



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107249629 A

(43)申请公布日 2017. 10. 13

(21)申请号 201680011623.6

(22)申请日 2016.02.24

(30)优先权数据

62/121,406 2015.02.26 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.08.23

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/019401 2016.02.24

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/138164 EN 2016.09.01

(71)申请人 生控基因疫苗股份有限公司

地址 中国台湾台北市大安区仁爱路4段25  
之2号5楼

(72)发明人 吴嘉茂 吴俊明 邱怡翠 林吟璟

庄贤凯 谢馥檀 陈冠铭

(74)专利代理机构 北京金信知识产权代理有限公司 11225

代理人 张皓 李雪芹

(51)Int.Cl.

A61K 39/39(2006.01)

A61K 39/12(2006.01)

A61K 39/21(2006.01)

A61K 39/145(2006.01)

A61K 47/42(2017.01)

A61P 31/20(2006.01)

A61P 31/18(2006.01)

A61P 31/16(2006.01)

权利要求书2页 说明书16页

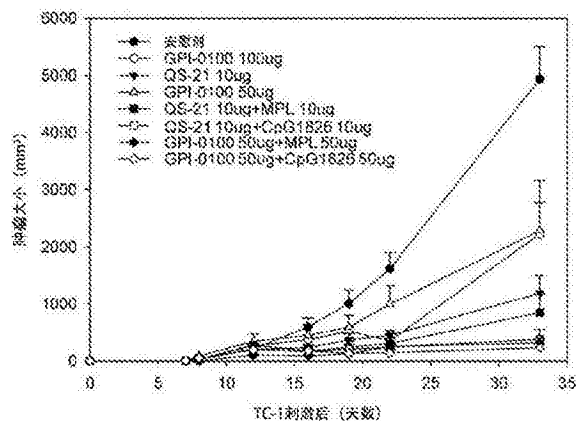
序列表39页 附图6页

### (54)发明名称

包含免疫原性蛋白质及组合佐剂并用以诱发抗原特异性T细胞反应的疫苗组合物

### (57)摘要

本发明提供用以在有此需要的患者中诱发经强化的抗原特异性T细胞介导免疫反应的疫苗组合物。该组合物包含(a)治疗有效量的免疫原性蛋白质,其至少包含病原体的抗原;(b)基于皂苷的佐剂,其选自以下项目所构成群组:GPI-0100、Quil A及QS-21;以及(c)Toll样受体(TLR)激动剂佐剂,其选自以下项目所构成群组:单磷酸脂质A(MPL)及CpG1826。



