42所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0225] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-2 (NCBI参考序列:NM_000586.4; UniProtKB-P60568 (IL2_HUMAN)),或其直系同源物。IL-2 (信号肽1-20) 的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:43:

[0226] MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

[0227] [SEQ ID No:43]

[0228] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:43所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0229] 在一个实施方式中,所述IL-2多肽由如下所示的SEQ ID No:44的DNA核苷酸序列编码:

[0230] ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAA TAATTACAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAAC ATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTTCACTTA AGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGA ATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACAC TGACT

[0231] [SEQ ID No:44]

[0232] 因此,优选地,所述IL-2多肽由基本上如SEQ ID No:44中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0233] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:45的RNA核苷酸序列:

[0234] AUGUACAGGAUGCAACUCCUGUCUUGCAUUGCACUAAGUCUUGCACUUGUCACAAACAGUGCACCUACU UCAAGUUCUACAAAGAAAACACAGCUACAACUGGAGCAUUUACUGCUGGAUUUACAGAUAUUUUGAAUGGAAUUAA UAAUUACAAGAAUCCCAAAACUCACCAGGAUGCUCACAUUUUAGUUUUACAUGCCCAAGAAGGCCACAGAACUGAAAC AUCUUCAGUGUCUAGAAGAAGAACUAAACCUCUGGAGGAAGUGCUGUAAAUUUAGCUCAAAGCAAAAACUUUCACUUA AGACCCAGGGACUUAUCAGCAAUAUCAACGUAAUAGUUCUGGAACUAAAGGGAUCUGAAACAACAUUCAUGUGUGA AUAUGCUGAUGAGACAGCAACCAUUGUAGAAUUUCUGAACAGAUGGAUUACCUUUUGUCAAGCAUCAUCUCAACAC

UGACU

[0235] [SEQ ID No:45]

[0236] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:45所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0237] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-7 (NCBI参考序列:NM_000880.3; UniProtKB-P13232 (IL7_HUMAN)),或其直系同源物。IL-7的多肽序列(信号肽为1-25)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:169:

[0238] MFHVSFRYIFGLPPLILVLLPVASSDCDIEGKDQKQYESVLMVSIQLLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKR
HICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTITLLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLKE
QKKLNDLCFLKRLLEIKTCWNKILMGTKHEH

[0239] [SEQ ID No:169]

[0240] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:169所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0241] 在一个实施方式中,所述IL-7多肽由如下所示的SEQ ID No:170的DNA核苷酸序列编码:

[0242] ATGTTCCATGTTTCTTTTAGGTATATCTTTGGACTTCCTCCCCTGATCCTTGTCTGTTGCCAGTAGCA
TCATCTGATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAAACAATATGAGAGTGTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATT
GGACAGCATGAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTAACTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTA
ATAAGGAAGGTATGTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCAATTTCTTAAAATGAATAGCACTGGTGATTTT
GATCTCCACTTATTAAGTTTCAGAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTGGCCAGGTTAAAGGAAGAAAACC
AGCTGCCCTGGGTGAAGCCCAACCAACAAAGAGTTTGAAGAAAATAAATCTTTAAAGGAACAGAAAAAACTGAATG
ACTTGTGTTTCCTAAAGAGACTATTACAAGAGATAAAAACTGTTGGAATAAAATTTTGATGGGCACTAAAGAACAC

[0243] [SEQ ID No:170]

[0244] 因此,优选地,所述IL-7多肽由基本上如SEQ ID No:170中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0245] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:171的RNA核苷酸序列:

[0246] AUGUCCAUGUUUCUUUUAGGUUAUAUCUUUGGACUUCCUCCCCUGAUCCUUGUUCUGUUGCCAGUAGCA
UCAUCUGAUUGUGAUUAUGAAGGUAAAAGUAGGCAAACAUAUGAGAGUGUUCUAAUGGUCAGCAUCGAUCAAUAUU
GGACAGCAUGAAAGAAAUGGUAGCAAUUGCCUGAAUAAUGAAUUUAACUUUUUAAAAGACAUUCUGUGAUGCUA
AUAAGGAAGGUUGUUUUUAUCCGUGCUGCUCGCAAGUUGAGGCAAUUUCUUAAAAUGAAUAGCACUGGUGAUUUU
GAUCUCCACUUAUUAAAAGUUUCAGAAGGCACAACAUAUCUGUUGAACUGCACUGGCCAGGUUAAAGGAAGAAAACC
AGCUGCCCUGGGUGAAGCCCAACCAACAAAGAGUUUGGAAGAAAUAUAUCUUUAAAGGAACAGAAAAAACUGAAUG
ACUUGUGUUUCCUAAAGAGACUAUUACAAGAGAUAAAAACUUGUUGGAAUAAAAUUUGAUGGGCACUAAAGAACAC

[0247] [SEQ ID No:171]

[0248] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:171所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0249] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-18 (37-93) (NCBI参考序列:NM_001562.4; UniProtKB-Q14116 (IL18_HUMAN)),或其直系同源物。IL-18 (37-93)的多肽序列(其可受益于信号肽的添加)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:46:

[0250] MYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED

[0251] [SEQ ID No:46]

[0252] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:46所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0253] 在一个实施方式中,所述IL-18(37-93)多肽由如下所示的SEQ ID No:47的DNA核苷酸序列编码:

[0254] ATGTACTTTGGCAAGCTTGAATCTAAATTATCAGTCATAAGAAATTTGAATGACCAAGTTCTCTTCATTGACCAAGGAAATCGGCCTCTATTTGAAGATATGACTGATTCTGACTGTAGAGATAATGCACCCCGGACCATATTTATTATAAGTATGTATAAAGATAGCCAGCCTAGAGGTATGGCTGTAACCTATCTCTGTGAAGTGTGAGAAAAATTTCAACTCTCTCTGTGAGAACAAAATTATTTCTTTAAGGAAATGAATCCTCCTGATAACATCAAGGATACAAAAAGTGACATCATATTCTTTTCAGAGAAGTGTCCCAGGACATGATAATAAGATGCAATTTGAATCTTCATCATACGAAGGATACTTTCTAGCTTGTGAAAAAGAGAGAGACCTTTTAACTCATTTTGAAAAAGAGGATGAATTGGGGGATAGATCTATAATGTTCACTGTTCAAAACGAAGAC

[0255] [SEQ ID No:47]

[0256] 因此,优选地,所述IL-18(37-93)多肽由基本上如SEQ ID No:47中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0257] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:48的RNA核苷酸序列:

[0258] AUGUACUUUGGCAAGCUUGAAUCUAAAUAUCAGUCAUAAGAAUUUGAAUGACCAAGUUCUCUUAUUGACCAAGGAAAUUGGCCUCUAUUUGAAGAUUGACUGAUUCUGACUGUAGAGAUAAUGCACCCCGGACCAUUAUUUAUAUAGUAUGUAUAAAGAUAGCCAGCCUAGAGGUAUGGCUGUAACUAUCUCUGUGAAGUGUGAGAAAAUUUCAUCUCUCCUGUGAGAACAAAAUUAUUCCUUUAAGGAAUGAAUCCUCCUGAUACAUAAGGAUACAAAAAGUGACAUCUAUUCUUUCAGAGAAGUGUCCCAGGACAUGAUAAUAGAUGCAAUUUGAAUCUUAUCAUACGAAGGAUACUUUCUAGCUUGUGAAAAAGAGAGAGACCUUUUUAAACUCAUUUUGAAAAAGAGGAUGAAUUGGGGGAUAGAUCUAUAAUGUACUGUUCAAAACGAAGAC

[0259] [SEQ ID No:48]

[0260] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:48所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0261] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是具有增强信号序列的IL-18(37-93)(NCBI参考序列:NM_001562.4;UniProtKB-Q14116(IL18_HUMAN)),或其直系同源物的。IL-18(37-93)的多肽序列(具有添加的分泌信号)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:49:

[0262] MDRAKLLLLLLLLLPQAQAYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED

[0263] [SEQ ID No:49]

[0264] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:49所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0265] 在一个实施方式中,所述具有增强信号序列的IL-18 (37-93) 多肽由如下所示的SEQ ID No:50的DNA核苷酸序列编码:

[0266] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTTACTTTGGC
AAGCTTGAATCTAAATTATCAGTCATAAGAAATTTGAATGACCAAGTTCTTTCATTGACCAAGGAAATCGGCCTCT
ATTTGAAGATATGACTGATTCTGACTGTAGAGATAATGCACCCCGGACCATATTTATTATAAGTATGTATAAAGATA
GCCAGCCTAGAGGTATGGCTGTAACCTATCTCTGTGAAGTGTGAGAAAAATTTCAACTCTCTCCTGTGAGAACAAAATT
ATTTCTTTTAAGGAAATGAATCCTCCTGATAACATCAAGGATACAAAAAGTGACATCATATTCTTTTCAGAGAAGTGT
CCCAGGACATGATAATAAGATGCAATTTGAATCTTCATCATACGAAGGATACTTTCTAGCTTGTGAAAAAGAGAGAG
ACCTTTTTTAACTCATTTTGAAGAAAGAGGATGAATTGGGGGATAGATCTATAATGTTCACTGTTCAAAACGAAGAC

[0267] [SEQ ID No:50]

[0268] 因此,优选地,所述具有增强信号序列多肽的IL-18 (37-93) 多肽由基本上如SEQ ID No:50中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0269] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:51的RNA核苷酸序列:

[0270] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUUACUUUGGC
AAGCUUGAAUCUAAAUAUCAGUCAUAAGAAAUUUGAAUGACCAAGUUCUCUUAUUGACCAAGGAAAUUGGCCUCU
AUUUGAAGAUUAGACUGAUUCUGACUGUAGAGAUAAUGCACCCCGGACCAUUAUUUAUUAAGUAUGUAUAAAGUA
GCCAGCCUAGAGGUAUGGCUGUAACUAUCUCUGUGAAGUGUGAGAAAAUUUCAACUCUCUCCUGUGAGAACAAAAUU
AUUUCUUUAAGGAAAUAGAAUCCUCCUGAUAAUCAAGGAUACAAAAAGUGACAUCAUUAUCUUUCAGAGAAGUGU
CCCAGGACAUGAUAAUAAGAUGCAAUUUGAAUCUUAUCAUACGAAGGAUACUUUCUAGCUUGUGAAAAAGAGAGAG
ACCUUUUUAAACUCAUUUUGAAAAAAGAGGAUGAAUUGGGGGAUAGAUCUAUAAUGUUCACUGUUCAAAAACGAAGAC

[0271] [SEQ ID No:51]

[0272] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:51所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0273] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-19 (NCBI参考序列:NM_013371.4; UniProtKB-Q9UHD0 (IL19_HUMAN)),或其直系同源物。IL-19的多肽序列(信号肽1-24)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:52:

[0274] MKLQCVSLWLLGTILILCSVDNHGLRRCLISTDMHHIEESFQEIKRAIQAKDTFPNVTILSTLETLQII
KPLDVCCVTKNLLAFYVDRVFKDHQEPNPKILRKISSIANSLYMQKTLRQCQEQRQCHCRQEATNATRVIHNDYDQ
LEVHAAAIKSLGELDVFLAWINKNHEVMFSA

[0275] [SEQ ID No:52]

[0276] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:52所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0277] 在一个实施方式中,所述IL-19多肽由如下所示的SEQ ID No:53的DNA核苷酸序列编码:

[0278] ATGAAGTTACAGTGTGTTTCCCTTTGGCTCCTGGGTACAATACTGATATTGTGCTCAGTAGACAACCAC
GGTCTCAGGAGATGTCTGATTTCCACAGACATGCACCATATAGAAGAGAGTTTCCAAGAAATCAAAGAGCCATCCA
AGCTAAGGACACCTTCCCAAATGTCACTATCCTGTCCACATTGGAGACTCTGCAGATCATTAAGCCCTTAGATGTGT
GCTGCGTGACCAAGAACCTCCTGGCGTTCTACGTGGACAGGGTGTTCAGGATCATCAGGAGCCAAACCCCAAAATC
TTGAGAAAAATCAGCAGCATTGCCAACTCTTTCCTCTACATGCAGAAAACCTCTGCGGCAATGTCAGGAACAGAGGCA

GTGTCACTGCAGGCAGGAAGCCACCAATGCCACCAGAGTCATCCATGACAACTATGATCAGCTGGAGGTCCACGCTG
CTGCCATTAAATCCCTGGGAGAGCTCGACGTCTTTCTAGCCTGGATTAATAAGAATCATGAAGTAATGTTCTCAGCT
[0279] [SEQ ID No:53]

[0280] 因此,优选地,所述IL-19多肽由基本上如SEQ ID No:53所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0281] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:54的RNA核苷酸序列:

[0282] AUGAAGUUACAGUGUGUUUCCCUUUGGCUCCUGGGUACAAUACUGAUUUGUGCUCAGUAGACAACCAC
GGUCUCAGGAGAUGUCUGAUUUCCACAGACAUGCACCAUAUAGAAGAGAGUUUCCAAGAAAUCAAAGAGCCAUCCA
AGCUAAGGACACCUUCCCAAAUGUCACUAUCCUGUCCACAUUGGAGACUCUGCAGAUCAUUAAGCCCUUAGAUGUGU
GCUGCGUGACCAAGAACCUCUGGCGUUCUACGUGGACAGGGUGUUAAGGAUCAUCAGGAGCCAAACCCCAAAUUC
UUGAGAAAAAUACAGCAGCAUUGCCAACUCUUUCCUCUACAUGCAGAAAACUCUGCGGCAAUGUCAGGAACAGAGGCA
GUGUCACUGCAGGCAGGAAGCCACCAUUGCCACCAGAGUCAUCCAUGACAACUAUGAUCAGCUGGAGGUCCACGCUG
CUGCCAUUAAAUCCUGGGAGAGCUCGACGUCUUUCUAGCCUGGAUUAUAAGAAUCAUGAAGUAAUGUUCUCAGCU
[0283] [SEQ ID No:54]

[0284] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:54所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0285] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-20 (NCBI参考序列:NM_018724.4; UniProtKB-Q9NYY1 (IL20_HUMAN)),或其直系同源物。IL-20的多肽序列(信号肽1-24)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:55:

[0286] MKASSLAFSLLSAAFYLLWTPSTGLKTLNLGSCVIATNLQEIRNGFSEIRGSVQAKDGNIDIRILRRT
SLQDTK PANRCCLLRHLLRLYLDRVFNKYQTPDHYTLRKISSLANSLFTIKKDLRLCHAHMTCHCGEEAMKKYSQIL
SHFEKLEPQA AAVVKALGELDILLQWMEETE

[0287] [SEQ ID No:55]

[0288] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:55所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0289] 在一个实施方式中,所述IL-20多肽由如下所示的SEQ ID No:56的DNA核苷酸序列编码:

[0290] ATGAAAGCCTCTAGTCTTGCCCTTCAGCCTTCTCTCTGCTGCGTTTTATCTCCTATGGACTCCTTCCACT
GGACTGAAGACACTCAATTTGGGAAGCTGTGTGATCGCCACAAACCTTCAGGAAATACGAAATGGATTTTCTGAGAT
ACGGGGCAGTGTGCAAGCCAAAGATGGAAACATTGACATCAGAATCTTAAGGAGGACTGAGTCTTTGCAAGACACAA
AGCCTGCGAATCGATGCTGCCTCCTGCGCCATTTGCTAAGACTCTATCTGGACAGGGTATTTAAAACTACCAGACC
CCTGACCATTATACTCTCCGGAAGATCAGCAGCCTCGCCAATTCCTTTCTTACCATCAAGAAGGACCTCCGGCTCTG
TCATGCCCACATGACATGCCATTGTGGGGAGGAAGCAATGAAGAAATACAGCCAGATTCTGAGTCACTTTGAAAAGC
TGGAACCTCAGGCAGCAGTTGTGAAGGCTTTGGGGGAAGTAGACATTCTTCTGCAATGGATGGAGGAGACAGAA

[0291] [SEQ ID No:56]

[0292] 因此,优选地,所述IL-20多肽由基本上如SEQ ID No:56中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0293] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:57的RNA核苷酸序列:

[0294] AUGAAAGCCUCUAGUCUUGCCUUCAGCCUUCUCUCUGCUGCGUUUAUCUCCUAUGGACUCCUCCACU

GGACUGAAGACACUCAUUUUGGGAAGCUGUGUGAUCGCCACAAACCUUCAGGAAUACGAAAUGGAUUUUCUGAGAU
ACGGGGCAGUGUGCAAGCCAAAGAUGGAAACAUUGACAUCAGAAUCUUAAGGAGGACUGAGUCUUUGCAAGACACAA
AGCCUGCGAAUCGAUGCUGCCUCCUGCGCCAUUUGCUAAGACUCUAUCUGGACAGGGUAUUUAAAAACUACCAGACC
CCUGACCAUUUAUCUCUCCGGAAGAUCAGCAGCCUCGCCAAUUCUUUACCAUCAAGAAGGACCUCGGGCUCUG
UCAUGCCCACAUGACAUGCCAUUUGUGGGGAGGAAGCAAUGAAGAAUACAGCCAGAUUCUGAGUCACUUUGAAAAGC
UGGAACCUCAGGCAGCAGUUGUGAAGGCUUUGGGGGAACUAGACAUCUUCUGCAAUGGAUGGAGGAGACAGAA

[0295] [SEQ ID No:57]

[0296] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:57所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0297] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-21 (NCBI参考序列:NM_021803.4; UniProtKB-Q9HBE4 (IL21_HUMAN)),或其直系同源物。IL-21 (信号肽1-24)的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:58:

[0298] MRSSPGNMERIVICLMVIFLGLTVHKSSSQGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS IKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLQK
MIHQHLSRTHGSEDS

[0299] [SEQ ID No:58]

[0300] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:58所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0301] 在一个实施方式中,所述IL-21多肽由如下所示的SEQ ID No:59的DNA核苷酸序列编码:

[0302] ATGAGATCCAGTCCTGGCAACATGGAGAGGATTGTCATCTGTCTGATGGTCATCTTCTTGGGGACACTG
GTCCACAAATCAAGCTCCCAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAATGCGTCAACTTATAGATATTGTTGATCAGCT
GAAAAATTATGTGAATGACTTGGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACAACTGTGAGTGGTCAG
CTTTTTCCTGCTTTCAGAAGGCCCAACTAAAGTCAGCAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAATCAATGTATCAATT
AAAAAGCTGAAGAGGAAACCACCTTCCACAAATGCAGGGAGAAGACAGAAACACAGACTAACATGCCCTTCATGTGA
TTCTTATGAGAAAAAACCCCAAAGAATTCCTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAAGATGATTCATCAGCATC
TGTCCTCTAGAACACACGGAAGTGAAGATTCC

[0303] [SEQ ID No:59]

[0304] 因此,优选地,所述IL-21多肽由基本上如SEQ ID No:59中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0305] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:60的RNA核苷酸序列:

[0306] AUGAGAUCCAGUCCUGGCAACAUGGAGAGGAUUGUCAUCUGUCUGAUGGUCAUCUUCUUGGGGACACUG
GUCCACAAAUCAAGCUCCCAAGGUCAAGAUCGCCACAUGAUUAGAAUGCGUCAACUUAUAGAUUUGUUGAUCAGCU
GAAAAAUUAUGUGAAUGACUUGGUCCUGAAUUCUGCCAGCUCCAGAAGAUAGAGACAAACUGUGAGUGGUCAG
CUUUUUCUGCUUUCAGAAGGCCCAACUAAAGUCAGCAAAUACAGGAAACAAUGAAAGGAUAAUCAUGUAUCAAUU
AAAAAGCUGAAGAGGAAACCACCUUCCACAAUUGCAGGGAGAAGACAGAAACACAGACUAAACUGCCCUUCAUGUGA
UUCUUAUGAGAAAAAACCCCAAAGAAUCCUAGAAAGAUUCAAUCACUUCUCCAAAAGAUGAUUCAUCAGCAUC
UGUCCUCUAGAACACACGGAAGUGAAGAUUCC

[0307] [SEQ ID No:60]

[0308] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:60所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0309] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-22 (NCBI参考序列:NM_020525.5; UniProtKB-Q9GZX6 (IL22_HUMAN)),或其直系同源物。IL-22的多肽序列(信号肽1-33)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:61:

[0310] MAALQKSVSSFLMGTLATSCLLLLALLVQGGAAAPISSHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEASLADNN TDVRLIGEKLFHGVSMSERCYLMKQVLNFTLEEVLPQSDRFQPYMQEVVPFLARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRNVQ KLKDTVKKLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI

[0311] [SEQ ID No:61]

[0312] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:61所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0313] 在一个实施方式中,所述IL-22多肽由如下所示的SEQ ID No:62的DNA核苷酸序列编码:

[0314] ATGGCCGCCCTGCAGAAATCTGTGAGCTCTTTCCTTATGGGGACCCTGGCCACCAGCTGCCTCCTTCTC TTGGCCCTCTTGGTACAGGGAGGAGCAGCTGCGCCCATCAGCTCCCACTGCAGGCTTGACAAGTCCAACCTCCAGCA GCCCTATATCACCAACCGCACCTTCATGCTGGCTAAGGAGGCTAGCTTGGCTGATAACAACACAGACGTTCTGTCTCA TTGGGGAGAACTGTTCCACGGAGTCAGTATGAGTGAGCGTGCTATCTGATGAAGCAGGTGCTGAACCTTCACCCTT GAAGAAGTGCTGTTCCCTCAATCTGATAGGTTCCAGCCTTATATGCAGGAGGTGGTGGCCCTTCTGGCCAGGCTCAG CAACAGGCTAAGCACATGTCATATTGAAGGTGATGACCTGCATATCCAGAGGAATGTGCAAAAGCTGAAGGACACAG TGAAAAAGCTTGGAGAGAGTGAGAGATCAAAGCAATTGGAGAACTGGATTGCTGTTTATGTCTCTGAGAAATGCC TGCATT

[0315] [SEQ ID No:62]

[0316] 因此,优选地,所述IL-22多肽由基本上如SEQ ID No:62中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0317] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:63的RNA核苷酸序列:

[0318] AUGGCCGCCUGCAGAAAUCUGUGAGCUCUUUCCUUAUGGGGACCCUGGCCACCAGCUGCCUCCUUCUC UUGGCCUUCUUGGUACAGGGAGGAGCAGCUGCGCCCAUCAGCUCCACUGCAGGCUUGACAAGUCCAACUCCAGCA GCCCUAUUAUACCAACCGCACCUUAUGCUGGCUAAGGAGGCUAGCUUGGCUGAUACAACACAGACGUUCGUCUA UUGGGGAGAAACUGUCCACGGAGUCAGUAUGAGUGAGCGCUGCUAUCUGAUGAAGCAGGUGCUGAACUUCACCCUU GAAGAAGUGCUGUCCCCUAAUCUGAUAGGUUCCAGCCUUAUAUGCAGGAGGUGGUGCCCUUCCUGGCCAGGCUCAG CAACAGGCUAAGCACAUGUCAUAUUGAAGGUGAUGACCUGCAUAUCCAGAGGAAUGUGCAAAAGCUGAAGGACACAG UGAAAAAGCUUGGAGAGAGUGGAGAGAUCAAAGCAAUUGGAGAACUGGAUUUGCUGUUUAUGUCUCUGAGAAAUGCC UGCAUU

[0319] [SEQ ID No:63]

[0320] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:63所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0321] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-33 (NCBI参考序列:NM_033439.4; UniProtKB-095760 (IL33_HUMAN)),或其直系同源物。IL-33的多肽序列(具有添加的分泌信号)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:64:

[0322] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQAAFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDES
EIIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSVELHKCEKPLPDQAFFVL
HNMHSNCVSFECKTDPGVFIGVDNHLALIKVDSSENLCTENILFKLSET

[0323] [SEQ ID No:64]

[0324] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:64所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0325] 在一个实施方式中,所述IL-33多肽由如下所示的SEQ ID No:65的DNA核苷酸序列编码:

[0326] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGCCTTTGGT
ATATCAGGGGTCCAGAAATATACTAGAGCACTTCATGATTCAAGTATCACAGGAATTCACCTATTACAGAGTATCT
TGCTTCTCTAAGCACATACAATGATCAATCCATTACTTTTGGTTTGGAGGATGAAAGTTATGAGATATATGTTGAAG
ACTTGAAAAAGATGAAAAGAAAGATAAGGTGTTACTGAGTTACTATGAGTCTCAACACCCCTCAAATGAATCAGGT
GACGGTGTGATGGTAAGATGTTAATGGTAACCCCTGAGTCCTACAAAAGACTTCTGGTTGCATGCCAACAACAAGGA
ACACTCTGTGGAGCTCCATAAGTGTGAAAAACCACTGCCAGACCAGGCCTTCTTTGTCCTTCATAATATGCACTCCA
ACTGTGTTTTCATTTGAATGCAAGACTGATCCTGGAGTGTATAGGTGTAAAGGATAATCATCTTGCTCTGATTAA
GTAGACTCTTCTGAGAATTTGTGTACTGAAAATATCTTGTTTAAGCTCTCTGAAACT

[0327] [SEQ ID No:65]

[0328] 因此,优选地,所述IL-33多肽由基本上如SEQ ID No:65所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0329] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:66的RNA核苷酸序列:

[0330] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUGCCUUUGGU
AUAUCAGGGGUCCAGAAUAUACUAGAGCACUUAUGAUUCAAGUAUCACAGGAAUUUACCUAUUACAGAGUAUCU
UGCUUCUCUAAGCACAUACAAUGAUCAAUCCAUAUACUUUUGCUUUGGAGGAUGAAAGUUAUGAGAUUAUGUUGAAG
ACUUGAAAAAAGAUGAAAAAGAAUAAGGUGUUAUGAGUUACUAUGAGUCUACACCCCUCAAUGAAUCAGGU
GACGGUGUUGAUGGUAAGAUGUUAUUGGUAACCCUGAGUCCUACAAAAGACUUCUGGUUGCAUGCCAACAACAAGGA
ACACUCUGUGGAGCUCAUAAGUGUGAAAAACCAUGCCAGACCAGGCCUUCUUUGUCCUUAUAAUUGCACUCCA
ACUGUGUUUCAUUUGAAUGCAAGACUGAUCCUGGAGUGUUUAUAGGUGUAAAGGAUAAUCAUCUUGCUCUGAUUAAA
GUAGACUCUUCUGAGAAUUUGUGUACUGAAAAUAUCUUGUUUAAGCUCUCUGAAACU

[0331] [SEQ ID No:66]

[0332] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:66所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0333] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是IL-36 α (NCBI参考序列:NM_014440.3;UniProtKB-Q9UHA7 (IL36A_HUMAN)),或其直系同源物。具有添加的分泌信号的IL-36 α 多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:67:

[0334] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQAKIDTPQQGSIQDINHRVWLQDQTLIAVPRKDRMSPTIALISCRHVET
LEKDRGNPIYLGGLNGLNLCMCAKVGDPQTLQLKEKDIMDLNQPEPVKSFLFYHSQSGRNSTFESVAFPGWFIAVS
SEGGCPLILTQELGKANTTDFGLTMLF

[0335] [SEQ ID No:67]

[0336] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:67所示的

氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0337] 在一个实施方式中,所述IL-36 α 多肽由如下所示的SEQ ID No:68的DNA核苷酸序列编码:

[0338] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTAAAATTGAC
ACACCTCAGCAGGGGAGCATTCAGGATATCAATCATCGGGTGTGGGTCTTCAGGACCAGACGCTCATAGCAGTCCC
GAGGAAGGACCGTATGTCTCCAGTCACTATTGCCTTAATCTCATGCCGACATGTGGAGACCCTTGAGAAAGACAGAG
GGAACCCCATCTACCTGGGCCTGAATGGACTCAATCTCTGCCTGATGTGTGCTAAAGTCGGGGACCAGCCCACACTG
CAGCTGAAGGAAAAGGATATAATGGATTTGTACAACCAACCCGAGCCTGTGAAGTCCTTTCTCTTCTACCACAGCCA
GAGTGGCAGGAAGTCCACCTTCGAGTCTGTGGCTTTCCCTGGCTGGTTCATCGCTGTCAGCTCTGAAGGAGGCTGTC
CTCTCATCCTTACCCAAGAACTGGGGAAAGCCAACACTACTGACTTTGGGTAACTATGCTGTTT

[0339] [SEQ ID No:68]

[0340] 因此,优选地,所述IL-36 α 多肽由基本上如SEQ ID No:68所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0341] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:69的RNA核苷酸序列:

[0342] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUAAAAUUGAC
ACACCUCAGCAGGGGAGCAUUCAGGAUAUCAUUCGGGUGUGGGUUCUUCAGGACCAGACGCUCAUAGCAGUCCC
GAGGAAGGACCGUAUGUCUCCAGUCACUAUUGCCUUAUUCUCAUGCCGACAUGUGGAGACCCUUGAGAAAGACAGAG
GGAACCCCAUCUACCUGGGCCUGAAUGGACUCAAUCUCUGCCUGAUGUGUGCUAAAGUCGGGGACCAGCCCACACUG
CAGCUGAAGGAAAAGGAUAUAAUGGAUUUGUACAACCAACCCGAGCCUGUGAAGUCCUUCUCUUCUACCACAGCCA
GAGUGGCAGGAACUCCACCUUCGAGUCUGUGGCUUCCCUGGCUGGUUCAUCGCUGUCAGCUCUGAAGGAGGCUGUC
CUCUCAUCCUUAACCAAGAACUGGGGAAAGCCAACACUACUGACUUUGGGUUAACUAUGCUGUUU

[0343] [SEQ ID No:69]

[0344] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:69所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0345] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是肿瘤坏死因子、膜型(NCBI参考序列:NM_000594.4;UniProtKB-P01375(TNFA_HUMAN)),或其直系同源物。肿瘤坏死因子、膜型的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:70:

[0346] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSL
ISPLAQAVRSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYLIYSQVLFKQGQCP
STHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAES
GQVYFGIIAL

[0347] [SEQ ID No:70]

[0348] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:70所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0349] 在一个实施方式中,肿瘤坏死因子、膜型多肽由如下所示的SEQ ID No:71的DNA核苷酸序列编码:

[0350] ATGAGCACTGAAAGCATGATCCGGGACGTGGAGCTGGCCGAGGAGCGCTCCCCAAGAAGACAGGGGGG
CCCCAGGGCTCCAGGCGGTGCTTGTTCCCTCAGCCTCTTCTCCTTCTGATCGTGGCAGGCGCCACCAGCTCTTCTG
CCTGCTGCACTTTGGAGTGATCGGCCCCCAGAGGGAAGAGTTCCCCAGGGACCTCTCTCTAATCAGCCCTCTGGCCC

AGGCAGTCAGATCATCTTCTCGAACCCCGAGTGACAAGCCTGTAGCCCATGTTGTAGCAAACCCTCAAGCTGAGGGG
CAGCTCCAGTGGCTGAACCGCCGGGCCAATGCCCTCCTGGCCAATGGCGTGGAGCTGAGAGATAACCAGCTGGTGGT
GCCATCAGAGGGCCTGTACCTCATCTACTCCCAGGTCCTCTTCAAGGGCCAAGGCTGCCCCCTCCACCCATGTGCTCC
TCACCCACACCATCAGCCGCATCGCCGTCTCCTACCAGACCAAGGTCAACCTCCTCTCTGCCATCAAGAGCCCCTGC
CAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCTGAGGCCAAGCCCTGGTATGAGCCCATCTATCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGA
GAAGGGTGACCGACTCAGCGCTGAGATCAATCGGCCCCGACTATCTCGACTTTGCCGAGTCTGGGCAGGTCTACTTTG
GGATCATTGCCCTG

[0351] [SEQ ID No:71]

[0352] 因此,优选地,肿瘤坏死因子、膜型多肽由基本上如SEQ ID No:71所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0353] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:72的RNA核苷酸序列:

[0354] AUGAGCACUGAAAGCAUGAUCCGGGACGUGGAGCUGGCCGAGGAGGCGUCCCCAAGAAGACAGGGGGG
CCCCAGGGCUCAGGCGGUGCUUUGUCCUCAGCCUCUUCUCCUCCUGAUCGUGGCAGGCGCCACCACGCUCUUCUG
CCUGCUGCACUUUGGAGUGAUCGGCCCCCAGAGGGAAGAGUCCCCAGGGACCUCUCUCUAAUCAGCCCUCUGGGCC
AGGCAGUCAGAUAUCUUCUGAACCCCGAGUGACAAGCCUGUAGCCCAUGUUGUAGCAAACCCUCAAGCUGAGGGG
CAGCUCCAGUGGCUGAACCGCCGGGCCAAUGCCCUCCUGGCCAAUGGCGUGGAGCUGAGAGAUAAACCAGCUGGUGGU
GCCAUCAGAGGGCCUGUACCUCAUCUACUCCAGGUCCUCUUAAGGGCCAAGGCUGCCCCUCCACCCAUGUGCUCUCC
UCACCCACACCAUCAGCCGCAUCGCCGUCUCCUACCAGACCAAGGUCAACCUCCUCUCUGCCAUCAAGAGCCCCUGC
CAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCUGAGGCCAAGCCUGGUAUGAGCCCAUCUAUCUGGGAGGGGUCUUCACGUGGA
GAAGGGUGACCGACUCAGCGCUGAGAUAACUGGCCCCGACUAUCUCGACUUUGCCGAGUCUGGGCAGGUCUACUUUG
GGAUCAUUGCCCUG

[0355] [SEQ ID No:72]

[0356] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:72所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0357] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是肿瘤坏死因子、可溶形式(NCBI参考序列:NM_000594.4;UniProtKB-P01375(TNFA_HUMAN)),或其系同源物。肿瘤坏死因子、可溶性形式的多肽序列(具有添加的分泌信号)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:73:

[0358] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQAVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANGVELRDNQLV
VPSEGLYLIYSQVLFKQGQCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQL
EKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL

[0359] [SEQ ID No:73]

[0360] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:73所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0361] 在一个实施方式中,肿瘤坏死因子、可溶性形式多肽由如下所示的SEQ ID No:74的DNA核苷酸序列编码:

[0362] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGTCAGATCA
TCTTCTCGAACCCCGAGTGACAAGCCTGTAGCCCATGTTGTAGCAAACCCTCAAGCTGAGGGGCAGCTCCAGTGGCT
GAACCGCCGGGCCAATGCCCTCCTGGCCAATGGCGTGGAGCTGAGAGATAACCAGCTGGTGGTGCCATCAGAGGGCC

TGTACCTCATCTACTCCCAGGTCCTCTTCAAGGGCCAAGGCTGCCCCTCCACCCATGTGCTCCTCACCCACACCATC
AGCCGCATCGCCGTCTCCTACCAGACCAAGGTCAACCTCCTCTCTGCCATCAAGAGCCCCTGCCAGAGGGAGACCCC
AGAGGGGGCTGAGGCCAAGCCCTGGTATGAGCCCATCTATCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGAGAAGGGTGACCGAC
TCAGCGCTGAGATCAATCGGCCCCGACTATCTCGACTTTGCCGAGTCTGGGCAGGTCTACTTTGGGATCATTGCCCTG
[0363] [SEQ ID No:74]

[0364] 因此,优选地,肿瘤坏死因子、可溶性形式多肽由基本上如SEQ ID No:74中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0365] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:75的RNA核苷酸序列:

[0366] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUGCAGAUCA
UCUUCUCGAACCCCGAGUGACAAGCCUGUAGCCCAUGUUGUAGCAAACCCUCAAGCUGAGGGGCAGCUCCAGUGGC
GAACCGCCGGGCCAAUGCCCUCCUGGCCAAUGGCGUGGAGCUGAGAGAUAAACCAGCUGGUGGUGCCAUCAGAGGGCC
UGUACCUCAUCUACUCCAGGUCCUCUUAAGGGCCAAGGCUGCCCCUCCACCCAUGUGCUCCUCACCCACACCAUC
AGCCGCAUCGCCGUCUCCUACCAGACCAAGGUCAACCUCUCUGCCAUCAAGAGCCCCUGCCAGAGGGAGACCCC
AGAGGGGGCUGAGGCCAAGCCUGGUAUGAGCCCAUCUAUCUGGGAGGGGUCUCCAGCUGGAGAAGGGUGACCGAC
UCAGCGCUGAGAUCAAUCGGCCCCGACUAUCUCGACUUUGCCGAGUCUGGGCAGGUCUACUUUGGGAUCAUUGCCUG
[0367] [SEQ ID No:75]

[0368] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:75所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0369] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人BAFF、膜型(NCBI参考序列:NM_006573.5;UniProtKB-Q9Y275(TN13B_HUMAN)),或其直系同源物。人BAFF的多肽序列、膜型的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:76:

[0370] MDDSTEREQSRLTSLKKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGLLAATLLLALLSCCLTVVSFYQV
AALQGD LASLRAELQGHHAELPAGAGAPKAGLEEAPAVTAGLKIFEPAPGEGNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDC
LQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAL EEEKENKILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGHLIQRKKVHVFGDE
LSLVTLFRCIQNMPETLPNNSCYSAGIAKLEEGDELQLAIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL

[0371] [SEQ ID No:76]

[0372] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:76所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0373] 在一个实施方式中,所述人BAFF、膜型多肽由如下所示的SEQ ID No:77的DNA核苷酸序列编码:

[0374] ATGGATGACTCCACAGAAAGGGAGCAGTCACGCCTTACTTCTTGCCTTAAGAAAAGAGAAGAAATGAAA
CTGAAGGAGTGTGTTTCCATCCTCCACGGAAGGAAAGCCCCTCTGTCCGATCCTCCAAAGACGGAAAGCTGCTGGC
TGCAACCTTGCTGCTGGCACTGCTGTCTTGCTGCCTCACGGTGGTGTCTTTCTACCAGGTGGCCGCCCTGCAAGGGG
ACCTGGCCAGCCTCCGGGCAGAGCTGCAGGGCCACCACGCGGAGAAGCTGCCAGCAGGAGCAGGAGCCCCCAAGGCC
GGCCTGGAGGAAGCTCCAGCTGTACCGCGGGACTGAAAATCTTTGAACCACCAGCTCCAGGAGAAGGCAACTCCAG
TCAGAACAGCAGAAATAAGCGTGCCGTTCAGGGTCCAGAAGAAACAGTCACTCAAGACTGCTTGCAACTGATTGCAG
ACAGTGAAACACCAACTATACAAAAAGGATCTTACACATTTGTTCCATGGCTTCTCAGCTTTAAAGGGGAAGTGCC
CTAGAAGAAAAAGAGAATAAAATATTGGTCAAAGAAACTGGTTACTTTTTATATATGGTCAGGTTTTATATACTGA
TAAGACCTACGCCATGGGACATCTAATTCAGAGGAAGAAGGTCCATGTCTTTGGGGATGAATTGAGTCTGGTGACTT

TGTTTCGATGTATTCAAAATATGCCTGAAACACTACCCAATAATTCCTGCTATTTCAGCTGGCATTGCAAACTGGAA
GAAGGAGATGAACTCCAACCTTGCAATACCAAGAGAAAAATGCACAAATATCACTGGATGGAGATGTCACATTTTTTGG
TGCATTGAAACTGCTG

[0375] [SEQ ID No:77]

[0376] 因此,优选地,所述人BAFF、膜型多肽由基本上如SEQ ID No:77所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0377] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:78的RNA核苷酸序列:

[0378] AUGGAUGACUCCACAGAAAGGGAGCAGUCACGCCUACUUCUUGCCUUAAGAAAAGAGAAGAAAUGAAA
CUGAAGGAGUGUGUUUCCAUCCUCCACGGAAGGAAAGCCCCUCUGUCCGAUCCUCCAAAGACGGAAGCUGCUGGC
UGCAACCUUGCUGCUGGCACUGCUGUCUUGCUGCCUCACGGUGGUGUCUUUCUACCAGGUGGCCGCCUGCAAGGGG
ACCUGGCCAGCCUCCGGGCAGAGCUGCAGGGCCACCACGCGGAGAAGCUGCCAGCAGGAGCAGGAGCCCCCAAGGCC
GGCCUGGAGGAAGCUCCAGCUGUCACCGCGGGACUGAAAAUCUUUGAACCACCAGCUCCAGGAGAAGGCAACUCCAG
UCAGAACAGCAGAAAAUAGCGUGCCGUUCAGGGUCCAGAAGAAACAGUCACUCAAGACUGCUUGCAACUGAUUGCAG
ACAGUGAAACACCAACUUAUACAAAAAGGAUCUUAACAUUUUGUCCAUGGCUUCUCAGCUUUAAAAGGGGAAGUGCC
CUAGAAGAAAAAGAGAAUAAAAUUAUUGGUCAAAGAAACUGGUUACUUUUUUAUAUAUGGUCAGGUUUUAUAUACUGA
UAAGACCUACGCCAUGGGACAUCUAAUUCAGAGGAAGAAGGUCCAUGUCUUUGGGGAUGAAUUGAGUCUGGUGACUU
UGUUUCGAUGUAUUAUAAAAUAGCCUGAAACACUACCCAAUAAUUCUGCUAUUCAGCUGGCAUUGCAAAACUGGAA
GAAGGAGAUGAACUCCAACUUGCAAUACCAAGAGAAAAUGCACAAUAUCACUGGAUGGAGAUGUCACAUUUUUUGG
UGCAUUGAAACUGCUG

[0379] [SEQ ID No:78]

[0380] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:78所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0381] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人类BAFF、可溶形式(NCBI参考序列:NM_006573.5;UniProtKB-Q9Y275(TN13B_HUMAN)),或其直系同源物。人BAFF、可溶形式的多肽序列(具有添加的分泌信号)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:79:

[0382] MDRAKLLLLLLLLLPQAQAAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAL EEKE
NKILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGHLIQRKKVHVFGDELSLVT LFRCIQNMPETLPNNSCYSAGIAKLEEGDEL
QLAIPRENAQISLDGDTVTFFGALKLL

[0383] [SEQ ID No:79]

[0384] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:79所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0385] 在一个实施方式中,所述人BAFF、可溶性形式多肽由如下所示的SEQ ID No:80的DNA核苷酸序列编码:

[0386] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGCCGTTT CAG
GGTCCAGAAGAAACAGTCACTCAAGACTGCTTGCAACTGATTGCAGACAGTGAAACACCAACTATACAAAAAGGATC
TTACACATTTGTTCCATGGCTTCTCAGCTTTAAAAGGGGAAGTGCCCTAGAAGAAAAAGAGAATAAAATATTGGTCA
AAGAACTGGTTACTTTTTTATATATGGTCAGGTTTATATACTGATAAGACCTACGCCATGGGACATCTAATTCAG
AGGAAGAAGGTCCATGTCTTTGGGGATGAATTGAGTCTGGTGACTTTGTTTCGATGTATTCAAAATATGCCTGAAAC
ACTACCCAATAATTCCTGCTATTTCAGCTGGCATTGCAAACTGGAAGAAGGAGATGAACTCCAACCTTGCAATACCAA

GAGAAAATGCACAAATATCACTGGATGGAGATGTCACATTTTTTGGTGCATTGAAACTGCTG

[0387] [SEQ ID No:80]

[0388] 因此,优选地,所述人BAFF、可溶形式多肽由基本上如SEQ ID No:80中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0389] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:81的RNA核苷酸序列:

[0390] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUGCCGUUCAG
GGUCCAGAAGAAACAGUCACUCAAGACUGCUUGCAACUGAUUGCAGACAGUGAAACACCAACUUAUACAAAAAGGAUC
UUACACAUUUGUCCAUGGCUUCUCAGCUUUAAAAAGGGGAAGUGCCCUAGAAGAAAAAGAGAAUAAAAUUAUUGGUCA
AAGAAACUGGUUACUUUUUUAUUAUGGUCAGGUUUUAUUAUCUGAUAAAGACCUACGCCAUGGGACAUCUAAUUCAG
AGGAAGAAGGUCCAUGUCUUUGGGGAUGAAUUGAGUCUGGUGACUUUGUUUCGAUGUAUUCAAAAUUGCCUGAAAC
ACUACCCAAUAAUUCUGCUAUUCAGCUGGCAUUGCAAAACUGGAAGAAGGAGAUGAACUCCAACUUGCAAUACCAA
GAGAAAAUGCACAAAUACACUGGAUGGAGAUGUCACAUUUUUUGGUGCAUUGAAACUGCUG

[0391] [SEQ ID No:81]

[0392] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:81所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0393] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人CD30配体 (NCBI参考序列:NM_001244.4;

[0394] UniProtKB-P32971 (TNFL8_HUMAN)),或其直系同源物。人CD30配体的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:82:

[0395] MDPGLQQALNGMAPPGDTAMHVPAGSVASHLGTTSRSYFYLTATLALCLVFTVATIMVLVVQRTDSIP
NSPDNVPLKGGNCSEDLICILKRAPFKKSWAYLQVAKHLNKTLSWNKDGILHGVRVYQDGNLVIQFPGLYFIICQLQ
FLVQCPNNSVDLKELELLINKHIKKQALVTVCESGMQTKHVIYNLSQFLLDYLQVNTTISVNVDTFQYIDTSTFPLEN
VLSIFLYSNSD

[0396] [SEQ ID No:82]

[0397] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:82所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0398] 在一个实施方式中,所述人CD30配体多肽由如下所示的SEQ ID No:83的DNA核苷酸序列编码:

[0399] ATGGACCCAGGGCTGCAGCAAGCACTCAACGGAATGGCCCCCTCCTGGAGACACAGCCATGCATGTGCCG
GCGGGCTCCGTGGCCAGCCACCTGGGGACCACGAGCCGAGCTATTTCTATTTGACCACAGCCACTCTGGCTCTGTG
CCTTGTCTTCACGGTGGCCACTATTATGGTGTTGGTCGTTTCAGAGGACGGACTCCATTCCCAACTCACCTGACAACG
TCCCCCTCAAAGGAGGAAATTGCTCAGAAGACCTCTTATGTATCCTGAAAAGGGCTCCATTCAAGAAGTCATGGGCC
TACCTCCAAGTGGCAAAGCATCTAAACAAAACCAAGTTGTCTTGGAACAAAGATGGCATTCTCCATGGAGTCAGATA
TCAGGATGGGAATCTGGTGATCCAATTCCTGGTTTGTACTTCATCATTTGCCAACTGCAGTTTCTTGTACAATGCC
CAAATAATTCTGTGATCTGAAGTTGGAGCTTCTCATCAACAAGCATATCAAAAAACAGGCCCTGGTGACAGTGTGT
GAGTCTGGAATGCAAACGAAACACGTATACCAGAATCTCTCTCAATTCTTGCTGGATTACCTGCAGGTCAACACCAC
CATATCAGTCAATGTGGATACATTCCAGTACATAGATACAAGCACCTTTCTCTTGAGAATGTGTTGTCCATCTTCT
TATACAGTAATTCAGACTGA

[0400] [SEQ ID No:83]

[0401] 因此,优选地,所述人CD30配体多肽由基本上如SEQ ID No:83中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0402] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:84的RNA核苷酸序列:

[0403] AUGGACCCAGGGCUGCAGCAAGCACUCAACGGAAUGGCCCCUCCUGGAGACACAGCCAUGCAUGUGCCG
GCGGGCUCUGGCGCAGCCACCUGGGGACCACGAGCCGAGCUAUUUUCUAUUUGACCACAGCCACUCUGGCUCUGUG
CCUUGUCUUCACGGUGGCCACUAUUUUGGUGUUGGUCGUUCAGAGGACGGACUCCAUUCCTAACUCACCUGACAACG
UCCCCCUCAAAGGAGGAAAAUUGCUCAGAAGACCUCUUAUGUAUCCUGAAAAGGGCUCCAUUAAGAAGUCAUGGGCC
UACCUCCAAGUGGCAAAGCAUCUAAAACAAAACCAAGUUGUCUUGGAACAAAGAUGGCAUUCUCCAUGGAGUCAGAU
UCAGGAUGGGAAUCUGGUGAUCCAUUUCCUGGUUUGUACUUAUCAUUAUUGCCAACUGCAGUUUCUUGUACAAUGCC
CAAAUAAUUCUGUCGAUCUGAAGUUGGAGCUUCUCAUCAACAAGCAUAUCAAAAAACAGGCCUGGUGACAGUGUGU
GAGUCUGGAAUGCAAACGAAACACGUUAUACCAGAAUCUCUCUCAAUUCUUGCUGGAUUACCUGCAGGUCAACACCAC
CAUAUCAGUCAAUGUGGAUACAUAUCCAGUACAUAAGAUACAAGCACCUUCCUCUUGAGAAUGUGUUGUCCAUCUUCU
UAUACAGUAAUUCAGACUGA

[0404] [SEQ ID No:84]

[0405] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:84所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0406] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人CD40配体(NCBI参考序列:NM_000074.3;UniProtKB-P29965(CD40L_HUMAN)),或其直系同源物。人CD40配体的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:85:

[0407] MIETYNQTSRSAATGLPISMKIFMYLLTVFLITQMIGSALFAVYLRRLDKIEDERNLHEDFVFMKTI
QRCNTGERSLSLLNCEEIKSQFEGFVKDIMLNKEETKKENSFEMQKGDQNPQIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGY
TMSNNLVTLENGKQLTVKRQGLYYIYAQVTFCSNREASSQAPFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQSI
HLGGVFELQPGASVFNVTDPQVSHGTGFTSFGLLKL

[0408] [SEQ ID No:85]

[0409] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:85所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0410] 在一个实施方式中,所述人CD40配体多肽由如下所示的SEQ ID No:86的DNA核苷酸序列编码:

[0411] ATGATCGAAACATACAACCAAACCTTCTCCCCGATCTGCGGCCACTGGACTGCCCATCAGCATGAAAATT
TTTATGTATTTACTTACTGTTTTTCTTATCACCCAGATGATTGGGTCAGCACTTTTTGCTGTGTATCTTCATAGAAG
GTTGGACAAGATAGAAGATGAAAGGAATCTTCATGAAGATTTTGTATTCATGAAAACGATACAGAGATGCAACACAG
GAGAAAGATCCTTATCCTTACTGAACTGTGAGGAGATTAAGGCCAGTTTGAAGGCTTTGTGAAGGATATAATGTTA
AACAAAGAGGAGACGAAGAAAGAAAACAGCTTTGAAATGCAAAAAGGTGATCAGAATCCTCAAATTGCGGCACATGT
CATAAGTGAGGCCAGCAGTAAACAACATCTGTGTTACAGTGGGCTGAAAAAGGATACTACACCATGAGCAACAAC
TGTAACCTGGAAAATGGGAAACAGCTGACCGTTAAAGACAAGGACTCTATTATATCTATGCCCAAGTCACCTTC
TGTTCCAATCGGGAAGCTTCGAGTCAAGCTCCATTTATAGCCAGCCTCTGCCTAAAGTCCCCCGGTAGATTGAGAG
AATCTTACTCAGAGCTGCAATACCCACAGTTCCGCCAAACCTGCGGGCAACAATCCATTCCTTGGGAGGAGTAT
TTGAATTGCAACCAGGTGCTTCGGTGTGTGCAATGTGACTGATCCAAGCCAAGTGAGCCATGGCACTGGCTTCACG
TCCTTTGGCTTACTCAAACCTCTGA

[0412] [SEQ ID No:86]

[0413] 因此,优选地,所述人CD40配体多肽由基本上如SEQ ID No:86中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0414] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:87的RNA核苷酸序列:

[0415] AUGAUCGAAACAUACAACCAAAACUUCUCCCCGAUCUGCGGCCACUGGACUGCCCAUCAGCAUGAAAAUUUUUAUGUAUUUACUUACUGUUUUUCUUACCCAGAUGAUUGGGUCAGCACUUUUUGCUGUGUAUCUUAUAGAAGGUUGGACAAGAUAGAAGAUAAAAGGAAUCUUAUGAAGAUUUUGUAUUCAUGAAAACGAUACAGAGAUGCAACACAGGAGAAAGAUCCUUAUCCUACUGAACUGUGAGGAGAUUAAAAGCCAGUUUGAAGGCUUUGUGAAGGAUAAAUGUUAACAAAGAGGAGACGAAGAAAGAAAACAGCUUUGAAAUGCAAAAAGGUGAUCAGAAUCCUCAAUUGCGGCACAUGUCAUAAGUGAGGCCAGCAGUAAAACAACAUUGUGUUACAGUGGGCUGAAAAAGGAUACUACACCAUGAGCAACAACUUGGUAACCCUGGAAAAUGGGAAACAGCUGACCGUUAAAAGACAAGGACUCUAUUUAUUCUAUGCCCAAGUCACCUUCUGUUCCAAUCGGAAGCUUCGAGUCAAGCUCCAUUUAUAGCCAGCCUCUGCCUAAAGUCCCCCGUAGAUUCGAGAGAAUCUUACUCAGAGCUGCAAAUACCCACAGUUCGCGCAAACCUUGCGGGCAACAAUCCAUCACUUGGGAGGAGUAUUUGAAUUGCAACCAGGUGCUUCGGUGUUUGUCAUUGUGACUGAUCCAAGCCAAGUGAGCCAUGGCACUGGCUUCACGUCCUUUGGCUUACUCAAACUCUGA

[0416] [SEQ ID No:87]

[0417] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:87所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0418] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人CD27配体(NCBI参考序列:NM_001252.5;UniProtKB-P32970(CD70_HUMAN)),或其直系同源物。人CD27配体的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:88:

[0419] MPEEGSGCSVRRRPYGCVLRAALVPLVAGLVICLVVCIQRFAQAQQQLPLESLGWDVAELQLNHTGPQQDPRLYWQGGPALGRSFLHGPELDKGQLRIHRDGIYMVHIQVTLAICSSTTASRHPTTLAVGICSPASRSISLLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLGTLLPSRNTDETFFGVQWVRP

[0420] [SEQ ID No:88]

[0421] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:88所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0422] 在一个实施方式中,所述人CD27配体多肽由如下所示的SEQ ID No:89的DNA核苷酸序列编码:

[0423] ATGCCGAGGAGGGTTCGGGCTGCTCGGTGCGGCGCAGGCCCTATGGGTGCGTCCTGCGGGCTGCTTTGTGCCATTGGTCGCGGGCTTGGTGATCTGCCTCGTGGTGTGCATCCAGCGCTTCGCACAGGCTCAGCAGCAGCTGCCGCTCGAGTCACTTGGGTGGGACGTAGCTGAGCTGCAGCTGAATCACACAGGACCTCAGCAGGACCCAGGCTATACTGGCAGGGGGGCCAGCACTGGGCCGCTCCTTCTCTGCATGGACCAGAGCTGGACAAGGGGCAGCTACGTATCCATCGTGATGGCATCTACATGGTACACATCCAGGTGACGCTGGCCATCTGCTCCTCCACGACGGCCTCCAGGCACCAACCCACACACCTGGCCGTGGGAATCTGCTCTCCCGCCTCCCGTAGCATCAGCCTGCTGCGTCTCAGCTTCCACCAAGGTTGTACCATTGCCTCCAGCGCCTGACGCCCCCTGGCCGAGGGGACACACTCTGCACCAACCTCACTGGGACACTTTTGCCTTCCCGAAACACTGATGAGACCTTCTTTGGAGTGCAGTGGGTGCGCCCCTGA

[0424] [SEQ ID No:89]

[0425] 因此,优选地,所述人CD27配体多肽由基本上如SEQ ID No:89中所示的DNA核苷酸

序列,或其变体或片段所编码。

[0426] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:90的RNA核苷酸序列:

[0427] AUGCCGAGGAGGGUUCGGGUCGUCGUGCGGCGCAGGCCCUAUGGGUGCGUCCUGCGGGCUGCUUUG
GUCCCAUUGGUCGCGGGCUUGGUGAUCUGCCUCGUGGUGUGCAUCCAGCGCUUCGCACAGGCUCAGCAGCAGCUGCC
GCUCGAGUCACUUGGGUGGGACGUAGCUGAGCUGCAGCUGAAUCACACAGGACCUCAGCAGGACCCAGGCUAUACU
GGCAGGGGGGCCCAGCACUGGGCCGCUCCUCCUGCAUGGACCAGAGCUGGACAAGGGGCAGCUACGUAUCCAUCGU
GAUGGCAUCUACAUGGUACACAUCAGGUGACGCGUGGCCAUCUGCUCCUCCACGACGGCCUCCAGGCACCAACCCAC
CACCCUGGCCGUGGGAAUCUGCUCUCCCGCCUCCCGUAGCAUCAGCCUGCUGCGUCUCAGCUUCCACCAAGGUUGUA
CCAUUGCCUCCAGCGCCUGACGCCCCUGGCCCAGGGGACACACUCUGCACCAACCUCACUGGGACACUUUUGCCU
UCCCGAAACACUGAUGAGACCUUCUUUGGAGUGCAGUGGGUGCGCCCCUGA

[0428] [SEQ ID No:90]

[0429] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:90所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0430] 所述ISP可以是肿瘤坏死因子,其可以是膜型或可溶形式。在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人TNF β (NCBI参考序列:NM_000595.4;UniProtKB P01374 (TNFB_HUMAN)),或其直系同源物。人TNF β 的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:91:

[0431] MTPPERLFLPRVCGTTLHLLLGLLLVLLPGAQGLPGVGLTPSAAQTARQHPKMH LAHSTLKPA AHLIG
DPSKQNSLLWRANTDRAFLQDGFSLSNSLLVPTSGIYFVYSQVVFSGKAYSPKATSSPLYLAHEVQLFSSQYPFHV
PLLSSQKMVYPGLQEPWLHSMYHGA AFQLTQGDQLSTHTDGIPHLVLS PSTVFFGAFAL

[0432] [SEQ ID No:91]

[0433] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:91所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0434] 在一个实施方式中,所述人TNF β 多肽由如下所示的SEQ ID No:92的DNA核苷酸序列编码:

[0435] ATGACACCACCTGAACGTCTCTTCTCCCAAGGGTGTGTGGCACCACCCTACACCTCCTCCTTCTGGGG
CTGCTGCTGGTTCTGCTGCCTGGGGCCAGGGGCTCCCTGGTGTGTCCTCACACCTTCAGCTGCCCAGACTGCCCC
TCAGCACCCCAAGATGCATCTTGCCACAGCACCCCTCAAACCTGCTGCTCACCTCATTGGAGACCCAGCAAGCAGA
ACTCACTGCTCTGGAGAGCAAACACGGACCGTGCTTCTCCAGGATGGTTTCTCCTTGAGCAACAATTCTCTCCTG
GTCCCCACCAAGTGGCATCTACTTCGTCTACTCCAGGTGGTCTTCTCTGGGAAAGCCTACTCTCCCAAGGCCACCTC
CTCCCCACTCTACCTGGCCCATGAGGTCCAGCTCTTCTCCTCCAGTACCCCTTCCATGTGCCTCTCCTCAGCTCCC
AGAAGATGGTGTATCCAGGGCTGCAGGAACCCTGGCTGCACTCGATGTACCACGGGGCTGCGTTCCAGCTCACCCAG
GGAGACCAGCTATCCACCCACACAGATGGCATCCCCACCTAGTCCTCAGCCCTAGTACTGTCTTCTTTGGAGCCTT
CGCTCTG

[0436] [SEQ ID No:92]

[0437] 因此,优选地,所述人TNF β 多肽由基本上如SEQ ID No:92中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0438] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:93的RNA核苷酸序列:

[0439] AUGACACCACCUGAACGUCUCUCCUCCCAAGGGUGUGUGGCACCACCCUACACCUCCUCCUUCUGGGG

CUGCUGCUGGUUCUGCUGCCUGGGGCCCAGGGGCUCCUGGUGUUGGCCUCACACCUUCAGCUGCCCAGACUGCCCG
UCAGCACCCCAAGAUGCAUCUUGCCACAGCACCCUCAAAACCUGCUGCUCACCUCAUUGGAGACCCAGCAAGCAGA
ACUCACUGCUCUGGAGAGCAAACACGGACCGUGCCUCCUCCAGGAUGGUUUCUCCUUGAGCAACAAUUCUCUCCUG
GUCCCCACCAGUGGCAUCUACUUCGUCUACUCCAGGUGGUCUUCUCUGGGAAAGCCUACUCUCCCAAGGCCACCUC
CUCCCCACUCUACCUGGCCCAUGAGGUCCAGCUCUUCUCCUCCAGUACCCCUUCCAUGUGCCUCUCCUCAGCUCUCC
AGAAGAUGGUGUAUCCAGGGCUGCAGGAACCCUGGCUGCACUCGAUGUACCACGGGGCUGCGUCCAGCUCACCCAG
GGAGACCAGCUAUCCACCCACACAGAUGGCAUCCCCACCUAGUCCUCAGCCCUAGUACUGUCUUCUUGGAGCCUU
CGCUCUG

[0440] [SEQ ID No:93]

[0441] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:93所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0442] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是人TNF α (NCBI参考序列:NM_000594.4;UniProtKB-P01375 (TNFA_HUMAN)),或其直系同源物。人TNF α 多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:94:

[0443] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSLIVAGATTFLCLLHFGVIGPQREEFPRDLSL
ISPLAQAVRSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGQGCP
STHVLTTHTISRIAVSYQTKVNLSSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPYILGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAES
GQVYFGIIAL

[0444] [SEQ ID No:94]

[0445] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:94所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0446] 在一个实施方式中,所述人TNF α 多肽由如下所示的SEQ ID No:95的DNA核苷酸序列编码:

[0447] ATGAGCACTGAAAGCATGATCCGGGACGTGGAGCTGGCCGAGGAGGCGCTCCCCAAGAAGACAGGGGGG
CCCCAGGGCTCCAGGCGGTGCTTGTTCCTCAGCCTCTTCTCCTTCCTGATCGTGGCAGGCGCCACCACGCTCTTCTG
CCTGCTGCACTTTGGAGTGATCGGCCCCCAGAGGGAAGAGTTCCCCAGGGACCTCTCTCTAATCAGCCCTCTGGCCC
AGGCAGTCAGATCATCTTCTCGAACCCGAGTGACAAGCCTGTAGCCCATGTTGTAGCAAACCTCAAGCTGAGGGG
CAGCTCCAGTGGCTGAACCGCCGGGCCAATGCCCTCCTGGCCAATGGCGTGGAGCTGAGAGATAACCAGCTGGTGGT
GCCATCAGAGGGCCTGTACCTCATCTACTCCAGGTCCTCTCAAGGGCCAAGGCTGCCCCCTCCACCCATGTGCTCC
TCACCCACACCATCAGCCGCATCGCCGTCTCCTACCAGACCAAGGTCAACCTCCTCTCTGCCATCAAGAGCCCCTGC
CAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCTGAGGCCAAGCCCTGGTATGAGCCCATCTATCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGA
GAAGGGTGACCGACTCAGCGCTGAGATCAATCGGCCCCGACTATCTCGACTTTGCCGAGTCTGGGCAGGTCTACTTTG
GGATCATTGCCCTG

[0448] [SEQ ID No:95]

[0449] 因此,优选地,所述人TNF α 多肽由基本上如SEQ ID No:95中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0450] 因此,所述RNA构建体可包含如下所示的SEQ ID No:96的RNA核苷酸序列:

[0451] AUGAGCACUGAAAGCAUGAUCCGGGACGUGGAGCUGGCCGAGGAGGCGUCCCCAAGAAGACAGGGGGG
CCCCAGGGCUCCAGGCGGUGCUUGUCCUCAGCCUCUUCUCCUCCUGAUCGUGGCAGGCGCCACCACGCUCUUCUG

CCUGCUGCACUUUGGAGUGAUCGGCCCCCAGAGGGAAGAGUUCCCCAGGGACCUCUCUCUAAUCAGCCCUCUGGCCC
AGGCAGUCAGAUAUCUUCUCGAACCCCGAGUGACAAGCCUGUAGCCCAUGUUGUAGCAAACCCUCAAGCUGAGGGG
CAGCUCCAGUGGCUGAACCGCCGGGCCAAUGCCCUCCUGGCCAAUGGCGUGGAGCUGAGAGAUAAACCAGCUGGUGGU
GCCAUCAGAGGGCCUGUACCUCAUCUACUCCAGGUCCUCUUAAGGGCCAAGGCUGCCCCUCCACCCAUGUGCUCC
UCACCCACACCAUCAGCCGCAUCGCCGUCUCCUACCAGACCAAGGUCAACCUCCUCUCUGCCAUAAGAGCCCCUGC
CAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCUGAGGCCAAGCCUGGUAUGAGCCCAUCUAUCUGGGAGGGGUCUUCACAGCUGGA
GAAGGGUGACCGACUCAGCGCUGAGAUCAAUCGGCCCCGACUAUCUCGACUUUGCCGAGUCUGGGCAGGUCUACUUUG
GGAUCAUUGCCCUG

[0452] [SEQ ID No:96]

[0453] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:96所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0454] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可为TNFSF10 (NCBI参考序列:NM_003810.4; UniProtKB-P50591 (TNF10_HUMAN)),或其直系同源物。TNFSF10的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:97:

[0455] MAMMEVQGGPSLGQTCVLIVIFTVLLQSLCVAVTYVYFTNELKQMQDKYSKSGIACFLKEDDSYWDPNDEESMN
SPCWQVQWQLRQLVRKMILRTSEETISTVQEKKQNISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINS
WESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIEHKGFFYYISQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMK
SARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVG

[0456] [SEQ ID No:97]

[0457] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:97所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0458] 在一个实施方式中,所述TNFSF10多肽由如下所示的SEQ ID No:98的DNA核苷酸序列编码:

[0459] ATGGCTATGATGGAGGTCCAGGGGGGACCCAGCCTGGGACAGACCTGCGTGCTGATCGTGATCTTCACA
GTGCTCCTGCAGTCTCTCTGTGTGGCTGTAACCTACGTGTACTTTACCAACGAGCTGAAGCAGATGCAGGACAAGTA
CTCCAAAAGTGGCATTGCTTGTCTTCTTAAAGAAGATGACAGTTATTGGGACCCCAATGACGAAGAGAGTATGAACA
GCCCCTGCTGGCAAGTCAAGTGGCAACTCCGTCAGCTCGTTAGAAAGATGATTTTGAGAACCTCTGAGGAAACCATT
TCTACAGTTCAAGAAAAGCAACAAAATATTTCTCCCTAGTGAGAGAAAGAGGTCCTCAGAGAGTAGCAGCTCACAT
AACTGGGACCAGAGGAAGAAGCAACACATTGTCTTCTCCAACTCCAAGAATGAAAAGGCTCTGGGCCGCAAAATAA
ACTCCTGGGAATCATCAAGGAGTGGGCATTTCCTGAGCAACTTGCACTTGAGGAATGGTGAAGTGGTCAATCCAT
GAAAAAGGGTTTTACTACATCTATTCCCAAACATACTTTCGATTTTCAGGAGGAAATAAAAGAAAACACAAAGAACGA
CAAACAAATGGTCCAATATATTTACAAATACACAAGTTATCCTGACCCTATATTGTTGATGAAAAGTGCTAGAAATA
GTTGTTGGTCTAAAGATGCAGAATATGGACTCTATCCATCTATCAAGGGGAATATTTGAGCTTAAGGAAAATGAC
AGAATTTTTGTTTCTGTAACAAATGAGCACTTGATAGACATGGACCATGAAGCCAGTTTTTTTTGGGGCCTTTTTAGT
TGGC

[0460] [SEQ ID No:98]

[0461] 因此,优选地,所述TNFSF10多肽由基本上如SEQ ID No:98所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0462] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:99的RNA核苷酸序列:

[0463] AUGGCUAUGAUGGAGGUCCAGGGGGGACCCAGCCUGGGACAGACCUGCGUGCUGAUCGUGAUCUUCACA GUGCUCCUGCAGUCUCUCUGUGUGGCUGUAACUACGUGUACUUUACCAACGAGCUGAAGCAGAUGCAGGACAAGUA CUCCAAAAGUGGCAUUGCUUGUUUCUAAAAAGAAGACAGUUUUGGGACCCCAAUGACGAAGAGAGUAUGAACA GCCCCUGCUGGCAAGUCAAGUGGCAACUCCGUCAGCUCGUUAGAAAGAUGAUUUUGAGAACCUCUGAGGAAACCAU UCUACAGUUCAAGAAAAGCAACAAAAUAUUUCUCCCCUAGUGAGAGAAAGAGGUCCUCAGAGAGUAGCAGCUCACAU AACUGGGACCAGAGGAAGAAGCAACACAUUGUCUUCUCCAAACUCCAAGAAUGAAAAGGCUCUGGGCCGCAAAAUAA ACUCCUGGGAAUCAUCAAGGAGUGGGCAUUAUUCUGAGCAACUUGCACUUGAGGAUUGGUGAACUGGUCAUCCA UGAAAAGGGUUUACUACAUCUAUUCUCCAAACAUACUUCGAUUUCAGGAGGAAUAAAAGAAAACACAAAGAACGA CAAACAAUUGGUCCAAUAUAUUUACAAAUACACAAGUUAUCCUGACCCUAUAUUGUUGAUGAAAAGUGCUAGAAUA GUUGUUGGUCUAAAGAUGCAGAAUUGGACUCUAUCCAUCUAUCAAGGGGAAUUAUUUGAGCUUAAGGAAAAUGAC AGAAUUUUUGUUUCUGUAACAAAUGAGCACUUGAUAGACAUGGACCAUGAAGCCAGUUUUUUGGGGCCUUUUUAGU UGGC

[0464] [SEQ ID No:99]

[0465] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:99所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0466] 优选地,所述ISP是生长因子。在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是转化生长因子 α (TGF α) (膜结合;NCBI参考序列:NM_003236.4;UniProtKB-P01135 (TGFA_HUMAN)),或其直系同源物。TGF α 多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:100:

[0467] MVPSAGQLALFALGIVLAACQALENSTSPLSADPPVAAAVVSHFNDCPDSHTQFCFHGTCRFLVQEDKP ACVCHSGYVGARCEHADLLAVVAASQKKQAITALVVVSIVALAVLIITCVLIHCCQVRKHCEWCRALICRHEKPSAL LKGRACCHSETTV

[0468] [SEQ ID No:100]

[0469] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:100所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0470] 在一个实施方式中,所述TGF α 多肽由如下所示的SEQ ID No:101的DNA核苷酸序列编码:

[0471] ATGGTCCCCTCGGCTGGACAGCTCGCCCTGTTGCTCTGGGTATTGTGTTGGCTGCGTGCCAGGCCTTG GAGAACAGCACGTCCCCGCTGAGTGCAGACCCGCCGTTGGCTGCAGCAGTGGTGTCCCATTTTAATGACTGCCAGA TTCCCACACTCAGTTCTGCTTCCATGGAACCTGCAGGTTTTTGGTGCAGGAGGACAAGCCAGCATGTGTCTGCCATT CTGGGTACGTTGGTGCACGCTGTGAGCATGCGGACCTCCTGGCCGTGGTGGCTGCCAGCCAGAAGAAGCAGGCCATC ACCGCCTTGGTGGTGGTCTCCATCGTGGCCCTGGCTGTCCTTATCATCATGTGTGC

[0472] [SEQ ID No:101]

[0473] 因此,优选地,所述TGF α 多肽由基本上如SEQ ID No:101中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0474] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:102的RNA核苷酸序列:

[0475] AUGGUCCCCUGGCUGGACAGCUCGCCUGUUCGCUCUGGGUAUUGUGUUGGCUGCGUGCCAGGCCUUG GAGAACAGCACGUCCCCGUGAGUGCAGACCCGCCGUGGCUGCAGCAGUGGUGUCCAAUUUUAUGACUGCCCAGA UUCCCACACUCAGUUCUGCUUCCAUGGAACCUGCAGGUUUUUGGUGCAGGAGGACAAGCCAGCAUGUGUCUGCCAU

CUGGGUACGUUGGUGCACGCUGUGAGCAUGCGGACCUCCUGGCCUGGUGGCUGCCAGCCAGAAGAAGCAGGCCAUC
ACCGCCUUGGUGGUGUCUCCAUCGUGGCCUUGGUGUCCUUAUCAUCAUGUGUGC

[0476] [SEQ ID No:102]

[0477] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:102所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0478] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是转化生长因子 α (TGF α) (可溶成熟形式;NCBI参考序列:NM_003236.4;UniProtKB-P01135(TGFA_HUMAN)),或其直系同源物。可溶性TGF α 多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:103:

[0479] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQAVVSHFNDPDSHTQFCFHGTCRFLVQEDKPACVCHSGYVGARCEH
ADLLA

[0480] [SEQ ID No:103]

[0481] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:103所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0482] 在一个实施方式中,所述可溶性TGF α 多肽由如下所示的SEQ ID No:104的DNA核苷酸序列编码:

[0483] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGTGGTGTCC
CATTTTAATGACTGCCAGATTCCCACACTCAGTTCTGCTTCCATGGAACCTGCAGGTTTTTGGTGCAGGAGGACAA
GCCAGCATGTGTCTGCCATTCTGGGTACGTTGGTGCACGCTGTGAGCATGCGGACCTCCTGGCC

[0484] [SEQ ID No:104]

[0485] 因此,优选地,所述可溶性TGF α 多肽由基本上如SEQ ID No:104中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0486] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:105的RNA核苷酸序列:

[0487] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUGUGGUGUCC
CAUUUUAUGACUGCCCAGAUUCCACACUCAGUUCUGCUUCCAUGGAACCUGCAGGUUUUGGUGCAGGAGGACAA
GCCAGCAUGUGUCUGCAUUCUGGGUACGUUGGUGCACGCUGUGAGCAUGCGGACCUCCUGGCC

[0488] [SEQ ID No:105]

[0489] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:105所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0490] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是变换生长因子 β (TGF β) 家族(NCBI参考序列:NM_000660.7;UniProtKB-P01137(TGFB1_HUMAN)),或其直系同源物。TGF β 的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:106:

[0491] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQAALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCL GP
CPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPASAPCCVPQALEPLPIVYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS

[0492] [SEQ ID No:106]

[0493] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:106所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0494] 在一个实施方式中,所述TGF β 多肽由如下所示的SEQ ID No:107的DNA核苷酸序列编码:

[0495] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGCCCTGGAC

ACCAACTATTGCTTCAGCTCCACGGAGAAGAACTGCTGCGTGCGGCAGCTGTACATTGACTTCCGCAAGGACCTCGGCTGGAAGTGGATCCACGAGCCCAAGGGCTACCATGCCAACTTCTGCCTCGGGCCCTGCCCCTACATTTGGAGCCTGGACACGCAGTACAGCAAGGTCTTGGCCCTGTACAACCAGCATAACCCGGGCGCCTCGGCGGCGCCGTGCTGCGTGCCG CAGGCGCTGGAGCCGCTGCCCATCGTGTA CTACGTGGGCCGCAAGCCCAAGGTGGAGCAGCTGTCCAACATGATCGT GCGCTCCTGCAAGTGCAGC

[0496] [SEQ ID No:107]

[0497] 因此,优选地,所述TGF β 多肽由基本上如SEQ ID No:107中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0498] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:108的RNA核苷酸序列:

[0499] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUGCCCUGGACACCAACUAUUGCUUCAGCUCCACGGAGAAGAACUGCUGCGUGCGGCAGCUGUACAUUGACUUCGCAAGGACCUCGG CUGGAAGUGGAUCCACGAGCCCAAGGGCUACCAUGCCAACUUCUGCCUCGGGCCCUGCCCCUACA UUGGAGCCUGGACACGCAGUACAGCAAGGUCCUGGCCUGUACAACCAGCAUAACCCGGGCGCCUCGGCGGCGCCGUGCUGCGUGCCG CAGGCGCUGGAGCCGUGCCCAUCGUGUACUACGUGGGCCGCAAGCCCAAGGUGGAGCAGCUGUCCAACAUGAUCGU GCGCUCCUGCAAGUGCAGC

[0500] [SEQ ID No:108]

[0501] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:108所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0502] 在另一个实施方式中,所述ISP可以是集落刺激因子。在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CSF1(巨噬细胞集落刺激因子;NCBI参考序列:NM_000757.6;UniProtKB-P09603(CSF1_HUMAN)),或其直系同源物。CSF1的多肽序列(信号为1-32)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:109:

[0503] MTAPGAAGRCPPTTWLGSLLLLVCLLASRSITEEVSEYCSHMIGSGHLQSLQRLIDSQMETSQCITFEFVDQEQLKDPVCYLKKAFLLVQDIMEDTMRFRDNTPNIAIAIVQLQELSLRLKSCFTKDYEEHDKACVRTFYETPLQLLEKVKNVFNETKNLLDKDWNIFSKNCNNSFAECSSQDVVTKPDCNCLYPKAI PSSDPASVSPHQPLAPSMAPVAGLTWEDSEGTEGSSLLPGEQPLHTVDPGSAKQRPPRSTCQSFEPPEPVPVKDSTIGGSPQPRPSVGA FNPGMEDILDSAMGTNWVPEEASGEASEIPVPQGTELSPSRPGGSGMQTEPARPSNFLSASSPLPASAKGQQPADVTGTALPRVGPVRPTGQDWNHTPQKTDHPSALLRDPPEPGSPRISSLRPQGLSNPSTLSAQPLSRSHSSGSVLPLGELEGRRSTRDRRSPAEP EGGPASEGAARPLPRFNSVPLTDTGHERQSEGSFSPQLQESVFHLLVPSVILVLLAVGGLLFYRWRRRSHQEPQRA DSPLEQPEGSPLTQDDRQVELPV

[0504] [SEQ ID No:109]

[0505] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:109所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0506] 在一个实施方式中,所述CSF1多肽由如下所示的SEQ ID No:110的DNA核苷酸序列编码:

[0507] ATGACCGCGCCGGGCGCCGCCGGGCGCTGCCCTCCCACGACATGGCTGGGCTCCCTGCTGTTGTTGGTCTGTCTCCTGGCGAGCAGGAGTATCACCGAGGAGGTGTCGGAGTACTGTAGCCACATGATTGGGAGTGGACACCTGCA GTCTCTGCAGCGGCTGATTGACAGTCAGATGGAGACCTCGTGCCAAATTACATTTGAGTTTGTAGACCAGGAACAGT TGAAAGATCCAGTGTGCTACCTTAAGAAGGCATTTCTCCTGGTACAAGACATAATGGAGGACACCATGCGCTTCAGA

GATAACACCCCCAATGCCATCGCCATTGTGCAGCTGCAGGAAGCTCTCTTTGAGGCTGAAGAGCTGCTTCACCAAGGA
TTATGAAGAGCATGACAAGGCCTGCGTCCGAAGCTTTCTATGAGACACCTCTCCAGTTGCTGGAGAAGGTCAAGAATG
TCTTTAATGAAACAAAGAATCTCCTTGACAAGGACTGGAATATTTTCAGCAAGAACTGCAACAACAGCTTTGCTGAA
TGCTCCAGCCAAGATGTGGTGACCAAGCCTGATTGCAACTGCCTGTACCCCAAAGCCATCCCTAGCAGTGACCCGGC
CTCTGTCTCCCCTCATCAGCCCCCTCGCCCCCTCCATGGCCCCCTGTGGCTGGCTTGACCTGGGAGGACTCTGAGGGAA
CTGAGGGCAGCTCCCTCTTGCTGGTGAGCAGCCCCCTGCACACAGTGGATCCAGGCAGTGCCAAGCAGCGGCCACCC
AGGAGCACCTGCCAGAGCTTTGAGCCGCCAGAGACCCAGTTGTCAAGGACAGCACCATCGGTGGCTCACCACAGCC
TCGCCCCCTCTGTGCGGGGCTTCAACCCCGGGATGGAGGATATTCTTGACTCTGCAATGGGCACTAATTGGGTCCCAG
AAGAAGCCTCTGGAGAGGCCAGTGAGATTCCCGTACCCCAAGGGACAGAGCTTTCCCCCTCCAGGCCAGGAGGGGGC
AGCATGCAGACAGAGCCCGCCAGACCCAGCAACTTCCTCTCAGCATCTTCTCCACTCCCTGCATCAGCAAAGGGCCA
ACAGCCGGCAGATGTAAGTGGTACCGCCTTGCCAGGGTGGGCCCCGTGAGGCCACTGGCCAGGACTGGAATCACA
CCCCCAGAAGACAGACCATCCATCTGCCCTGCTCAGAGACCCCCCGGAGCCAGGCTCTCCCAGGATCTCATCACTG
CGCCCCCAGGGCCTCAGCAACCCCTCCACCCCTCTGTCTCAGCCACAGCTTTCCAGAAGCCACTCCTCGGGCAGCGT
GCTGCCCCCTTGGGGAGCTGGAGGGCAGGAGGAGCACCAGGGATCGGAGGAGCCCCGCAGAGCCAGAAGGAGGACCAG
CAAGTGAAGGGGCAGCCAGGCCCTGCCCCGTTTAACTCCGTTCCTTTGACTGACACAGGCCATGAGAGGCAGTCC
GAGGGATCCTTCAGCCCGCAGCTCCAGGAGTCTGTCTTCCACCTGCTGGTGCCAGTGTATCCTGGTCTTGCTGGC
CGTCGGAGGCCTCTTGTTCTACAGGTGGAGGCGGCGGAGCCATCAAGAGCCTCAGAGAGCGGATTCTCCCTTGAGC
AACCAGAGGGCAGCCCCCTGACTCAGGATGACAGACAGGTGGAAGTGCCAGTG

[0508] [SEQ ID No:110]

[0509] 因此,优选地,所述CSF1多肽由基本上如SEQ ID No:110中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0510] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:111的RNA核苷酸序列:

[0511] AUGACCGCGCCGGGCGCCGCGGGCGCUGCCCUCCCACGACAUGGCUGGGCUGCCUGCUGUUGUUGGUC
UGUCUCCUGGCGAGCAGGAGUAUACCGAGGAGGUGUCGGAGUACUGUAGCCACAUGAUUGGGAGUGGACACCUGCA
GUCUCUGCAGCGGCUGAUUGACAGUCAGAUGGAGACCUCGUGCCAAAUUACAUUUGAGUUUGUAGACCAGGAACAGU
UGAAAGAUAUCAGUGUGCUACCUUAAGAAGGCAUUUCUCCUGGUACAAGACAUAUUGGAGGACACCAUGCGCUUCAGA
GAUAACACCCCCAAUGCCAUCGCCAUUGUGCAGCUGCAGGAACUCUCUUUGAGGCUGAAGAGCUGCUUCACCAAGGA
UUAUGAAGAGCAUGACAAGGCCUGCGUCCGAACUUUCUAUGAGACACCUCUCCAGUUGCUGGAGAAGGUCAAGAAUG
UCUUUAAUGAAACAAAGAAUCUCCUUGACAAGGACUGGAAUAUUUUCAGCAAGAACUGCAACAACAGCUUUGCUGAA
UGCUCAGCCAAGAUGUGGUGACCAAGCCUGAUUGCAACUGCCUGUACCCCAAAGCCAUCCCUAGCAGUGACCCGGC
CUCUGUCUCCCCUCAUCAGCCCCUCGCCCCCUCCAUGGCCCCUGUGGCUGGCUUGACCUGGGAGGACUCUGAGGGAA
CUGAGGGCAGCUGCCUUGCCUGGUGAGCAGCCCCUGCACACAGUGGAUCCAGGCAGUGCCAAGCAGCGGCCACCC
AGGAGCACCUGCCAGAGCUUUGAGCCGCCAGAGACCCAGUUGUCAAGGACAGCACCUCGGUGGCUCACCACAGCC
UCGCCCCUCUGUGGGGGCCUUAACCCCGGAUGGAGGAUAUUUCUUGACUCUGCAAUGGGCACUAAUUGGGUCCAG
AAGAAGCCUCUGGAGAGGCCAGUGAGAUUCCCGUACCCCAAGGGACAGAGCUUCCCCCUCCAGGCCAGGAGGGGGC
AGCAUGCAGACAGAGCCCGCCAGACCCAGCAACUCCUCUCAGCAUCUUCUCCACUCCUGCAUCAGCAAAGGGCCA
ACAGCCGGCAGAUUAACUGGUACCGCCUUGCCCAGGGUGGGCCCCGUGAGGCCACUGGCCAGGACUGGAAUCACA
CCCCCAGAAGACAGACCAUCCAUCUGCCUGCUCAGAGACCCCCCGGAGCCAGGCUCUCCAGGAUCUAUCACUG
CGCCCCCAGGGCCUCAGCAACCCCUCCACCCUCUCUGCUCAGCCACAGCUUCCAGAAGCCACUCCUGGGCAGCGU