1. 一种组合物,其包含:
  - (a) 治疗有效量的免疫原性蛋白质,其至少包含病原体的抗原;
  - (b) 基于皂苷的佐剂,其选自以下项目所构成群组:GPI-0100、Quil A及QS-21;以及
  - (c) Toll样受体 (TLR) 激动剂佐剂,其选自以下项目所构成群组:单磷酸脂质A (MPL) 及CpG1826。
2. 如权利要求1所述的组合物,进一步包含至少一种添加剂,该添加剂选自以下项目所构成群组:甘露醇、蔗糖、海藻糖、组氨酸、甘氨酸、精氨酸、山梨糖醇、聚山梨醇酯80、葡萄糖、乳糖、麦芽糖、麦芽糊精、柠檬酸盐、三羟甲基氨基甲烷以及磷酸钠。
3. 如权利要求1所述的组合物,其中该免疫原性蛋白质为融合蛋白,其包含:
  - (a) 抗原呈递细胞 (APC) 结合域或CD91受体结合域,位于该融合蛋白的N端;
  - (b) 蛋白质转导结构域,位于该APC结合域或该CD91受体结合域的C端,该蛋白质转导结构域选自以下项目所构成群组:
    - (i) 融合多肽,包含:
      - (1) T细胞致敏信号转导肽,在长度上具有28-53个氨基酸残基,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,其中Xaa<sup>8</sup>为I或L;Xaa<sup>10</sup>为V、F或A,Xaa<sup>11</sup>为M或L,Xaa<sup>17</sup>为L或I,位于该融合多肽的N端;
      - (2) 转位肽,在长度上具有34-112个氨基酸残基,包含与SEQ ID NO:3、20或4具有至少90%同一性的氨基酸序列;以及
      - (3) 连接子,包含SEQ ID NO:15,链接该T细胞致敏信号转导肽与该转位肽;
    - (ii) T细胞致敏信号转导肽,在长度上具有28-53个氨基酸残基,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,其中Xaa<sup>8</sup>为I或L;Xaa<sup>10</sup>为V、F或A,Xaa<sup>11</sup>为M或L,Xaa<sup>17</sup>为L或I;以及
    - (iii) 转位肽,在长度上具有34-46个氨基酸残基,包含与SEQ ID NO:3或20至少具有90%同一性的氨基酸序列;以及
  - (c) 病原体的抗原,位于该蛋白质转导结构域的C端;其中如果该蛋白质转导结构域为(b) (iii) 中在长度上具有34-46个氨基酸残基的转位肽,则该APC结合域或该CD91受体结合域不含绿脓杆菌外毒素A (PE) 结合域I的氨基酸序列。
4. 如权利要求3所述的组合物,其中该蛋白质转导结构域包含SEQ ID NO:30的序列。
5. 如权利要求3所述的组合物,其中该APC结合域或该CD91受体结合域为多肽,其所包含的氨基酸序列与选自以下项目所构成群组的序列具有至少90%同一性:SEQ ID NO:5、9、6、7及8。
6. 如权利要求3所述的组合物,其中该T细胞致敏信号转导肽包含一种氨基酸序列,该氨基酸序列选自以下项目所构成群组:SEQ ID NO:1及2。
7. 如权利要求3所述的组合物,其中该转位肽包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。
8. 如权利要求3所述的组合物,其中该病原体为选自以下项目所构成群组中的至少一种:人乳头瘤病毒 (HPV)、猪生殖与呼吸综合症病毒 (PRRSV)、人类免疫缺陷病毒 (HIV-1)、流感病毒、登革热病毒、丙型肝炎病毒 (HCV)、乙型肝炎病毒 (HBV) 及猪圆环病毒2 (PCV2)。
9. 如权利要求3所述的组合物,其中该病原体抗原选自以下项目所构成群组:人乳头瘤病毒 (HPV) E7蛋白质、乙型肝炎病毒 (HBV) HBx蛋白质、丙型肝炎病毒 (HCV) 核心抗原、流感病毒M2抗原以及肿瘤相关抗原。

10. 如权利要求9所述的组合物,其中该肿瘤相关抗原选自以下项目所构成群组:SSX2、MAGE-A3、NY-ESO-1、iLRP、WT12-281、RNF43 (2-116+696-783) 及CEA-NE3。

11. 如权利要求9所述的组合物,其中该HPV E7蛋白质包含与SEQ ID NO:21具有至少90%同一性的氨基酸序列。

12. 如权利要求3所述的组合物,其中该融合蛋白进一步包含位于该融合蛋白的C端的内质网滞留序列。

13. 如权利要求1所述的组合物,其中该免疫原性蛋白质为融合蛋白,其包含:

(a) 抗原呈递细胞 (APC) 结合域或CD91受体结合域,位于该融合蛋白的N端;

(b) 在长度上具有34-112个氨基酸残基的转位肽,包含与SEQ ID NO:3、4、20或41具有至少90%同一性的氨基酸序列,位于该APC结合域或该CD91受体结合域的C端;

(c) 病原体的抗原;

(d) 核输出信号,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;以及

(e) 内质网滞留序列,位于该融合蛋白的C端;

其中该核输出信号位于该抗原与该内质网滞留序列之间,或该转位肽与该抗原之间。

14. 如权利要求1所述的组合物,其中该免疫原性蛋白质为融合蛋白,其包含:

(a) 抗原呈递细胞 (APC) 结合域或CD91受体结合域,位于该融合蛋白的N端;

(b) 在长度上具有34-61个氨基酸残基的转位肽,包含与SEQ ID NO:3、20或41具有至少90%同一性的氨基酸序列,位于该APC结合域或该CD91受体结合域的C端;

(c) 病原体的抗原;

(d) 核输出信号,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;以及

(e) 内质网滞留序列,位于该融合蛋白的C端;

其中该核输出信号位于该抗原与该内质网滞留序列之间,或该转位肽与该抗原之间。

15. 一种如权利要求1至14中任一项所述的组合物用于制备药品的用途,所述药品用以在有此需要的患者中诱发病原体抗原特异性T细胞介导免疫反应。

## 包含免疫原性蛋白质及组合佐剂并用以诱发抗原特异性T细胞反应的疫苗组合物

### 技术领域

[0001] 本发明整体而言是关于疫苗制剂,更具体而言是关于具有组合佐剂的疫苗制剂。

### 背景技术

[0002] 许多疫苗均以佐剂为其关键成分。绝大多数现有疫苗均仅含有单一佐剂。由于其本身限制,任一种佐剂均无法诱发各种疫苗所需的全部保护免疫反应。因此需要探求在疫苗制剂中包含多种佐剂的技术。

### 发明内容

[0003] 一方面,本发明是关于一种疫苗组合物,其包含:

[0004] (a) 治疗有效量的免疫原性蛋白质,其至少包含病原体的抗原;

[0005] (b) 基于皂苷的佐剂(saponin-base adjuvant),其选自以下项目所构成群组: GPI-0100、Quil A及QS-21;以及

[0006] (c) Toll样受体激动剂佐剂[Toll-like receptor (TLR) agonist adjuvant],其选自以下项目所构成群组:单磷酸脂质A(monophosphoryl lipid A,MPL)及CpG1826。

[0007] 在本发明另一实施方式中,该组合物进一步包含至少一种添加剂,该添加剂选自以下项目所构成群组:甘露醇(mannitol)、蔗糖(sucrose)、海藻糖(trehalose)、组氨酸(histidine)、甘氨酸(glycine)、精氨酸(arginine)、山梨糖醇(sorbitol)、聚山梨醇酯80(Polysorbate 80)、葡萄糖(glucose)、乳糖(lactose)、麦芽糖(maltose)、麦芽糊精(maltodextrins)、柠檬酸盐(citrate)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)及磷酸钠(sodium phosphate)。

[0008] 在本发明另一实施方式中,该免疫原性蛋白质是融合蛋白,其包含:

[0009] (a) 抗原呈递细胞(APC)结合域[antigen-presenting cell (APC)-binding domain]或CD91受体结合域(CD91receptor-binding domain),位于该融合蛋白的N端;

[0010] (b) 蛋白质转导结构域(protein transduction domain),位于该APC结合域或该CD91受体结合域的C端,该蛋白质转导结构域选自以下项目所构成群组:

[0011] (i) 融合多肽包含:

[0012] (1) T细胞致敏信号转导肽(T cell sensitizing signal-transducing peptide),在长度上具有28-53个氨基酸残基,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,其中Xaa<sup>8</sup>为I或L;Xaa<sup>10</sup>为V、F或A,Xaa<sup>11</sup>为M或L,Xaa<sup>17</sup>为L或I,位于该融合多肽的N端;

[0013] (2) 转位肽(translocation peptide),在长度上具有34-112个氨基酸残基,包含与SEQ ID NO:3、20、4、或41具有至少90%同一性的氨基酸序列;以及

[0014] (3) 连接子(linker),包含SEQ ID NO:15,链接该T细胞致敏信号转导肽与该转位肽;

[0015] (ii) T细胞致敏信号转导肽,在长度上具有28-53个氨基酸残基,包含SEQ ID NO:

31的氨基酸序列,其中Xaa<sup>8</sup>为I或L;Xaa<sup>10</sup>为V、F或A,Xaa<sup>11</sup>为M或L,Xaa<sup>17</sup>为L或I;以及

[0016] (iii)转位肽,在长度上具有34-61个氨基酸残基,包含与SEQ ID NO:3、20或41具有至少90%同一性的氨基酸序列;以及

[0017] (c)病原体的抗原,位于该蛋白质转导结构域的C端;

[0018] 其中如果该蛋白质转导结构域为(biii)的转位肽,则该APC结合域或该CD91受体结合域不含绿脓杆菌外毒素A(Pseudomonas exotoxin A,PE)结合域Ia的氨基酸序列。

[0019] 在本发明另一实施方式中,该蛋白质转导结构域包含SEQ ID NO:30的序列。

[0020] 在本发明另一实施方式中,该APC结合域或该CD91受体结合域是多肽,其包含与选自以下项目所构成群组的序列具有至少90%同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、9、6、7及8。

[0021] 在本发明另一实施方式中,该APC结合域或该CD91受体结合域包含与选自以下项目所构成群组的序列具有至少95%同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、9、6、7及8。

[0022] 在本发明另一实施方式中,该APC结合域或该CD91受体结合域是多肽,其包含选自以下项目所构成群组的序列的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、9、6、7及8。

[0023] 可选地,该APC结合域选自以下项目所构成群组:受体相关蛋白质-1(receptor-associated protein-1,RAP1)结构域III、 $\alpha$ -2-巨球蛋白受体相关蛋白质(alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein,A2M)、HIV-Tat,及热休克蛋白(heat shock proteins,HSPs),以及绿脓杆菌外毒素A(PE)结合域Ia。