GCUGCCCCUUGGGGAGCUGGAGGGCAGGAGGAGCACCAGGGAUCGGAGGAGCCCCGCAGAGCCAGAAGGAGGACCAG
CAAGUGAAGGGGAGCCAGGCCCCUGCCCCGUUUUAAACUCCGUUCCUUUGACUGACACAGGCCAUGAGAGGCAGUCC
GAGGGAUCCUUCAGCCCCGAGCUCCAGGAGUCUGUCUCCACCUGCUGGUGCCCAGUGUCAUCCUGGUCUUGCUGGC
CGUCGGAGGCCUCUUGUUCUACAGGUGGAGGCGGCGGAGCCAUCAAGAGCCUCAGAGAGCGGAUUCUCCCUUGGAGC
AACCAGAGGGCAGCCCCUGACUCAGGAUGACAGACAGGUGGAACUGCCAGUG

[0512] [SEQ ID No:111]

[0513] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:111所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0514] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CFS2(或GMCSF;NCBI参考序列:NM_000758.4;UniProtKB-P04141(CSF2_HUMAN)蛋白),或其直系同源物。CFS2的多肽序列(信号为1-16)的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:112:

[0515] MWLQSLLLLTGTVACSIAPARSPSPSTQPWEHVNAIQEARLLNLSRDAAEMNETVEVISEMFDLQEP
TCLQTRLELYKQGLRGLTKLKGPLTMMASHYKQHCPPTPETSCATQIITFESFKENLKDFLLVIPFDCWEPVQE

[0516] [SEQ ID No:112]

[0517] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:112所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0518] 在一个实施方式中,所述CFS2多肽由如下所示的SEQ ID No:113的DNA核苷酸序列编码:

[0519] ATGTGGCTGCAGAGCCTGCTGCTCTTGGGCACTGTGGCCTGCAGCATCTCTGCACCCGCCGCTCGCCC
AGCCCCAGCACGCAGCCCTGGGAGCATGTGAATGCCATCCAGGAGGCCCGGCGTCTCTGAACCTGAGTAGAGACAC
TGCTGCTGAGATGAATGAAACAGTAGAAGTCATCTCAGAAATGTTTGACCTCCAGGAGCCGACCTGCCTACAGACCC
GCCTGGAGCTGTACAAGCAGGGCCTGCGGGGCAGCCTACCAAGCTCAAGGGCCCCTTGACCATGATGGCCAGCCAC
TACAAGCAGCACTGCCCTCCAACCCCGAAACTTCCTGTGCAACCCAGATTATCACCTTTGAAAGTTTCAAAGAGAA
CCTGAAGGACTTTCTGCTTGTCATCCCCTTTGACTGCTGGGAGCCAGTCCAGGAG

[0520] [SEQ ID No:113]

[0521] 因此,优选地,所述CFS2多肽由基本上如SEQ ID No:113中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0522] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:114的RNA核苷酸序列:

[0523] AUGUGGUGCAGAGCCUGCUGCUCUUGGGCACUGUGGCCUGCAGCAUCUCUGCACCCGCCCGCUCGCCC
AGCCCCAGCACGCAGCCUGGGAGCAUGUGAAUGCCAUCAGGAGGCCCGGCGUCUCCUGAACCUGAGUAGAGACAC
UGCUGCUGAGAUGAAUGAAACAGUAGAAGUCAUCUCAGAAAUGUUUGACCUCCAGGAGCCGACCUGCCUACAGACCC
GCCUGGAGCUGUACAAGCAGGGCCUGCGGGGCAGCCUACCAAGCUCAAGGGCCCCUUGACCAUGAUGGCCAGCCAC
UACAAGCAGCACUGCCCUCCAACCCCGGAAACUUCUGUGCAACCCAGAUUAUCACCUUUGAAAGUUUCAAGAGAA
CCUGAAGGACUUUCUGCUUGUCAUCCCCUUUGACUGCUGGGAGCCAGUCCAGGAG

[0524] [SEQ ID No:114]

[0525] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:114所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0526] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是CSF3-粒细胞集落刺激因子(也称为G-CSF和filgrastim;NCBI参考序列:NM_000759.4;UniProtKB-P09919(CSF3_HUMAN)),或其

直系同源物。CSF3的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:115:

[0527] MAGPATQSPMKLMALQLLLWHSALWTVQEATPLGPASSLPQSFLKCLEQVRKIQGDGAALQEKLVS
EATYKLCHPEELVLLGHSLGIPWAPLSSCPQALQLAGCLSQLHSGFLFYQGLLQALEGISPELGPTLDTLQLDVA
DFATTIWQQMEELGMAPALQPTQGAMPAFASAFQRRAGGVLVASHLQSFLEVSYRVLRLHLAQP

[0528] [SEQ ID No:115]

[0529] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:115所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0530] 在一个实施方式中,所述CSF3多肽由如下所示的SEQ ID No:116的DNA核苷酸序列编码:

[0531] ATGGCTGGACCTGCCACCCAGAGCCCCATGAAGCTGATGGCCCTGCAGCTGCTGCTGTGGCACAGTGCA
CTCTGGACAGTGCAGGAAGCCACCCCCCTGGGCCCTGCCAGCTCCCTGCCCCAGAGCTTCCTGCTCAAGTGCTTAGA
GCAAGTGAGGAAGATCCAGGGCGATGGCGCAGCGCTCCAGGAGAAGCTGGTGAGTGAGTGCGCACCTACAAGCTGT
GCCACCCCGAGGAGCTGGTGCTGCTCGGACACTCTCTGGGCATCCCCTGGGCTCCCCTGAGCAGCTGCCCCAGCCAG
GCCCTGCAGCTGGCAGGCTGCTTGAGCCAACTCCATAGCGGCCTTTTCTCTACCAGGGGCTCCTGCAGGCCCTGGA
AGGGATCTCCCCCGAGTTGGGTCCCACCTTGACACACTGCAGCTGGACGTCGCCGACTTTGCCACCACCATCTGGC
AGCAGATGGAAGAACTGGGAATGGCCCCTGCCCTGCAGCCCACCCAGGGTGCCATGCCGGCCTTCGCCTCTGCTTTC
CAGCGCCGGGCAGGAGGGGTCTGGTTGCCTCCCATCTGCAGAGCTTCCTGGAGGTGTCGTACCGCGTTCTACGCCA
CCTTGCCCAGCCC

[0532] [SEQ ID No:116]

[0533] 因此,优选地,所述CSF3多肽由基本上如SEQ ID No:116中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0534] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:117的RNA核苷酸序列:

[0535] AUGGCUGGACCUGCCACCCAGAGCCCCAUGAAGCUGAUGGCCCUGCAGCUGCUGCUGGACAGUGCA
CUCUGGACAGUGCAGGAAGCCACCCCCUGGGCCCUGCCAGCUCCCUGCCCCAGAGCUUCCUGCUCAAGUGCUUAGA
GCAAGUGAGGAAGAUCCAGGGCGAUGGCGCAGCGCUCCAGGAGAAGCUGGUGAGUGAGUGGCCACCUACAAGCUGU
GCCACCCCGAGGAGCUGGUGCUGCUCGGACACUCUCUGGGCAUCCCCUGGGCUCCCCUGAGCAGCUGCCCCAGCCAG
GCCUGCAGCUGGCAGGCUGCUUAGCCAAUCUCCAUAGCGGCCUUUCCUCUACCAGGGGCUCCUGCAGGCCUGGA
AGGGAUCUCCCCGAGUUGGGUCCCACCUUGGACACACUGCAGCUGGACGUCGCCGACUUUGCCACCACCAUCUGGC
AGCAGAUUGGAAGAACUGGGAAUGGCCCCUGCCCUGCAGCCCACCCAGGGUGCCAUGCCGGCCUUCGCCUCUGCUUUC
CAGCGCCGGGCAGGAGGGGUCCUGGUUGCCUCCCAUCUGCAGAGCUUCCUGGAGGUGUCGUACCGCGUUCUACGCCA
CCUUGCCCAGCCC

[0536] [SEQ ID No:117]

[0537] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:117所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0538] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是前胸腺素 α (proT α) (1-111;NCBI参考序列:NM_002823.5;UniProtKB-P06454 (PTMA_HUMAN)),或其直系同源物。proT α 多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:118:

[0539] MSDAAVDTSSSEITTKDLKEKKEVVEEAENGRDAPANGNANEENGEQEADNEVDEEEEEEGGEEEEEE E
EGDGEEEDGDEDEEAESATGKRAAEDDEDDVDTKKQKTDEDD

[0540] [SEQ ID No:118]

[0541] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:118所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0542] 在一个实施方式中,所述proTα多肽由如下所示的SEQ ID No:119的DNA核苷酸序列编码:

[0543] ATGTCAGACGCAGCCGTAGACACCAGCTCCGAAATCACCACCAAGGACTTAAAGGAGAAGAAGGAAGTTGTGGAAGAGGCAGAAAATGGAAGAGACGCCCCTGCTAACGGGAATGCTAATGAGGAAAATGGGGAGCAGGAGGCTGACAATGAGGTAGACGAAGAAGAGGAAGAAGGTGGGGAGGAAGAGGAGGAGGAAGAAGAAGGTGATGGTGAGGAAGAGGATGGAGATGAAGATGAGGAAGCTGAGTCAGCTACGGGCAAGCGGGCAGCTGAAGATGATGAGGATGACGATGTTCGATACCAAGAAGCAGAAGACCGACGAGGATGAC

[0544] [SEQ ID No:119]

[0545] 因此,优选地,所述proTα多肽由基本上如SEQ ID No:119中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0546] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:120的RNA核苷酸序列:

[0547] AUGUCAGACGCAGCCGUAGACACCAGCUCCGAAAUACCACCAAGGACUUAAGGAGAAGAAGGAAGUUGUGGAAGAGGCAGAAAAUGGAAGAGACGCCCCUGCUAACGGGAUAGCUAAUGAGGAAAAUGGGGAGCAGGAGGCUGACAAUGAGGUAGACGAAGAAGAGGAAGAAGGUGGGGAGGAAGAGGAGGAGGAAGAAGAAGGUGAUGGUGAGGAAGAGGAUGGAGAUGAAGAUGAGGAAGCUGAGUCAGCUACGGGCAAGCGGGCAGCUGAAGAUGAUGAGGAUGACGAUGUCGAUACCAAGAAGCAGAAGACCGACGAGGAUGAC

[0548] [SEQ ID No:120]

[0549] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:120所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0550] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是前胸腺素α(proTα)(1-111-具有分泌信号;NCBI参考序列:NM_002823.5;UniProtKB-P06454(PTMA_HUMAN)),或其直系同源物。分泌的proTα的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:121:

[0551] MDRAKLLLLLLLLLLPQAQASDAAVDTSSEITTKDLKEKKEVVEEAENGRDAPANGNANEENGEQE A DNEVDEEEEEEGEEEEEEEEEGDGEEDGDEDEEAESATGKRAAEDDEDDVDTKKQKTDDEDD

[0552] [SEQ ID No:121]

[0553] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:121所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0554] 在一个实施方式中,所述分泌的proTα多肽由如下所示的SEQ ID No:122的DNA核苷酸序列编码:

[0555] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTTCAGACGCA GCCGTAGACACCAGCTCCGAAATCACCACCAAGGACTTAAAGGAGAAGAAGGAAGTTGTGGAAGAGGCAGAAAATGG AAGAGACGCCCCTGCTAACGGGAATGCTAATGAGGAAAAATGGGGAGCAGGAGGCTGACAATGAGGTAGACGAAGAAG AGGAAGAAGGTGGGGAGGAAGAGGAGGAGGAAGAAGAAGGTGATGGTGAGGAAGAGGATGGAGATGAAGATGAGGAA GCTGAGTCAGCTACGGGCAAGCGGGCAGCTGAAGATGATGAGGATGACGATGTTCGATACCAAGAAGCAGAAGACCGA CGAGGATGAC

[0556] [SEQ ID No:122]

[0557] 因此,优选地,所述分泌的proT α 多肽由基本上如SEQ ID No:122中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0558] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:123的RNA核苷酸序列:

[0559] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUUCAGACGCA GCCGUAGACACCAGCUCCGAAAUCACCACCAAGGACUUAAGGAGAAGAAGGAAGUUGUGGAAGAGGCAGAAAAUGG AAGAGACGCCCCUGCUAACGGGAAUGCUAAUGAGGAAAAUGGGGAGCAGGAGGCUGACAAUGAGGUAGACGAAGAAG AGGAAGAAGGUGGGGAGGAAGAGGAGGAGGAAGAAGAAGGUGAUGGUGAGGAAGAGGAUGGAGAUGAAGAUGAGGAA GCUGAGUCAGCUACGGGCAAGCGGGCAGCUGAAGAUGAUGAGGAUGACGAUGUCGAUACCAAGAAGCAGAAGACCGA CGAGGAUGAC

[0560] [SEQ ID No:123]

[0561] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:123所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0562] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是前胸腺素 α (proT α) (100-109-具有分泌信号;NCBI参考序列:NM_002823.5;UniProtKB-P06454 (PTMA_HUMAN)),或其直系同源物。分泌的proT α 的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:124:

[0563] MDRAKLLLLLLLLLPQAQATKKQKTDEDD

[0564] [SEQ ID No:124]

[0565] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:124所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0566] 在一个实施方式中,所述分泌的proT α 多肽由如下所示的SEQ ID No:125的DNA核苷酸序列编码:

[0567] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTACCA AGAAGCAGAAGACCGACGAGGATGAC

[0568] [SEQ ID No:125]

[0569] 因此,优选地,所述分泌的proT α 多肽由基本上如SEQ ID No:125中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0570] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:126的RNA核苷酸序列:

[0571] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUAC CAAGAAGCAGAAGACCGACGAGGAUGAC

[0572] [SEQ ID No:126]

[0573] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:126所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0574] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是胸腺素 α 1 (T α 1) (NCBI参考序列:NM_001099285.2;UniProtKB-P06454 (PTMA_HUMAN)),或其直系同源物。T α 1的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:127:

[0575] MDRAKLLLLLLLLLPQAQADAADVTSSEITTKDLKEKKEVVEEAENG

[0576] [SEQ ID No:127]

[0577] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:127所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0578] 在一个实施方式中,所述Talpa1多肽由如下所示的SEQ ID No:128的DNA核苷酸序列编码:

[0579] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTGACGCAGCCGTAGACACCAGCTCCGAAATCACCACCAAGGACTTAAAGGAGAAGAAGGAAGTTGTGGAAGAGGCAGAAAATGGA

[0580] [SEQ ID No:128]

[0581] 因此,优选地,所述Talpa1多肽由基本上如SEQ ID No:128中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0582] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:129的RNA核苷酸序列:

[0583] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUCAAGCUGACGCAGCCGUAGACACCAGCUCCGAAAUCACCACCAAGGACUUAAGGAGAAGAAGGAAGUUGUGGAAGAGGCAGAAAAUGGA

[0584] [SEQ ID No:129]

[0585] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:129所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0586] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是跨膜F1t3L(tF1t3L)(NCBI参考序列:NM_001459.4;UniProtKB-P49771 (FLT3L_HUMAN)),或其直系同源物。tF1t3L多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:130:

[0587] MTVLAPAWSPTTYLLLLLLLSSGLSGTQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTIVAGSKMQGLLERVNTIEHFVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNF SRCLELQCQPDSS TLPPWSPRPLEATAPTAPQPPLLLLLLLLPVGLLLAAWCLHWQRTRRRTPRPGEQVPPVPSPQDLLLVEH

[0588] [SEQ ID No:130]

[0589] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:130所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0590] 在一个实施方式中,所述tF1t3L多肽由如下所示的SEQ ID No:131的DNA核苷酸序列编码:

[0591] ATGACAGTGCTGGCGCCAGCCTGGAGCCCCAACCAACCTATCTCCTCCTGCTGCTGCTGAGCTCGGGA CTCAGTGGGACCCAGGACTGCTCCTTCCAACACAGCCCCATCTCCTCCGACTTCGCTGTCAAATCCGTGAGCTGCTTGACTACCTGCTTCAAGATTACCCAGTCAACCGTGGCCTCCAACCTGCAGGACGAGGAGCTCTGCGGGGGCCTCTGGC GGCTGGTCTCTGGCACAGCGCTGGATGGAGCGGCTCAAGACTGTCGCTGGGTCCAAGATGCAAGGCTTGCTGGAGCGC GTGAACACGGAGATACACTTTGTACCAAATGTGCCTTTCAGCCCCCCCCAGCTGTCTTCGCTTCGTCCAGACCAACATCTCCCGCTCCTGCAGGAGACCTCCGAGCAGCTGGTGGCGCTGAAGCCCTGGATCACTCGCCAGAACTTCTCCCGGTGCCTGGAGCTGCAGTGTGAGCCGACTCCTCAACCTGCCACCCCCATGGAGTCCCCGGCCCCCTGGAGGCCACAGCCCCGACAGCCCCGAGCCCCCTCTGCTCCTCTACTGCTGCTGCCCCGTGGGCCTCCTGCTGCTGGCCGCTGCCTGTGCCTGCACTGGCAGAGGACGCGGCGGAGGACACCCCGCCCTGGGGAGCAGGTGCCCCCGTCCCCAGTCCCCAGGACCTGCTGCTTGTGGAGCAC

[0592] [SEQ ID No:131]

[0593] 因此,优选地,所述tF1t3L多肽由基本上如SEQ ID No:131中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0594] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:132的RNA核苷酸序列:

[0595] AUGACAGUGCUGGCGCCAGCCUGGAGCCCAACAACCUAUCUCCUCCUGCUGCUGCUGAGCUCGGGA
CUCAGUGGGACCCAGGACUGCUCCUCCAACACAGCCCCAUUCCUCCGACUUCGCUGUAAAAUCCGUGAGCUGUC
UGACUACCUGCUUCAAGAUUACCCAGUCACCGUGGCCUCCAACCGCAGGACGAGGAGCUCUGCGGGGGCCUCUGGC
GGCUGGUCCUGGCACAGCGCUGGAUGGAGCGGCUCAAGACUGUCGUGGGUCCAAGAUGCAAGGCUUGCUGGAGCGC
GUGAACACGGAGAUACACUUUGUCACCAAAUGUGCCUUUCAGCCCCCCCCCAGCUGUCUUCGCUUCGUCCAGACCAA
CAUCUCCCGCCUCCUGCAGGAGACCUCCGAGCAGCUGGUGGCGCUGAAGCCCUGGAUCACUCGCCAGAACUUCUCCC
GGUGCCUGGAGCUGCAGUGUCAGCCCGACUCCUCAACCCUGCCACCCCCAUGGAGUCCCCGGCCCCUGGAGGCCACA
GCCCCGACAGCCCCGAGCCCCCUCUGCUCCUCCUACUGCUGCUGCCCCGUGGGCCUCCUGCUGCUGGCCGCGUGCCUG
GUGCCUGCACUGGCAGAGGACGCGGCGGAGGACACCCCGCCUGGGGAGCAGGUGCCCCCGUCCCCAGUCCCCAGG
ACCUGCUGCUUGUGGAGCAC

[0596] [SEQ ID No:132]

[0597] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:132所示的RNA核苷酸序
列,或其变体或片段。

[0598] 在一个实施方式中,所述至少一种ISP可以是可溶性sFlt3L (NCBI参考序列:NM_
001459.4;UniProtKB-P49771 (FLT3L_HUMAN)),或其直系同源物。sFlt3L多肽序列的一个实
施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:133:

[0599] MDRAKLLLLLLLLLPQAQATQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWR
LVLAQRWMERLKTIVAGSKMQGLLERVNTIEHFVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNF
SR
CLELQCQPDSSSTLPPWSPRPLEATAPTAPQP

[0600] [SEQ ID No:133]

[0601] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:133所示
的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0602] 在一个实施方式中,所述sFlt3L多肽由如下所示的SEQ ID No:134的DNA核苷酸序
列编码:

[0603] ATGGACAGAGCCAAGCTGCTGCTGTTGCTGCTCCTTCTGCTGCTGCCTCAGGCTCAAGCTACCCAGGAC
TGCTCCTTCCAACACAGCCCCATCTCCTCCGACTTCGCTGTCAAAATCCGTGAGCTGTCTGACTACCTGCTTCAAGA
TTACCCAGTCACCGTGGCCTCCAACCTGCAGGACGAGGAGCTCTGCGGGGGCCTCTGGCGGCTGGTCCTGGCACAGC
GCTGGATGGAGCGGCTCAAGACTGTCGCTGGGTCCAAGATGCAAGGCTTGCTGGAGCGCGTGAACACGGAGATACAC
TTTGTACCAAATGTGCCTTTTCAGCCCCCCCCCAGCTGTCTTCGCTTCGTCCAGACCAACATCTCCCGCCTCCTGCA
GGAGACCTCCGAGCAGCTGGTGGCGCTGAAGCCCTGGATCACTCGCCAGAACTTCTCCCGGTGCCTGGAGCTGCAGT
GTCAGCCCGACTCCTCAACCCTGCCACCCCCATGGAGTCCCCGGCCCCCTGGAGGCCACAGCCCCGACAGCCCCGAG
CCC

[0604] [SEQ ID No:134]

[0605] 因此,优选地,所述sFlt3L多肽由基本上如SEQ ID No:134中所示的DNA核苷酸序
列,或其变体或片段所编码。

[0606] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:135的RNA核苷酸序列:

[0607] AUGGACAGAGCCAAGCUGCUGCUGUUGCUGCUCCUUCUGCUGCUGCCUCAGGCUAAGCUACCCAGGAC
UGCUCUCCAACACAGCCCCAUUCCUCCGACUUCGCUGUAAAAUCCGUGAGCUGUCUGACUACCUGCUUCAAGA
UUACCCAGUCACCGUGGCCUCCAACCGCAGGACGAGGAGCUCUGCGGGGGCCUCUGGCGGCUGGUCCUGGCACAGC

GCUGGAUGGAGCGGCUCAAGACUGUCGCGUGGGUCCAAGAUGCAAGGCUUGCUGGAGCGCGUGAACACGGAGAUACAC
UUUGUCACCAAUGUGCCUUUCAGCCCCCCCCCAGCUGUCUUCGCUUCGUCCAGACCAACAUCUCCCGCCUCCUGCA
GGAGACCUCGAGCAGCUGGUGGCGCUGAAGCCUGGAUCACUCGCCAGAACUUCUCCCGUGCCUGGAGCUGCAGU
GUCAGCCCGACUCCUCAACCCUGCCACCCCAUGGAGUCCCCGGCCCCUGGAGGCCACAGCCCCGACAGCCCCGAG
CCC

[0608] [SEQ ID No:135]

[0609] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:135所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0610] 所述ISP可以不选自以下组成的组:白介素、IL2、IL4、IL6、IL7、IL12、IL15、IL21、集落刺激因子(CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、和肿瘤坏死因子(TNF)。

[0611] 本发明人还开发了新型RNA构建体(saRNA和mRNA),其不仅包括用作分子佐剂的ISP,而且还能够克服感知RNA的宿主细胞的先天免疫系统。已经通过表达阻断或减少宿主的先天免疫系统机制的病毒免疫抑制蛋白(IIP)和/或人先天调节蛋白(IMP)来实现,导致改善的翻译(在mRNA的情况下)和增加的自扩增和后续的翻译(在saRNA的情况下),并且因此增加宿主细胞中目的基因(抗原)的蛋白质表达水平。

[0612] 因此,本文所述的至少一种人类先天调节蛋白(IMP)可以是以下列出的任何IMP。例如,可通过以下NCBI和UniProt登录号找到:删除DBD和/或NLS的IRF1(141-325)、IRF1 DBD(1-164)-NCBI参考序列:NM_002198.3、UniProtKB-P10914(IRF1_HUMAN)、删除DBD的IRF3(191-427)-NCBI参考序列:NM_001571.6、UniProtKB-Q14653(IRF3_HUMAN)、IRF7 DN(238-503)-NCBI参考序列:NM_001572.5、UniProtKB-Q92985(IRF7_HUMAN)、IRF9 DN(143-393)、IRF9 DN(182-385)、IRF9 DN(200-308)、IRF9 DBD(1-120)-NCBI参考序列:NM_006084.5、UniProtKB-Q00978(IRF9_HUMAN)、IRF4 DBD(21-129)-NCBI参考序列:NM_002460.4、UniProtKB-Q15306(IRF4_HUMAN)、IRF5 DBD(1-140)、IRF5A68P DBD(1-140)-NCBI参考序列:NM_032643.5、UniProtKB-Q13568(IRF5_HUMAN)、IRF8 DBD(1-140)-NCBI参考序列:NM_002163、UniProtKB-Q02556(IRF8_HUMAN)、STAT1 DN(Y701F)-NCBI参考序列:NM_007315.4、UniProtKB-P42224(STAT1_HUMAN)、STAT2 DN(133-315)、STAT2 DN(F175D)-NCBI参考序列:NM_005419.4、UniProtKB-P52630(STAT2_HUMAN)、HSP90(CDC37)DN(1-232)-NCBI参考序列:NM_007065.4、UniProtKB-Q16543(CDC37_HUMAN);STING-Beta DN-GenBank:MF360993.1、UniProtKB-A0A3G1PSE3(A0A3G1PSE3_HUMAN)、A20或TNFAIP3 DN(369-775)、A20或TNFAIP3 DN(606-790)-NCBI参考序列:NM_006290.4、UniProtKB-P21580(TNAP3_HUMAN)、MFN2 DN(370-500)、MFN2 DN(400-480)-NCBI参考序列:NM_001127660.2、UniProtKB-Q095140(MFN2_HUMAN);;TARBP2 DN(1-234)-NCBI参考序列:NM_134323.2、UniProtKB-Q15633(TRBP2_HUMAN);Zinc AVP DN(1-200)-NCBI参考序列:NM_020119.4、UniProtKB-Q7Z2W4(ZCCHV_HUMAN);PKR saRNA BD DN(1-170)-NCBI参考序列:NM_002759.4、UniProtKB-P19525(E2AK2_HUMAN);PACT PRKRA DN(1-194)-NCBI参考序列:NM_003690.5、UniProtKB-Q075569(PRKRA_HUMAN);RNAL DN(1-330)-NCBI参考序列:NM_021133.4、UniProtKB-Q05823(RN5A_HUMAN);OAS3 Domain 1DN(1-343)-NCBI参考序列:NM_006187.4、UniProtKB-Q9Y6K5(OAS3_HUMAN);FAF1-NCBI参考序列:NM_007051.3、

UniProtKB-Q9UNN5 (FAF1_HUMAN); SOCS1-NCBI参考序列:NM_003745.2、UniProtKB-015524 (SOCS1_HUMAN); SOCS3-NCBI参考序列:NM_003955.5、UniProtKB-014543 (SOCS3_HUMAN); USP18-NCBI参考序列:NM_017414.4、UniProtKB-Q9UMW8 (UBP18_HUMAN); USP21-NCBI参考序列:NM_012475.5、UniProtKB-Q9UK80 (UBP21_HUMAN); USP27 (1-438) -NCBI参考序列:NM_001145073.3、UniProtKB-A6NNY8 (USP27_HUMAN); CYLD-NCBI参考序列:NM_015247.3、UniProtKB-Q9NQC7 (CYLD_HUMAN); LGP2-NCBI参考序列:NM_024119.3、UniProtKB-Q96C10 (DHX58_HUMAN); RIG splice variant (DDX58_HUMAN_ISOFORM_2)、RIG-1 (DDX 58) -NCBI参考序列:NM_014314.4、UniProtKB-095786 (DDX58_HUMAN) AA 36-80deletion; DDX-56-NCBI参考序列:NM_019082.4、UniProtKB-Q9NY93 (DDX56_HUMAN); ARL5B-NCBI参考序列:NM_178815.5、UniProtKB-Q96KC2 (ARL5B_HUMAN); ARL16-NCBI参考序列:NM_001040025.3、UniProtKB-Q0P5N6 (ARL16_HUMAN)。

[0613] 在一个实施方式中,所述至少一种IMP可以是IRF1 DBD (1-164) ——被称为IRF1 (NCBI参考序列:NM_002198.3、UniProtKB-P10914 (IRF1_HUMAN)),或其直系同源物。IRF1 DBD的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:178:

[0614] MPITRMRMRPWLEMQINSNQIPGLIWINKKEEMIFQIPWKHAAKHGWDINKDACLFERSWAIHTGRYKAGE
KEPDPKTWKANFRFCAMNSLPDIEEVKDKSRNKGSSAVRVYRMLPPLTKNQRKERKSKSSRDAKSKAKRKSCGDSSPD
TFSDGLSSSTLPDDHSSY

[0615] [SEQ ID No:178]

[0616] 因此,优选地,任何方面的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:178所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0617] 在一个实施方式中,所述IRF1 DBD (1-164) 多肽由如下所示的SEQ ID No:179的DNA核苷酸序列编码:

[0618] ATGCCCATCACTCGGATGCGCATGAGACCCTGGCTAGAGATGCAGATTAATTCCAACCAAATCCCGGGG
CTCATCTGGATTAATAAAGAGGAGATGATCTTCCAGATCCCATGGAAGCATGCTGCCAAGCATGGCTGGGACATCAA
CAAGGATGCCTGTTTGTTCGGAGCTGGGCCATTACACAGGCCGATACAAAGCAGGGGAAAAGGAGCCAGATCCCA
AGACGTGGAAGGCCAACTTTTCGCTGTGCCATGAACTCCCTGCCAGATATCGAGGAGGTGAAAGACCAGAGCAGGAAC
AAGGGCAGCTCAGCTGTGCGAGTGTACCGGATGCTTCCACCTCTCACCAAGAACCAGAGAAAAGAAAGAAAGTCGAA
GTCCAGCCGAGATGCTAAGAGCAAGGCCAAGAGGAAGTCATGTGGGGATTCCAGCCCTGATACCTTCTCTGATGGAC
TCAGCAGCTCCACTCTGCCTGATGACCACAGCAGCTAC

[0619] [SEQ ID No:179]

[0620] 因此,优选地,所述IRF1 DBD (1-164) 多肽由基本上如SEQ ID No:179中所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0621] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:180的RNA核苷酸序列:

[0622] AUGCCCAUCACUCGGAUGCGCAUGAGACCCUGGCUAGAGAUGCAGAUUAAUCCAACCAAAUCCCGGGG
CUCAUCUGGAUUAUAAAGAGGAGAUGAUCUCCAGAUCCCAUGGAAGCAUGCUGCCAAGCAUGGCUGGGACAUCAA
CAAGGAUGCCUGUUUGUUCGGAGCUGGGCCAUUCACACAGGCCGAUACAAAGCAGGGGAAAAGGAGCCAGAUCCCA
AGACGUGGAAGGCCAACUUUCGUGUGCCAUGAACUCCUGCCAGAUUUCGAGGAGGUGAAAGACCAGAGCAGGAAC
AAGGGCAGCUCAGCUGUGCGAGUGUACCGGAUGCUUCCACCUCUACCAAGAACCAGAGAAAAGAAAGAAAGUCGAA
GUCCAGCCGAGAUGCUAAGAGCAAGGCCAAGAGGAAGUCAUGUGGGGAUCCAGCCUGAUACCUUCUCUGAUGGAC

UCAGCAGCUCCACUCUGCCUGAUGACCACAGCAGCUAC

[0623] [SEQ ID No:180]

[0624] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:180所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0625] 此外,本文所述的至少一种病毒免疫抑制蛋白(IIP)可以是以下列出的任何IIP。例如,IIP可见以下NCBI和UniProt登录号:HPV E6(人乳头瘤病毒E6;NP_041325.1;登录号-NCBI参考序列:NC_001526.4;UniProtKB-P03126(VE6_HP16));HSV ICP34.5(单纯疱疹病毒ICP34.5;YP_009137073.1;登录号-NCBI参考序列:NC_001806.2;UniProtKB-P36313(ICP34_HHV11));HCV E2(丙型肝炎病毒E2;来自多蛋白ADC54662.1的NS1蛋白;登录号-Genomic RNA翻译ADC54662.1;UniProtKB-D3W8R2(D3W8R2_9HEPC));HCV NS5a(丙型肝炎病毒NS5a;分离H-基因组RNA翻译:AAA45534.1;UniProtKB-P27958(POLG_HCV77));VACV E3L(牛痘病毒E3L;JN654977.1,AEY72868.1;登记号-基因组DNA翻译:AEY72868.1;UniProtKB-H2DSW3(H2DSW3_9POXV));VACV K3L(牛痘病毒K3L;P20639.1;登记号-基因组DNA翻译:AAA4809.1;UniProtKB-P20639(K3_VACCC));牛痘C6(牛痘病毒C6;登记号-基因组DNA翻译:AAA69602.1;UniProtKB-P17362(C6_VACCW));MERS ORF8b(中东呼吸综合征病毒ORF8b;登记号-GenBank:ANF29170.1;UniProtKB-A0A1W5LGP6(A0A1W5LGP6_MERS));KSHV ORF52(卡波西肉瘤相关疱疹病毒ORF52;登记号-基因组DNA翻译:ACY00451.1;UniProtKB-F5HBL8(F5HBL8_HHV8));埃博拉VP35(NP_066244.1;登记号-NCBI参考序列:NC_002549.1;UniProtKB-Q05127(VP35_EBOZM));SARS-CoV-2ORF3b、ORF3b*57变体、ORF3b*79变体、ORF3b*57Ecuador变体(登记号-NCBI参考序列:NC_045512.2)。

[0626] 在一个实施方式中,所述至少一种IIP可以是VACV E3L——被称为E3L(NCBI参考序列:JN654977.1,AEY72868.1;登录号-基因组DNA翻译:AEY72868.1;UniProtKB H2DSW3(H2DSW3_9POXV)),或其直系同源物。E3L多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:17:

[0627] MSKIYIDERSDAEIVCAAIAKNIGIEGATAAQLTRQLNMEKREVNKALYDLQRSAMVYSSDDIPPRWFMT
TEADKPDADAMADVII DDVSREKSMREDHKSFDVIPA KKI IDWKDANPVTI INEYCQITKRDWSFRIESVGPSNSP
TFYACVDIDGRVFDKADGKSKRDAKNNAAKLAVDKLLGYVIIIRF

[0628] [SEQ ID No:172]

[0629] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:172所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0630] 在一个实施方式中,所述E3L多肽由如下所示的SEQ ID No:173的DNA核苷酸序列编码:

[0631] ATGTCTAAGATCTATATCGACGAGCGTTCTGACGCAGAGATTGTGTGTGCGGCTATTAAAAACATTGGA
ATCGAAGGAGCTACTGCTGCACAACCTAAGACAACTAATATGGAGAAGCGAGAAGTTAATAAAGCTCTGTACGA
TCTTCAACGTAGTGCTATGGTGTACAGCTCCGACGATATTCCTCCTCGTTGGTTTATGACAACGGAGGCGGATAAGC
CGGATGCTGATGCTATGGCTGACGTCATAATAGATGATGTATCCCGCGAAAAATCAATGAGAGAGGATCATAAGTCT
TTTGATGATGTTATTCCGGCTAAAAAAATTATTGATTGGAAAGATGCTAACCCGTGCACCATTATTAATGAGTACTG
CCAAATAACTAAGAGAGATTGGTCTTTTCGTATTGAATCAGTTGGGCCTAGTAACCTCTCTACATTTTATGCCTGTG
TAGATATCGACGGAAGAGTATTCGATAAGGCCGATGGAAAAATCTAAACGAGATGCTAAAAATAATGCAGCTAAATTG

GCTGTAGATAAACTTCTTGGGTACGTCATCATTAGATTC

[0632] [SEQ ID No:173]

[0633] 因此,优选地,所述E3L多肽由基本上如SEQ ID No:173所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0634] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:174的RNA核苷酸序列:

[0635] AUGUCUAAGAUCUAUAUCGACGAGCGUUCUGACGCAGAGAUUGUGUGUGCGGCUAUUAAAAACAUUGGA
AUCGAAGGAGCUACUGCUGCACAACUAAACUAGACAACUUAUAUGGAGAAGCGAGAAGUUAUAAAGCUCUGUACGA
UCUUCAACGUAGUGCUAUGGUGUACAGCUCCGACGAUAUCCUCCUCGUUGGUUUUAUGACAACGGAGGCGGAUAAGC
CGGAUGCUGAUGCUAUGGCUGACGCUAUAUAUGAUGUAUCCCGCGAAAAUCAAUGAGAGAGGAUCAUAAGUCU
UUUGAUGAUGUUAUCCGGCUAAAAAAAAUUAUUGAUUGGAAAGAUGCUAACCCUGUCACCAUUAUUAUGAGUACUG
CCAAAUAACUAAGAGAGAUUGGUCUUUUCGUAUUGAAUCAGUUGGGCCUAGUAACUCUCCUACAUUUUAUGCCUGUG
UAGAUUUCGACGGAAGAGUAUUCGAUAAGGCCGAUGGAAAAUCUAAACGAGAUGCIAAAAAUAAUGCAGCUAAAUG
GCUGUAGAUAAACUUCUUGGGUACGUCAUCAUUAAGAUUC

[0636] [SEQ ID No:174]

[0637] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:174所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0638] 此外,所述IIP还可以选自:HSV-2Us1、HSV-1Us1、HSV-1Us11、BVDV Npro、Langat NS5、流感NS1(例如来自流感H1N1(A/Puerto Rico/8/1934(PR34)菌株)、PIV-5V、SARS-CoV-2ORF3b和MERS-CoV ORF4a、牛痘C6、EV71-2Apro、BVDV nPro、SARS-CoV-2ORF3b*57变体、SARS-CoV-2ORF3b*57Ecuador变体、SARS-CoV-2Pangolin ORF3b*57、SARS-CoV-2ORF3b*79变体和SARS-CoV-2ORF3b*79Pangolin变体。

[0639] 在一个实施方式中,所述至少一种IIP可以是流感NS1(例如,来自流感H1N1(A/Puerto Rico/8/1934(PR34)菌株——被称为PR34(NCBI参考序列:NC_002020.1; UniProtKB-P03496(NS1_I34A1)),或其直系同源物)。PR34的多肽序列的一个实施方式在本文中表示为如下所示的SEQ ID No:175:

[0640] MDPNTVSSFQVDCFLWHVRKRVADQELGDAPFLDRLRRDQKSLRGRGSTLGLDIETATRAGKQIVERIL
KEESDEALKMTMASVPASRYLTDMTLEEMSRDWSMLIPKQKVAGPLCIRMDQAIMDKNIILKANFSVIFDRLETLIL
LRAFTEEGAIVGEISPLPSLPGHATAEDVKNVAVGLIGGLEWNDNTVRVSETLQRFARSSNENGRPPLTPKQKREMA
GTIRSEV

[0641] [SEQ ID No:175]

[0642] 因此,优选地,任何方面所述的RNA构建体包含编码基本上如SEQ ID No:175所示的氨基酸序列的核苷酸序列,或其变体或片段。

[0643] 在一个实施方式中,所述PR34多肽由如下所示的SEQ ID No:176的DNA核苷酸序列编码:

[0644] ATGGATCCAAACACTGTGTCAAGCTTTCAGGTAGATTGCTTCTTTGGCATGTCCGCAAACGAGTTGCA
GACCAAGAACTAGGTGATGCCCCATTCCTTGATCGGCTTCGCCGAGATCAGAAATCCCTAAGAGGAAGGGGCAGCAC
TCTTGGTCTGGACATCGAGACAGCCACACGTGCTGGAAAGCAGATAGTGGAGCGGATTCTGAAAGAAGAATCCGATG
AGGCACTTAAAATGACCATGGCCTCTGTACCTGCGTCGCGTTACCTAACCGACATGACTCTTGAGGAAATGTCAAGG
GAATGGTCCATGCTCATACCCAAGCAGAAAGTGGCAGGCCCTCTTTGTATCAGAATGGACCAGGCGATCATGGATAA

AAACATCATACTGAAAGCGAACTTCAGTGTGATTTTTGACCGGCTGGAGACTCTAATATTGCTAAGGGCTTTCACCG
AAGAGGGAGCAATTGTTGGCGAAATTTACCATTGCCTTCTCTTCCAGGACATACTGCTGAGGATGTCAAAAATGCA
GTTGGAGTCCTCATCGGAGGACTTGAATGGAATGATAACACAGTTCGAGTCTCTGAACTCTACAGAGATTGCTTG
GAGAAGCAGTAATGAGAATGGGAGACCTCCACTCACTCCAAAACAGAAACGAGAAATGGCGGGAACAATTAGGTCAG
AAGTT