[0024] 在本发明另一实施方式中,该融合蛋白不含绿脓杆菌外毒素A(PE)结合域Ia的氨基酸序列。

[0025] 在本发明另一实施方式中,该融合蛋白进一步包含内质网滞留序列,位于该融合蛋白的C端。

[0026] 在本发明另一实施方式中,该内质网(ER)滞留序列包含Lys-Asp-Glu-Leu(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列。ER滞留序列可包含选自以下项目所构成群组的序列:SEQ ID NO:14、16-19。可选地,该ER滞留序列可包含选自以下项目所构成群组的序列:SEQ ID NO:16-19。

[0027] 在本发明另一实施方式中,如果该抗原包含10个或更多表位(epitopes),则该融合蛋白的C端不具有内质网滞留序列。

[0028] 在本发明另一实施方式中,该蛋白质转导结构域为(bi)的融合多肽。

[0029] 在本发明另一实施方式中,该蛋白质转导结构域为(bii)的T细胞致敏信号转导肽。

[0030] 在本发明另一实施方式中,该融合蛋白进一步包含额外连接子,其位于该蛋白质转导结构域与该抗原之间,该额外连接子包含SEQ ID NO:15。

[0031] 在本发明另一实施方式中,该蛋白质转导结构域为(biii)的转位肽。

[0032] 在本发明另一实施方式中,该融合蛋白进一步包含额外连接子,其位于该APC结合域或该CD91受体结合域与该转位肽之间,该额外连接子包含SEQ ID NO:15。

[0033] 在本发明另一实施方式中,该蛋白质转导结构域包含SEQ ID NO:30的序列。

[0034] 在本发明另一实施方式中,该T细胞致敏信号转导肽包含与SEQ ID NO:1或2具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0035] 在本发明另一实施方式中,该T细胞致敏信号转导肽包含选自以下项目所构成群

组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1及2。

[0036] 在本发明另一实施方式中,该转位肽包含选自以下项目所构成群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、20、4及41。

[0037] 在本发明另一实施方式中,该转位肽在长度上具有34-61个氨基酸残基。

[0038] 在本发明另一实施方式中,上述融合蛋白的蛋白质转导结构域具有以下特性:(i) 该T细胞致敏信号转导肽包含SEQ ID NO:1或2的氨基酸序列;以及(ii) 该转位肽包含与SEQ ID NO:3具有至少95%同一性的氨基酸序列。

[0039] 该T细胞致敏信号转导肽展现诱发抗体的特征,该抗体可识别并结合T细胞上CD28受体的氨基酸序列 $K^1X^2E^3X^4X^5Y^6P^7P^8P^9Y^{10}$  (SEQ ID NO:32),其中 $X^2$ 为I或L; $X^4$ 为V、F或A,且 $X^5$ 为M或L。

[0040] 抗原呈递细胞(APC)可选自以下项目所构成群组:树突细胞、巨噬细胞、B细胞及单核血球。

[0041] 在本发明一个实施方式中,APC的细胞膜包含CD91受体。

[0042] 在本发明另一实施方式中,该病原体为至少一种选自以下项目所构成群组:人乳头瘤病毒(Human Papillomavirus,HPV)、猪生殖与呼吸综合症病毒(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus,PRRSV)、人类免疫缺陷病毒(Human Immuno-deficient Virus,HIV-1)、流感病毒(Influenza virus)、登革热病毒(dengue virus)、丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus,HCV)、乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus,HBV)及猪圆环病毒2(Porcine Circovirus 2,PCV2)。

[0043] 在本发明一个实施方式中,该病原体抗原选自以下项目所构成群组:人乳头瘤病毒(HPV)E7蛋白质、乙型肝炎病毒(HBV)HBx蛋白质、丙型肝炎病毒(HCV)核心抗原、流感病毒M2抗原以及肿瘤相关抗原。

[0044] 在本发明一个实施方式中,该HPV E7蛋白质包含与SEQ ID NO:21具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0045] 在本发明另一实施方式中,该肿瘤相关抗原选自以下项目所构成群组:SSX2、MAGE-A3、NY-ESO-1、iLRP、WT12-281、RNF43 (2-116+696-783) 及CEA-NE3。

[0046] 在本发明另一实施方式中,该抗原为HPV E7抗原,包含与选自以下项目所构成群组的序列具有至少90%同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:21及22。在本发明一个优选实施方式中,该抗原为HPV E7抗原,其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列。

[0047] 在本发明另一实施方式中,该融合蛋白进一步包含内质网滞留序列,其位于该融合蛋白的C端。

[0048] 在本发明一个实施方式中,该免疫原性蛋白质为融合蛋白,其包含SEQ ID NO:54的序列。例如,该免疫原性蛋白质可为融合蛋白PE<sub>407</sub>-E7-K3 (SEQ ID NO:54)。

[0049] 在本发明另一实施方式中,该免疫原性蛋白质为融合蛋白,其包含SEQ ID NO:55的序列。例如,该免疫原性蛋白质可为融合蛋白RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3 (SEQ ID NO:55)。

[0050] 在本发明另一实施方式中,该免疫原性蛋白质为融合蛋白,其包含:

[0051] (a) 抗原呈递细胞(APC)结合域或CD91受体结合域,位于该融合蛋白的N端;

[0052] (b) 转位肽,在长度上具有34-112个氨基酸残基,包含与SEQ ID NO:3、4、20或41具有至少90%同一性的氨基酸序列,位于该APC结合域或该CD91受体结合域的C端;

- [0053] (c) 病原体的抗原;
- [0054] (d) 核输出信号 (nuclear export signal, NES), 包含 SEQ ID NO:44 的氨基酸序列; 以及
- [0055] (e) 内质网滞留序列, 位于该融合蛋白的 C 端;
- [0056] 其中该核输出信号位于该抗原与该内质网滞留序列之间, 或该转位肽与该抗原之间。
- [0057] 在本发明另一实施方式中, 该免疫原性蛋白质为融合蛋白, 其包含:
- [0058] (a) 抗原呈递细胞 (APC) 结合域或 CD91 受体结合域, 位于该融合蛋白的 N 端;
- [0059] (b) 转位肽, 在长度上具有 34-61 个氨基酸残基, 包含与 SEQ ID NO:3、20 或 41 具有至少 90% 同一性的氨基酸序列, 位于该 APC 结合域或该 CD91 受体结合域的 C 端;
- [0060] (c) 病原体的抗原;
- [0061] (d) 核输出信号, 包含 SEQ ID NO:44 的氨基酸序列; 以及
- [0062] (e) 内质网滞留序列, 位于该融合蛋白的 C 端;
- [0063] 其中该核输出信号位于该抗原与该内质网滞留序列之间, 或该转位肽与该抗原之间。
- [0064] 在本发明另一实施方式中, 该 SEQ ID NO:44 的 C 端氨基酸为丙氨酸 (alanine)。
- [0065] 在本发明另一实施方式中, 该核输出信号包含 SEQ ID NO:45 的氨基酸序列。
- [0066] 在本发明另一实施方式中, 该内质网滞留序列包含 SEQ ID NO:14 的氨基酸序列。
- [0067] 在本发明另一实施方式中, 该核输出信号及该 ER 滞留序列形成融合肽, 其为包含与 SEQ ID NO:43 具有至少 90% 同一性的氨基酸序列。
- [0068] 在本发明另一实施方式中, 该转位肽在长度上具有 34-61 个氨基酸残基。
- [0069] 在本发明另一实施方式中, 该转位肽在长度上具有 34-46 个氨基酸残基。
- [0070] 在本发明另一实施方式中, 该 APC 结合域或该 CD91 受体结合域不含绿脓杆菌外毒素 A (PE) 结合域 Ia 的氨基酸序列。
- [0071] 在本发明另一实施方式中, 该 APC 结合域或该 CD91 受体结合域包含 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列。
- [0072] 在本发明另一实施方式中, 该 APC 结合域或该 CD91 受体结合域的氨基酸序列为 SEQ ID NO:9。
- [0073] 在本发明另一实施方式中, 该抗原是来自病原体的两个或多个抗原肽的融合抗原。
- [0074] 在本发明另一实施方式中, 该 ER 滞留序列的长度超过 4 个氨基酸残基。
- [0075] 在本发明另一实施方式中, 该转位肽包含与 SEQ ID NO:3、4、20 或 41 具有至少 95% 同一性的氨基酸序列。
- [0076] 在本发明另一实施方式中, 该 APC 结合域或该 CD91 受体结合域展现能够识别并结合抗原呈递细胞 (APC) 上受体的特性, 该抗原呈递细胞 (APC) 选自以下项目所构成群组: 树突细胞、单核血球、B 细胞及淋巴细胞。
- [0077] 在本发明另一实施方式中, 该病原体选自以下项目所构成群组: 猪生殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV)、猪圆环病毒 2 (PCV2)、口蹄疫病毒 (Foot-and-mouth disease virus, FMDV)、猪瘟病毒 (Classical Swine Fever Virus, CSFV)、新城鸡瘟病毒 (Newcastle