[0645] [SEQ ID No:176]

[0646] 因此,优选地,所述PR34多肽由基本上如SEQ ID No:176所示的DNA核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0647] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:177的RNA核苷酸序列:

[0648] AUGGAUCCAAACACUGUGUCAAGCUUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUUGGCAUGUCCGCAAACGAGUUGCA
GACCAAGAACUAGGUGAUGCCCCAUUCCUUGAUCGGCUUCGCCGAGAUAGAAAUCCCUAAGAGGAAGGGGCAGCAC
UCUUGGUCUGGACAUCGAGACAGCCACACGUGCUGGAAAGCAGAUAGUGGAGCGGAUUCUGAAAGAAGAAUCCGAUG
AGGCACUUAUAAUGACCAUGGCCUCUGUACCUUGCGUCGCGUUAACCUAACCGACAUGACUCUUGAGGAAAUGUCAAGG
GAAUGGUCCAUGCUCAUACCCAAGCAGAAAGUGGCAGGCCUCUUUGUAUCAGAAUGGACCAGGCGAUGAUGGAUAA
AAACAUCAUACUGAAAGCGAACUUCAGUGUGAUUUUUGACCGCUGGAGACUCUAAUUAUUGCUAAGGGCUUUCACCG
AAGAGGGAGCAAUUGUUGGCGAAAUUUCACCAUUGCCUUCUCUCCAGGACAUACUGCUGAGGAUGUAAAAUGCA
GUUGGAGUCCUCAUCGGAGGACUUGAAUGGAAUGAUAACACAGUUCGAGUCUCUGAAACUCUACAGAGAUUCGCUUG
GAGAAGCAGUAAUGAGAAUGGGAGACCUCACUCACUCCAAAACAGAAACGAGAAUUGGCGGGAACAAUAGGUCAG
AAGUU

[0649] [SEQ ID No:177]

[0650] 此外,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:177所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0651] 所述RNA构建体包含编码至少一种治疗性生物分子的核苷酸序列。这在图1中被称为目的基因(GOI)。

[0652] 因此,所述至少一种治疗性生物分子可以包含治疗性蛋白质。本领域技术人员可以理解,治疗性蛋白质涉及优选在人类中具有治疗应用的任何蛋白质。可由RNA分子编码的示例性治疗性生物分子包括衍生自诸如细菌、病毒、真菌、原生动物/或寄生物的病原体的蛋白质或肽。优选地,蛋白质或肽是抗原。因此,在至少一种治疗性生物分子是抗原的实施方式中,可将所述RNA构建体看作疫苗。

[0653] 衍生自病毒的蛋白质或肽可以是病毒抗原。所述病毒抗原可衍生自选自以下组成的组的病毒:正黏液病毒;副黏液病毒科病毒;偏肺病毒和麻疹病毒;肺炎病毒;副粘病毒;痘病毒科;偏肺病毒;麻疹病毒;小核糖核酸病毒;肠道病毒;布尼亚病毒;白蛉病毒;内罗病毒;嗜肝RNA病毒;披膜病毒;甲病毒;动脉炎病毒;黄病毒;瘟病毒;嗜肝DNA病毒;弹状病毒;杯状病毒科;冠状病毒;逆转录酶病毒;呼吸道肠道病毒;细小病毒;丁型肝炎病毒(HDV);戊型肝炎病毒(HEV);人类疱疹病毒和乳多泡病毒。

[0654] 正黏液病毒可以是甲型流感、乙型流感和丙型流感病毒。副粘病毒科病毒可以是肺炎病毒(RSV)、副粘病毒(PIV)。偏肺病毒可以是麻疹病毒(如麻疹)。肺炎病毒可以是呼吸道合胞病毒(RSV)、牛呼吸道合胞病毒、小鼠肺炎病毒或火鸡鼻气管炎病毒。副粘病毒可以是1-4型副流感病毒(PIV)、流行性腮腺炎、仙台病毒、猴病毒5、牛副流感病毒、尼帕病毒、亨

尼病毒或新城疫病毒。痘病毒科可以是天花病毒,例如大天花和小天花。偏肺病毒可以是人偏肺病毒(hMPV)或禽类偏肺病毒(aMPV)。麻疹病毒可以是麻疹。小核糖核酸病毒可以是肠道病毒、鼻病毒、嗜肝RNA病毒、副肠孤病毒、心病毒和口疮病毒。肠道病毒可以是1、2或3型脊髓灰质炎病毒;1至22和24型柯萨奇A病毒;1至6型柯萨奇B病毒;1至9、11至27和29至34型艾柯病毒(ECHO)病毒或68至71型肠道病毒。布尼亚病毒可以是加利福尼亚脑炎病毒。白蛉病毒可以是裂谷热病毒。内罗病毒可以是克里米亚-刚果出血热病毒。嗜肝RNA病毒可以是甲肝病毒(HAV)。披膜病毒可以是风疹病毒。黄病毒可以是蜱传脑炎(TBE)病毒、登革热(1、2、3或4型)病毒、黄热病病毒、日本脑炎病毒、科萨努尔森林病毒、西尼罗河脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、俄罗斯春夏脑炎病毒或波瓦桑脑炎病毒。瘟病毒可以是牛病毒性腹泻病毒(BVDV)、古典猪瘟病毒(CSFV)或边境病病毒(BDV)。嗜肝DNA病毒可以是乙型肝炎病毒或丙型肝炎病毒。弹状病毒可以是狂犬病病毒(狂犬病病毒)或水疱性病毒(VSV)。杯状病毒科可以是诺沃克病毒,或诺沃克样病毒,如夏威夷病毒和雪山病毒。冠状病毒可以是SARS CoV-1、SARS-CoV-2、MERS、人类呼吸道冠状病毒、禽传染性支气管炎病毒(IBV)、小鼠肝炎病毒(MHV)或猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)。逆转录酶病毒可以是肿瘤病毒、慢病毒或泡沫病毒。呼吸道肠道病毒可以是正呼肠孤病毒、轮状病毒、环状病毒或科罗病毒。细小病毒可以是细小病毒B19。人类疱疹病毒可以是单纯疱疹病毒(HSV)、水痘-带状疱疹病毒(VZV)、艾巴氏病毒(EBV)、巨细胞病毒(CMV)、人疱疹病毒6(HHV6)、人疱疹病毒7(HHV7)或人疱疹病毒8(HHV8)。乳多泡病毒也可以是乳头状瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒或沙粒病毒。

[0655] 衍生自细菌的蛋白质或肽可以是细菌抗原。

[0656] 所述细菌抗原可以衍生自细菌,所述细菌选自以下组成的组:脑膜炎奈瑟氏菌、肺炎双球菌、酿脓链球菌、卡他莫拉菌、百日咳杆菌、伯克霍尔德氏菌属(例如,鼻疽伯克霍尔德氏菌、类鼻疽伯克霍尔德氏菌和洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*))、金黄色酿脓葡萄球菌、流感嗜血杆菌、破伤风梭菌(破伤风)、产气荚膜梭菌、肉毒杆菌、白喉棒状杆菌(白喉)、铜绿假单胞菌、嗜肺军团菌、伯氏考克斯氏体、布鲁氏菌(例如,流产布鲁氏菌(*B.abortus*)、犬属布鲁氏菌(*B.canis*)、马耳他布鲁氏菌(*B.melitensis*)、沙漠森林野鼠种布氏菌(*B.neotomae*)、羊属布鲁氏菌(*B.ovis*)、猪布鲁氏菌(*B.suis*)和鳍型布鲁氏菌(*B.pinnipediae*)、弗朗西斯氏菌属(*Francisella* sp.) (例如,新凶手弗朗西斯菌(*F.novicida*)、蜃楼弗朗西斯菌(*F.philomiragia*)、土拉弗朗西斯菌(*F.tularensis*))、无乳链球菌、淋病奈瑟菌、沙眼衣原体、梅毒螺旋体(梅毒)、杜克雷嗜血杆菌、粪肠球菌、尿肠球菌、幽门螺杆菌、腐生葡萄球菌、小肠结肠炎耶尔森菌、大肠杆菌、炭疽杆菌(炭疽)、鼠疫耶尔森菌(瘟疫)、结核分支杆菌、立克次氏体、李斯特菌、肺炎衣原体、霍乱弧菌、伤寒沙门氏菌(伤寒症)、氏疏螺旋体、卟啉单胞菌和克雷伯氏菌。

[0657] 衍生自真菌的蛋白质或肽可以是真菌抗原。

[0658] 所述真菌抗原可以衍生自真菌,所述真菌选自以下组成的组:皮霉(*Dermatophytes*),包括:表皮癣菌、奥杜安氏小孢子菌、犬小孢子菌、扭曲小孢子菌(*Microsporum distortum*)、马类小孢子菌、石膏小孢子菌(*Microsporum gypsum*)、猪小孢子菌、同心毛癣菌、马毛癣菌、鸡毛癣菌、石膏样毛癣菌(*Trichophyton gypseum*)、麦格毛菌、须毛癣菌、昆克努发癣菌(*Trichophyton quinckeanum*)、红色毛癣菌、许兰黄癣菌、断发毛癣菌、疣状癣菌、疣状发癣菌白色变种、盘状变种、赭黄变种、紫色毛癣菌和/或蜜块状毛

癣菌(*Trichophyton faviforme*);或衍生自烟曲霉菌、黄柄曲霉(*Aspergillus kavus*)、黑曲霉、构巢曲霉、土曲霉、萨氏曲霉(*Aspergillus sydowi*)、kavatus曲霉、灰绿曲霉、芽生裂殖菌、白色念珠菌、烯醇酶假丝酵母(*Candida enolase*)、热带念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯假丝酵母、近平滑念珠菌、类星形念珠菌、克鲁斯假丝酵母、帕拉克斯假丝酵母(*Candida parakwsei*)、葡萄牙假丝酵母、伪热带念珠菌、季也蒙假丝酵母、卡氏枝孢霉(*Cladosporium carrionii*)、粗球孢子菌、皮炎芽生菌、新型隐球菌、棒地霉、荚膜组织胞浆菌、肺炎克雷伯氏菌、微孢子虫目(*Microsporidia*)、脑胞内原虫属(*Encephalitozoon spp.*)、肠隔膜虫和双肠肠虫(*Septata intestinalis* and *Enterocytozoon bienewisi*)、虫属实菌(*Brachiola spp.*)、微孢子虫属、小孢子虫属(*Nosema spp.*)、匹里虫属(*Pleistophora spp.*)、人气管普孢虫属(*Trachipleistophora spp.*)、条孢虫属(*Vittaforma spp.*)、巴西副球孢子菌、卡氏肺孢子虫、隐袭腐霉、卵状糠秕孢子菌、酿酒酵母、布拉迪酵母(*Saccharomyces boulardii*)、粟酒裂殖酵母、尖端赛多孢子菌、申克孢子丝菌、白吉利毛孢子菌、弓形虫(*Toxoplasma gondii*)、马尔尼菲青霉、马拉色菌属、着色真菌属、万吉拉菌(*Wangiella spp.*)、孢子丝菌属、蛙粪霉属、耳霉属、根霉属、毛霉菌属、犁头霉属、被孢霉属、小坎宁安霉属(*Cunninghamella spp.*)、瓶霉属、链格孢菌属、知菌弯孢霉属(*Curvularia spp.*)、长蠕孢霉属、镰孢菌属、曲霉菌属、青霉菌属、链核盘菌属、丝核菌属、拟青霉属、皮司霉属和枝孢霉属。

[0659] 衍生自原生动物的蛋白质或肽可以是原生动物抗原。

[0660] 所述原生动物抗原可以衍生自原生动物,所述原生动物选自以下组成的组:痢疾变形虫、贾第鞭毛虫、隐孢子虫、卡耶塔环孢子球虫和弓形体。

[0661] 所述治疗性生物分子可以是衍生自植物的蛋白质或肽。优选地,所述蛋白质或肽是植物抗原。例如,所述植物抗原可以衍生自蓖麻。

[0662] 在另一实施方式中,所述治疗性生物分子可以是免疫原或抗原。优选地,所述免疫原或抗原是肿瘤免疫原或抗原,或癌症免疫原或抗原。所述肿瘤免疫原和抗原可以是含肽的肿瘤抗原,如多肽肿瘤抗原或糖蛋白肿瘤抗原。

[0663] 所述肿瘤抗原可是(a)与癌细胞相关的全长分子、(b)其同系物和修饰的形式,包括具有缺失、添加和/或取代部分的分子、和(c)其片段。

[0664] 合适的肿瘤免疫原包括:由CD8+淋巴细胞识别的I类限制性抗原或由CD4+淋巴细胞识别的II类限制性抗原。

[0665] 所述肿瘤抗原可是与癌症相关的抗原,所述癌症选自以下组成的组:睾丸癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、NSCLC、乳腺癌、胃肠癌、膀胱癌、结直肠癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血病、肾癌、肝癌、卵巢癌、胃癌和前列腺癌。

[0666] 所述肿瘤抗原可选自:

[0667] (a) 癌症-睾丸抗原,比如NY-ESO-1、SSX2、SCP-1以及RAGE、BAGE、GAGE和MAGE家族多肽,例如,GAGE-1、GAGE-2、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6和MAGE-12(例如,其可以用于解决黑色素瘤、肺肿瘤、头颈肿瘤、NSCLC、乳腺肿瘤、胃肠肿瘤和膀胱肿瘤);

[0668] (b) 突变的抗原,例如,P53(与多种实体瘤,例如结直肠癌、肺癌、头颈部癌相关)、p21/Ras(与例如黑色素瘤、胰腺癌和结直肠癌相关)、CDK4(与例如黑色素瘤相关)、MUM-1(与例如黑色素瘤相关)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-8(与例如头颈癌相关)、CIA 0205(与例

如膀胱癌相关)、HLA-A2-R1701、 β 连环蛋白(与例如黑色素瘤相关)、TCR(与例如T-细胞非霍奇金斯淋巴瘤相关)、BCR-ab1(与例如慢性髓性白血病相关)、磷酸丙糖异构酶、KIA0205、CDC-27和LDLR-FUT;

[0669] (c) 过表达的抗原,例如半乳糖凝集素4(与例如结直肠癌相关)、半乳糖凝集素9(与例如霍奇金病相关)、蛋白酶3(与例如慢性粒细胞白血病相关)、WT1(与例如多种白血病相关)、碳酸酐酶(与例如肾癌相关的)、醛缩酶A(与例如肺癌相关)、PRAME(与例如黑色素瘤相关的)、HER-2/neu(与例如乳腺癌、结肠癌、肺癌和卵巢癌相关)、甲胎蛋白(与例如肝癌相关)、KSA(与例如结直肠癌相关)、胃泌素(与例如胰腺癌和胃癌相关)、端粒酶催化蛋白、MUC-I(与例如乳腺癌和卵巢癌相关)、G-250(与例如肾细胞癌相关)、P53(与例如乳腺癌、结肠癌相关)和癌胚抗原(与例如乳腺癌、肺癌和诸如结直肠癌的胃肠癌症相关)。

[0670] (d) 共有抗原(shared antigen),例如,黑色素瘤-黑色素细胞分化抗原,如MART-1/Melan A、gp100、MC1R、促黑色素细胞激素受体、酪氨酸酶、酪氨酸酶相关蛋白-1/TRP1和酪氨酸酶相关蛋白-2/TRP2(与例如黑色素瘤相关);

[0671] (e) 前列腺相关的抗原,如PAP、PSA、PSMA、PSH-P1、PSM-P1、PSM-P2,与例如前列腺癌相关;和/或

[0672] (f) 免疫球蛋白个体基因型(例如,与骨髓瘤和B细胞淋巴瘤相关)。

[0673] 所述治疗性生物分子可以是真核生物蛋白质或肽。在一个实施方式中,所述真核生物蛋白质或肽是哺乳动物蛋白质或肽。所述哺乳动物蛋白质或肽可以选自由以下组成的组:酶;酶抑制剂;激素;免疫系统蛋白质;受体;结合蛋白;转录因子;翻译因子;肿瘤生长抑制蛋白;结构蛋白;和血蛋白。

[0674] 所述酶可以选自由以下组成的组:凝乳酶;胃脂肪酶;组织纤溶酶原激活物;链激酶;胆固醇生物合成或降解甾体生成酶;激酶;磷酸二酯酶;甲基酶;去甲基酶;脱氢酶;纤维素酶;蛋白酶;脂肪酶;磷脂酶;芳香酶;细胞色素;腺苷酸或鸟苷酸环化酶和神经酰胺酶。

[0675] 所述酶抑制剂可以是金属蛋白酶的抑制物(TIMP)。所述激素可以是生长激素。

[0676] 所述免疫系统蛋白可以选自由以下组成的组:细胞因子;趋化因子;淋巴因子;促红细胞生成素;整合素;地址素;选择素;归巢受体;T细胞受体和免疫球蛋白。

[0677] 所述细胞因子可以是白细胞介素,例如IL-2、IL-4和/或IL-6;集落刺激因子(CSF);粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)或肿瘤坏死因子(TNF)。

[0678] 所述趋化因子可以是巨噬细胞炎症蛋白-2和/或纤溶酶原激活物。

[0679] 所述淋巴因子可以是干扰素。

[0680] 所述免疫球蛋白可以是天然的、经修饰的或嵌合的免疫球蛋白或其片段。优选地,免疫球蛋白是具有双重活性的嵌合免疫球蛋白,如抗体酶或抗体-毒素嵌合体。

[0681] 所述激素可以选自由以下组成的组:胰岛素、甲状腺激素、儿茶酚胺、促性腺激素、促激素、泌乳素、催产素、多巴胺、牛生长激素、瘦素、生长激素(例如,人生长激素)、生长因子(例如表皮生长因子、神经生长因子、胰岛素样生长因子等)。

[0682] 所述受体可以是类固醇激素受体或肽受体。优选地,所述受体是生长因子受体。

[0683] 所述结合蛋白可以是生长因子结合蛋白。

[0684] 所述肿瘤生长抑制蛋白质可以是抑制血管生成的蛋白质。

[0685] 所述结构蛋白可以选自由以下组成的组：胶原蛋白；丝心蛋白；纤维蛋白原；弹性蛋白；微管蛋白；肌动蛋白和肌球蛋白。

[0686] 所述血蛋白可以选自由以下组成的组：凝血酶；血清白蛋白；因子VII；因子VIII；胰岛素；因子IX；因子X；组织纤溶酶原激活物；蛋白C；血管性假血友病因子；抗凝血酶III；葡萄糖苷脂酶；促红细胞生成素粒细胞菌落刺激因子（GCSF）或经修饰的因子VIII；和抗凝血剂。

[0687] 在一个优选的实施方式中，所述治疗性生物分子是能够调节淋巴内稳态的细胞因子，优选地为参与并优选诱导或增强T细胞的发育、启动、扩增、分化和/或存活的细胞因子。因此，优选地，所述细胞因子是白细胞介素。最优选地，IL-2、IL-7、IL-12、IL-15或IL-21。特别优选的是如实施例中所述的IL-7。

[0688] 所述治疗性生物分子可以是能够增强将体细胞重编程为具有干细胞特性的细胞的蛋白质。能够增强将体细胞重新编程为具有干细胞特性的细胞的蛋白质可以选自由以下组成的组：OCT4、SOX2、NANOG、LIN28、p53、ART-4、BAGE、ss-连环蛋白/m、Bcr-abL CAMEL、CAP-1、CASP-8、CDC27/m、CD4/m、CEA、CLAUDIN-12、c-MYC、CT、Cyp-B、DAM、ELF2M、ETV6-AML1、G250、GAGE、GnT-V、Gap100、HAGE、HER-2/neu、HPV-E7、HPV-E6、HAST-2、hTERT（或hTRT）、LAGE、LDLR/FUT、MAGE-A、MAGE-B、MAGE-C、MART-1/Melan-A、MC1R、肌球蛋白/m、MUC1、MUM-1、-2、-3、NA88-A、NF1、NY-ESO-1、NY-BR-1、p190小BCR-abL、Plac-1、Pml/RARa、PRAME、蛋白酶3、PSA、PSM、RAGE、RU1或RU2、SAGE、SART-1或SART-3、SCGB3A2、SCP1、SCP2、SCP3、SSX、SURVIVIN、TEL/AML1、TPI/m、TRP-1、TRP-2、TRP-2/INT2、TPTE和WT，优选WT-1。

[0689] 优选地，MAGE-A选自由以下组成的组：MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11或MAGE-A12。

[0690] 优选地，能够增强将体细胞重编程为具有干细胞特性的蛋白质是OCT4、SOX2、LF4、c-MYC、NANOG、LIN28。

[0691] 所述治疗性生物分子可以是用于离体修饰细胞以用于细胞疗法适应症的生物分子。因此，优选的治疗性生物分子可以选自由免疫球蛋白、T细胞受体和NK受体组成的组。

[0692] 所述治疗性生物分子可以是能够调节内源宿主基因表达的RNA分子，例如干扰RNA，如小RNA、siRNA或microRNA。

[0693] 编码所述至少一种ISP的序列可以设置在本发明所述RNA构建体的任何地方，例如可以将编码所述治疗性生物分子（即图1中的GOI）的序列设置在编码所述至少一种ISP的序列的5' 或3' 处。

[0694] 类似地，编码所述至少一种IMP和/或IIP的序列可以设置在所述RNA构建体的任何地方，这样编码所述治疗性生物分子（即图1中的GOI）的序列可以设置在编码所述至少一种IMP和/或IIP的序列的5' 或3' 处。而且，所述编码至少一种IMP和/或IIP的序列可以设置在编码ISP的序列的5' 或3' 处。

[0695] 例如，在一个实施方式中，编码治疗性生物分子（GOI）的序列优选设置在编码ISP的序列的5' 处。例如，参见图1中所示的saRNA实施方式2a、3a、4a以及mRNA实施方式6a和7a。此外，参见图2中所示的saRNA实施方式8a、9a、9c以及mRNA实施方式10a和10b。

[0696] 然而，在另一实施方式中，编码治疗性生物分子的序列优选设置在编码至少一种

ISP的序列的3'处。例如,参见图1中所示的saRNA实施方式2b、3b、4b以及mRNA实施方式6b和7b。

[0697] 优选地,根据第一方面的RNA构建体包含基因组的或亚基因组的至少一种启动子。然而,如图1(实施方式1-4b)和图2(实施方式8a-9c)所示,优选地,所述启动子是亚基因组启动子。因此,优选地,本发明的saRNA构建体包含启动子。本领域技术人员可以理解,亚基因组启动子是指与编码所述至少一种治疗性生物分子和所述ISP、IIP和/或IMP的序列可操作地连接的启动子,从而实现编码所述治疗性生物分子、ISP、IIP和/或IMP的核苷酸序列的转录。

[0698] 优选地,所述亚基因组启动子是26S,其在本文中提供为如下所示的SEQ ID No: 184:

[0699] GGGCCCTATAACTCTCTACGGCTAACCTGAATGGACTACGACAT

[0700] [SEQ ID No:184]

[0701] 因此,优选的启动子(优选地亚基因组启动子)为基本上如SEQ ID No:184所示或其变体或片段。

[0702] 在一个实施方式中,同一启动子与编码所述至少一种治疗性生物分子的序列和编码所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列可操作的连接。

[0703] 本发明人的设计在RNA单链上编码治疗性生物分子(即GOI)和ISP、IIP和/或IMP,有利地实现了使用更小剂量的RNA,因为它确保了在感知RNA的同一细胞中表达而且还可以复制蛋白质,因此具有先天调节成分的表达和扩增的另外方面。

[0704] 因此,在一个RNA构建体的实施方式中,将启动子设置在编码至少一种治疗性生物分子的序列和编码ISP、IIP和/或IMP的序列的5'处,使得所述启动子与这两条序列可操作地连接,从而驱动两者的表达。

[0705] 然而,在另一实施方式中,第一启动子与编码所述至少一种治疗性生物分子的序列可操作地连接,和第二启动子与编码所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列可操作地连接。这被称为双基因组构建体。优选地,所述第一和/或第二启动子是基因组或亚基因组。优选地,两种启动子都是亚基因组启动子,例如26S。

[0706] 在一些实施方式中,第一启动子与编码至少一种治疗性生物分子的序列可操作地连接,第二启动子与编码至少一种ISP的序列可操作地连接,并且第三启动子与编码至少一种IIP和/或IMP的序列可操作地连接。这被称为三基因组构建体。优选地,所述第一、第二启动子和/或第三启动子是基因组或亚基因组。优选地,所述启动子是亚基因组启动子,例如26S。

[0707] 所述RNA构建体可编码至少两个、三个、四个或五个ISP、IIP和/或IMP。

[0708] 在其中有一个以上编码ISP、IIP和/或IMP的序列的实施方式中,单个启动子可与编码ISP、IIP和/或IMP的所有序列可操作地连接。或者,启动子可以与编码ISP、IIP和/或IMP的序列中的每个连接,使得每个蛋白可操作的与独立的启动子连接。在这个实施方式中,独立的启动子可以包含相同的启动子序列或不同的启动子序列。在另一实施方式中,将不同的启动子与编码ISP、IIP和/或IMP的每个序列可操作的连接。

[0709] 编码所述至少一种ISP的核苷酸序列优选地设置在编码治疗性生物分子的核苷酸序列的3'处。编码所述至少一种IIP的核苷酸序列优选地设置在编码治疗性生物分子的核

苷酸序列的3'处。编码所述至少一种IMP的核苷酸序列优选地设置在编码治疗性生物分子的核苷酸序列的3'处。

[0710] 编码多个ISP、IIP和/或IMP的核苷酸序列的顺序可以变化,并且在图2中示出了各种实施方式。例如,在一个实施方式中,所述saRNA构建体可包含编码IMP的核苷酸序列,其被设置在编码ISP的核苷酸序列的5'处(如图2、实施方式9d所示)。然而,在另一个实施方式中,所述saRNA构建体可包含编码IMP的核苷酸序列,其被设置在编码ISP的核苷酸序列的3'处(如图2、实施方式9e所示),即IMP和ISP的次序颠倒。应当理解,所述IMP可以由ISP或IIP等替换,因此可以设想IMP、ISP和IIP的任何顺序。

[0711] 如实施方式中所述,在一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码ISP的核苷酸序列和编码IIP的核苷酸序列。优选地,所述ISP选自CCL2、CCL3、IL-7和GM-CSF。优选地,所述IIP选自IRF-1、E3L和PR34。

[0712] 因此,在一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码CCL2的核苷酸序列和编码IRF-1的核苷酸序列。在另一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码CCL2的核苷酸序列和编码E3L的核苷酸序列。在另一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码CCL2的核苷酸序列和编码PR34的核苷酸序列。

[0713] 因此,在一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可包含编码CCL3的核苷酸序列和编码IRF-1的核苷酸序列。在另一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码CCL3的核苷酸序列和编码E3L的核苷酸序列。在另一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码CCL3的核苷酸序列和编码PR34的核苷酸序列。

[0714] 因此,在一个优选实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码IL-7的核苷酸序列和编码IRF-1的核苷酸序列。在另一个优选的实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码IL-7的核苷酸序列和编码E3L的核苷酸序列。在另一个优选的实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码IL-7的核苷酸序列和编码PR34的核苷酸序列。

[0715] 因此,在一个优选的实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码GM-CSF的核苷酸序列和编码IRF-1的核苷酸序列。在另一个优选的实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码GM-CSF的核苷酸序列和编码E3L的核苷酸序列。在另一个优选的实施方式中,所述saRNA构建体可以包含编码GM-CSF的核苷酸序列和编码PR34的核苷酸序列。

[0716] 在以上每个实施方式中,所述ISP可以被编码为IIP的5'或3',并且IIP可以被编码为ISP的5'或3'。

[0717] 所述RNA构建体可进一步包括设置在编码所述至少一种治疗性生物分子的序列和编码所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列之间的接头序列。该种接头序列使得其允许从单个启动子产生ISP、IIP和/或IMP和产生治疗分子。在一个实施方式中,所述接头序列编码肽接头,该肽接头被配置成在翻译后被消化或切割,从而在宿主细胞中将至少一种治疗性生物分子和至少一种ISP、IIP和/或IMP分隔。因此,优选地,所述接头序列优选为可切割肽,其可形成切割位点,例如2A肽(Furler S, Paterna J-C, Weibel Mand Bueler H Recombinant AAV vectors containing the foot and mouth disease virus 2A sequence confer efficient bicistronic gene expression in cultured cells and rat substantia nigra neurons Gene Ther. 2001, vol. 8, PP: 864-873)。

[0718] 优选地,编码2A肽序列的接头序列将两个编码序列连接在一起。这使得RNA构建体

能够克服在各种载体中表达时可能发生的大小限制,并且使得由第一方面的RNA构建体编码的所有肽的表达和翻译能够在单个启动子的控制下作为单个蛋白质发生。因此,在包含ISP、IIP和/或IMP、2A肽和治疗性生物分子序列的单个蛋白质的翻译之后,在甘氨酸-脯氨酸末端连接的病毒2A肽序列中发生切割,从而释放两种多肽。

[0719] 2A间隔序列可以是已知变体,其包括那些称为E2A、F2A、P2A和T2A的序列,如Wang Y等,Scientific Reports 2015,5中所公开的,即,合适的2A肽包括猪睾丸病毒-1 2A (P2A) -ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID No:136)、东亚细亚(thosea asigna)病毒2A (T2A) -QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID No:137)、马鼻A病毒2A (E2A) 以及口蹄疫病毒2A (F2A) VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID No:138)。优选地,所述2A肽是东亚细亚病毒2A (T2A)。

[0720] 在另一实施方式中,可切割肽是自切割肽。在一个实施方式中,所述接头包含病毒2A肽间隔物并且进一步包含弗林蛋白酶切割位点。优选地,所述自切割肽是弗林蛋白酶/2A肽。上游弗林蛋白酶切割位点的插入允许2A残基的移除,否则2A残基将保持附着在上游蛋白上。

[0721] 可以将弗林蛋白酶序列设置在2A序列的3' 或5' 处。然而,优选地,将弗林蛋白酶序列设置在2A序列的5' 处,且优选具有设置在弗林蛋白酶和2A序列之间的GSG间隔。

[0722] 本领域技术人员将理解,弗林蛋白酶是位于分泌通路中(主要在高尔基体和跨高尔基体网络中)的普遍存在的钙依赖性原蛋白转化酶,在特定识别序列-标准R-X-R/K/X-R (SEQ ID No:139)处切割前体蛋白,在最后的R后切割原蛋白。因此,在一个实施方式中,弗林蛋白酶序列是R-X-R/K/X-R。然而,优选地,弗林蛋白酶序列是优化的序列RRRRRR (SEQ ID No:140) -GSG序列。优选地,GSG间隔设置在弗林蛋白酶序列的3' 和2A序列的5' 处。

[0723] 因此,优选地,所述间隔序列是弗林蛋白酶/T2A,如NCBI参考序列GenBank: AAC97195.1所提供的,本文提供为如下所示的SEQ ID No:141的间隔物序列:

[0724] RRRRRRSGGEGRGSLLTCGDVEENPGP

[0725] [SEQ ID No:141]

[0726] 因此,优选地,所述间隔序列包含基本上如SEQ ID No:141所示的氨基酸序列,或其变体或片段。图1示出了实施方式2a、2b和6a、6b,其中GOI和IMP通过编码弗林蛋白酶-T2a切割位点的核苷酸序列连接在一个实施方式中,如图1中的2a或6a所示,F-T2a切割位点将5' GOI和3' ISP分隔开。在一个实施方式中,如图1中的2b或6b所示,F-T2a切割位点将3' GOI和5' ISP分隔开。在图2中示出了类似的布置。

[0727] 在其中RNA构建体或复制子包含一个以上编码ISP、IIP和/或IMP的序列的实施方式中,所述构建体可以包含设置在每个编码ISP、IIP和/或IMP的序列之间或设置在仅一些IMP之间的接头序列。

[0728] 在一个实施方式中,所述编码至少一种治疗性生物分子的序列和编码所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列可以被后其后是能够启动下游序列翻译的内部核糖体进入位点(IRES)序列的终止密码子隔开,无论是哪种序列(即如图1、2中实施方式所示的GOI或ISP、IIP和/或IMP)。因此,优选地,IRES序列设置在编码所述至少一种治疗性生物分子的序列和编码所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列之间。在使用多个编码所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列时,接头序列可以包括已知切割序列和/或IRES序列的组合在一个实施方式中,如图1中的3a或7a所示,IRES位点将5' GOI和3' ISP分隔开。在一个实施方式中,如图1

中的3b或7b所示,IRES位点将3' GOI和5' ISP分隔开。在图2中示出了类似的布置。

[0729] 在一个实施方式中,IRES是小核糖核酸病毒IRES。更典型的IRES序列包括诸如脑心肌炎病毒(EMCV)或血管内皮生长因子和1型胶原诱导蛋白(VCIP)的IRES序列,并且是本领域技术人员已知的。

[0730] 在其它实施方式中,IRES可以选自鼻病毒IRES、甲型肝炎病毒IRES、丙型肝炎病毒IRES、脊髓灰质炎病毒IRES、肠道病毒IRES、心脏病毒IRES、口蹄疫病毒IRES、黄病毒IRES、鼠疫病毒IRES、cripavirus IRES、禾谷缢管蚜病毒IRES或任何合适的IRES。特别地,IRES可以是提供实验验证的IRES结构的数据库(<http://www.iresite.org/>)“IRESite”所描述的任何IRES,或是如“New Messenger RNA Research Communications”(ISBN:1-60021-488-6)中所公开的。

[0731] 在优选的实施方式中,IRES是口蹄疫病毒(FMDV)IRES,其为如以下SEQ ID No:142所示,或其片段或变体:

[0732] AGCAGGTTTCCCCAACTGACACAAAACGTGCAACTTGAACTCCGCCTGGTCTTTCCAGGTCTAGAGGGTAACACTTTGTACTGCGTTTGGCTCCACGCTCGATCCACTGGCGAGTGTTAGTAACAGCACTGTTGCTTCGTAGCGGAGCATGACGGCCGTGGGAACCTCCTTGGTAACAAGGACCCACGGGGCCAAAAGCCACGCCACACGGGCCCGTCATGTGTGCAACCCAGCACGGCGACTTTACTGCGAAACCCACTTTAAAGTGACATTGAACTGGTACCCACACACTGTGACAGGCTAAGGATGCCCTTACGGTACCCGAGGTAACACGCGACACTCGGGATCTGAGAAGGGGACTGGGGCTTCTATAAAGCGCTCGGTTTAAAAAGCTTCTATGCCTGAATAGGTGACCGGAGGTCGGCACCTTTCCTTTGCAATTACTGACCAC

[0733] [SEQ ID No:142]

[0734] 在另一优选的实施方式中,IRES为脑心肌炎病毒(EMCV)IRES。EMCV IRES为如以下SEQ IDNo:143所示,或其片段或变体:

[0735] CGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAGGCGGCACAACCCACGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTTCATGTGTTTAGTCGAGGTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTTCCTTGAAAAACACGATGATAATA

[0736] [SEQ ID No:143]

[0737] 因此,优选地,IRES包含基本上如SEQ ID No:142或143所示的核苷酸序列或其片段或变体。

[0738] 可选地,作为IRES或2A接头的替代,接头序列可以包括编码柔性接头的序列,该柔性接头允许治疗性生物分子和ISP、IIP和/或IMP两者作为单个多肽链表达,但其中治疗性生物分子和ISP、IIP和/或IMP作为独立的蛋白质。因此,蛋白质以与单独表达相同的方式发挥其作用。

[0739] WO 2013/061076 A1(Oxford Biomedica)中公开了柔性接头序列。在本文中,可将柔性接头序列称为如下所示的SEQ ID No:144,或其片段或变体:

[0740] GGAGGTGGCGGGTCCGGGGCGGGGTAGCGGTGGCGGGGGCTCC

[0741] [SEQ ID No:144]

[0742] 因此,优选地,柔性接头序列包含基本上如SEQ ID No:144所示的核苷酸序列或其片段或变体。

[0743] 在一个优选的实施方式中,柔性接头序列包含编码本文中称为SEQ ID No:145的氨基酸序列或其片段或变体的核苷酸序列,SEQ ID No:145如下所示:

[0744] GGGGSGGGGSGGGGS

[0745] [SEQ ID No:145]

[0746] 因此,优选地,柔性接头序列编码基本上如SEQ ID No:145所示的氨基酸序列,或其片段或变体。

[0747] 在另一实施方式中,编码所述至少一种治疗性生物分子和所述至少一种先天抑制蛋白的序列可以被其后是能够启动下游序列转录的第二亚基因组启动子序列的终止密码子隔开。该实施方式的实例示于图1,实施方式4a和4b。

[0748] 所述RNA构建体(优选地当其为saRNA构建体时)可以编码至少一种非结构蛋白(NSP),所述至少一种NSP设置在编码所述至少一种治疗性生物分子和所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列的5'或3'处。优选地,编码所述至少一种NSP的序列设置在编码所述治疗性生物分子和所述至少一种ISP、IIP和/或IMP的序列的5'处。因此,优选地,编码所述至少一种NSP的序列设置在RNA构建体的5'端。

[0749] 由所述RNA构建体编码的至少一种非结构蛋白可以是RNA聚合酶NSP4。所述一种或多种NSP优选地编码复制酶优选地,所述构建体编码NSP1、NSP2、NSP3和NSP4。本领域技术人员将理解,nsP1是病毒加帽酶且是复制子复合物(RC)的膜锚定点,NSP2是一种RNA解旋酶并为负责NS多聚蛋白加工的蛋白酶。NSP3与几种宿主蛋白相互作用并可以调节蛋白的多聚-和单聚-ADP-核糖基化,NSP4是核心病毒RNA依赖的RNA聚合酶。

[0750] 在一个实施方式中,NSP1在本文中提供为如下所示的SEQ ID No:146:

[0751] MEKVHVDIEEDSPFLRALQRSFPQFEVEAKQVTDNDHANARAFSHLASKLIETEVDPSTILTIDIGSAPARRMYSKHKYHCICPMRCAEDPDRLKYATKLKKNCKEITDKELDKMKELAAVMSDPDLETETMCLHDDDESCRYEGQVAVYQDVYAVDGPTSLYHQANKGVRVAYWIGFDTPFMFKNLGAYPSYSTNWADETVLTARNIGLCSSDVMERSRRGMSILRKLYLKPSNNVLFVSGSTIYHEKRDLLRSWHLPSVFHLRGKQNYTCRCETIVSCDGYVVKRIAISPGLYGKPSGYAATMHREGFLCCKVDTLNGERVSPVCTYVPATLCDQMTGILATDVSADDAQKLLVGLNQIRIVVNGRTQRNTNTMKNYLLPVVAQAFARWAKEYKEDQEDERPLGLRDRQLVMGCCWAFRRHKITSIYKRPDTQTIIKVNDSDFHSFVLPRIGSNTLEIGLRTRIRKMLEEHKEPSPLITAEDVQEAKCAADEAKEVREAEELRAALPPLAADVEEPTLEADVLMQLQEAGA

[0752] [SEQ ID No:146]

[0753] 因此,优选地,NSP1包含基本上如SEQ ID No:146所示的氨基酸序列或其生物活性变体或片段。

[0754] 在一个实施方式中,NSP1由如下所示的SEQ ID No:147定义的核苷酸序列编码:

[0755] ATGGAGAAAGTTCACGTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAGTTTGAGGTAGAAGCCAAGCAGGTCAGTATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTTCGCATCTGGCTTCAAACTGATCGAAACGGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGAAGTGCGCCCGCCCGCAGAATGTATTCTA

AGCACAAAGTATCATTGTATCTGTCCGATGAGATGTGCGGAAGATCCGGACAGATTGTATAAGTATGCAACTAAGCTG
AAGAAAACTGTAAGGAAATAACTGATAAGGAATTGGACAAGAAAATGAAGGAGCTGGCCGCGTCATGAGCGACCC
TGACCTGGAACTGAGACTATGTGCCTCCACGACGACGAGTCGTGTCGCTACGAAGGGCAAGTCGCTGTTTACCAGG
ATGTATACGCGTTGACGGACCGACAAGTCTCTATCACCAAGCCAATAAGGGAGTTAGAGTCGCCTACTGGATAGGC
TTTGACACCACCCCTTTTATGTTTAAGAACTTGGCTGGAGCATATCCATCATACTCTACCAACTGGGCCGACGAAAC
CGTGTTAACGGCTCGTAACATAGGCCTATGCAGCTCTGACGTTATGGAGCGGTCACGTAGAGGGATGTCCATTCTTA
GAAAGAAGTATTTGAAACCATCCAACAATGTTCTATTCTCTGTTGGCTCGACCATCTACCACGAGAAGAGGGACTTA
CTGAGGAGCTGGCACCTGCCGTCTGTATTTCACTTACGTGGCAAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGT
TAGTTGCGACGGGTACGTCGTTAAAAAGAATAGCTATCAGTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGCTA
CGATGCACCGCGAGGGATTCTTGTGCTGCAAAGTGACAGACACATTGAACGGGGAGAGGGTCTCTTTTCCCGTGTGC
ACGTATGTGCCAGCTACATTGTGTGACCAATGACTGGCATACTGGCAACAGATGTCAGTGCAGGACGACGCGCAAAA
ACTGCTGGTTGGGCTCAACCAGCGTATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAACACCAATACCATGAAAAATTACC
TTTTGCCCGTAGTGGCCAGGCATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGATGAAAGGCCACTA
GGACTACGAGATAGACAGTTAGTCATGGGGTGTGTTGGGCTTTTAGAAGGCACAAGATAACATCTATTTATAAGCG
CCCGGATACCCAAACCATCATCAAAGTGAACAGCGATTTCCACTCATTCGTGCTGCCAGGATAGGCAGTAACACAT
TGGAGATCGGGCTGAGAACAAGAATCAGGAAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCGCCGAG
GACGTACAAGAAGCTAAGTGCGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCGAGGAGTTGCGCGCAGCTCTACC
ACCTTTGGCAGCTGATGTTGAGGAGCCCACTCTGGAAGCCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTGGGGCC

[0756] [SEQ ID No:147]

[0757] 因此,优选地,NSP1优选地由基本上如SEQ ID No:147中所示的核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0758] 相应地,因此,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:148所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0759] AUGGAGAAAGUUCACGUUGACAUCGAGGAAGACAGCCCAUUCCUCAGAGCUUUGCAGCGGAGCUUCCCG
CAGUUUGAGGUAGAAGCCAAGCAGGUCACUGAUAAUGACCAUGCUAAUGCCAGAGCGUUUUCGAUCUGGCUUCAA
ACUGAUCGAAACGGAGGUGGACCCAUCCGACACGAUCCUUGACAUUGGAAGUGCGCCCCGCCGAGAAUGUAUUCUA
AGCACAAAGUAUCAUUGUAUCUGUCCGAUGAGAUGUGCGGAAGAUCGGACAGAUUGUAUAAGUAUGCAACUAAGCUG
AAGAAAAACUGUAAGGAAUAACUGAUAGGAAUUGGACAAGAAAAUGAAGGAGCUGGCCGCCGUCAUGAGCGACCC
UGACCUGGAAACUGAGACUAUGUGCCUCCACGACGACGAGUCGUGUCGCUACGAAGGGCAAGUCGUGUUUACCAGG
AUGUAUACGCGGUUGACGGACCGACAAGUCUCUAUACCAAGCCAAUAAGGGAGUUAGAGUCGCCUACUGGAUAGGC
UUUGACACCACCCUUUUUUGUUUAGAACUUGGCUUGGAGCAUAUCCAUAUACUCUACCAACUGGGCCGACGAAAC
CGUGUUAACGGCUCGUAACAUAGGCCUAUGCAGCUCUGACGUUAUGGAGCGGUCACGUAGAGGAUGUCCAUUCUUA
GAAAGAAGUAUUUGAAACCAUCCAACAAUGUUCUAUUCUCUGUUGGCUUGACCAUCUACCACGAGAAGAGGGACUUA
CUGAGGAGCUGGCACCUGCCGUCUGUAUUACUUAACGUGGCAAGCAAAUUAACAUGUCGGUGUGAGACUAUAGU
UAGUUGCGACGGGUACGUCGUUAAAAGAAUAGCUAUCAGUCCAGGCCUGUAUGGGAAGCCUUCAGGCUAUGCUGCUA
CGAUGCACCGCGAGGGAUUCUUGUGCUGCAAAGUGACAGACACAUUGAACGGGGAGAGGGUCUCUUUCCCGUGUGC
ACGUAUGUGCCAGCUACAUUGUGUGACCAAAUGACUGGCAUACUGGCAACAGAUGUCAGUGCGGACGACGCGCAAAA
ACUGCUGGUUGGGCUAACCAGCGUAUAGUCGUAACGGUCGCACCCAGAGAAACACCAAUACCAUGAAAAAUUACC
UUUUGCCCGUAGUGGCCAGGCAUUUGCUAGGUGGGCAAAGGAAUUAAGGAAGAUCAAGAAGAUAGAAAGGCCACUA

GGACUACGAGAUAGACAGUUAGUCAUGGGGUGUUGUUGGGCUUUUAGAAGGCACAAGAUAAACUUAUUUAUAAGCG
CCCGGAUACCCAAACCAUCAUCAAGUGAACAGCGAUUCCACUCAUUCGUGCUGCCCAGGAUAGGCAGUAACACAU
UGGAGAUCCGGCUGAGAACAAAGAAUCAGGAAAAUGUUAGAGGAGCACAAGGAGCCGUCACCUCUCAUUACCGCCGAG
GACGUACAAGAAGCUAAGUGCGCAGCCGAUGAGGCUAAGGAGGUGCGUGAAGCCGAGGAGUUGCGCGCAGCUCUACC
ACCUUUGGCAGCUGAUGUUGAGGAGCCACUCUGGAAGCCGAUGUCGACUUGAUGUACAAGAGGCUGGGGCC

[0760] [SEQ ID No:148]

[0761] 在一个实施方式中,NSP2在本文中提供为如下所示的SEQ ID No:149:

[0762] GSVETPRGLIKVTSYDGEDKIGSYAVLSPQAVLKSEKLSCIHPAEQVIVITHSGRKGRYAVEPYHGKV
VVPEGHAIPVQDFQALSESATIVYNEREFVNRYLHHIATHGGALNTDEEYKTVKPSEHDGEYLYDIDRKQCVKKEL
VTGLGLTGELVDPPFHEFAYESLRTRPAAPYQVPTIGVYGVPGSGKSGI IKS AVTKKDLVVS AKKENCAEII RDVKK
MKGLDVNARTVDSVLLNGCKHPVETLYIDEAFACHAGTLRALIAIIRPKKAVLCGDPKQCGFFNMCLKVHFNHEIC
TQVFHKSISRCTKSVTSVVSTLFYDKMRTTNPKETKIVIDTTGSTKPKQDDLILTCFRGWVKQLQIDYKGNEIMT
AAASQGLTRKGVYAVRYKVNENPLYAPTSEHVNVLTRTEDRIVWKTLAGDPWIKTLTAKYPGNFTATIEEWQA EHD
AIMRHILERPDPTDVFQNKANVCWAKALVPVLKTAGIDMTTEQWNTVDYFETDKAHS AEIVLNQLCVRFFGLDLDSG
LFSAPTVP LSI RN NHWDNSPSPNMYGLNKEVVRQLSRYPQLPRAVATGRVYDMNTGTLRNYDPRINLVPVNRRLPH
ALVLHHNEHPQSDFFSVSKLKGRTVLVVGEKLSVPGKMVDWLSDRPEATFRARLDLGIPGDVPKYDIIFVNVRTPY
KYHHYQQCEDHAIKLSMLTKKACLHLNPGGTCVSIGYGYADRASESIIIGAIARQFKFSRVCKPKSSLEETEVLVFI
GYDRKARTHNSYKLSSTLTNIYTGSR LHEAGC

[0763] [SEQ ID No:149]

[0764] 因此,优选地,NSP2包含基本上如SEQ ID No:149所示的氨基酸序列,或其生物活性变体或片段。

[0765] 在一个实施方式中,NSP2由如下所示的SEQ ID No:150定义的核苷酸序列编码:

[0766] GGCTCAGTGAGACACCTCGTGGCTTGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCT
TACGCTGTGCTTTCTCCGCAGGCTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGCATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCAT
AGTGATAACACACTCTGGCCGAAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATACCATGGTAAAGTAGTGGTGCCAGAGGGAC
ATGCAATACCCGTCCAGGACTTTCAAGCTCTGAGTGAAAGTGCCACCATTGTGTACAACGAACGTGAGTTCGTAAAC
AGGTACCTGCACCATATTGCCACACATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAA ACTGTCAAGCCCAG
CGAGCACGACGGCGAATACCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGAACTAGTCACTGGGCTAGGGC
TCACAGGCGAGCTGGTGGATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGAGTCTGAGAACACGACCAGCCGCTCCTTAC
CAAGTACCAACCATAGGGGTGTATGGCGTGCCAGGATCAGGCAAGTCTGGCATCATTAAGCGCAGTCACCAAAAA
AGATCTAGTGGTGAGCGCCAAGAAAGAAAACTGTGCAGAAATTATAAGGGACGTCAAGAAAATGAAAGGGCTGGACG
TCAATGCCAGAACTGTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGATGCAAACACCCCGTAGAGACCCTGTATATTGACGAAGCT
TTTGCTTGTCATGCAGGTACTCTCAGAGCGCTCATAGCCATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGGGGATCC
CAAACAGTGCGGTTTTTTTTAATGATGTGCCTGAAAGTGCAATTTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTCTTCCACA
AAAGCATCTCTCGCCGTTGCACTAAATCTGTGACTTCGGTCGTCTCAACCTTGTTTTACGACAAAAAATGAGAACG
ACGAATCCGAAAGAGACTAAGATTGTGATTGACACTACCGGCAGTACCAAACCTAAGCAGGACGATCTCATTCTCAC
TTGTTTCAGAGGGTGGGTGAAGCAGTTGCAAATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCTGCCTCTCAAG
GGCTGACCCGTAAAGGTGTGTATGCCGTTCCGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGACCCACCTCAGAACAT
GTGAACGTCCTACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGAAAACACTAGCCGGCGACCCATGGATAAAAAACT

GACTGCCAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATAGAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCCATCATGAGGCACA
TCTTGGAGAGACCGGACCCTACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGGCTTTAGTGCCGGTG
CTGAAGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAACGGACAAAGCTCACTC
AGCAGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACTCGATCTGGACTCCGGTCTATTTTCTGCACCCA
CTGTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCACTGGGATAACTCCCCGTCGCCTAACATGTACGGGCTGAATAAAGAAGTG
GTCCGTCAGCTCTCTCGCAGGTACCCACAACCTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAGAGTCTATGACATGAACACTGG
TACACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGACTGCCTCATGCTTTAGTCCTCCACC
ATAATGAACACCCACAGAGTGACTTTTCTTCATTCGTCAGCAAATTGAAGGGCAGAACTGTCCTGGTGGTCGGGGAA
AAGTTGTCCGTCCAGGCAAAATGGTTGACTGGTTGTCAGACCGGCCTGAGGCTACCTTCAGAGCTCGGCTGGATTT
AGGCATCCCAGGTGATGTGCCAAATATGACATAATATTTGTTAATGTGAGGACCCCATATAAATACCATCACTATC
AGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTGACCAAGAAAGCTTGTCTGCATCTGAATCCCGCGGAACC
TGTGTCAGCATAGGTTATGGTTACGCTGACAGGGCCAGCGAAAGCATCATTGGTGCTATAGCGCGGCAGTTCAAGTT
TTCCCGGGTATGCAAACCGAAATCCTCACTTGAAGAGACGGAAGTTCTGTTTGTATTTCATTGGGTACGATCGCAAGG
CCCGTACGCACAATTCTTACAAGCTTTCATCAACCTTGACCAACATTTATACAGGTTCCAGACTCCACGAAGCCGGA
TGT

[0767] [SEQ ID No:150]

[0768] 因此,优选地,NSP2由基本上如SEQ ID No:150中所示的核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0769] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:151:

[0770] GGCUCAGUGGAGACACCUCGUGGCUUGAUAAAGGUUACCAGCUACGAUGGCGAGGACAAGAUCGGCUCU
UACGCUGUGCUUUCUCCGACGGCUGUACUCAAGAGUGAAAAUUUUCUUGCAUCCACCCUCUCGCUGAACAAGUCAU
AGUGAUAAACACACUCUGGCCGAAAAGGGCGUUAUGCCGUGGAACCAUACCAUGGUAAAGUAGUGGUGCCAGAGGGAC
AUGCAAUACCCGUCCAGGACUUUCAAGCUCUGAGUGAAAGUGCCACCAUUGUGUACAACGAACGUGAGUUCGUAAAC
AGGUACCUGCACCAUAUUGCCACACAUGGAGGAGCGCUGAACACUGAUGAAGAAUUAUACAAAACUGUCAAGCCCAG
CGAGCACGACGGCGAAUACCUGUACGACAUCGACAGGAAACAGUGCGUCAAGAAAGAACUAGUCACUGGGCUAGGGC
UCACAGGCGAGCUGGUGGAUCCUCCCUUCCAUGAAUUCGCCUACGAGAGUCUGAGAACACGACCAGCCGCUCCUUAAC
CAAGUACCAACCAUAGGGGUGUAUGGCGUGCCAGGAUCAGGCAAGUCUGGCAUCAUUAAGCGCAGUCACCAAAAA
AGAUCUAGUGGUGAGCGCCAAGAAAGAAAACUGUGCAGAAAUUAUAGGGACGUAAGAAAAUGAAAGGGCUGGACG
UCAUUGCCAGAACUGUGGACUCAGUGCUCUUGAAUGGAUGCAAACACCCCGUAGAGACCCUGUAUUAUGACGAAGCU
UUUGCUUGUCAUGCAGGUACUCUCAGAGCGCUCUAAGCCAUUAUAGACCUAAAAAGGCAGUGCUCUGCGGGGAUCC
CAAACAGUGCGGUUUUUUUAACAUGAUGGCCUGAAAAGUGCAUUUUAACCACGAGAUUUGCACACAAGUCUUCACACA
AAAGCAUCUCUCGCCGUUGCACUAAAUCUGUGACUUCGGUCGUCUAACCUUGUUUACGACAAAAAAUGAGAACG
ACGAAUCCGAAAGAGACUAAGAUUGUGAUUGACACUACCGGCAGUACCAAACCUAAGCAGGACGAUCUCAUUCUCAC
UUGUUUCAGAGGGUGGGUGAAGCAGUUGCAAAUAGAUAUACAAAGGCAACGAAUAAUGACGGCAGCUGCCUCUAAG
GGCUGACCCGUAAAGGUGUGUAUGCCGUUCGGUACAAGGUGAAUGAAAAUCCUCUGUACGCACCCACCUCAGAACA
GUGAACGUCCUACUGACCCGCACGGAGGACCGCAUCGUGUGGAAAACACUAGCCGGCGACCAUGGAUAAAAACACU
GACUGCCAAGUACCCUGGGAAUUUCACUGCCACGAUAGAGGAGUGGCAAGCAGAGCAUGAUGCAUCAUGAGGCACA
UCUUGGAGAGACCGGACCCUACCGACGUCUCCAGAAUAAAGGCAAACGUGUGUUGGGCCAAGGCUUUAUGGCCGGUG
CUGAAGACCGCUGGCAUAGACAUGACCACUGAACAAUGGAACACUGUGGAUUAUUUUGAAACGGACAAAGCUCACUC

AGCAGAGAUAGUAUUGAACCAACUAUGCGUGAGGUUCUUUGGACUCGAUCUGGACUCCGGUCUAUUUUCUGCACCCA
CUGUUCGGUUAUCCAUAAGGAAUAAUCACUGGGAUAAUCUCCCGUCGCCUAACAUGUACGGGCUGAAUAAAGAAGUG
GUCCGUCAGCUCUCUCGCAGGUACCCACAACUGCCUCGGGCAGUUGCCACUGGAAGAGUCUAUGACAUGAACACUGG
UACACUGCGCAAUUAUGAUCCGCGCAUAAACCUAGUACCUGUAAACAGAAGACUGCCUCAUGCUUUAGUCCUCCACC
AUAUUGAACACCCACAGAGUGACUUUUUCUAUUCGUCAGCAAUUGAAGGGCAGAACUGUCCUGGUGGUCGGGGAA
AAGUUGUCCGUCCAGGCAAAUUGGUUGACUGGUUGUCAGACCGGCCUGAGGCUACCUUCAGAGCUCGGCUGGAUUU
AGGCAUCCAGGUGAUGUGCCCAAAUUGACAUAUUAUUUGUUAUUGUGAGGACCCCAUUAUAAUACCAUCACUAUC
AGCAGUGUGAAGACCAUGCCAUAAGCUUAGCAUGUUGACCAAGAAAGCUUGUCUGCAUCUGAAUCCCGGCGGAACC
UGUGUCAGCAUAGGUUAUGGUUACGUGACAGGGCCAGCGAAAGCAUCAUUGGUGCUAUAGCGCGGCAGUUAAGUU
UUCCCGGGUAUGCAAACCGAAAUCCUCACUUGAAGAGACGGAAGUUCUGUUUGUAUUAUUGGGUACGAUCGCAAGG
CCCGUACGCACAAUUCUACAAGCUUUAUCAACCUUGACCAACAUUUAUACAGGUUCCAGACUCCACGAAGCCGGA
UGU

[0771] [SEQ ID No:151]

[0772] 相应地,因此,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:151所示的RNA核
苷酸序列,或其变体或片段。

[0773] 在一个实施方式中,nsP3在本文中提供为如下所示的SEQ ID No:152:

[0774] APSYHVVRGDIATATEGVIINAANSKGQPGGGVCGALYKFPESFDLQPIEVGKARLVKGAAKHIIHAV
GPNFNKVSEVEGDKQLAEAYESIAKIVNDNNYKSVAIPLLSTGIFSGNKDRLTQSLNHLTLALDITDADVAIYCRDK
KWEMLKEAVARREAVEEICISDDSSVTEPDALVRVHPKSSLAGRGYSTSDGKTFSYLEGTFKHQAADIAEINA
MWPVATEANEQVCMYILGESMSSIRSKCPVEESEASTPPSTLPCLCIHAMTPERVQRLKASRPEQITVCSFPLPKY
RITGVQKIQCSQPILFSPKVPAYIHPRKYLVTETPPVDETPEPSAENQSTEGTPEQPPLITEDETRTRTPEPIIIIEE
EEDSISLLSDGPTHQVLQVEADIHGPPSVSSSSWSIPHASDFDVSLSILDTLEGASVTSGATSAETNSYFAKSMEF
LARVPAPRTVFRNPPHPAPRTRTPSLAPSRACSRISLVSTPPGVNRVITREELEALTPSRTPSRSVSRTSLVSNPP
GVNRVITREEFEAFVAQQQRFDAGA

[0775] [SEQ ID No:152]

[0776] 因此,优选地,NSP3包含基本上如SEQ ID No:152所示的氨基酸序列,或其生物活
性变体或片段。

[0777] 在一个实施方式中,NSP3由如下所示的SEQ ID No:153定义的核苷酸序列编码:

[0778] GCACCCTCATATCATGTGGTGCAGGGGATATTGCCACGGCCACCGAAGGAGTGATTATAAATGCTGC
TAACAGCAAAGGACAACCTGGCGGAGGGGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATGCCGGAAGCTTCGATTTACAG
CCGATCGAAGTAGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTCATGCCGTAGGACCAAACCTTCA
ACAAAGTTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCATCGCTAAGATTGTCAACGATAA
CAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCGGCATCTTTCCGGGAACAAAGATCGACTAACCCAATCA
TTGAACCATTTGCTGACAGCTTTAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACTGCAGGGACAAGAAATGGGAAA
TGACTCTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATCCGACGACTCTCAGTGACAGA
ACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGGAAGGAAGGGCTACAGCACAAGCGATGGC
AAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGTTTACCAGGCGGCCAAGGATATAGCAGAAATTAATGCCATGTGGC
CCGTTGCAACGGAGGCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCGGAGAAAGCATGAGCAGTATTAGGTCGAAATG
CCCCGTGAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGCTGCCTTGCTTGTGCATCCATGCCATGACTCCAGAA

AGAGTACAGCGCCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAATTACTGTGTGCTCATCCTTTCCATTGCCGAAGTATAGAA
TCACTGGTGTGCAGAAGATCCAATGCTCCCAGCCTATATTGTTCTCACCGAAAGTGCCTGCGTATATTCATCCAAG
GAAGTATCTCGTGGAACACCACCGGTAGACGAGACTCCGGAGCCATCGGCAGAGAACCAATCCACAGAGGGGACA
CCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGATGAGACCAGGACTAGAACGCCTGAGCCGATCATCATCGAAGAGGAAG
AAGAGGATAGCATAAGTTTGCTGTGATGGCCCCACCCAGGTGCTGCAAGTCGAGGCAGACATTCACGGGCC
GCCCTCTGTATCTAGCTCATCCTGGTCCATTCTCATGCATCCGACTTTGATGTGGACAGTTTATCCATACTTGAC
ACCCTGGAGGGAGCTAGCGTGACCAGCGGGCAACGTCAGCCGAGACTAACTCTTACTTCGCAAAGAGTATGGAGT
TTCTGGCGCGACCGGTGCCTGCGCCTCGAACAGTATTTCAGGAACCTCCACATCCCGCTCCGCGCACAAGAACC
GTCACCTTGACCCAGCAGGGCCTGCTCGAGAACCAGCCTAGTTTCCACCCGCCAGGCGTGAATAGGGTGATCACT
AGAGAGGAGCTCGAGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTGCGTCTCGAGAACCAGCCTGGTCTCCAACC
CGCCAGGCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTCGTAGCACAACAACAATGACGGTTTGATGC
GGGTGCA[SEQ ID No:153]

[0779] 因此,优选地,NSP3由基本上如SEQ ID No:153中所示的核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0780] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:154:

[0781] GCACCCUCAUAUCAUGUGGUGCGAGGGGAUAUUGCCACGGCCACCGAAGGAGUGAUUAAAAUGCUGCU
AACAGCAAAGGACAACCUUGGCGGAGGGGUGUGCGGAGCGCUGUAUAAGAAAUUCCCGGAAAGCUUCGAUUACAGCC
GAUCGAAGUAGGAAAAGCGCGACUGGUCAAAGGUGCAGCUAAACAUAUCAUUAUGCCGUAGGACCAAACUUAACA
AAGUUUCGAGGUUGAAGGUGACAAACAGUUGGCAGAGGCUUAUGAGUCCAUCGCUAAGAUUGUCAACGAUAACAAU
UACAAGUCAGUAGCGAUUCCACUGUUGUCCACCGGCAUCUUUCCGGGAACAAAGAUUCGACUAACCCAAUCAUUGAA
CCAUUUGCUGACAGCUUUAGACACCACUGAUGCAGAUUAGCCAUUAUCUGCAGGGACAAGAAAUGGGAAAUGACUC
UCAAGGAAGCAGUGGCUAGGAGAGAAGCAGUGGAGGAGAUUGCAUAUCCGACGACUCUUCAGUGACAGAACCUGAU
GCAGAGCUGGUGAGGGUGCAUCCGAAGAGUUCUUUGGUGGAAGGAAGGGCUACAGCACAAGCGAUGGCAAAACUUU
CUCAUAUUUGGAAGGGACCAAGUUUACACGCGGCCAAGGAUAUAGCAGAAAUAAUGCCAUGUGGCCCCGUUGCAA
CGGAGGCCAAUGAGCAGGUUAUGCAUGUAUAUCCUCGGAGAAAGCAUGAGCAGUAUAGGUCGAAAUGCCCCGUCGAA
GAGUCGGAAGCCUCCACACCACCUAGCACGCUGCCUUGCUUGUGCAUCCAUGCCAUGACUCCAGAAAGAGUACAGCG
CCUAAAAGCCUCACGUCCAGAACAAAUUACUGUGUGCUCAUCCUUCCAUGCCGAAGUAUAGAAUCACUGGUGUGC
AGAAGAUCCAUGCUCCAGCCUAUAUUGUUCUACCCGAAAGUGCCUGCGUAUAUCCAAGGAAGUAUCUGUG
GAAACACCACCGGUAGACGAGACUCCGGAGCCAUCGGCAGAGAACCAAUCCACAGAGGGGACACCUGAACACCACC
ACUUAUAACCGAGGAUGAGACCAGGACUAGAACGCCUGAGCCGAUCAUCAAGAGGAAGAAGAGGAUAGCAUAA
GUUUGCUGUCAGAUGGCCCCGACCCACCAGGUGCUGCAAGUCGAGGCAGACAUUCACGGGCCGCCUCUGUAUCUAGC
UCAUCCUGGUCCAUCCUCAUGCAUCCGACUUUGAUGUGGACAGUUUAUCCAUAUUGACACCCUGGAGGGAGCUAG
CGUGACCAGCGGGCAACGUCAGCCGAGACUAAUCUUACUUCGCAAAGAGUAUGGAGUUUCUGGCGCGACCGGUGC
CUGCGCCUCGAACAGUAUUCAGGAACCCUCCACAUCCCGCUCCGCGCACAAGAACACCGUCACUUGCACCAGCAGG
GCCUGCUCGAGAACCAGCCUAGUUUACCCCGCCAGGCGUGAAUAGGGUGAUCACUAGAGAGGAGCUCGAGGCGCU
UACCCCGUCACGCACUCCUAGCAGGUCGGUCUCGAGAACCAGCCUGGUCUCCAACCCGCCAGGCGUAAAUAGGGUGA
UUACAAGAGAGGAGUUUGAGGCGUUCGUAGCACAACAACAUGACGGUUUGAUGCGGGUGCA

[0782] [SEQ ID No:154]

[0783] 因此,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:154所示的RNA核苷酸序

列,或其变体或片段。

[0784] 在一个实施方式中,NSP4在本文中提供为如下所示的SEQ ID No:155:

[0785] YIFSSDTGQGHLLQKQSVRQTVLSEVVLERTELEISYAPRLDQEKEELLRKKLQLNPTPANRSRYQSRKV
ENMKAITARRILQGLGHYLKAEGKVECYRTLHPVPLYSSSVNRAFSSPKVAVEACNAMLKENFPTVASYCI IPEYDA
YLDMDVGASCCLDTASFCPAKLRSPFKHSYLEPTIRSAVPSAIQNTLQNVLAATKRNCNVTQMRELPVLDAAFN
VECFKKYACNNEYWETFKENPIRLTEENVVNYITKLKGPAAAAFAKTHNLNMLQDIPMDRFVMDLKRDVKVTPGTK
HTEERPKVQVIQAADPLATAYLCGIHRELVRRLNAVLLPNIHTLFDMSAEDFDAI IAEHFQPGDCVLETDIASFDS
EDDAMALTALMILEDLGVD AELLTLIEAAFGEISSIHLPTKTKFKFGAMMKSGMFLTLFVNTVINIVIASRVLRL
TGSPCAAFIGDDNIVKGVKSDKLMADRCATWLNMEVKI IDAVVGEKAPYFCGGF ILCDSVTGTACRVADPLKRLFKL
GKPLAADDEHDDRRRALHEESTRWNRV GILSELCKAVESRYETVGTSIIVMAMTTLASSVKSF SYLRGAPITLYG

[0786] [SEQ ID No:155]

[0787] 因此,优选地,NSP4包含基本上如SEQ ID No:155所示的氨基酸序列,或其生物活性变体或片段。

[0788] 在一个实施方式中,NSP4由如下所示的SEQ ID No:156定义的核苷酸序列编码:

[0789] TACATCTTTTCTCCGACACCGGTCAAGGGCATTACAAACAAAATCAGTAAGGCAAACGGTGCTATCC
GAAGTGGTGTGGAGAGGACCGAATTGGAGATTTCTGATGCCCCGCGCTCGACCAAGAAAAAGAAGATTACTACG
CAAGAAATTACAGTTAAATCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAGGAAGGTGGAGAACATGAAAGCCA
TAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCAGAAGGAAAAGTGGAGTGCTACCGAACCTG
CATCCTGTTCTTTGTATTCTAGTGTGAACCGTGCTTTTCAAGCCCCAAGGTCGCAGTGGAAGCCTGTAACGC
CATGTTGAAAGAGAACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATCCAGAGTACGATGCCTATTTGGACATGGTTG
ACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGCCCTGCAAAGCTGCGCAGCTTTCCAAAGAAACACTCCTAT
TTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCTTCAGCGATCCAGAACACGCTCCAGAACGTCCTGGCAGCTGCCACAAA
AAGAAATTGCAATGTCACGCAATGAGAGAATTGCCCCGATTGGATTGCGCGGCCTTAAATGTGGAATGCTTCAAGA
AATATGCGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAACCCCATCAGGCTTACTGAAGAAAACGTGGTAAAT
TACATTACCAAATTAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTTGGCAAGACACATAATTTGAATATGTTGCAGGACAT
ACCAATGGACAGGTTTGTAATGGACTTAAAGAGAGACGTGAAAGTGACTCCAGGAACAAAACATACTGAAGAACGGC
CCAAGGTACAGGTGATCCAGGCTGCCGATCCGCTAGCAACAGCGTATCTGTGCGGAATCCACCGAGAGCTGGTTAGG
AGATTAAATGCGGTCTGCTTCCGAACATTACATACTGTTTGATATGTCGGCTGAAGACTTTGACGCTATTATAGC
CGAGCACTTCCAGCCTGGGGATTGTGTTCTGGAACTGACATCGCGTCGTTTGATAAAAGTGAGGACGACGCCATGG
CTCTGACCGCTTAATGATTCTGGAAGACTTAGGTGTGGACGCAGAGCTGTTGACGCTGATTGAGGCGGCTTTTCGGC
GAAATTTTCATCAATACATTTGCCCACTAAAACTAAATTTAAATTCGGAGCCATGATGAAATCTGGAATGTTCTCAC
ACTGTTTGTGAACACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAGCAGAGTGTTGAGAGAACGGCTAACCGGATCACCATGTG
CAGCATTCAATTGGAGATGACAATATCGTGAAAGGAGTCAAATCGGACAAATTAATGGCAGACAGGTGCGCCACCTGG
TTGAATATGGAAGTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGGGCGAGAAAGCGCCTTATTTCTGTGGAGGGTTTATTTTGTG
TGAATCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGACCCCTAAAAAGGCTGTTTAAGCTTGGCAAACCTCTGGCAG
CAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCATTGCATGAAGAGTCAACACGCTGGAACCGAGTGCGTATTCTT
TCAGAGCTGTGCAAGGCAGTAGAATCAAGGTATGAAACCGTAGGAACCTCCATCATAGTTATGGCCATGACTACTCT
AGCTAGCAGTGTTAAATCATTAGCTACCTGAGAGGGGCCCTATAACTCTCTACGGC

[0790] [SEQ ID No:156]

[0791] 因此,优选地,NSP4由基本上如SEQ ID No:156所示的核苷酸序列,或其变体或片段所编码。

[0792] 因此,所述RNA构建体可以包含如下所示的SEQ ID No:157:UACAUCUUUCCUCCGAC ACCGGUCAAGGGCAUUUACAACAAAAUCAGUAAGGCAAACGGUGCUAUCCGAAGUGGUGUUGGAGAGGACCGAAUU GGAGAUUUCGUAUGCCCCGCGCCUCGACCAAGAAAAAGAAGAAUACUACGCAAGAAUACAGUUAUUUCCACAC CUGCUAACAGAAGCAGAUACCAGUCCAGGAAGGUGGAGAACAUGAAAGCCAUACAGCUAGACGUAUUCUGCAAGGC CUAGGGCAUUUUUGAAGGCAGAAGGAAAAAGUGGAGUGCUACCGAACCCUGCAUCCUGUCCUUUGUAUUCAUCUAG UGUGAACCGUGCCUUUUAAGCCCCAAGGUCGCGAGUGGAAGCCUGUAACGCCAUGUUGAAAGAGAACUUUCCGACUG UGGCUUCUUACUGUAUUUUAUCCAGAGUACGAUGCCUAUUUGGACAUGGUUGACGGAGCUUCAUGCUGCUUAGACACU GCCAGUUUUUGCCUGCAAAGCUGCGCAGCUUUCAAAAGAAACACUCCUAUUUGGAACCCACAAUACGAUCGGCAGU GCCUUCAGCGAUCCAGAACACGCUCAGAACGUCCUGGCAGCUGCCACAAAAGAAUUGCAAUGUCACGCAAAUGA GAGAAUUGCCCGUAUUGGAUUCGGCGGCCUUUAAUGUGGAAUGCUUCAAGAAUUAUGCGUGUAAUAAUGAAUUAUGG GAAACGUUUAAAGAAAACCCCAUCAGGCUUACUGAAGAAAACGUGGUAAAUAUACAAUUAAGGACCAAA AGCUGCUGCUCUUUUUGCGAAGACACAUAUUUUGAAUUAUGUUGCAGGACAUACCAUUGGACAGGUUUGUAAUGGACU UAAAGAGAGACGUGAAAGUGACUCCAGGAACAAAACAUACUGAAGAACGGCCCAAGGUACAGGUGAUCCAGGCUGCC GAUCCGCUAGCAACAGCGUAUCUGUGCGGAAUCCACCGAGAGCUGGUUAGGAGAUUAAUUGCGGUCCUGCUUCCGAA CAUUCAUACACUGUUUGAUUUGUGCGGCUAAGACUUUGACGCUAUUUAAGCCGAGCACUCCAGCCUGGGGAUUGUG UUCUGGAAACUGACAUCGCGUCGUUUGAUAAAAGUGAGGACGACGCCAUGGCUCUGACCGCGUUAUGAUUCUGGAA GACUUAGGUGUGGACGCGAGAGCUGUUGACGCGUAUUGAGGCGGCUUUCGGCGAAUUAUUAUACAUUUGCCAC UAAACUAAAUUUAAAUUCGGAGCCAUGAUGAAAUUCUGGAAUGUCCUCACACUGUUUGUAACACAGUCAUUAACA UUGUAAUCGCAAGCAGAGUGUUGAGAGAACGGCUAACCGGAUCACCAUGUGCAGCAUUAUUGGAGAUGACAAUAUC GUGAAAGGAGUCAAAUCGGACAAAUAAUGGCAGACAGGUGCGCCACCUGGUUGAAUUAUGGAAGUCAAGAUUAUGA UGCUGUGGUGGGCGAGAAAGCGCCUUAUUUCUGUGGAGGGUUUUUUUGUGUGACUCCGUGACCGGCACAGCGUGCC GUGUGGCAGACCCCUAAAAAGGCUGUUUAAGCUUGGCAAACCUCUGGCAGCAGACGAUGAACAUGAUGACAGG AGAAGGGCAUUGCAUGAAGAGUCAACACGCUGGAACCGAGUGGUAUUCUUUCAGAGCUGUGCAAGGCAGUAGAAUC AAGGUAUGAAACCGUAGGAACUCCAUCAUAGUUAUGGCCAUGACUACUCUAGCUAGCAGUGUAAAUCAUUCAGCU ACCUGAGAGGGGCCCCUAUAACUCUCUACGGC

[0793] [SEQ ID No:157]

[0794] 相应地,因此,优选地,所述RNA构建体包含基本上如SEQ ID No:157所示的RNA核苷酸序列,或其变体或片段。

[0795] 优选地,与存在于宿主细胞中的蛋白质一起,由本发明的RNA构建体编码的非结构蛋白形成酶复合物(即复制酶),所述酶复合物是编码所述至少一种治疗性生物分子和所述至少一种ISP、IMP和/或IIP的序列的基因组复制和转录所必需的。例如,所述一种或多种非结构蛋白可以编码聚合酶,以使构建体能够扩增编码所述至少一种目的肽或蛋白(即治疗性生物分子)和所述至少一种ISP、IMP和/或IIP的核苷酸序列。

[0796] 所述宿主细胞可以是真核生物或原核生物宿主细胞。优选地,所述宿主细胞是真核生物宿主细胞。更优选地,所述宿主细胞是哺乳动物宿主细胞。

[0797] 所述RNA构建体可进一步包括设置在至少一种非结构蛋白5'处的启动子,使得启动子与编码所述至少一种非结构蛋白的序列可操作的连接,并使所述至少一种非结构蛋白

结构蛋白的序列、亚基因组启动子、编码至少一种治疗性生物分子的序列、接头序列、编码至少一种ISP、IMP和/或IIP的序列和聚A尾。在另一实施方式中,所述RNA构建体,优选从5'至3',包含启动子、编码至少一种非结构蛋白的序列、亚基因组启动子、编码至少一种ISP、IMP和/或IIP的序列、接头序列、编码至少一种治疗性生物分子的序列和聚A尾。在任一实施方式中,接头可以是F-T2a或IRES。

[0812] 在另一实施方式中,所述RNA构建体,优选从5'至3',包含启动子、编码至少一种非结构蛋白的序列、第一亚基因组启动子、编码至少一种治疗性生物分子的序列、第二亚基因组启动子、编码至少一种ISP、IMP和/或IIP的序列,和聚A尾。在又一实施方式中,所述RNA构建体,优选从5'至3',包含启动子、编码至少一种非结构蛋白的序列、第一亚基因组启动子、编码至少一种ISP、IMP和/或IIP的序列、第二亚基因组启动子、编码至少一种治疗性生物分子的序列,和聚A尾。

[0813] 最优选地,所述RNA构建体,从5'至3',包括5'帽、启动子、nsP1、nsP2、NSP3v、NSP4,亚基因组启动子26S、编码治疗性生物分子的序列、接头序列、编码ISP、IMP和/或IIP的序列和聚A尾。最优选地,所述RNA构建体,从5'至3',包括5'帽、启动子、nsP1、nsP2、nsP3v、nsP4,亚基因组启动子26S、编码ISP、IMP和/或IIP的序列、接头序列、编码治疗性生物分子的序列和聚A尾。

[0814] 在一个实施方式中,所述saRNA,优选地从5'到3',包括:(i)启动子(优选亚基因组启动子),用于驱动编码至少一种治疗性生物分子的序列的表达;(ii)接头序列(优选IRES元件);(iii)编码ISP(优选CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)的序列;(4)接头序列(优选IRES元件);和(v)编码IIP(优选IRF-1、E3L或PR34)的序列。

[0815] 在一个实施方式中,因此,所述RNA构建体可包含T7启动子,5'UTR、NSP1-4、亚基因组启动子、GOI(目的基因是治疗性生物分子)、弗林蛋白酶T2A、ISP是CXCL11(其是本文所述的第一ISP,但是应当理解,可以使用本文所公开的任何ISP或接头)、3'UTR和聚A尾。因此,RNA构建体可在单个构建体中包括或由SEQ ID No:160、GOI、和SEQ ID No:181的序列组成。SEQ ID No:160和SEQ ID No:181如下所示,其中“GOI”代表治疗性生物分子编码序列的位置):

[0816] AUGGGCGGCGCAUGAGAGAAGCCCAGACCAAUUACCUACCCAAAAUGGAGAAAGUUCACGUUGACAUC
GAGGAAGACAGCCAUUCCUCAGAGCUUUGCAGCGGAGCUUCCCGCAGUUUGAGGUAGAAGCCAAGCAGGUCACUG
AUAAUGACCAUGCUAAUUGCCAGAGCGUUUUCGCAUCUGGCUUCAAACUGAUCGAAACGGAGGUGGACCCAUCCGA
CACGAUCCUUGACAUUGGAAGUGCGCCCCGCCGCGAGAAUGUAUUCUAAGCACAAGUAUCAUUGUAUCUGUCCGAUG
AGAUGUGCGGAAGAUAUCCGGACAGAUUGUAUAAGUAUGCAACUAAGCUGAAGAAAAACUGUAAGGAAUAACUGAUA
AGGAAUUGGACAAGAAAAUGAAGGAGCUGGCCGCCGUAUGAGCGACCCUGACCUGGAAACUGAGACUAUGUGCCU
CCACGACGACGAGUCGUGUCGCUACGAAGGGCAAGUCGCUGUUUACCAGGAUGUAUACGCGGUUGACGGACCGACA
AGUCUCUAUCACCAAGCCAAUAAGGGAGUUAGAGUCGCCUACUGGAUAGGCUUUGACACCACCCUUUUUGUUUA
AGAACUUGGCUGGAGCAUAUCCAUCUAUCUCUACCAACUGGGCCGACGAAACCGUGUUAACGGCUCGUAACAUAGG
CCUAUGCAGCUCUGACGUUAUGGAGCGGUCACGUAGAGGAUGUCCAUCUUAAGAAAGUAUUUGAAACCAUCC
AACAAUGUUCUAUUCUCUGUUGGCUCGACCAUCUACCACGAGAAGAGGGACUUACUGAGGAGCUGGCACCUGCCGU
CUGUAUUUCACUUAACGUGGCAAGCAAAAUACACAUGUCGGUGUGAGACUAUAGUUAGUUGCGACGGUACGUCGU
UAAAAGAAUAGCUAUCAGUCCAGGCCUGUAUGGGAAGCCUUCAGGCUAUGCUGCUACGAUGCACCGCGAGGGGAUUC
UUGUGCUGCAAAGUGACAGACACAUUGAACGGGGAGAGGGUCUCUUUCCCGUGUGCACGUAUGUGCCAGCUACAU