disease virus, NDV)、传染性胃肠炎病毒 (Transmissible gastroenteritis virus, TGEV)、猪流行性下痢病毒 (Porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)、流行性感冒病毒、假性狂犬病病毒 (Pseudorabies virus)、微小病毒 (Parvovirus)、猪水疱病病毒 (Swine vesicular disease virus, SVDV)、痘病毒 (Poxvirus)、轮状病毒 (Rotavirus)、肺炎霉浆菌 (Mycoplasma pneumonia)、疱疹病毒 (Herpes virus)、传染性支气管炎病毒 (Infectious bronchitis virus) 及传染性华氏囊病病毒 (Infectious bursal disease virus)。

[0078] 该疫苗组合物可采肠胃外给药剂型, 例如皮下或肌内注射。

[0079] 另一方面, 本发明关于上述组合物在制造一种药剂中的用途, 所述药剂用以在有此需要的患者中诱发病原体抗原特异性T细胞介导免疫反应。

[0080] 可选地, 另一方面, 本发明关于上述组合物在有此需要的患者中诱发病原体抗原特异性T细胞介导免疫反应的用途。

[0081] 进一步可选地, 本发明关于一种在有此需要的患者中诱发经强化的抗原特异性T细胞介导免疫反应的方法, 其包括对有此需要的患者中施用治疗有效量的上述组合物, 由此在有此需要的患者中诱发经强化的抗原特异性T细胞介导免疫反应。

[0082] 上述及其他方面将通过以下优选实施例的描述参照以下附图描述, 根据其所作的变化及修改均应属于本发明新颖概念的精神及范畴。

[0083] 附图阐明本发明的一种或多种实施例, 并配合书面叙述共同说明本发明的原理。各附图中以相同的附图标记指代实施例中相同或相似的组件。

## 附图说明

[0084] 图1为构建体示意图。

[0085] 图2的表格显示各种疫苗组合物诱发的细胞介导免疫原性。

[0086] 图3的表格显示各种疫苗组合物诱发的体液免疫原性。

[0087] 图4显示免疫接种程序。

[0088] 图5A的图表显示基于皂苷的佐剂GPI-0100与TLR激动剂佐剂对刺激免疫原性蛋白质PE<sub>407</sub>-E7-K3所诱发T细胞介导免疫反应上的相互作用。

[0089] 图5B为将图5A的数据以GPI-0100 (50微克/剂) 为基准进行标准化后的图表。

[0090] 图6的图表显示图5A动物组的抗体效价。

[0091] 图7A的图表显示基于皂苷的佐剂QS-21与TLR激动剂佐剂对刺激免疫原性蛋白质PE<sub>407</sub>-E7-K3所诱发T细胞介导免疫反应的相互作用。

[0092] 图7B为将图7A的数据以QS-21 (10微克/剂) 为基准进行标准化后的图表。

[0093] 图7C为将图7A的数据以GPI-0100 (100微克/剂) 为基准进行标准化后的图表。

[0094] 图8的图表显示图7A动物组的抗体效价。

[0095] 图9的图表显示各种疫苗制剂诱发的T细胞介导免疫反应。

[0096] 图10A的表格显示多种包含免疫原性蛋白质及一种或两种佐剂的疫苗制剂。

[0097] 图10B为肿瘤小鼠模型的免疫接种程序。

[0098] 图11的图表显示经PE<sub>407</sub>-E7-K3结合各种佐剂 (n=4) 接种的动物组肿瘤大小曲线。安慰剂组施用PBS (亦即无佐剂及PE<sub>407</sub>-E7-K3)。

## 具体实施方式

[0099] 本发明将于以下实例详细描述,此处所举实例仅为说明之用,本领域的技术人员应由此想到多种修改与变化。在此详述本发明的各种实施例。在附图中,类似的组件标以类似的编号。在本说明书及所附的权利要求书中,除非前后文另有指明,否则“一”、“一种”及“该”的意义包括复数。同样,本说明书及所附的权利要求书中,除非前后文另有指明,否则“在…内”的意义包括“在…内”及“在…上”。此外,说明书中所用的标题或副标题仅为方便读者参照,不应影响本发明的范围。此说明书中所用的其他术语将于下文明确定义。