UGUGUGACCAAAUGACUGGCAUACUGGCAACAGAUGUCAGUGCGGACGACGCGCAAAAACUGCUGGUUGGGCUCAA
CCAGCGUAUAGUCGUCAACGGUCGCACCCAGAGAAACACCAAUACCAUGAAAAAUUACCUUUUGCCCGUAGUGGCC
CAGGCAUUUGCUAGGUGGGCAAAGGAAUUAAGGAAGAUCAAGAAGAUAAAAGGCCACUAGGACUACGAGAUAGAC
AGUUAGUCAUGGGGUGUUGUUGGGCUUUUAGAAGGCACAAGAUAAACUUAUUUAAGCGCCCGGAUACCCAAAC
CAUCAUCAAGUGAACAGCGAUUUCCACUCAUUCGUGCUGCCAGGAUAGGCAGUAACACAUUGGAGAUCCGGCUG
AGAACAAGAAUCAGGAAAAUGUUAGAGGAGCACAAGGAGCCGUCACCUCUCAUUAACCGCCGAGGACGUACAAGAAG
CUAAGUGCGCAGCCGAUGAGGCUAAGGAGGUGCGUGAAGCCGAGGAGUUGCGCGCAGCUCUACCACCUUUGGCAGC
UGAUGUUGAGGAGCCACUCUGGAAGCCGAUGUCGACUUGAUGUUACAAGAGGCUGGGGCCGGCUCAGUGGAGACA
CCUCGUGGCUUGAUAAAGGUUACCAGCUACGAUGGCGAGGACAAGAUCCGUCUUAACGUGUGCUUUCUCCGCAGG
CUGUACUCAAGAGUGAAAAAUUUCUUGCAUCCACCCUCUCGCUGAACAAGUCAUAGUGAUAAACACUCUGGCCG
AAAAGGGCGUUUGCCGUGGAACCAUACCAUGGUAAAGUAGUGGUGCCAGAGGGACAUGCAAUACCCGUCCAGGAC
UUUCAAGCUCUGAGUGAAAGUGCCACCAUUGUGUACAACGAACGUGAGUUCGUAAAACAGGUACCUGCACCAUAUUG
CCACACAUGGAGGAGCGCUGAACACUGAUGAAGAAUUAUACAAAACUGUCAAGCCCAGCGAGCACGACGGCGAAUA
CCUGUACGACAUCGACAGGAAACAGUGCGUCAAGAAAGAACUAGUCACUGGGCUAGGGCUCACAGGCGAGCUGGUG
GAUCCUCCCUUCCAUGAAUUCGCCUACGAGAGUCUGAGAACACGACCAGCCGCUCCUUAACCAAGUACCAACCAUAG
GGGUGUAUGGCGUGCCAGGAUCAGGCAAGUCUGGCAUCAUUAAGCGCAGUCACCAAAAAAGAUCAUGUGGUGAG
CGCCAAGAAAGAAAAACUGUGCAGAAAUUAUAGGGACGUCAAGAAAAUGAAAGGGCUGGACGUCAAUGCCAGAACU
GUGGACUCAGUGCUCUUGAAUGGAUGCAAACACCCCGUAGAGACCCUGUAUAUUGACGAAGCUUUUGCUUGUCAUG
CAGGUACUCUCAGAGCGCUCUAUAGCCAUUAUAGACCUAAAAAGGCAGUGCUCUGCGGGGAUCCCAAACAGUGCGG
UUUUUUUAAACUAUGUGCCUGAAAGUGCAUUUAACCACGAGAUUUGCACACAAGUCUCCACAAAAGCAUCUCU
CGCCGUUGCACUAAAUCUGUGACUUCGGUCGUCUCAACCUUGUUUACGACAAAAAAUAGAGAACGACGAAUCCGA
AAGAGACUAAGAUUGUGAUUGACACUACCGGCAGUACCAAACCUAAGCAGGACGAUCUCAUUCUCACUUGUUUCAG
AGGGUGGGUGAAGCAGUUGCAAAUAGAUUACAAAGGCAACGAAAUAAUGACGGCAGCUGCCUCUAAGGGCUGACC
CGUAAAGGUGUGUAUGCCGUUCGGUACAAGGUGAAUGAAAAUCCUCUGUACGCACCCACCUCAGAACAUGUGAACG
UCCUACUGACCCGCACGGAGGCCGAUCGUGUGGAAAACACUAGCCGGCGACCCAUGGAUAAAAACACUGACUGC
CAAGUACCCUGGGAAUUCACUGCCACGAUAGAGGAGUGGCAAGCAGAGCAUGAUGCCAUAUGAGGCACAUCUUG
GAGAGACCGGACCCUACCGACGUCUUCAGAAUAAGGCAACGUGUGUUGGGCCAAGGCUUUAGUGCCGGUGCUGA
AGACCGCUGGCAUAGACAUGACCACUGAACAAGGAACACUGUGGAUUAUUUUGAAACGGACAAAGCUCACUCAGC
AGAGAUAGUAUUGAACCAACUAUGCGUGAGGUUCUUGGACUCGAUCUGGACUCCGGUCUAUUUUCUGCACCCACU
GUUCCGUUAUCCAUAUAGGAAUUAUCACUGGGAUAAUCUCCCGUCGCCUAAACUAUGACGGGCUGAAUAAAGAAGUGG
UCCGUCAGCUCUCUCGCAGGUACCCACAACUGCCUCGGGCAGUUGCCACUGGAAGAGUCUAUGACAUGAACACUGG
UACACUGCGCAAUUAUGAUCCGCGCAUAAACCUAGUACCUGUAAACAGAAGACUGCCUAUGCUUUAGUCCUCCAC
CAUAAUGAACACCCACAGAGUGACUUUUCUUAUUCGUCAGCAAAUUGAAGGGCAGAACUGUCCUGGUGGUCGGGG
AAAAGUUGUCCGUCCAGGCAAAAUGGUUGACUGGUUGCAGACCGGCCUGAGGCUACCUUCAGAGCUCGGCUGGA
UUUAGGCAUCCAGGUGAUGUGCCCAAUAUGACAUAUAUUGUUAUUGUGAGGACCCCAUAUAAAUACCAUCAC
UAUCAGCAGUGUGAAGACCAUGCCAUAUAGCUUAGCAUGUUGACCAAGAAAGCUUGUCUGCAUCUGAAUCCCGGCG
GAACCUGUGUCAGCAUAGGUUAUGGUUACGCUGACAGGGCCAGCGAAAGCAUCAUUGGUGCUAUAGCGCGGCAGUU
CAAGUUUUCGGGUUGCAAACCGAAAUCCUCACUUGAAGAGACGGAAGUUCUGUUUGUAUUCAUUGGGUACGAU
CGCAAGGCCCGUACGCACAAUUCUUAACAAGCUUUCAUCAACCUUGACCAACAUAUUAACAGGUUCCAGACUCCAGC

AAGCCGGAUGUGCACCCUCAUAUCAUGUGGUGCGAGGGGAUAUUGCCACGGCCACCGAAGGAGUGAUUAUAAAUGC
UGCUAACAGCAAAGGACAACCGUGGCGGAGGGGUGUGCGGAGCGCUGUAUAAGAAAUUCCCGAAAGCUUCGAUUUA
CAGCCGAUCGAAGUAGGAAAAGCGCGACUGGUCAAAGGUGCAGCUAAAACAUAUCAUUCAGCCGUAGGACCAAAACU
UCAACAAAGUUUCGGAGGUUGAAGGUGACAAACAGUUGGCAGAGGCUUAUGAGUCCAUUCGCUAAGAUUGUCAACGA
UAACAAUUAACAAGUCAGUAGCGAUUCCACUGUUGUCCACCGGCAUCUUUCCGGGAACAAAGAUUGACUAACCCAA
UCAUUGAACCAUUUGCUGACAGCUUUAGACACCACUGAUGCAGAUUGACCAUAUACUGCAGGGACAAGAAUUGGG
AAAUGACUCUCAAGGAAGCAGUGGCUAGGAGAGAAGCAGUGGAGGAGAUUAUGCAUAUCCGACGACUCUUCAGUGAC
AGAACCUGAUGCAGAGCUGGUGAGGGUGCAUCCGAAGAGUUCUUUGGCUGGAAGGAAGGGCUACAGCACAAGCGAU
GGCAAAACUUUCUCAUAUUUGGAAGGGACCAAGUUUACCAGGCGGCCAAGGAUAUAGCAGAAAUUAUGCCAUGU
GGCCCGUUGCAACGGAGGCCAAUGAGCAGGUUGCAUGUAUAUCCUCGGAGAAAAGCAUGAGCAGUAUUAGGUCGAA
AUGCCCCGUCGAAGAGUCGGAAGCCUCCACACCACCUAGCACGCUGCCUUGCUUGUGCAUCCAUGCCAUGACUCCA
GAAAGAGUACAGCGCCUAAAAGCCUCACGUCCAGAACAUAUACUGUGUGCUCAUCCUUCCAUGCCGAAGUAUA
GAAUCACUGGUGUGCAGAAGAUCCAAUGCUCCAGCCUAUAUUGUUCACACCGAAAGUGCCUGCGUAUAUUCAUCC
AAGGAAGUAUCUCGUGGAAACACCACCGUAGACGAGACUCCGGAGCCAUCGGCAGAGAACCAAUCCACAGAGGGG
ACACCUGAACAAACCACCACUUAUAACCGAGGAUGAGACCAGGACUAGAACGCCUGAGCCGAUCAUCAUCGAAGAGG
AAGAAGAGGAUAGCAUAAGUUUGCUGUCAGAUGGCCCCGACCCACCAGGUGCUGCAAGUCGAGGCAGACAUUCACGG
GCCGCCUCUGUAUCUAGCUCAUCCUGGUCCAUCCUCAUGCAUCCGACUUUGAUGUGGACAGUUUAUCCAUAUCU
GACACCCUGGAGGGAGCUAGCGUGACCAGCGGGGCAACGUCAGCCGAGACUAAUCUUACUUCGCAAAGAGUAUGG
AGUUUCUGGCGCGACCGGUGCCUGCGCCUCGAACAGUAUUCAGGAACCCUCCACAUCCCGCUCGCGCACAAGAAC
ACCGUCACUUGCACCCAGCAGGGCCUGCUCGAGAACCAGCCUAGUUUCCACCCCGCCAGGCGUGAAUAGGGUGAUC
ACUAGAGAGGAGCUCGAGGCGCUUACCCCGUCACGCACUCCUAGCAGGUCGGUCUCGAGAACCAGCCUGGUCUCCA
ACCCGCCAGGCGUAAAUAGGGUGAUUACAAGAGAGGAGUUUGAGGCGUUCGUAGCACAACAACAUGACGGUUUGA
UGCGGGUGCAUACAUCUUUCCUCCGACACCGGUCAGGGGCAUUUACAACAAAAUCAGUAAGGCAAACGGUGCUA
UCCGAAGUGGUGUUGGAGAGGACCGAAUUGGAGAUUUCGUUGCCCCGCGCCUCGACCAAGAAAAAGAAGAAUAC
UACGCAAGAAAUUACAGUUAAAUCCACACCUGCUAACAGAAGCAGAUACCAGUCCAGGAAGGUGGAGAACAUGAA
AGCCAUAACAGCUAGACGUAUUCUGCAAGGCCUAGGGCAUUAUUUGAAGGCAGAAGGAAAAGUGGAGUGCUACCGA
ACCCUGCAUCCUGUCCUUUGUAUUCUAGUGUGAACCGUGCCUUUUAAGCCCCAAGGUCGCGAGUGGAAGCCU
GUAACGCCAUGUUGAAAGAGAACUUUCCGACUGUGGCUUCUACUGUAUUAUCCAGAGUACGAUGCCUUAUUUGGA
CAUGGUUGACGGAGCUUCAUGCUGCUUAGACACUGCCAGUUUUUGCCCUGCAAAGCUGCGCAGCUUCCAAAGAAA
CACUCCUAUUUUGGAACCCACAUAACGAUCGGCAGUGCCUUCAGCGAUCCAGAACACGCUCCAGAACGUCCUGGCAG
CUGCCACAAAAAGAAAUUGCAAUGUCACGCAAAUGAGAGAAUUGCCCGUAUUGGAUUCGGCGGCCUUUAAUGUGGA
AUGCUUCAAGAAAUUUGCGUGUAAUUAUGAAUAUUGGGAAACGUUUAAGAAACCCCAUCAGGCUUACUGAAGAA
AACGUGGUAAAUAUACAUUACCAAUUAAGGACCAAAAGCUGCUGCUCUUUUUGCGAAGACACAUAAUUGAAUA
UGUUGCAGGACAUACCAAUGGACAGGUUUGUAUUGGACUUAAGAGAGACGUGAAAGUGACUCCAGGAACAAAACA
UACUGAAGAACGGCCCAAGGUACAGGUGAUCCAGGCUGCCGAUCCGCUAGCAACAGCGUAUCUGUGCGGAUCCAC
CGAGAGCUGGUUAGGAGAUUAAAUGCGGUCCUGCUUCCGAACAUUCAUACACUGUUUGAUUUGUGCGGUGAAGACU
UUGACGCUAUUAUAGCCGAGCACUCCAGCCUGGGGAUUGUGUUCUGGAAACUGACAUCGCGUCGUUUGAUAAAAG
UGAGGACGACGCCAUGGCUCUGACCGGUUAAUGAUUCUGGAAGACUUAAGGUGUGGACGAGAGCUGUUGACGCUG
AUUGAGGCGGCUUUCGGCGAAAUUCAUAUACAUAUUGCCCACUAAAACUAAAUUAAAUUCGGAGCCAUGAUGA

CTGTATTTCACTTACGTGGCAAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGTTAGTTGCGACGGGTACGTCGT
TAAAAGAATAGCTATCAGTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGCTACGATGCACCGCGAGGGATTC
TTGTGCTGCAAAGTGACAGACACATTGAACGGGGAGAGGGTCTCTTTTCCCGTGTGCACGTATGTGCCAGCTACAT
TGTGTGACCAAATGACTGGCATACTGGCAACAGATGTCAGTGCAGGACGACGCGCAAAACTGCTGGTTGGGCTCAA
CCAGCGTATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAACACCAATACCATGAAAAATTACCTTTTGCCCGTAGTGGCC
CAGGCATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGATGAAAGGCCACTAGGACTACGAGATAGAC
AGTTAGTCATGGGGTGTGTTGGGCTTTTAGAAGGCACAAGATAACATCTATTTATAAGCGCCCGGATACCCAAAC
CATCATCAAAGTGAACAGCGATTTCCACTCATTTCGTGCTGCCCAGGATAGGCAGTAACACATTGGAGATCGGGCTG
AGAACAAGAATCAGGAAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCGCCGAGGACGTACAAGAAG
CTAAGTGCGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCGAGGAGTTGCGCGCAGCTCTACCACCTTTGGCAGC
TGATGTTGAGGAGCCCACTCTGGAAGCCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTGGGGCCGGCTCAGTGGAGACA
CCTCGTGGCTTGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCTTACGCTGTGCTTTCTCCGCAGG
CTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGCATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCATAGTGATAACACACTCTGGCCG
AAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATAACCATGGTAAAGTAGTGGTGCCAGAGGGACATGCAATACCCGTCCAGGAC
TTTCAAGCTCTGAGTGAAGTGCCACCATTGTGTACAACGAACGTGAGTTCGTAAACAGGTACCTGCACCATATTG
CCACACATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAAACGTCAAGCCCAGCGAGCACGACGGCGAATA
CCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGAACTAGTCACTGGGCTAGGGCTCACAGGCGAGCTGGTG
GATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGAGTCTGAGAACACGACCAGCCGCTCCTTACCAAGTACCAACCATAG
GGGTGTATGGCGTGCCAGGATCAGGCAAGTCTGGCATCATTAAAAGCGCAGTCACCAAAAAAGATCTAGTGGTGAG
CGCCAAGAAAGAAAACTGTGCAGAAATTATAAGGGACGTCAAGAAAAATGAAAGGGCTGGACGTCAATGCCAGAACT
GTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGATGAAACACCCCGTAGAGACCCTGTATATTGACGAAGCTTTTGCTTGTCATG
CAGGTACTCTCAGAGCGCTCATAGCCATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGGGGATCCCAAACAGTGCGG
TTTTTTTAACATGATGTGCCTGAAAGTGCAATTTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTCTTCCACAAAAGCATCTCT
CGCCGTTGCACTAAATCTGTGACTTCGGTCTGCTCAACCTGTGTTTACGACAAAAAAATGAGAACGACGAATCCGA
AAGAGACTAAGATTGTGATTGACACTACCGGCAGTACCAAACCTAAGCAGGACGATCTCATTCTCACTTGTTTCAG
AGGGTGGGTGAAGCAGTTGCAAATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCTGCCTCTCAAGGGCTGACC
CGTAAAGGTGTGTATGCCGTTCCGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGCACCCACCTCAGAACATGTGAACG
TCCTACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGAAAACACTAGCCGGCGACCCATGGATAAAAAACACTGACTGC
CAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATAGAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCCATCATGAGGCACATCTTG
GAGAGACCGGACCCTACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGGCTTTAGTGCCGGTGCTGA
AGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAACGGACAAAGCTCACTCAGC
AGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACTCGATCTGGACTCCGGTCTATTTTCTGCACCCACT
GTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCACTGGGATAACTCCCCGTGCGCTAACATGTACGGGCTGAATAAAGAAGTGG
TCCGTGAGCTCTCTCGCAGGTACCCACAACCTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAGAGTCTATGACATGAACACTGG
TAACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGACTGCCTCATGCTTTAGTCTCCAC
CATAATGAACACCCACAGAGTGACTTTTCTTCATTTCGTAGCAAATTGAAGGGCAGAACTGTCCTGGTGGTCCGGG
AAAAGTTGTCCGTCCCAGGCAAAATGGTTGACTGGTTGTGACACCGGCCTGAGGCTACCTTCAGAGCTCGGCTGGA
TTTAGGCATCCCAGGTGATGTGCCCAAATATGACATAATATTTGTTAATGTGAGGACCCCATATAAATACCATCAC
TATCAGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTGACCAAGAAAGCTTGTCTGCATCTGAATCCCGGCG

GAACCTGTGTCAGCATAGGTTATGGTTACGCTGACAGGGCCAGCGAAAGCATCATTGGTGCTATAGCGCGGCAGTT
CAAGTTTTCCCGGTATGCAAACCGAAATCCTCACTTGAAGAGACGGAAGTTCTGTTTGTATTCATTGGGTACGAT
CGCAAGGCCCGTACGCACAATTCTTACAAGCTTTCATCAACCTTGACCAACATTTATACAGGTTCCAGACTCCACG
AAGCCGGATGTGCACCCTCATATCATGTGGTGCGAGGGGATATTGCCACGGCCACCGAAGGAGTGATTATAAATGC
TGCTAACAGCAAAGGACAACCTGGCGGAGGGGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATTCGCGAAAGCTTCGATTTA
CAGCCGATCGAAGTAGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTTCATGCCGTAGGACCAAAC
TCAACAAAGTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCATCGCTAAGATTGTCAACGA
TAACAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCGGCATCTTTTCCGGGAACAAAGATCGACTAACCCAA
TCATTGAACCATTTGCTGACAGCTTTAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACTGCAGGGACAAGAAATGGG
AAATGACTCTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATCCGACGACTCTTCAGTGAC
AGAACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGGAAGGAAGGGCTACAGCACAAGCGAT
GGCAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGTTTCACCAGGCGGCCAAGGATATAGCAGAAATTAATGCCATGT
GGCCCGTTGCAACGGAGGCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCGGAGAAAGCATGAGCAGTATTAGGTGCAA
ATGCCCCGTGCAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGCTGCCTTGCTTGTGCATCCATGCCATGACTCCA
GAAAGAGTACAGCGCCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAAATTACTGTGTGCTCATCCTTTCCATTGCCGAAGTATA
GAATCACTGGTGTGCAGAAGATCCAATGCTCCCAGCCTATATTGTTCTCACCGAAAGTGCCTGCGTATATTCATCC
AAGGAAGTATCTCGTGAAAACACCACCGGTAGACGAGACTCCGGAGCCATCGGCAGAGAACCAATCCACAGAGGGG
ACACCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGATGAGACCAGGACTAGAACGCCTGAGCCGATCATCATCGAAGAGG
AAGAAGAGGATAGCATAAGTTTGCTGTGATGGCCGACCCACAGGTGCTGCAAGTCGAGGCAGACATTCACGG
GCCGCCCTCTGTATCTAGCTCATCCTGGTCCATTCTCATGCATCCGACTTTGATGTGGACAGTTTATCCATACTT
GACACCCTGGAGGGAGCTAGCGTGACCAGCGGGGCAACGTGAGCCGAGACTAACTCTTACTTCGCAAAGAGTATGG
AGTTTCTGGCGGACCGGTGCCTGCGCCTCGAACAGTATTCAGGAACCCTCCACATCCCGCTCCGCGCACAAGAAC
ACCGTCACTTGCACCAGCAGGGCCTGCTCGAGAACCAGCCTAGTTTCCACCCCGCCAGGCGTGAATAGGGTGATC
ACTAGAGAGGAGCTCGAGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTCGGTCTCGAGAACCAGCCTGGTCTCCA
ACCCGCCAGGCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTTCGTAGCACACAACAATGACGGTTTGA
TGCGGGTGCATACATCTTTTCCCTCCGACACCGGTCAAGGGCATTTTACAACAAAAATCAGTAAGGCAAACGGTGCTA
TCCGAAGTGGTGTGGAGAGGACCGAATTGGAGATTTTCGTATGCCCCGCGCCTCGACCAAGAAAAAGAAGATTAC
TACGCAAGAAATTACAGTTAAATCCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAGGAAGGTGGAGAACATGAA
AGCCATAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCAGAAGGAAAAGTGGAGTGCTACCGA
ACCCTGCATCCTGTTCTTTGTATTTCATCTAGTGTGAACCGTGCCTTTTCAAGCCCCAAGGTTCGAGTGGAAGCCT
GTAACGCCATGTTGAAAGAGAACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATTCAGAGTACGATGCCTATTTGGA
CATGGTTGACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGGCCTGCAAAGCTGCGCAGCTTTCCAAAGAAA
CACTCCTATTTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCCTTCAGCGATCCAGAACACGCTCCAGAACGTCCTGGCAG
CTGCCACAAAAAGAAATTGCAATGTCACGCAAATGAGAGAATTGCCCGTATTGGATTTCGGCGGCCTTTAATGTGGA
ATGCTTCAAGAAATATGCGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAAACCCATCAGGCTTACTGAAGAA
AACGTGGTAAATTACATTACCAAATTTAAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTTTCGGAAGACACATAATTTGAATA
TGTTGCAGGACATACCAATGGACAGGTTTGTAAATGGACTTAAAGAGAGACGTGAAAGTGAAGTCCAGGAACAAAACA
TACTGAAGAACGGCCCAAGGTACAGGTGATCCAGGCTGCCGATCCGCTAGCAACAGCGTATCTGTGCGGAATCCAC
CGAGAGCTGGTTAGGAGATTAAATGCGGTCCTGCTTCCGAACATTCATACACTGTTTGATATGTGCGGCTGAAGACT

TTGACGCTATTATAGCCGAGCACTTCCAGCCTGGGGATTGTGTTCTGGAACTGACATCGCGTCGTTTGATAAAAG
TGAGGACGACGCCATGGCTCTGACCGCGTTAATGATTCTGGAAGACTTAGGTGTGGACGCAGAGCTGTTGACGCTG
ATTGAGGCGGCTTTCGGCGAAATTTTCATCAATACATTTGCCCACTAAAACTAAATTTAAATTTCGGAGCCATGATGA
AATCTGGAATGTTCTCACACTGTTTGTGAACACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAGCAGAGTGTTGAGAGAACG
GCTAACCGGATCACCATGTGCAGCATTTCATTGGAGATGACAATATCGTGAAAGGAGTCAAATCGGACAAATTAATG
GCAGACAGGTGCGCCACCTGGTTGAATATGGAAGTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGGGCGAGAAAGCGCCTTATT
TCTGTGGAGGGTTTATTTTGTGTGACTCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGACCCCTAAAAAGGCTGTT
TAAGCTTGGCAAACCTCTGGCAGCAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCATTGCATGAAGAGTCAACA
CGCTGGAACCGAGTGGGTATTCTTTCAGAGCTGTGCAAGGCAGTAGAATCAAGGTATGAAACCGTAGGAACCTTCCA
TCATAGTTATGGCCATGACTACTCTAGCTAGCAGTGTTAAATCATTACAGCTACCTGAGAGGGGGCCCTATAACTCT
CTACGGCTAACCTGAATGGACTACGACATAGTCTAGTCCGCCAAGTCTAGCATATGGCCACC[SEQ ID No:
161]---GOI---

[0823] CGGAGACGGCGCAGAAGAAGAGGATCTGGCGAAGGCAGAGGCAGCCTGCTTACATGTGGCGACGTGGAA
GAGAACCCCGGACCTATGGCCCGCGCTGCTCTCTCCGCCGCCCCAGCAATCCCGGCTCCTGCGAGTGGCACTGCT
GCTCCTGCTCCTGGTAGCCGCTGGCCGGCGCGCAGCAGGAGCGTCCGTGGCCACTGAACTGCGCTGCCAGTGCTTGC
AGACCCTGCAGGGAATTCACCCCAAGAACATCCAAAGTGTGAACGTGAAGTCCCCCGGACCCCACTGCGCCCAAACC
GAAGTCATAGCCACACTCAAGAATGGGCGGAAAGCTTGCCCTCAATCCTGCATCCCCCATAGTTAAGAAAATCATCGA
AAAGATGCTGAACAGTGACAAATCCAAGTGAAGCGGCCGCAATTGGCAAGCTGCTTACATAGAACTCGCGGCGATTG
GCATGCCGCCTTAAAATTTTATTTTATTTTCTTTTCTTTTCCGAATCGGATTTTGTTTTAAATATTTCAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

[0824] [SEQ ID No:182]

[0825] 因此,优选地,核酸序列包含基本上如上文所述的核苷酸序列,其包括或由SEQ ID No:161、GOI、和SEQ ID No:182或其片段或变体组成。

[0826] 在第六方面,提供了包含根据第五方面的核酸序列的表达盒。

[0827] 本发明的核酸序列优选被包含在重组载体中,例如用于递送到目的宿主细胞中以能够生产RNA构建体的重组载体中。

[0828] 因此,在第七方面,提供了包含根据第六方面的表达盒的重组载体。

[0829] 在一个实施方式中,所述载体可包含或编码T7启动子,5' UTR、NSP1-4、亚基因启动子、GOI(目的基因是治疗性生物分子)、弗林蛋白酶T2A、ISP是CXCL11(其是本文所述的第一ISP,但是应当理解,可以使用本文所公开的任何ISP或接头)、3' UTR和聚A尾。因此,所述载体可在单个构建体中包含SEQ ID No:162的核酸序列、GOI、和SEQ ID No:183的序列。SEQ ID No:162和SEQ ID No:183如下所示,其中“GOI”代表治疗性生物分子编码序列的位置):

[0830] TAATACGACTCACTATAGATGGGCGGCGCATGAGAGAAGCCCAGACCAATTACCTACCCAAAATGGAG
AAAGTTACGTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAGTTTGAGGTAG
AAGCCAAGCAGGTCACTGATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTCGCATCTGGCTTCAAACTGATCGAAAC
GGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGAAGTGCGCCCGCCCGCAGAATGTATTCTAAGCACAAGTAT
CATTGTATCTGTCCGATGAGATGTGCGGAAGATCCGGACAGATTGTATAAGTATGCAACTAAGCTGAAGAAAACT
GTAAGGAAATAACTGATAAGGAATTGGACAAGAAAATGAAGGAGCTGGCCCGCGTCATGAGCGACCCTGACCTGGA
AACTGAGACTATGTGCCTCCACGACGACGAGTCGTGTCGCTACGAAGGGCAAGTCGCTGTTTACCAGGATGTATAC

GCGGTTGACGGACCGACAAGTCTCTATCACCAAGCCAATAAGGGAGTTAGAGTCGCCTACTGGATAGGCTTTGACA
CCACCCCTTTTATGTTTAAAGAACTTGGCTGGAGCATATCCATCATACTCTACCAACTGGGCGACGAAACCGTGTT
AACGGCTCGTAACATAGGCCTATGCAGCTCTGACGTTATGGAGCGGTCACGTAGAGGGATGTCCATTCTTAGAAAG
AAGTATTTGAAACCATCCAACAATGTTCTATTCTCTGTTGGCTCGACCATCTACCACGAGAAGAGGGACTTACTGA
GGAGCTGGCACCTGCCGTCTGTATTTCACTTACGTGGCAAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGTTAG
TTGCGACGGGTACGTCGTTAAAAGAATAGCTATCAGTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGCTACG
ATGCACCGCGAGGGATTCTTGTGCTGCAAAGTGACAGACACATTGAACGGGGAGAGGGTCTCTTTTCCCGTGTGCA
CGTATGTGCCAGCTACATTGTGTGACCAAATGACTGGCATACTGGCAACAGATGTCAGTGCGGACGACGCGCAAAA
ACTGCTGGTTGGGCTCAACCAGCGTATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAAACCAATACCATGAAAAATTAC
CTTTTGCCCGTAGTGGCCCAGGCATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGATGAAAGGCCAC
TAGGACTACGAGATAGACAGTTAGTCATGGGGTGTGTTGGGCTTTTAGAAGGCACAAGATAACATCTATTTATAA
GCGCCCGGATACCCAAACCATCATCAAAGTGAACAGCGATTTCCACTCATTTCGTGCTGCCAGGATAGGCAGTAAC
ACATTGGAGATCGGGCTGAGAACAAGAATCAGGAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCG
CCGAGGACGTACAAGAAGCTAAGTGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCGAGGAGTTGCGCGCAGC
TCTACCACCTTTGGCAGCTGATGTTGAGGAGCCACTCTGGAAGCCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTGGG
GCCGGCTCAGTGGAGACACCTCGTGGCTTGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCTTACG
CTGTGCTTTCTCCGAGGCTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCATAGT
GATAACACACTCTGGCCGAAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATAACCATGGTAAAGTAGTGGTGCCAGAGGGACAT
GCAATACCCGTCCAGGACTTTCAAGCTCTGAGTGAAAGTGCCACCATTGTGTACAACGAACGTGAGTTGCTAAACA
GGTACCTGCACCATATTGCCACACATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAAACGTCAAGCCCAG
CGAGCACGACGGCGAATACCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGAACTAGTCACTGGGCTAGGG
CTCACAGGCGAGCTGGTGGATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGAGTCTGAGAACACGACCAGCCGCTCCTT
ACCAAGTACCAACCATAGGGGTGTATGGCGTGCCAGGATCAGGCAAGTCTGGCATCATTAAAAGCGCAGTCACCAA
AAAAGATCTAGTGGTGAGCGCCAAGAAAGAAAACACTGTGCAGAAATTATAAGGGACGTCAAGAAAATGAAAGGGCTG
GACGTCAATGCCAGAACTGTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGATGCAAAACCCCCGTAGAGACCCTGTATATTGACG
AAGCTTTTGCTTGTGCATGCAGGTACTCTCAGAGCGCTCATAGCCATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGG
GGATCCCAAACAGTGCGGTTTTTTTAAACATGATGTGCCTGAAAGTGCAATTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTC
TTCCACAAAAGCATCTCTCGCCGTTGCACTAAATCTGTGACTTCGGTCGTCTCAACCTTGTTTTACGACAAAAAA
TGAGAACGACGAATCCGAAAGAGACTAAGATTGTGATTGACACTACCGGCAGTACCAAACCTAAGCAGGACGATCT
CATTCTCACTTGTTTTAGAGGGTGGGTGAAGCAGTTGCAAATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCT
GCCTCTCAAGGGCTGACCCGTAAAGGTGTGTATGCCGTTCCGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGCACCCA
CCTCAGAACATGTGAACGTCCTACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGAAAAACACTAGCCGGCGACCCATG
GATAAAAACACTGACTGCCAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATAGAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCC
ATCATGAGGCACATCTTGAGAGACCGGACCCTACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGG
CTTTAGTGCCGGTGCTGAAGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAC
GGACAAAGCTCACTCAGCAGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACTCGATCTGGACTCCGGT
CTATTTTCTGCACCCACTGTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCACTGGGATAACTCCCCGTCGCCTAACATGTACG
GGCTGAATAAAGAAGTGGTCCGTCAGCTCTCTCGCAGGTACCCACAACCTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAGAGT
CTATGACATGAACACTGGTACACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGACTGCCT

CATGCTTTAGTCTCCACCATAATGAACACCCACAGAGTGAAGTCTTTCTTCATTTCGTCAGCAAATTGAAGGGCAGAA
CTGTCTCGGTGGTTCGGGGAAAAAGTTGTCCGTCCCAGGCAAAATGGTTGACTGGTTGTCAGACCGGCCTGAGGCTAC
CTTCAGAGCTCGGCTGGATTTAGGCATCCCAGGTGATGTGCCCAAATATGACATAATATTTGTTAATGTGAGGACC
CCATATAAATACCATCACTATCAGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTGACCAAGAAAGCTTGTC
TGCATCTGAATCCCGGCGGAACCTGTGTGAGCATAGGTTATGGTTACGCTGACAGGGCCAGCGAAAGCATCATTGG
TGCTATAGCGCGGCAGTTCAAGTTTTCCCGGTATGCAAACCGAAATCCTCACTTGAAGAGACGGAAGTTCTGTTT
GTATTCATTGGGTACGATCGCAAGGCCGTACGCACAATTCTTACAAGCTTTCATCAACCTTGACCAACATTTATA
CAGGTTCCAGACTCCACGAAGCCGGATGTGCACCCTCATATCATGTGGTGCGAGGGGATATTGCCACGGCCACCGA
AGGAGTGATTATAAATGCTGCTAACAGCAAAGGACAACCTGGCGGAGGGGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATTC
CCGAAAGCTTCGATTTACAGCCGATCGAAGTAGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTC
ATGCCGTAGGACCAAACCTCAACAAAGTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCAT
CGCTAAGATTGTCAACGATAACAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCGGCATCTTTCCGGGAAC
AAAGATCGACTAACCAATCATTGAACCATTTGCTGACAGCTTTAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACT
GCAGGGACAAGAAATGGGAAATGACTCTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATC
CGACGACTCTTCAGTGACAGAACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGGAAGGAAG
GGCTACAGCACAAGCGATGGCAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGTTTCACCAGGCGGCCAAGGATATAG
CAGAAATTAATGCCATGTGGCCCGTTGCAACGGAGGCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCGGAGAAAGCAT
GAGCAGTATTAGGTGCAAAATGCCCCGTGCAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGCTGCCTTGCTTGTC
ATCCATGCCATGACTCCAGAAAGAGTACAGCGCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAAATTACTGTGTGCTCATCCT
TTCCATTGCCGAAGTATAGAATCACTGGTGTGCAGAAGATCCAATGCTCCCAGCCTATATTGTTCTCACCGAAAGT
GCCTGCGTATATTCATCCAAGGAAGTATCTCGTGAAACACCACCGGTAGACGAGACTCCGGAGCCATCGGCAGAG
AACCAATCCACAGAGGGGACACCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGATGAGACCAGGACTAGAACGCCTGAGC
CGATCATCATCGAAGAGGAAGAAGAGGATAGCATAAGTTTGTGTGAGATGGCCCGACCCACCAGGTGCTGCAAGT
CGAGGCAGACATTCACGGGCGGCCCTCTGTATCTAGCTCATCCTGGTCCATTCCCTCATGCATCCGACTTTGATGTG
GACAGTTTATCCATACTTGACACCCTGGAGGGAGCTAGCGTGACCAGCGGGGCAACGTCAGCCGAGACTAACTCTT
ACTTCGCAAAGAGTATGGAGTTTCTGGCGCGACCGGTGCCTGCGCCTCGAACAGTATTCAGGAACCCTCCACATCC
CGCTCCGCGCACAAGAACACCGTCACTTGCACCCAGCAGGGCCTGCTCGAGAACCAGCCTAGTTTCCACCCCGCCA
GGCGTGAATAGGGTGATCACTAGAGAGGAGCTCGAGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTGCGTCTCGA
GAACCAGCCTGGTCTCCAACCCGCCAGGCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTCGTAGCACA
ACAACAATGACGGTTTGATGCGGGTGATACATCTTTTCTCCGACACCGGTCAAGGGCATTTACAACAAAAATCA
GTAAGGCAAACGGTGCTATCCGAAGTGGTGTGGAGAGGACCGAATTGGAGATTTGATATGCCCCGCGCCTCGACC
AAGAAAAAGAAGAATTACTACGCAAGAAATTACAGTTAAATCCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAG
GAAGGTGGAGAACATGAAAGCCATAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCAGAAGGA
AAAGTGGAGTGCTACCGAACCTGCATCCTGTTTCTTTGTATTATCTAGTGTAACCGTGCCTTTTCAAGCCCCA
AGGTGCGAGTGGAAGCCTGTAACGCCATGTTGAAAGAGAACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATTCCAGA
GTACGATGCCTATTTGGACATGGTTGACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGCCCTGCAAAGCTG
CGCAGCTTTCCAAAGAAACACTCCTATTTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCCTTCAGCGATCCAGAACACGC
TCCAGAACGTCTTGGCAGCTGCCACAAAAAGAAATTGCAATGTACGCAAAATGAGAGAATTGCCCGTATTGGATTCT
GGCGGCCTTTAATGTGGAATGCTTCAAGAAATATGCGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAACCCC

ATCAGGCTTACTGAAGAAAACGTGGTAAATTACATTACCAAATTAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTTTGCGA
AGACACATAATTTGAATATGTTGCAGGACATACCAATGGACAGGTTTGTAAATGGACTTAAAGAGAGACGTGAAAGT
GACTCCAGGAACAAAACATACTGAAGAACGGCCCAAGGTACAGGTGATCCAGGCTGCCGATCCGCTAGCAACAGCG
TATCTGTGCGGAATCCACCGAGAGCTGGTTAGGAGATTAAATGCGGTCTGCTTCCGAACATTCATACACTGTTTG
ATATGTGCGCTGAAGACTTTGACGCTATTATAGCCGAGCACTTCCAGCCTGGGGATTGTGTTCTGGAACTGACAT
CGCGTCGTTTGATAAAAGTGAGGACGACGCCATGGCTCTGACCGCGTTAATGATTCTGGAAGACTTAGGTGTGGAC
GCAGAGCTGTTGACGCTGATTGAGGCGGCTTTTCGCGGAAATTTTCATCAATACATTTGCCCACTAAACTAAATTTA
AATTCGGAGCCATGATGAAATCTGGAATGTTCCCTCACACTGTTTGTGAACACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAG
CAGAGTGTTGAGAGAACGGCTAACCGGATCACCATGTGCAGCATTTCATTGGAGATGACAATATCGTGAAAGGAGTC
AAATCGGACAAATTAATGGCAGACAGGTGCGCCACCTGGTTGAATATGGAAGTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGG
GCGAGAAAGCGCCTTATTTCTGTGGAGGGTTTATTTTGTGTGACTCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGA
CCCCCTAAAAAGGCTGTTTAAGCTTGGCAAACCTCTGGCAGCAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCA
TTGCATGAAGAGTCAACACGCTGGAACCGAGTGGGTATTCTTTCAGAGCTGTGCAAGGCAGTAGAATCAAGGTATG
AAACCGTAGGAACCTCCATCATAGTTATGGCCATGACTACTCTAGCTAGCAGTGTTAAATCATTACAGCTACCTGAG
AGGGGCCCCCTATACTCTCTACGGCTAACCTGAATGGACTACGACATAGTCTAGTCCGCCAAGTCTAGCATATGGC
CACC[SEQ ID No:162] ---GOI---

[0831] CGGAGACGGCGCAGAAGAAGAGGATCTGGCGAAGGCAGAGGCAGCCTGCTTACATGTGGCGACGTGGAA
GAGAACCCCGGACCTATGGCCCGCGCTGCTCTCTCCGCCGCCCCAGCAATCCCGGCTCCTGCGAGTGGCACTGCT
GCTCCTGCTCCTGGTAGCCGCTGGCCGGCGCGCAGCAGGAGCGTCCGTGGCCACTGAACTGCGCTGCCAGTGCTTGC
AGACCCTGCAGGGAATTCACCCCAAGAACATCCAAAGTGTGAACGTGAAGTCCCGCGACCCCACTGCGCCCAAACC
GAAGTCATAGCCACACTCAAGAATGGGCGGAAAGCTTGCCTCAATCCTGCATCCCCCATAGTTAAGAAAATCATCGA
AAAGATGCTGAACAGTGACAAATCCAAGTGAAGCGCCGCAATTGGCAAGCTGCTTACATAGAAGTTCGCGGCGATTG
GCATGCCGCCTTAAAAATTTTATTTTATTTTCTTTTCTTTTCCGAATCGGATTTTGTTTTTAATATTTCAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACGCGTCGAGGGGAATTAATCTTGAAGACGAAAGGGCCAGGTGGCACTT
TTGGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAA
TAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCCCTTATTCC
CTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCTGTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGT
TTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACT
CGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCA
TGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATC
GGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGA
GCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTAT
TAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCA
CTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTAT
CATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGG
ATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCA
TATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTAAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCAT
GACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAG

ATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGGAT
CAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGG
CTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCG
GGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA
GCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAG
AGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAG
CGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGAGCTC

[0832] [SEQ ID No:183]

[0833] 因此,优选地,所述载体包含基本上如上文所述的核苷酸序列,包括或由SEQ ID No:162、GOI、和SEQ ID No:183或其变体或片段组成。

[0834] 可使用DNA质粒作为模板制作本发明的saRNA构建体。然后可通过使用聚合酶(如T7聚合酶)进行体外转录制作RNA拷贝,T7启动子可在saRNA的上游。因此,可以使用包括基本如上所示的包含SEQ ID No:161或162的任意一个所示的核酸序列或其变体或片段作为模板,例如,基本上如上所示的序列,包含或由SEQ ID No:161、GOI、和SEQ ID No:182或其变体或片段组成,或者,基本上如上所示的序列,包含或由SEQ ID No:161、GOI、和SEQ ID No:183或其变体或片段作为模板的DNA质粒来制作本发明的saRNA构建体。当然,可以理解的是,可以用其他RNA聚合酶,例如SP6或T3聚合酶来代替T7聚合酶,在这种情况下,saRNA构建体可以代替地包含SP6或T3启动子。

[0835] 编码所述RNA构建体的第七方面的载体例如可以是质粒、粘粒或噬菌体和/或病毒载体这样的重组载体在本发明的递送系统中是非常有用的,用于用核苷酸序列转化细胞。核苷酸序列优选是DNA序列,正是该DNA序列编码形成本发明的RNA构建体的RNA序列。

[0836] 编码所述RNA构建体的重组载体也可以包含其它功能元件。例如,它们可以进一步包含各种其它功能元件,包括用于在宿主细胞中引入载体后启动转基因表达的合适启动子。例如,载体优选能够在宿主细胞(如细菌细胞)的细胞核中自主复制。在这种情况下,重组载体中可能需要诱导或调节DNA复制的元件。或者,重组载体可被设计成使得其整合到宿主细胞的基因组中。在这种情况下,设想有利于定向整合(如通过同源重组)的DNA序列。合适的启动子可包括SV40启动子、CMV、EF1a、PGK、病毒长末端重复以及可诱导启动子,如四环素可诱导系统等。表达盒或载体还可包括终止子,如 β 球蛋白、SV40聚腺苷酸序列或合成聚腺苷酸序列。重组载体还可包括启动子或调节子或增强子,以根据需要控制核酸的表达。

[0837] 载体还可以包含编码在克隆过程中可用作可选择标记的基因的DNA,即,以实现已经转染或转化的细胞的选择,并实现含有整合了异源DNA的载体的细胞的选择。例如,设想氨苄青霉素、新霉素、嘌呤霉素或氯霉素抗性。另外,可选择的标记基因可以在与含有转基因的载体同时使用的不同的载体中。表达盒或载体还可以包含参与调节核苷酸序列表达或用于将表达的多肽靶向到宿主细胞的某个部分的DNA。

[0838] 可以通过适当的方式,例如直接内吞摄取将纯化的载体直接插入宿主细胞。可以通过转染、感染、电穿孔、显微注射、细胞融合、原生质体融合或弹道轰击(ballistic bombardment)将载体直接引入宿主细胞(如真核生物细胞或原核生物细胞)。另外,可以用粒子枪将本发明的载体直接引入宿主细胞。

[0839] 核酸分子可以(但不一定)是被整合到宿主细胞的DNA中的一种核酸分子。可以稳定地转化未分化的细胞,从而导致产生基因修饰的子细胞(在这种情况下,可能需要如用特定的转录因子或基因激活剂来调节受试者中的表达)。另外,可以将递送系统设计成有利于分化细胞的不稳定或瞬时转化。在这种情况下,调节表达可能不那么重要,因为当转化的细胞死亡或停止表达蛋白质时,DNA分子的表达将停止。

[0840] 可选地,在不将核酸分子引入到载体中的情况下,递送系统可以向宿主细胞提供核酸分子。例如,核酸分子可以被引入到脂质体或病毒颗粒中。可选地,“裸”核酸分子可以通过合适的手段(例如直接内吞摄取)插入宿主细胞。

[0841] 在第八方面,提供了一种药物组合物,其包括第一至第四方面任一项的RNA构建体、第五方面的核酸序列、第六方面的表达盒或第七方面的载体,以及药学上可接受的赋形剂。

[0842] 在第九方面,提供了一种用于制造根据第八方面的药物组合物的方法,该方法包括使第一至第四方面任一项的RNA构建体、第五方面的核酸序列、第六方面的表达盒或第七方面的载体与药学上可接受的赋形剂接触。

[0843] 在第十方面,提供了一种制备第一至第四方面的任一项的RNA构建体的方法,该方法包括:

[0844] a) i) 将第七方面的载体引入宿主细胞中;以及

[0845] ii) 在导致产生RNA构建体的条件下培养宿主细胞;或者

[0846] b) 转录来自根据第七方面的载体的RNA构建体。

[0847] 步骤a)的宿主细胞可以是真核生物或原核生物宿主细胞。优选地,宿主细胞是真核生物宿主细胞。更优选地,宿主细胞是哺乳动物宿主细胞,如人胚肾293细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。步骤(b)可以在体外或体内进行,优选在体外进行。

[0848] 合适的体外转录方法是本领域熟知的,本领域的技术人员也是知道的。例如,如《分子克隆,实验室手册》第二版(1989)C Nolan编辑,冷泉港实验室出版社中所述的。

[0849] 本发明的RNA构建体特别适合用于治疗。

[0850] 虽然本发明人设想将通过体外转录产生在体内用于治疗的所述RNA构建体,但本领域技术人员将认识到,通过根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、或根据第七方面的载体的体内递送,也可以在受试者中产生用于治疗的RNA构建体。

[0851] 因此,根据第七方面,提供了根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物,其用作药物或用于治疗中。

[0852] 在本发明的第十二方面,提供了根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物,其用于预防、改善或治疗原生生物、真菌、细菌或病毒感染中。

[0853] 原生动物、真菌、细菌或病毒感染可能是如上述定义的原生动物、真菌、细菌或病毒的感染。

[0854] 在本发明的第十三方面,提供了根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物,其用于预防、改善或治疗癌症。

[0855] 癌症可以如上述所定义。

[0856] 在本发明的第十四方面,提供了一种治疗原生动物、真菌、细菌或病毒感染的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物。

[0857] 待治疗的原生动物、真菌、细菌或病毒感染可以是如上述定义的原生动物、真菌、细菌或病毒的感染。

[0858] 在本发明的第十五方面,提供了一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物。

[0859] 待治疗的癌症可以如上述所定义。

[0860] 本文所述的RNA构建体提供了使受试者接种疫苗(如,以抗病毒、细菌或真菌感染)和癌症的有效方法。

[0861] 因此,在本发明的第十六方面,提供了一种疫苗,其包含根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物。

[0862] 优选地,所述疫苗包含合适的佐剂,其是额外的分子佐剂(即ISP)。

[0863] 可将额外的佐剂掺入递送制剂中。掺入递送制剂的佐剂可选自由以下组成的组:细菌脂肽、脂蛋白和脂磷壁酸;分枝杆菌脂聚糖、酵母聚糖、孔蛋白、脂多糖、脂质A、单磷酸脂质A(MPL)、鞭毛蛋白、CpG DNA、疟原虫色素、番茄素、ISCOM、ISCOMATRIX™、角鲨烯基乳液、诸如PEI的聚合物、卡波姆、脂质纳米颗粒和细菌毒素(CT、LT)的聚合物。

[0864] 在本发明的第十七方面,提供了根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物,其用于在受试者中刺激免疫应答。

[0865] 根据本文的所述的抗原,可以刺激针对原生动物、细菌、病毒、真菌或癌症的免疫应答。

[0866] 根据第十八方面,提供了根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物,其用于干细胞疗法中。

[0867] 干细胞疗法可涉及将体细胞重新编程为具有干细胞特性的细胞。

[0868] 通过递送能够增强体细胞向具有如上定义的干细胞特性的重编程的一种或多种蛋白来重编程体细胞。

[0869] 根据第十九方面,提供了一种在离体或体外修饰细胞的方法,所述方法包括将根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物递送至细胞。

[0870] 优选地,该方法离体进行。

[0871] 细胞可以是真核生物细胞或原核生物细胞。优选地,细胞是真核生物细胞。更优选地,细胞是哺乳动物宿主细胞。最优选地,细胞是人细胞。

[0872] 优选地,经修饰的细胞适用于细胞疗法适应症。

[0873] 在第二十方面,提供了从第十九方面的方法获得的或可通过该方法获得的经修饰的细胞。

[0874] 在第二十一方面,提供了第二十方面的经修饰的细胞,其用于治疗,可选地细胞疗法中。

[0875] 可以理解的是,根据第一至第四方面任一项的RNA构建体、根据第五方面的核酸序列、根据第六方面的表达盒、根据第七方面的载体或根据第八方面的药物组合物(本文称为活性剂)可用于药物中,该药物可作为单一疗法(即使用活性剂)用于治疗、改善或预防疾病或疫苗接种。另外,根据本发明的活性剂可以作为治疗、改善或预防疾病的已知疗法的辅助手段,或与之组合使用。

[0876] 取决于特别是组合物的使用方式,可以将本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物组合在具有许多不同形式的组合物中。因此,例如,所述组合物可以是粉末、片剂、胶囊、液体、软膏、乳膏、凝胶、水凝胶、气溶胶、喷雾、胶束溶液、透皮贴剂、脂质体悬浮液、复合物(polyplex)、乳剂、脂质纳米颗粒(表面上具有RNA或具有封装的RNA)的形式或可以向需要治疗或接种疫苗的人或动物施用的任何其它合适的形式。将理解的是,根据本发明的药物的赋形剂应该是被给予该药物赋形剂的受试者能够很好地耐受的赋形剂。

[0877] 本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物也可被掺入到缓释或延迟释放装置中。这种装置,例如可以插在皮肤上或皮肤下,可以在几周甚至几个月内释放药物。该装置可至少位于治疗部位的附近。当需要用基因构建体或重组载体进行长期治疗并且通常需要频繁施用(例如至少每天注射)时,这种装置可能是特别有利的。

[0878] 然而,在优选的实施方式中,可以通过注射到血液、肌肉、皮肤或直接注射到需要治疗的部位来将根据本发明的药物施用至受试者。最优选地,药物,包括RNA构建体,被注射到肌肉中。注射可以是静脉注射(团注或输注)或皮下注射(团注或输注)或皮内注射(团注或输注)或肌肉注射(团注或输注)。

[0879] 可以理解的是,所需的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物的量由其生物活性和生物利用度确定的,而生物利用度又取决于施用方式,RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物的理化性质以及是否作为单一疗法或在联合疗法中使用。施用的频率也将受活性剂在被治疗受试者体内的半衰期的影响。可施用的最佳剂量由本领域技术人员确定,并将随使用的特定RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物;药物组合物的强度;施用方式;以及病毒感染的类型和进展情况而变化。取决于被治疗的特定受试者的其它因素将导致需要调整剂量,所述其它因素包括受试者年龄、体重、性别、饮食和施用时间。

[0880] 一般来说,根据所用的活性剂,可以将日剂量为0.001 μ g/kg体重至10mg/kg体重或0.01 μ g/kg体重至1mg/kg体重的本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物用于治疗、改善或预防疾病。

[0881] 可以以单次施用的方式(例如,每天单次注射或吸入鼻腔喷雾)给予日剂量。另外, RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物可能需要在一天内施用两次或更多次。作为实例,可以以两个(或更多,取决于被治疗疾病的严重程度)0.07 μ g至700mg的日剂量(即假设体重为70kg)施用RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物。接受治疗的患者可以在醒来时服用第一剂量,然后在晚上或其后间隔3或4个小时服用第二剂量(如果采用

两剂量方案) 另外, 可以使用缓释装置以向患者提供最佳剂量的根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物, 而不需要施用重复剂量。

[0882] 然而, 优选地, 可以以每周一次的剂量, 更优选的两周一次的剂量给予根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物。

[0883] 可以将已知规程, 如制药业常规采用的那些规程 (如体内实验、临床试验等), 用于形成根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒或载体的特定制剂和精准治疗方案 (如药剂的日剂量和施用频率)。

[0884] “受试者”可以是脊椎动物、哺乳动物或家畜。因此, 根据本发明的组合物和药物可用于治疗任何哺乳动物, 例如牲畜 (如马)、宠物, 或可以用于其他兽医应用。然而, 最优选地, 受试者是人。

[0885] RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物的“治疗有效量”是指, 当对受试者施用时, 改善、预防或治疗任何给定疾病所需的前述量的任何量。

[0886] 例如, 可以使用的本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物可以为约0.0001mg至约800mg, 优选地为约0.001mg至约500mg。优选地, 复制子、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物的量为约0.01mg至约250mg的量, 最优选地为约0.01mg至约1mg的量。优选地, 以1-200 μ g的剂量施用根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物。

[0887] 本文所指的“药学上可接受的赋形剂”是本领域技术人员已知的在配制药物组合物中有用的任何已知化合物或已知化合物的组合。

[0888] 在一个实施方式中, 药学上可接受的赋形剂可以是固体, 组合物可以是粉末或片剂的形式。固体药学上可接受的赋形剂可包括也可作为调味剂、润滑剂、增溶剂、悬浮剂、染料、填料、助流剂、压缩助剂、惰性粘合剂、甜味剂、防腐剂、染料、包衣或片剂崩解剂的一种或多种物质。赋形剂也可以是封装材料。在粉末中, 赋形剂是细碎的固体, 其与根据本发明的细碎的活性剂混合在一起。在片剂中, 活性剂 (例如根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物) 可与具有必要的压缩性能的赋形剂按适当比例混合并被压制成所需的形状和大小。粉末和片剂优选含有高达99%的活性剂。合适的固体赋形剂包括, 例如磷酸钙、硬脂酸镁、滑石、糖、乳糖、糊精、淀粉、明胶、纤维素、聚乙烯吡咯烷、低熔点蜡和离子交换树脂。在另一实施方式中, 药物赋形剂可以是凝胶, 组合物可以是乳膏等的形式。

[0889] 然而, 药物赋形剂可以是液体, 药物组合物则是溶液的形式。液体赋形剂用于制备溶液、悬浮液、乳剂、糖浆、酏剂和压缩组合物。根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物可以溶解或悬浮于药学上可接受的液体赋形剂中, 所述液体赋形剂比如水、有机溶剂、两者的混合物或药学上可接受的油或脂肪中。液体赋形剂可以包含其他合适的药物添加剂, 比如增溶剂、乳化剂、缓冲剂、防腐剂、甜味剂、调味剂、悬浮剂、增稠剂、着色剂、粘度调节剂、稳定剂或渗透压调节剂。用于口服和胃肠外施用的液体赋形剂的合适实例包括水 (部分含有上述添加剂, 如纤维素衍生物, 优选羧甲基纤维素钠溶液)、醇 (包括一元醇和多元醇, 如乙二醇) 及其衍生物以及油 (如分馏椰子油和花生油)。对于胃肠外施用, 赋形剂也可以是油性酯, 如油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯。在胃肠外施用的无菌液体形式组合物中无菌液体赋形剂是有用的。压缩组合物的液体赋形剂可以是卤代烃或其他药学上可接受的喷射剂(propellant)。

[0890] 液体药物组合物(为无菌溶液或悬浮液)可以通过例如皮下注射、皮内注射、鞘内注射、硬膜外注射、腹膜内注射、静脉注射,特别是肌肉注射而被利用。本发明的核酸序列或表达盒可以制备成无菌固体组合物,该无菌固体组合物在施用时可以使用无菌水、生理盐水或其他适当的无菌注射介质溶解或悬浮。

[0891] 可以以含有其他溶质或悬浮剂(例如,足够的盐水或葡萄糖以使溶液等渗)、胆汁盐、阿拉伯树胶、明胶、山梨醇单油酸酯、聚山梨醇酯80(山梨醇及其酸酐与环氧乙烷共聚的油酸酯)等的无菌溶液或悬浮液的形式口服地施用本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物。也可以以液体或固体组合物形式口服地施用根据本发明的RNA构建体、核酸序列、表达盒、载体或药物组合物。适合口服施用的组合物包括固体形式和液体形式,所述固体形式比如丸剂、胶囊、颗粒、片剂和粉剂,以及所述液体形式比如溶液、糖浆、酏剂和悬浮液。用于胃肠外施用的形式包括无菌溶液、乳剂和悬浮液。

[0892] 可以理解的是,本发明延伸到任何核酸或肽或其变体、其衍生物或其类似物,它们基本上包含本文提及的任何序列的氨基酸或核酸序列,包括其变体或片段。术语“基本上氨基酸/核苷酸/肽序列”、“变体”和“片段”可以是与本文提到的任一序列的氨基酸/核苷酸/肽序列具有至少40%的序列同一性,例如与SEQ ID Nos:1-162等所示的序列有40%同一性。

[0893] 还设想了与本文提及的任何序列具有序列同一性的氨基酸/多核苷酸/多肽序列,所述序列同一性大于65%,更优选大于70%,甚至更优选大于75%,再更优选大于80%序列同一性。优选地,氨基酸/多核苷酸/多肽序列与本文提及的任何序列具有至少85%同一性,更优选至少90%同一性,甚至更优选至少92%同一性,甚至更优选至少95%同一性,甚至更优选至少97%同一性,甚至更优选至少98%同一性,和最优选与本文提及的任何序列具有至少99%同一性。

[0894] 本领域技术人员将理解如何计算两条氨基酸/多核苷酸/多肽序列之间的百分比同一性。为了计算两条氨基酸/多核苷酸/多肽序列之间的百分比同一性,必须首先准备两条序列的比对,然后计算序列同一性值。两条序列的百分比同一性可以有不同的值,这取决于:(i)用于比对序列的方法,例如ClustalW、BLAST、FASTA、Smith-Waterman(在不同的程序中实现),或来自3D比较的结构比对;(ii)比对方法使用的参数,例如局部与全局比对,使用的配对-得分矩阵(例如BLOSUM62、PAM250、Gonnet等)和空位罚分,例如函数形式和常数。

[0895] 在进行比对之后,有许多不同的方法计算两个序列之间的百分比同一性。例如,我们可以将一致性的数量除以:(i)最短序列的长度;(ii)比对的长度;(iii)序列的平均长度;(iv)非空位位置的数量;或(v)不包括突出粘性末端(overhang)的等价位置的数量。此外,可以理解的是,百分比同一性也是高度依赖于长度的。因此,一对序列越短,可以预期偶然出现的序列同一性就越高。

[0896] 因此,可以理解的是,蛋白质或DNA序列的精确比对是复杂的过程。流行的多重比对程序ClustalW(Thompson等人,1994,Nucleic Acids Research,22,4673-4680;Thompson等人,1997,Nucleic Acids Research,24,4876-4882)是根据本发明产生蛋白质或DNA的多重比对的优选方式。ClustalW的合适参数可以如下所示:对于DNA比对,空位开放罚分=15.0,空位延伸罚分=6.66和矩阵=Identity。对于蛋白质比对:空位开放罚分=10.0,空位延伸罚分=0.2和矩阵=Gonnet。对于DNA和蛋白质比对:ENDGAP=-1和GAPDIST=4。本领域

域的技术人员将意识到,可能有必要改变这些和其他参数以达到最佳序列比对。

[0897] 优选地,两个氨基酸/多核苷酸/多肽序列之间的百分比一致性的计算可以根据 $(N/T)*100$ 这样的比对进行计算,其中N是序列共享相同残基的位置数量,T是包括空位以及包括或不包括突出粘性末端的比较位置的总数。优选地,计算中包括突出粘性末端。因此,计算两个序列之间的百分比同一性的最优选方法包括:(i)使用ClustalW程序使用合适的参数设置(例如如上所述的)准备序列比对;以及

[0898] (ii)将N和T的值代入以下公式:序列同一性 $= (N/T)*100$ 。

[0899] 对于本领域的技术人员来说识别相似序列的其他方法是已知的。例如,基本相似的核苷酸序列将由在严格条件下与DNA序列或其互补物杂交的序列编码。本发明人所说的严格条件是指在约45°C在 $3\times$ 氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中核苷酸与滤膜结合的DNA或RNA杂交,然后在约20-65°C下在 $0.2\times$ SSC/0.1%SDS中洗涤至少一次。另外,基本相似的多肽可以与序列,例如,SEQ IS No:1至162所示的有至少1个,但少于5、10、20、50或100个氨基酸不同。

[0900] 由于遗传密码的简并性,很明显,在不对由此编码的蛋白质的序列产生实质性影响的情况下,可以改变或变化本文所述的任何核酸序列,以提供其功能性变体。合适的核苷酸变体是具有通过替换对序列内相同氨基酸进行编码的不同密码子而改变,从而产生沉默(同义)变化的那些序列。其他合适的变体是具有同源核苷酸序列但包含通过替换对与其所替换的氨基酸相似的生物物理性质的侧链的氨基酸进行编码的不同密码子以产生保守性变化而改变的序列的全部或部分序列的那些。例如,小的非极性、疏水性氨基酸包括甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸和蛋氨酸。大的非极性疏水氨基酸包括苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸。极性中性氨基酸包括丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。带正电荷(碱性)的氨基酸包括赖氨酸、精氨酸和组氨酸。带负电荷的(酸性)氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸。因此,可以理解可以用具有类似生物物理性质的氨基酸替换哪些氨基酸,本领域技术人员知道编码这些氨基酸的核苷酸序列。

[0901] 本文(包括任何所附的权利要求、摘要和附图)描述的所有特征和/或如此公开的任何方法或过程的所有步骤,可与上述任何方面进行任何组合,但其中至少一些此类特征和/或步骤相互排斥的组合除外。

附图说明

[0902] 为了更好地理解本发明,并显示如何实施本发明的实施方式,现借助实施例提及所附的附图,其中:

[0903] 图1示出了本发明的RNA构建体(如左边的saRNA复制子或mRNA构建体)的各种实施方式(表示为1-7)的示意图。saRNA复制子(1-4)基于甲病毒骨架。这种所谓的“Stealthicon”载体包括5' UTR,然后是编码来自甲病毒(比如VEEV)的非结构蛋白(NSP1-4)的核酸、亚基因组启动子(SGP)、GOI(目的基因)(比如病毒、细菌、真菌或哺乳动物蛋白或抗原)、免疫刺激蛋白(ISP)、3' UTR和3' 聚A尾。mRNA构建体(表示为5-7)包括5' UTR、GOI(目的基因)(比如病毒、细菌、真菌或哺乳动物蛋白或抗原)、免疫刺激蛋白(ISP)、3' UTR和3' 聚A尾。如在不同实施方式中所示,对于saRNA和mRNA而言,ISP和GOI的顺序可以是不同的;

[0904] 图2示出了本发明的RNA构建体(如左边的saRNA复制子或mRNA构建体)的各种替代

实施方式(表示为1-7)的示意图。左侧的saRNA复制子基于甲病毒骨架。这种所谓的“Stealthicon”载体包括5' UTR,然后是编码来自甲病毒(比如VEEV)的非结构蛋白(NSP1-4)的核酸、亚基因组启动子(SGP)、GOI(目的基因)(比如病毒、细菌、真菌或哺乳动物蛋白或抗原)、衍生自病毒或衍生自人的免疫调节或抑制蛋白(IMP),免疫刺激蛋白(ISP)、3' UTR和3' 聚A尾。GOI、IMP或IIP、和ISP由接头分隔开。mRNA构建体包括5' UTR、GOI(目的基因)(比如病毒、细菌、真菌或哺乳动物蛋白或抗原)、衍生自病毒或衍生自人的免疫调节或抑制蛋白(IMP)、免疫刺激蛋白(ISP)、3' UTR和3' 聚A尾。GOI、IMP和ISP由接头(F-T2a和IRES)分隔开,并且IMP、ISP和GOI的顺序可以针对saRNA和mRNA两者而变化,如在不同的所示实施方式中所示;

[0905] 图3显示了信使RNA(mRNA)疫苗接种(首次初免注射,随后强化注射)的受试者中的免疫应答;

[0906] 图4显示了用标准自扩增(saRNA)疫苗接种(首次初免注射,随后强化注射)的受试者中的免疫应答;

[0907] 图5显示了用本发明的RNA构建体的一个实施方式(例如如图1或2所示的Stealthicon载体)疫苗接种(首次初免注射,随后强化注射)的受试者中的免疫应答;

[0908] 图6显示了用本发明的RNA构建体的一个实施方式(例如如图1或2所示的Stealthicon载体)疫苗接种(首次初免注射,随后强化注射)的受试者中的抗原表达水平;

[0909] 图7显示了GoI表达的体外增强。使用脂质体将saRNA复制子构建体转染到Hela细胞中,并表达目的基因(GoI),在该特定情况下,采用COVID刺突抗原作为模型表达抗原。体外表达显示为对照saRNA复制子(saRNA COVID-GFP)的倍数增强。将saRNA GOI-ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)复制子与saRNA-GOI-ISP-IIP(其中IIP是IRF1、E3L或PR34)复制子一起绘图。图7A示出了GOI+ISP+用作IIP的IRF1。图7B示出了GOI+ISP+用作IIP的E3L。图7C示出了GOI+ISP+用作IIP的PR34。可以看出,单独存在ISP时COVID表达增强,并且ISP和IIP组合时则存在显著增强。

[0910] 图8A和8B显示了炎性/刺激性趋化因子/细胞因子的体内增强。为小鼠组(n=5)接种各种脂质纳米颗粒(LNP)配制的saRNA复制子,其表达GoI+单独的IIP、GoI+单独的ISP、或GoI+ISP+IIP的组合,并在注射后24小时采集小鼠血清。通过Luminex测量,表达的抗原(用作模型抗原的COVID刺突蛋白)和/或COVID+ISP增强了各种细胞因子/趋化因子的循环表达水平;以及

[0911] 图9显示了GoI特异性抗体免疫应答的体内增强。为小鼠组(n=5)接种各种LNP配制的saRNA复制子,其表达GoI+单独的IIP、GoI+单独的ISP、或GoI+ISP+IIP的组合,并在免疫后第42天测试小鼠血清中的抗原特异性抗体。这些动物在第0天接种了初免疫苗,在第28接种了1 μ g LNP配制的saRNA复制子强化疫苗。将含有ISP+IIP的saRNA复制子与仅接受ISP的那些动物中的免疫应答进行比较,清楚地证明IIP对GoI和/或ISP功能的表达的活性提供了对抗体免疫的增强。当与相应的单独的ISP比较时,图表显示为抗体水平的倍数变化。

具体实施方式

[0912] 实施例

[0913] 本发明人假设,来自人和其他哺乳动物的RNA编码的免疫刺激蛋白(ISP)改善RNA

疫苗的佐剂活性。因此,本发明人设计并测试了一系列含有免疫原或目的基因(GOI)和ISP的RNA构建体(saRNA和mRNA),然后表征了这些构建体是否增强了表达和/或改善了免疫原性。他们还制备了另一组构建体,其除了GOI和ISP之外,还含有已知降低宿主细胞中的saRNA或mRNA的先天感知的先天抑制或调节蛋白(IIP或IMP)。发明人随后测试是否在这些构建体中增强了GOI蛋白表达,以及是否进一步改善了RNA疫苗的免疫原性。

[0914] 材料和方法

[0915] 分子佐剂复制子的克隆

[0916] 如先前所述(1),将编码免疫刺激蛋白(ISP)、目的基因(GOI)和/或IIP的自扩增RNA和来源于委内瑞拉马脑炎的复制酶克隆到质粒载体中。将先天免疫调节蛋白库克隆到作为具有T2A酶切位点(Gen Bank登录号AAC97195.1)的目的基因(GOI)的一部分的载体骨架中,作为使用内部核糖体进入位点(IRES)或使用双亚基因组启动子分隔开的第二表达盒。

[0917] (1) A.K.Blakney, P.F.McKay, R.J.Shattock, Structural Components for Amplification of Positive and Negative Strand VEEV Splitzicons. Frontiers in Molecular Biosciences 5, 71 (2018).

[0918] 分子佐剂mRNA的克隆

[0919] 使用限制性内切酶将ISP、IMP或IIP插入到碱基质粒中,然后进行Gibson组装。将先天免疫调节蛋白库被克隆到作为具有T2A酶切位点(Gen Bank登录号AAC97195.1)的目的基因(GOI)的一部分的载体骨架中,作为盒使用内部核糖体进入位点(IRES)或使用双亚基因组启动子分隔开的第二表达。

[0920] 利用以下数据库标识符/登录号可以找到引入的先天免疫调节蛋白: CXCL1 (NCBI参考序列: NM_001511.4; UniProtKB-P09341 (GROA_HUMAN)); CXCL8 (IL8) (NCBI参考序列: NM_000584.4; UniProtKB-P10145 (IL8_HUMAN)); CXCL10 (NCBI参考序列: NM_001565.4; UniProtKB-P02778 (CXCL10_HUMAN)); CXCL11 (NCBI参考序列: NM_005409.5; UniProtKB-O14625 (CXCL11_HUMAN)); CXCL12 (NCBI参考序列: NM_000609.7; UniProtKB-P48061 (SDF1_HUMAN)); CCL1 (NCBI参考序列: NM_002981.2; UniProtKB-P22362 (CCL1_HUMAN)); CCL20 (NCBI参考序列: NM_004591.3; UniProtKB-P78556 (CCL20_HUMAN)); CCL21 (NCBI参考序列: NM_002989.4; UniProtKB-O00585 (CCL21_HUMAN)); CX3CL1或Fractalkine (NCBI参考序列: NM_002996.6; UniProtKB-P78423 (X3CL1_HUMAN)); CX3CL1或Fractalkine-分泌型 (NCBI参考序列: NM_002996.6; UniProtKB-P78423 (X3CL1_HUMAN)); XCL1 (NCBI参考序列: NM_002995.3; UniProtKB-P47992 (XCL1_HUMAN)); XCL2 (NCBI参考序列: NM_003175.4; UniProtKB-Q9UBD3 (XCL2_HUMAN)); IL-1b (NCBI参考序列: NM_000576.3; UniProtKB-P01584 (IL1B_HUMAN)); IL-1b-具有增强的分泌信号 (NCBI参考序列: NM_000576.3; UniProtKB-P01584 (IL1B_HUMAN)); IL-2 (NCBI参考序列: NM_000586.4; UniProtKB-P60568 (IL2_HUMAN)); IL-18 (37-93) (NCBI参考序列: NM_001562.4; UniProtKB-Q14116 (IL18_HUMAN)); IL-18 (37-93)-具有增强的信号序列 (NCBI参考序列: NM_001562.4; UniProtKB-Q14116 (IL18_HUMAN)); IL-19 (NCBI参考序列: NM_013371.4; UniProtKB-Q9UHD0 (IL19_HUMAN)); IL-20 (NCBI参考序列: NM_018724.4; UniProtKB-Q9NYY1 (IL20_HUMAN)); IL21 (NCBI参考序列: NM_021803.4; UniProtKB-Q9HBE4 (IL21_HUMAN)); IL-22 (NCBI参考序列: NM_020525.5;

UniProtKB-Q9GZX6(IL22_HUMAN)); IL-33(NCBI参考序列:NM_033439.4;UniProtKB-095760(IL33_HUMAN)); IL-36alpha具有信号序列(NCBI参考序列:NM_014440.3;UniProtKB-Q9UHA7(IL36A_HUMAN)); 肿瘤坏死因子-膜型(NCBI参考序列:NM_000594.4;UniProtKB-P01375(TNFA_HUMAN)); 肿瘤坏死因子-可溶型(NCBI参考序列:NM_000594.4;UniProtKB-P01375(TNFA_HUMAN)); 人BAFF-膜型(NCBI参考序列:NM_006573.5;UniProtKB-Q9Y275(TN13B_HUMAN)); 人BAFF-可溶型(NCBI参考序列:NM_006573.5;UniProtKB-Q9Y275(TN13B_HUMAN)); 人CD30配体(NCBI参考序列:NM_001244.4;UniProtKB-P32971(TNFL8_HUMAN)); 人CD40配体(NCBI参考序列:NM_000074.3;UniProtKB-P29965(CD40L_HUMAN)); 人CD27配体(NCBI参考序列:NM_001252.5;UniProtKB-P32970(CD70_HUMAN)); 人TNF beta(NCBI参考序列:NM_000595.4;UniProtKB-P01374(TNFB_HUMAN)); 人TNF alpha(NCBI参考序列:NM_000594.4;UniProtKB-P01375(TNFA_HUMAN)); TNFSF10(NCBI参考序列:NM_003810.4;UniProtKB-P50591(TNF10_人)); 转化生长因子 α (TGF α)-膜结合(NCBI参考序列:NM_003236.4;UniProtKB-P01135(TGFA_HUMAN)); 转化生长因子 α (TGF α)-可溶成熟型(NCBI参考序列:NM_003236.4;UniProtKB-P01135(TGFA_HUMAN)); 转化生长因子 β (TGF β)家族(NCBI参考序列:NM_000660.7;UniProtKB-P01137(TGFB1_HUMAN)); CSF1-巨噬细胞集落刺激因子(NCBI参考序列:NM_000757.6;UniProtKB-P09603(CSF1_HUMAN)); CFS2或GMCSF 144(NCBI参考序列:NM_000758.4;UniProtKB-P04141(CSF2_HUMAN)蛋白); CSF3-粒细胞集落刺激因子(也称为G-CSF和filgrastim)(NCBI参考序列:NM_000759.4;UniProtKB-P09919(CSF3_HUMAN)); 前胸腺素 α (proT α)1-111(NCBI参考序列:NM_002823.5;UniProtKB-P06454(PTMA_HUMAN)); 前胸腺素 α (proT α)1-111-具有分泌信号(NCBI参考序列:NM_002823.5;UniProtKB-P06454(PTMA_HUMAN)); 前胸腺素 α (proT α)100-109-具有分泌信号(NCBI参考序列:NM_002823.5;UniProtKB-P06454(PTMA_HUMAN)); 胸腺素 α 1(T α 1)(NCBI参考序列:NM_001099285.2;UniProtKB-P06454(PTMA_HUMAN)); 跨膜Flt3L(sFlt3L)。(NCBI参考序列:NM_001459.4;UniProtKB-P49771(FLT3L_HUMAN)); 可溶性sFlt3L。(NCBI参考序列:NM_001459.4;UniProtKB-P49771(FLT3L_HUMAN))。

[0921] saRNA的体外转录

[0922] 将质粒DNA(pDNA)转化到大肠杆菌(E.coli)(New England BioLabs,英国)中,并在100mL具有100 μ g/mL的羧苄青霉素(Sigma Aldrich,UK)的Luria Broth(LB)中培养。随后使用Plasmid Plus MaxiPrep试剂盒(QIAGEN,英国)分离pDNA,并在NanoDrop One(ThermoFisher,UK)上测量pDNA的终浓度。使用CleanCap Reagent AG(Tebu-bio,法国)从pDNA模板转录saRNA,以产生具有天然Cap 1结构的RNA转录物。简言之,在37 $^{\circ}$ C下使pDNA模板线性化达3小时,然后根据制造商的规程在标准CleanCap转录方案(Tebu-bio,法国)中使用1 μ g线性化的pDNA模板。通过在-20 $^{\circ}$ C下LiCl沉淀至少30分钟来纯化转录物,将其在4 $^{\circ}$ C下以20,000g离心20分钟以沉淀RNA,用70%EtOH冲洗一次,再次在4 $^{\circ}$ C下以20,000g离心5分钟并重悬于UltraPure H₂O(Ambion,英国)中并在-80 $^{\circ}$ C下储存直至进一步使用。

[0923] RNA的体外转录

[0924] 将pDNA转化到E.coli(New England BioLabs,英国)中,并在100mL具有100 μ g/mL的羧苄青霉素(Sigma Aldrich,英国)的Luria Broth(LB)中培养。随后使用Plasmid Plus MaxiPrep试剂盒(QIAGEN,UK)纯化质粒,并在NanoDrop One(ThermoFisher,英国)上测量质

粒的浓度和纯度。使用MEGAscript™ T7转录规程(ThermoFisher,英国)然后使用ScriptCap™ m7G翻译后加帽系统(Cambio,英国)从质粒DNA模板转录RNA。简言之,在37°C下使pDNA线性化达3小时,然后在标准反应方案中使用1μg线性化的pDNA模板。在MEGAscript™ T7转录后,通过在-20°C下LiCl沉淀至少30分钟来纯化转录物,将其在4°C下以20,000g离心20分钟以沉淀RNA,用70%EtOH冲洗一次,再次在4°C下以20,000g离心5分钟并重悬于UltraPure H₂O(Ambion,英国)中。然后,使用ScriptCap™ m7G加帽系统标准方案对转录物进行转录后加帽,最后如上所述进行LiCl沉淀。然后将纯化的和Cap 1加帽的RNA重悬浮在Ultra Pure H₂O(Ambion,英国)中并在-80°C下储存直至进一步使用。

[0925] 体外COVID表达的测量

[0926] 在HeLa细胞中测试了含有GOI和/或IMP/IIP和/或ISP的saRNA复制子构建体,其中COVID刺突蛋白的表达被用作从亚基因组26S启动子中表达的模型GOI。

[0927] 将细胞在含有10%(v/v)胎牛血清(FBS)、5mg/mL L谷氨酰胺(Gibco, ThermoFisher,英国)和5mg/mL青霉素/链霉素(Sigma Aldrich,Merck,英国)的高葡萄糖达尔伯克氏改良伊格尔培养基(cDMEM)(Sigma Aldrich,Merck,英国)中培养。将HeLa细胞以10000个细胞/孔的密度接种到平坦的透明底部96孔板(Corning Costar)中并孵育24hr。将含有0.15μL脂质体MessengerMAX(ThermoFisher,英国)和100ng saRNA构建体或saRNA对照(GFP)的10uL OptiMEM

[0928] (ThermoFisher,英国)加入三孔板中,再过24小时后收集细胞,每个细胞孔加入200μL/孔的冰冷补充Pierce™ IP Lysis裂解液,并在冰上孵育试管5分钟。然后将裂解液转移到1.5mL Eppendorf管中,在4°C下以约13000g离心10min,使细胞碎片破片化。然后将上清液转移到0.5mL试管中进行进一步分析。使用Jess Western Blot(BioTechne)仪器测定COVID的表达,使用蛋白质标准品进行定量。使用前先滴定抗COVID一抗和二抗化学发光抗体。

[0929] 趋化因子/细胞因子的体内表达

[0930] 如产品说明书所述,使用Invitrogen ThermoFisher公司的Luminex ProCartaPlex方法测量小鼠趋化因子/细胞因子。基本如McKay等人,2020(2)所述,从单个小鼠的尾部出血中制备小鼠血清,并对血清进行单独评估,组大小为n=5。

[0931] 体内免疫原性评估

[0932] 如McKay等人,2020(2)所述,评估了saRNA和RNA构建体的免疫原性。

[0933] (2)McKay PF,Hu K,Blakeney AK,Samnuan K,Brown JC,Penn R,Zhou J,Bouton CR,Rogers P,Polra K,Lin PJC,Barbosa C,Tam YK,Barclay WS,Shattock RJ(2020)Self amplifying RNA SARS-CoV-2lipid nanoparticle vaccine candidate induces high neutralising antibody titers in mice.Nat Commun,11,3523.