### [0100] 定义

[0101] 本说明书中所用术语普遍具有其在此技术中针对本发明相关用途及各术语所用上下文所应理解的通常意义。以下就某些用于描述本发明的术语进行说明,以利于读者了解本发明的描述。为求便利,某些术语可能带有强调性标示,例如使用斜体字和/或引号。强调性标示的使用并不影响术语的范围及意义;术语的范围及意义在相同的上下文中不论有无强调性标示均为相同。应理解相同的事物可通过多种方式表述。因此,在此所讨论的一个或多个术语可能使用替代性用语及同义词,术语在此阐述或讨论与否并非表示该术语有无特殊重要性。在此提供特定术语的同义词。对于一种或多种同义词的使用并非排除其他同义词的使用。本说明书中各处使用的实例,包括在此所述的术语范例,均仅属说明用途,不应对本发明或任何例示的术语的范围及含义构成限制。同理,本发明并不受限于本说明书中所提出的各种实施例。

[0102] 除非另有定义,否则在此使用的所有技术及科学术语均具有本发明所属技术领域人员通常理解的含义。若有抵触,应以本文件及其所提供的定义为准。

[0103] 美国专利申请公开案第20140154285A1号及第20140154280A1号中所述将例如融合蛋白等免疫原性蛋白质使用作为免疫原性增强剂,用以诱发抗原特异性T细胞反应,各案整体在此通过引用并入本文。

[0104] Toll样受体(TLR)4配体,特别是激动剂(agonist),例如脂质A衍生物,具体而言是单磷酸脂质A(monophosphoryl lipid A),或更具体而言是3脱酰单磷酸脂质A(3Deacylated monophosphoryl lipid A,3D-MPL)。GlaxoSmithKline Biologicals N.A.所销售的3D-MPL以MPL为名,而在本说明书中将其称为MPL或3D-MPL。

[0105] 美国专利第5,057,540号、Kensil,C.R.发表的“皂苷作为疫苗佐剂(Saponins as vaccine adjuvants)” (Crit Rev Ther Drug Carrier Syst,1996,12(1-2):1-55)以及EP 0362279B1,均对Quil A[取自南美皂树(Quillaja Saponaria Molina)的树皮]及其分离部分有所描述。

[0106] QS-21为取自南美皂树树皮的天然皂苷。QS-21为Quil A的HPLC纯化无毒分离部分,在美国专利第5,057,540号中有所描述。

[0107] 术语“抗原呈递细胞(APC)或辅助细胞(accessory cell)”意指能够展现与其表面上主要组织相容性复合体(MHC)复合的外来抗原的细胞。T细胞可利用其细胞受体(TCR)识别该复合体。该细胞处理抗原并将其呈递给T细胞。专门的抗原呈递细胞的主要种类包括:树突细胞(DC)、巨噬细胞、单核血球及特定B细胞。

[0108] 术语“抗原呈递细胞(APC)结合域”意指可结合至抗原呈递细胞(APC)的结构域。

APC结合域可为一种多肽,其包含与选自以下项目所构成群组的序列具有至少90%同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、6、7、8及9。APC结合域为能够识别并结合APC上受体的配体。

[0109] 分化簇91(Cluster of differentiation 91,CD91)为可形成细胞膜中的受体,并参与受体介导的内吞作用(receptor-mediated endocytosis)的蛋白质。

[0110] 术语“蛋白质转导结构域”意指多肽或融合多肽,其可致敏T细胞,并从而强化抗原特异性T细胞反应,和/或将抗原导引或指向(亦即靶向)抗原呈递的第一型主要组织相容性复合体(MHC-I)路径(亦即胞毒性T细胞路径)。

[0111] 术语“致敏T细胞”普遍是指CD8+及CD4+T细胞受到致敏作用影响,且因此CD8+(CTL)及CD4+T细胞对于抗原激发的反应受到强化。抗原特异性细胞介导免疫反应的测量方式将对抗原反应时所产生的抗原特异性诱导的 $\gamma$ -干扰素( $\gamma$ -interferon)量化。例如,如果没有致敏信号(亦即无蛋白质转导结构域),抗原独自作用可能仅产生微弱或甚至完全无法产生细胞介导免疫反应,亦即,CD8+及CD4+T细胞仅产生少量或甚至完全不产生抗原特异性的 $\gamma$ -干扰素,而如果配合致敏信号(蛋白质转导结构域),抗原便可产生经强化的细胞介导免疫反应。因此,致敏信号(蛋白质转导结构域)的功能在于提升CD4+及CD8+T细胞在宿主体内的敏感度,而使宿主在其后受抗原刺激时,因CD4+及CD8+T细胞事先已经致敏化,故而该抗原可诱导经强化的抗原特异性T细胞介导免疫反应。