[0934] 实施例1-人免疫刺激蛋白(ISP)构建体的结构设计

[0935] 人免疫刺激蛋白(ISP)可纳入本发明的RNA构建体中,其可以是自扩增RNA(saRNA)或信使RNA(mRNA),以增强、刺激或修饰编码RNA或saRNA的目的基因(GOI)的免疫应答,即目的基因(GOI)编码的蛋白,其可以是任何治疗性生物分子,例如抗原。

[0936] 图1中示出本发明的RNA构建体的设计配置的各种实施方式。saRNA表达构建体基于维持非结构蛋白的甲病毒属主链,但将目的基因(GOI)插入亚基因组启动子(SGP)下游,

替换病毒(见图1中的实施方式“1”)的结构基因。所述GOI可以是任何蛋白质,并且可以包括病毒、细菌、真菌或哺乳动物蛋白质,即生物治疗性蛋白质。然而,发明者设想,本发明的RNA构建体将在疫苗领域表现出显著的实用性,因此GOI将编码疫苗抗原,如病毒、细菌或真菌蛋白,如外壳蛋白。

[0937] saRNA构建体(图1的左侧)

[0938] 可以使用以下设计方法在saRNA中编码任何ISP和GOI:

[0939] -图1中的实施方式“2a”示出了编码融合蛋白的saRNA构建体,该融合蛋白包括肽切割基序(如弗林蛋白酶-T2a),使得GOI(例如目的抗原)和IMP编码的蛋白在宿主细胞中翻译时被切割成独立的蛋白;

[0940] -在图1中的实施方式“2b”中,GOI和ISP的顺序被颠倒,使得ISP位于GOI的5',同样在ISP和GOI之间具有肽切割基序,使得在saRNA构建体翻译后在宿主细胞中产生两种独立的蛋白质;

[0941] -在实施方式“3a”中,已将ISP插入GOI终止密码子的下游。亚基因组启动子驱动GOI的翻译,ISP的表达/翻译通过包含内部核糖体进入位点(IRES)驱动;

[0942] -在实施方式“3b”中,GOI和ISP的顺序被颠倒,使得ISP的翻译由亚基因组启动子促进,GOI的翻译由IRES促进;

[0943] -在实施方式“4a”中,已将ISP插入GOI终止密码子的下游。GOI的翻译由第一亚基因组启动子促进,ISP的翻译通过包含第二亚基因组启动子驱动;这被称为双基因组方法;

[0944] -在实施例“4b”中,ISP和GOI的位置已被交换,即ISP位于GOI之前。

[0945] mRNA构建体(图1的右侧)

[0946] 参照图1,可以使用以下设计方法在mRNA中编码任何ISP和GOI(参见实施方式“5”):

[0947] -在实施方式“6a”中,mRNA构建体编码包括肽切割基序(例如F-T2a)的融合蛋白,使得GOI和ISP在翻译时被切割成独立的蛋白质;

[0948] -在实施例“6b”中,GOI和ISP的顺序被颠倒,使得ISP位于GOI的5' ;

[0949] -在实施方式“7a”中,已将ISP插入GOI终止密码子的下游,其中翻译是通过包含内部核糖体进入位点(IRES)驱动的;

[0950] -在实施方式“7b”中,GOI和ISP的顺序被颠倒,使得ISP翻译由5' UTR启动子促进,GOI翻译由IRES促进。

[0951] 在图1所示的RNA构建体的各种实施方式中,如本文所述,本发明人测试了大量的人ISP,并认为它们各自都有可能改变对saRNA、mRNA和/或反式复制子系统的表达和应答。

[0952] 实施例2-结合病毒先天抑制蛋白(IIP)和/或人免疫调节(IMP)的人免疫刺激蛋白(ISP)构建体的结构设计。

[0953] 发明者创建了本发明的RNA构建体的其它实施方式,除了GOI和ISP外,还包含病毒先天抑制蛋白(virus IIP)和/或人先天调节蛋白(IMP)。标签/组分“IIP”或“IMP”在图中和实际中可以互换使用。这些IIP和IMP减少或消除可以修饰或减少GOI的蛋白质表达和翻译的先天识别和应答。

[0954] saRNA构建体(图2的左侧)

[0955] 可以使用以下设计方法将任何ISP、IMP和GOI编码在saRNA内:

[0956] -在图2的实施方式“8a”中示出了编码GOI、IMP和ISP的saRNA构建体,其中GOI和IMP由肽切割基序(例如弗林蛋白酶-T2a)分离,IMP和ISP由IRES分隔开,导致GOI(例如目的抗原)和IMP作为融合蛋白表达,其然后在宿主细胞中在翻译时在切割基序处裂解成单独蛋白质,ISP在IRES的控制下单独表达;

[0957] -在图2的实施方式“8b”中,改变了GOI、IMP和ISP的顺序,使得本身是ISP的5'的IMP现在是GOI的5'。IMP位于亚基因组启动子的下游,驱动其表达产生蛋白,IRES驱动GOI和下游ISP的表达,作为与GOI的融合蛋白。肽段切割基序(例如F-T2a)将ISP和GOI分开,使得在翻译saRNA构建体的过程中,GOI-ISP的单个融合蛋白在宿主细胞中被切割成两种单独的蛋白;

[0958] -在实施方式“9a”中,第一亚基因组启动子驱动GOI的表达,第二3'处设置的亚基因组启动子驱动IMP的表达。IRES设置在IMP的3'处,并驱动3'ISP的表达;

[0959] -在实施方式“9b”中,IMP、ISP和GOI的位置已经互换。在该实施方式中,第一亚基因组启动子驱动IMP的表达,第二3'处设置的亚基因组启动子驱动GOI-ISP融合蛋白的表达,该融合蛋白由切割接头(例如F-T2a)分离,使得在翻译saRNA构建体的过程中,GOI-ISP在宿主细胞中被切割为两种单独的蛋白;和

[0960] -在实施方式“9c”,提供了3种亚基因组启动子,每种亚基因组启动子都驱动GOI、IMP和ISP的表达,但显然它们可以是任意顺序。

[0961] -在图2的实施方式“9d”中示出了编码GOI、IMP和ISP的saRNA构建体,其中GOI和IMP被IRES分隔开,IMP和ISP被IRES分隔开,导致GOI(例如目的抗原)在亚基因组启动子控制下表达,IMP和ISP在各自的IRES控制下分别表达。

[0962] -在图2的实施方式“9e”中,IMP、ISP和GOI的位置已经互换。该图显示了编码GOI、IMP和ISP的saRNA构建体,其中GOI和IMP被IRES分隔开,IMP和ISP被IRES分隔开,导致GOI(例如目的抗原)在亚基因组启动子控制下表达,IMP和ISP在各自的IRES控制下分别表达。应当理解,在三个位置中的每个位置中与GOI或IMP或ISP的进一步组合是可能的。

[0963] mRNA构建体(图2的右侧)

[0964] 参照图2,可以使用以下设计方法在mRNA中编码任何ISP、IIP和GOI(见实施方式“10”):

[0965] -在实施方式“10a”中,所述mRNA构建体编码通过肽切割基序(例如F-T2a)与3'IMP连接的5'GOI,使得GOI和IMP在翻译时被切割成单独的蛋白质。mRNA构建体包括3'IRES,随后是驱动单独蛋白表达的ISP;和

[0966] -在实施方式“10b”中,GOI、IMP和ISP的顺序是相同的,但是在这个实施方式中,GOI和IMP被IRES分隔开,IMP和ISP被酶切位点F-T2a分隔开。GOI、IMP和ISP的顺序可以在任何构建体中改变。

[0967] 实施例3-包括ISP/IIP组合的新型SARNA构建体的结构设计

[0968] 参考图2,本发明人创建了saRNA构建体的另外两个实施方式,称为实施方式“9d”和“9e”。

[0969] 在实施例“9d”中,saRNA构建体编码GOI(例如,目标抗原)和ISP,以及IMP,其中GOI和ISP由IRES元件分隔开,IMP和ISP也由IRES元件分隔开。IMP是ISP的5'(上游),ISP为3'

(下游)。GOI(例如,目标抗原)的表达受亚基因组启动子的控制,IMP和ISP分别在各自的IRES的控制下单独表达。这导致GOI、ISP和IMP表达为融合蛋白,然后在宿主细胞中翻译时,在IRES连接元件处被切割成单独的蛋白。

[0970] 在实施方式“9e”中,IMP、ISP和GOI的位置在saRNA构建体中交换。ISP是IMP的5'(上游),IMP为3'(下游)。GOI和ISP由IRES分隔开,ISP和IMP由IRES分隔开,导致GOI(例如,目标抗原)的表达受亚基因组启动子的控制,并且ISP和IMP在各自的IRES的控制下单独表达。

[0971] 实施例4-GOI表达的体外增强

[0972] 使用脂质体将saRNA复制子构建体转染到HeLa细胞中,并表达目的基因(GoI),在该特定情况下,使用COVID刺突抗原作为模型表达抗原。如图7所示,saRNA构建体的一些实施方式编码GOI-ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF),而其他实施方式编码GOI-ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)-IIP(其中IIP是IIPF1、E3L或PR34)。体外表达显示为对照saRNA复制子(saRNA COVID-GFP)的倍数增强。

[0973] 参考图7A,示出了GOI+ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)+IRF1(充当IIP)。

[0974] 参考图7B,示出了GOI+ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)+E3L(充当IIP)。

[0975] 参考图7C,示出了GOI+ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)+PR34(充当IIP)。

[0976] 如在这些图中可以看到的,单独存在ISP(即CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)时COVID表达增强,并且ISP(CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)和IIP(IRF1、E3L或PR34)组合时则存在显著增强。

[0977] 实施例5-炎症/刺激性趋化因子/细胞因子的体内增强

[0978] 为小鼠接种各种LNP配制的saRNA复制子,其表达GoI+单独的IIP、GoI+单独的ISP、或GoI+ISP+IIP的组合,并在注射后24小时采集小鼠血清。通过Luminex测量,表达的抗原(用作模型抗原的COVID刺突蛋白)和/或COVID+ISP增强了各种细胞因子/趋化因子的循环表达水平。

[0979] 参考图8A和8B,显示了炎症/刺激性趋化因子/细胞因子,即IFN- γ 、IL-18、GM-CSF、IL-5和MCP-1的体内增强。为小鼠接种各种脂质纳米颗粒(LNP)-配制的saRNA复制子,其表达GoI+单独的IIP(IRF1、E3L或PR34)、GoI+单独的ISP(即CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)、或GoI+ISP(即CCL2、CCL3、IL-7或GM-CSF)+IIP(IRF1、E3L或PR34)的组合,并在注射后24小时采集小鼠血清。

[0980] 可以看出,表达的抗原(用作模型抗原的COVID刺突蛋白)和/或COVID+ISP令人惊讶地增强了各种细胞因子/趋化因子的循环表达水平。

[0981] 实施例6-GoI特异性抗体免疫应答的体内增强

[0982] 为小鼠接种各种LNP配制的saRNA复制子,其表达GoI+单独的IIP、GoI+单独的ISP、或GoI+ISP+IIP的组合,并在免疫后第四十二天测试小鼠血清中的抗原特异性抗体。这些动物在第0天接种了初免疫苗,在第28接种了1 μ g LNP配制的saRNA复制子强化疫苗。

[0983] 参考图9,显示了GoI特异性抗体免疫应答的体内增强。为小鼠组接种各种LNP配制的saRNA复制子,其表达GoI+单独的IIP、GoI+单独的ISP、或GoI+ISP+IIP的组合,并在免疫后第四十二天测试小鼠血清中的抗原特异性抗体。这些动物在第0天接种了初免疫苗,在第28接种了1 μ g LNP配制的saRNA复制子强化疫苗。将含有ISP+IIP的saRNA复制子与仅接受

ISP的那些动物中的免疫应答进行比较,清楚地证明IIP对GoI和/或ISP功能的表达的活性提供了对抗体免疫的增强。当与相应的单独的ISP比较时,图表显示为抗体水平的倍数变化。

[0984] 结论

[0985] 本发明人认为,与现有技术中所述的那些构建体相比,本文所述的构建体显示出许多优点,包括:

[0986] i) 发明的RNA构建体,如图1和2所示,结合saRNA或mRNA、GOI (例如抗原) 和ISP,增强或修改了受试者中GOI的免疫反应。ISP可以是细胞因子。

[0987] ii) 将编码任何先天调节蛋白的核苷酸序列直接插入到RNA构建体 (比如mRNA或saRNA) 中,从而实现了ISP、IMP/IIP蛋白和由目的基因编码的生物治疗分子的同时蛋白表达;

[0988] iii) 相对于递送两条不同的独立的RNA链,一条编码目的基因 (GOI) ,即治疗性生物分子,另一条编码ISP,递送一条单链,从而确保了RNA、ISP和IMP/IIP的共定位;

[0989] iv) IMP/IIP抑制RNA的先天感知,从而实现较高的蛋白质表达;

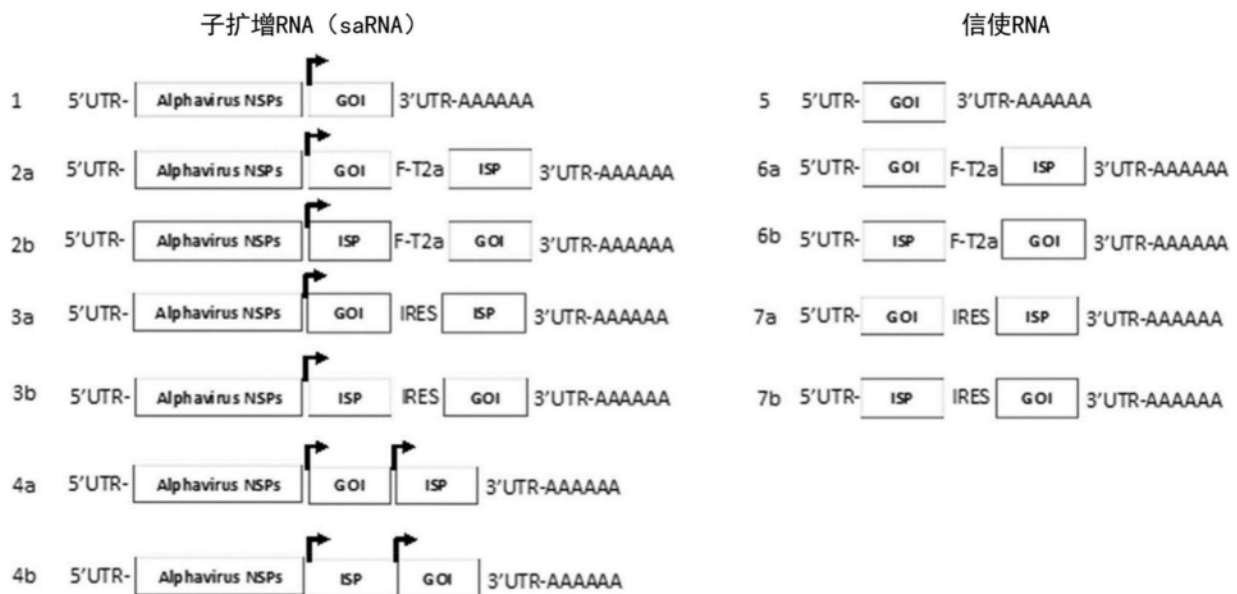
[0990] v) 当RNA构建体是saRNA时,IMP/IIP表达本身通过与GOI在亚基因组链上共表达而被自扩增;

[0991] vi) 与常规VEEV RNA复制子构建体相比,蛋白质表达的幅度和持续时间都有所增加;

[0992] vii) ISP单独存在时GOI有增强作用,ISP和IIP共同存在时GOI有显著增强作用;

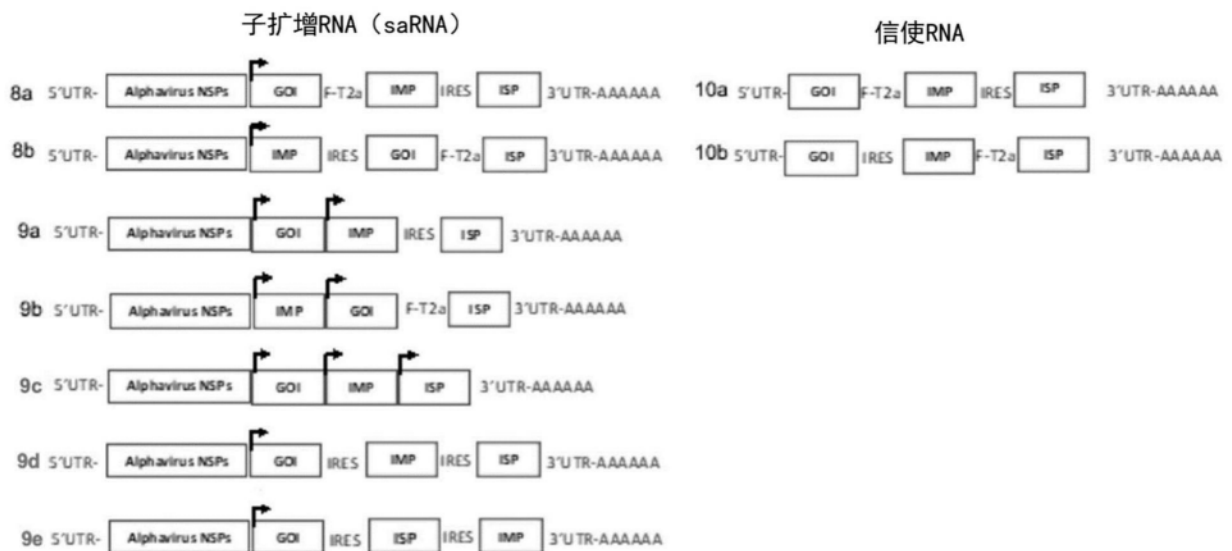
[0993] (viii) 表达的GOI+ISP增强了各种细胞因子/趋化因子的循环表达水平;

[0994] (ix) 将含有ISP+IIP的saRNA复制子与仅接受ISP的动物中的免疫应答进行比较,清楚地证明IIP对GoI和/或ISP功能的表达的活性提供了对抗体免疫的增强。



5' UTR: 5' 未翻译区域; NSP: 非结构蛋白; : 亚基因组启动子; GOI: 目的基因;
ISP: 免疫刺激蛋白; F-T2a: 弗林蛋白酶-T2a切割点; IRES: 内部核糖体进入位点;
3' UTR: 3' 未翻译区域; AAAAAA: 聚A尾

图1



5' UTR: 5' 未翻译区域; NSP: 非结构蛋白; : 亚基因组启动子; GOI: 目的基因;
ISP: 免疫刺激蛋白; IMP: 免疫调节蛋白或病毒先天抑制蛋白;
F-T2a: 弗林蛋白酶-T2a切割点; IRES: 内部核糖体进入位点; 3' UTR: 3' 未翻译区域;
AAAAAA: 聚A尾

注意, 在任意构建体中, 个体GOI、IMP和ISP的个体顺序都可以更改

图2

对于快速释放mRNA（小于24小时），IFN/对RNA和LNP的先天应答可作为佐剂

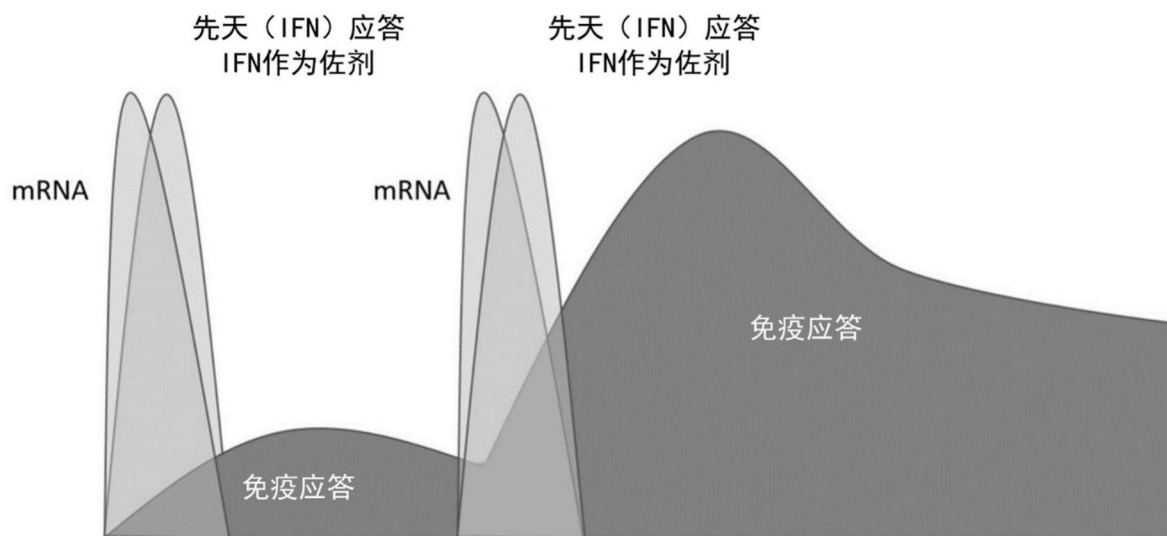


图3

对于缓慢释放saRNA（大于7天），IFN/对RNA和LNP的先天反应可作为抗佐剂

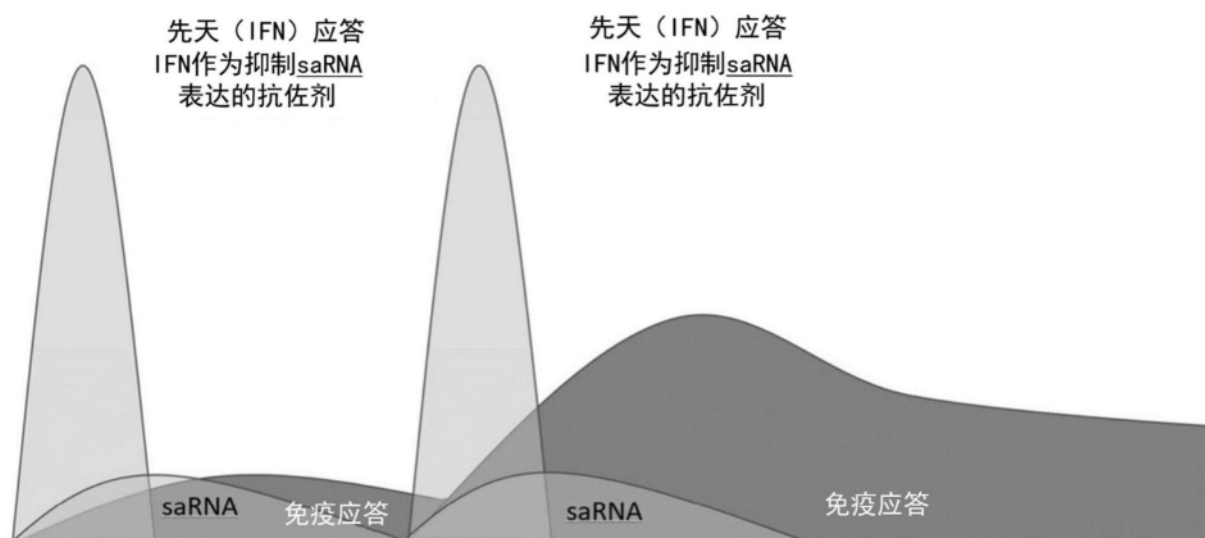


图4

抑制IFN/先天免疫反应可以逆转这种情况并增加疫苗的免疫原性

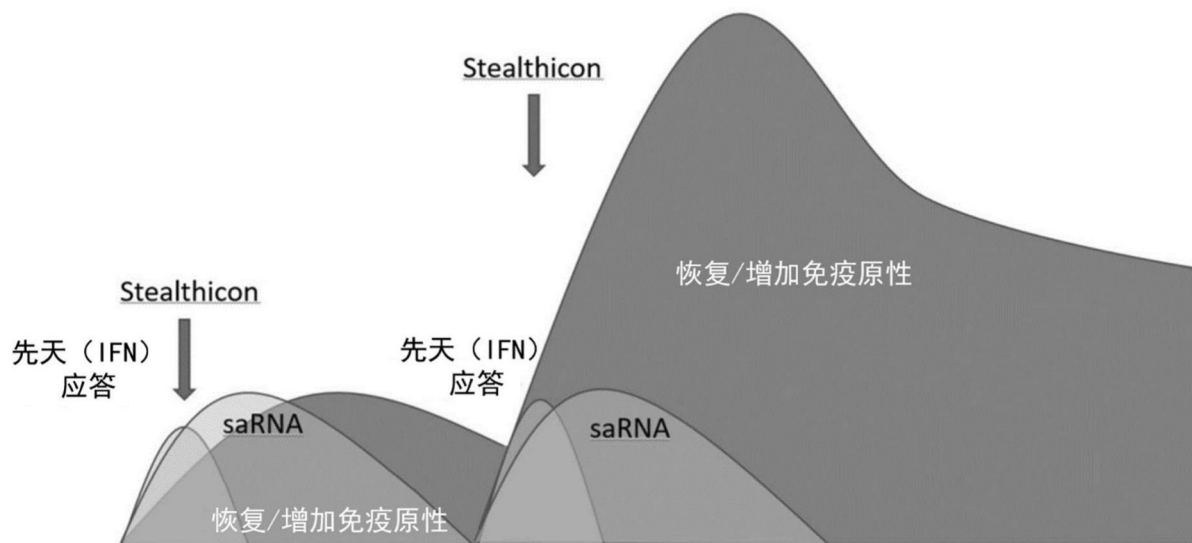


图5

抑制IFN/先天免疫反应可以逆转这种情况并增加蛋白的表达

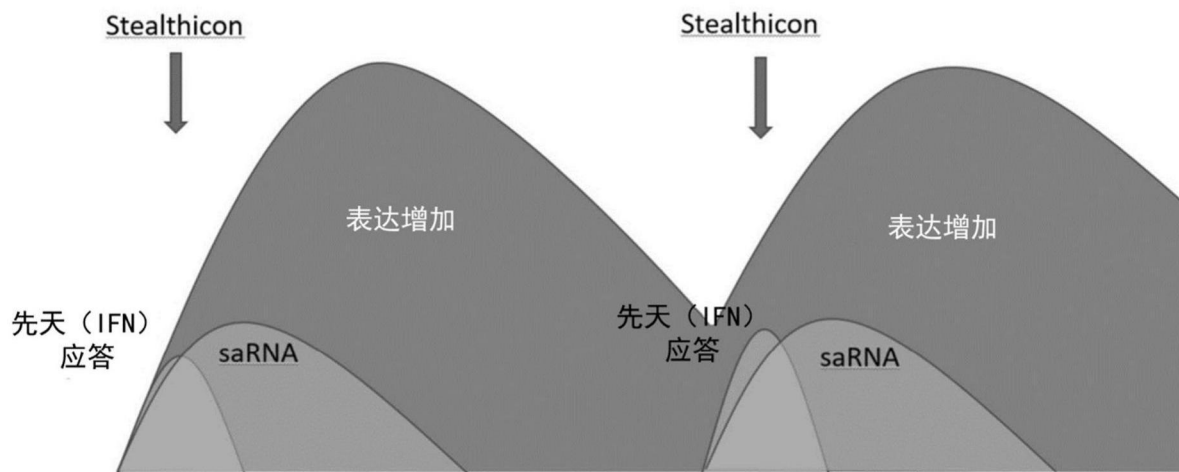


图6

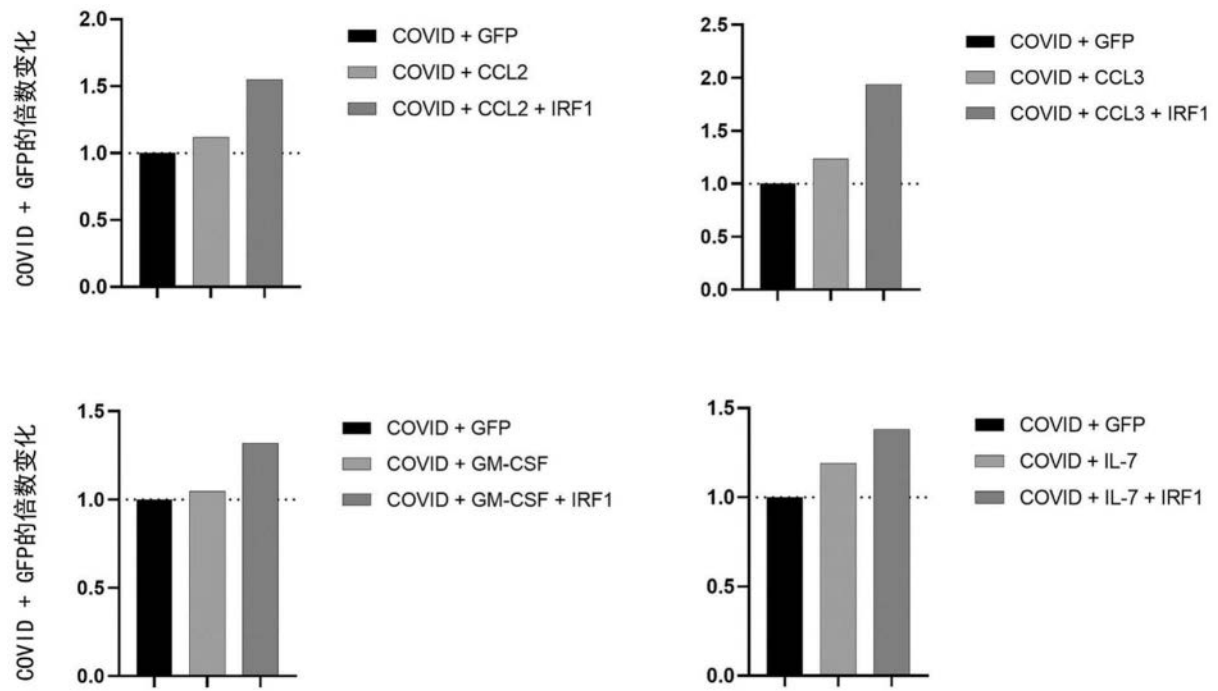


图7A

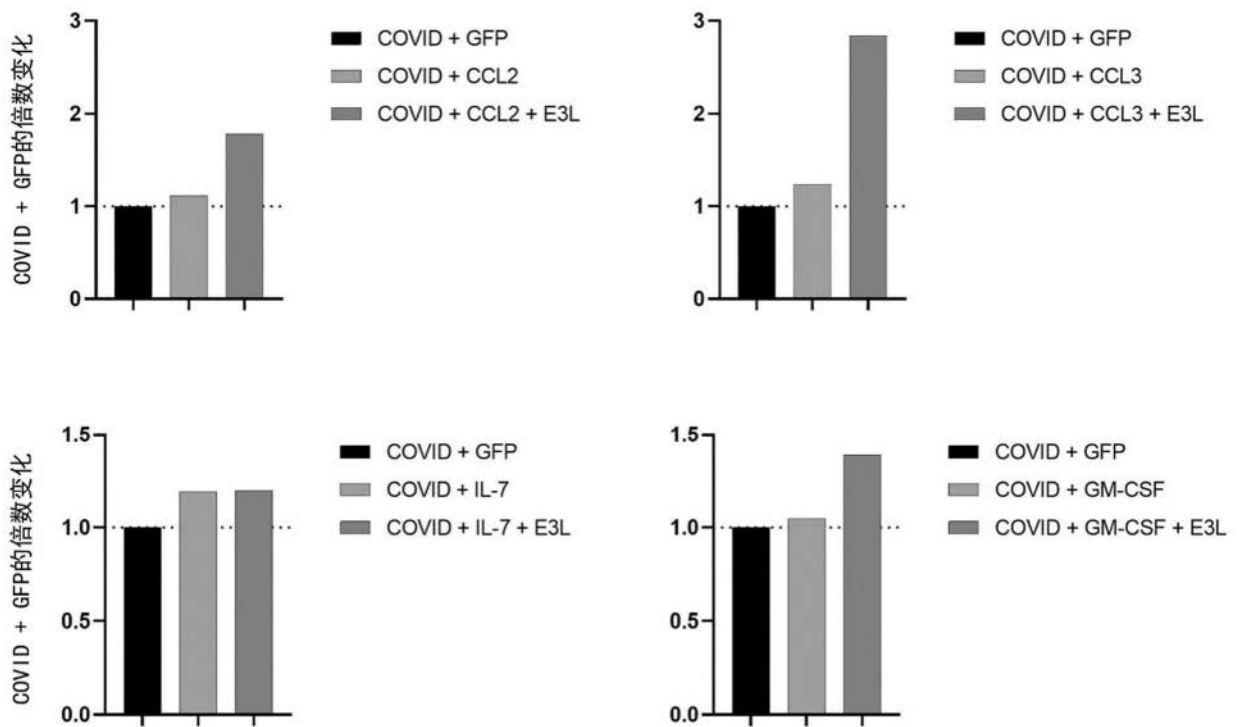


图7B

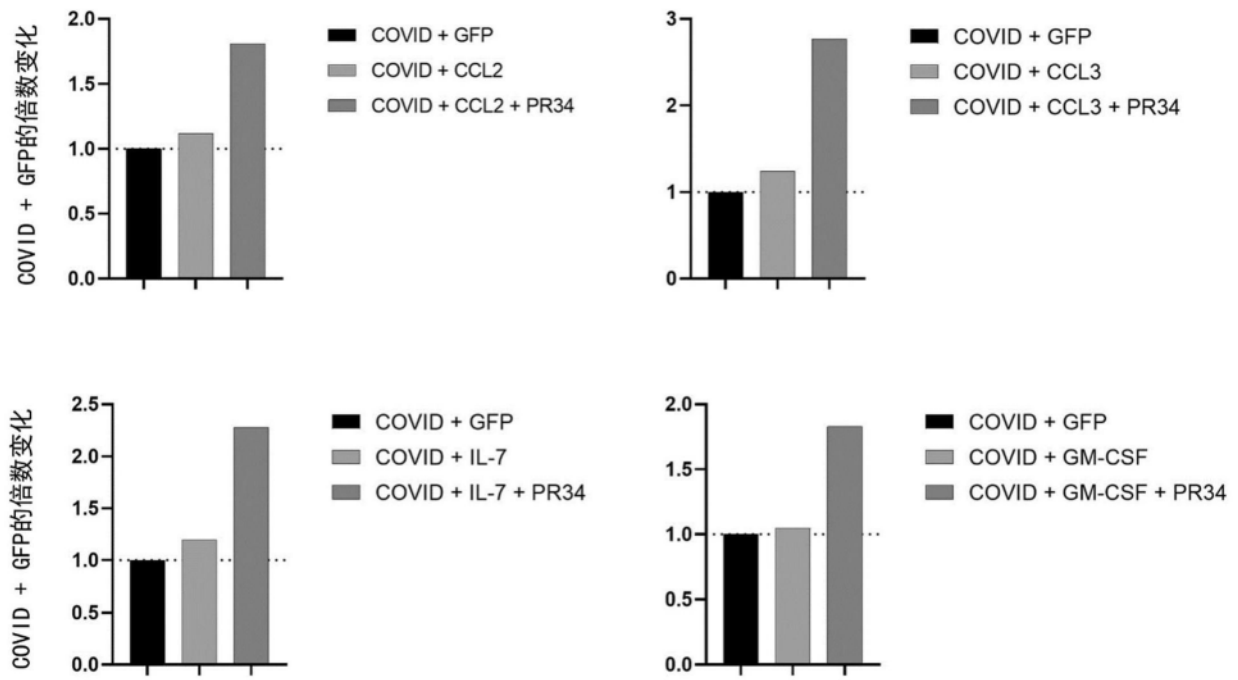


图7C

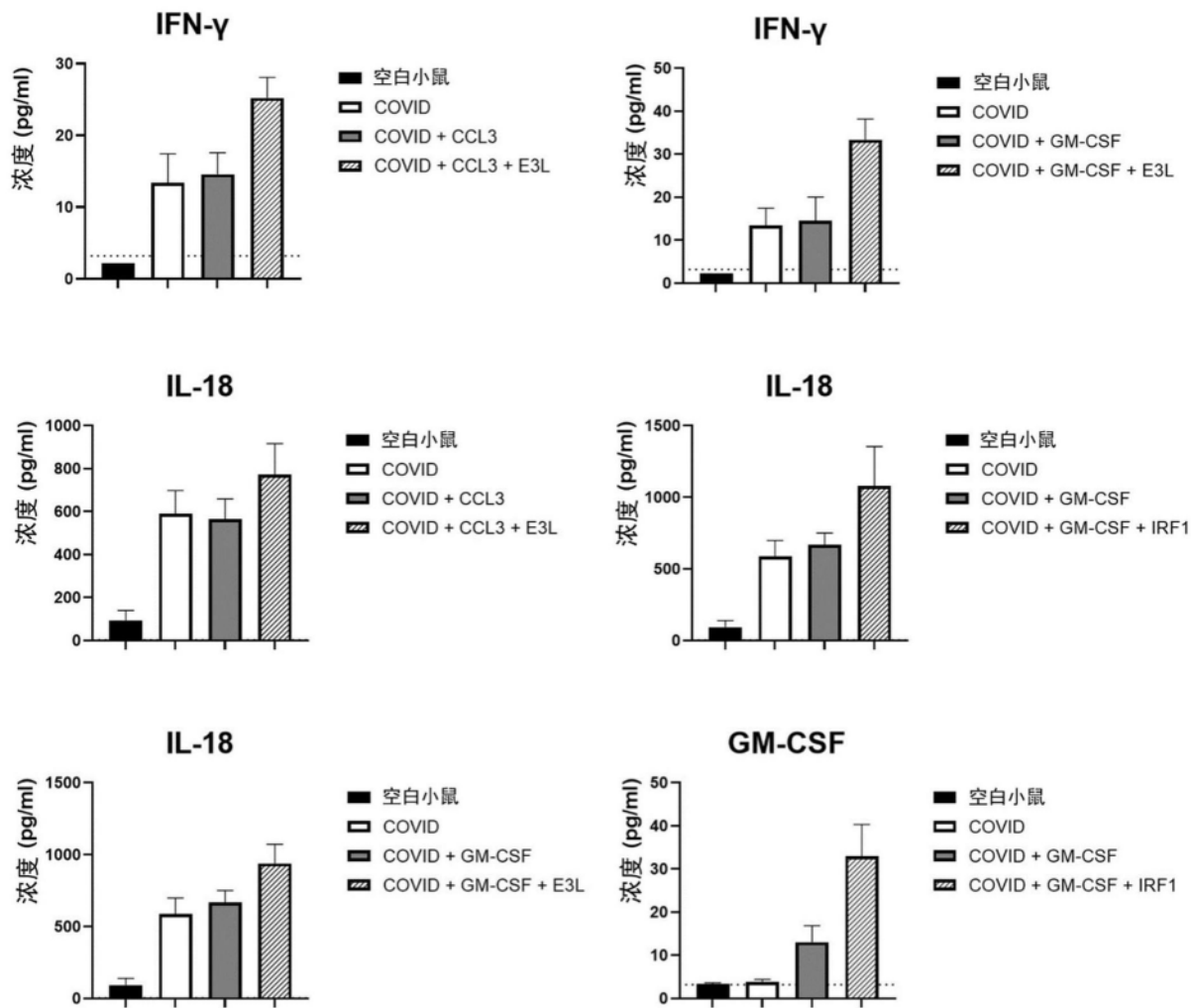


图8A

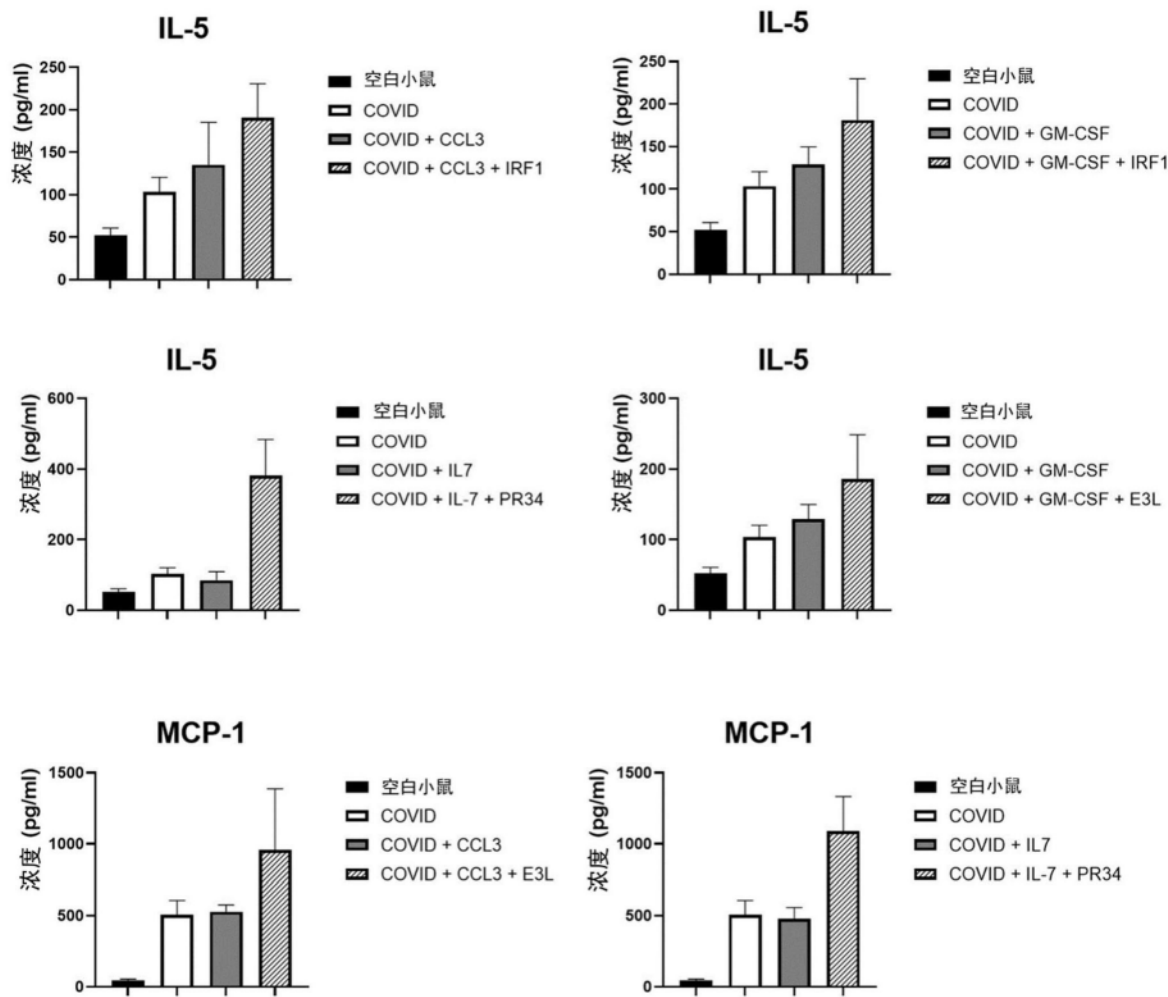


图8B

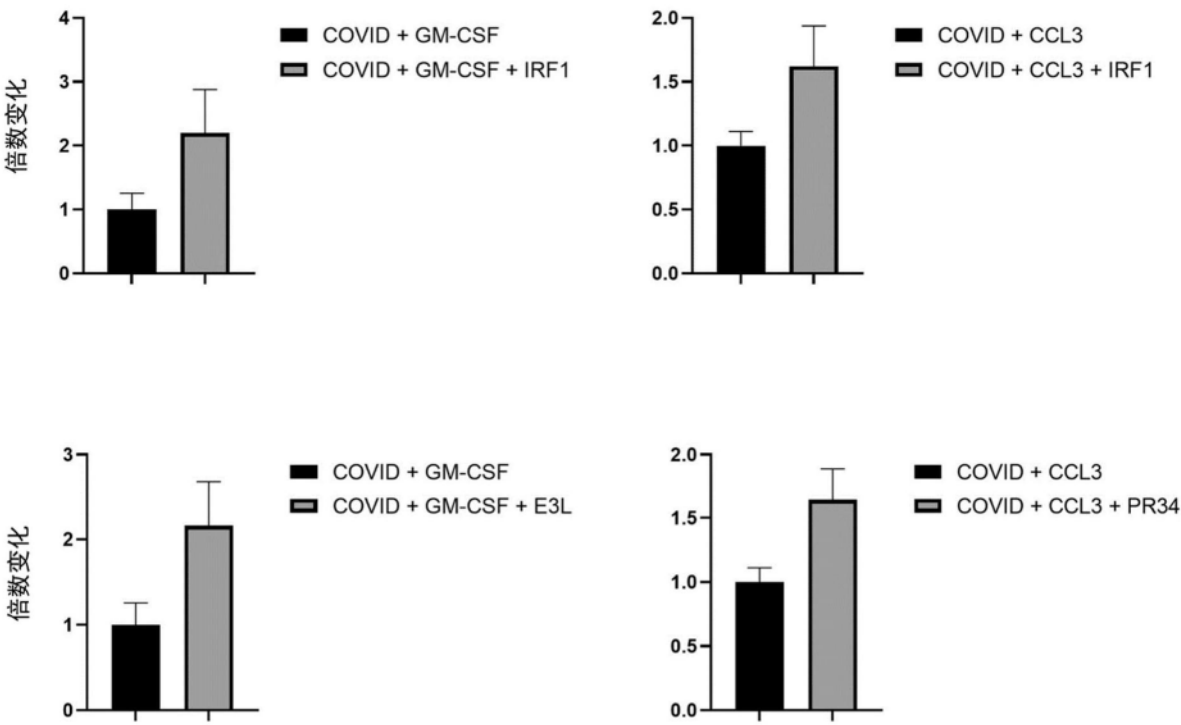


图9