[0112] 蛋白质转导结构域可为“融合多肽”,其中融合多肽包含T细胞致敏信号转导肽、连接子以及转位肽。例如,该融合多肽可为“CD28convPE<sub>t</sub>”多肽。

[0113] 术语“CD28conv”意指CD28保留区域,其为“T细胞致敏信号转导肽”。此为诱发CD28激动剂抗体(CD28agonist antibody)的表位。

[0114] 术语“PE<sub>t</sub>”或“PE<sub>t</sub>Core”意指长度上包含34个氨基酸残基的PE转位结构域核心。

[0115] “CD28conv”与“PE<sub>t</sub>”之间有连接子。融合多肽“CD28convPE<sub>t</sub>”的方向或排列十分重要,因为“CD28conv”(或T细胞致敏信号转导肽)必须位于PE<sub>t</sub>(或转位肽)的上游,亦即,PE<sub>t</sub>必须位于“CD28conv”的C端才能强化T细胞反应。特别地,“CD28convPE<sub>t</sub>”对CD28conv产生的IgG效价(称为CD28特定激动剂抗体)远高于反向融合肽PE<sub>t</sub>CD28conv。CD28特定激动剂抗体对CD4+及CD8+T细胞均能产生致敏作用。正确定向的融合多肽CD28convPE<sub>t</sub>在CD28conv与PE<sub>t</sub>区域之间有一个连接子(R<sup>1</sup>X<sup>2</sup>R<sup>3</sup>X<sup>4</sup>K<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)。此连接子包含抗原呈递细胞(APC)特定蛋白酶(组织蛋白酶L)切位点Lys-Arg(KR)。因此,融合蛋白RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-抗原-K3可被消化为两个片段:RAP1-CD28conv及PE<sub>t</sub>-抗原-K3。RAP1-CD28conv片段可进一步在溶酶体中消化,且CD28conv的表位经由MHC II路径呈递至APC细胞表面,进而诱发产生CD28激动剂抗体的体液免疫反应。因此,CD28激动剂抗体是由B细胞产生。该CD28激动剂抗体可结合至T细胞表面的CD28,并预先活化T细胞(CD4+及CD8+T细胞)。

[0116] “T细胞致敏信号转导肽”在长度上具有28-53个氨基酸残基且包含与SEQ ID NO:31具有至少90%同一性的氨基酸序列,其中X<sup>8</sup>为I或L;X<sup>10</sup>为V、F或A,X<sup>11</sup>为M或L,X<sup>17</sup>为L或I。

[0117] T细胞致敏信号转导肽包含主要区K<sup>1</sup>X<sup>2</sup>E<sup>3</sup>X<sup>4</sup>X<sup>5</sup>Y<sup>6</sup>P<sup>7</sup>P<sup>8</sup>P<sup>9</sup>Y<sup>10</sup>(SEQ ID NO:32),其中X<sup>2</sup>为I或L;X<sup>4</sup>为V、F或A,X<sup>5</sup>为M或L。

[0118] 美国专利第20140154285A1号提及特定用于小鼠的T细胞致敏信号转导肽(TDIYFCKIEFMYPYLDNEKSNGTIIH;SEQ ID NO:31,其中X<sup>8</sup>为I,X<sup>10</sup>为F,X<sup>11</sup>为M,X<sup>17</sup>为L)。

[0119] PE转位肽可包含与SEQ ID NO:3、4、20或41具有至少90%同一性的氨基酸序列。例

如,PE转位肽的氨基酸序列可为全长PE (SEQ ID NO:10)的a.a.280-a.a.313 (SEQ ID NO:3)、a.a.268-a.a.313 (SEQ ID NO:20)、a.a.253-a.a.313 (SEQ ID NO:41)或a.a.253-a.a.364 (SEQ ID NO:4)。亦即,PE转位肽的氨基酸序列可包含PE结构域II (a.a.253至a.a.364;SEQ ID NO:4)的任何部位,只要其包含a.a.280-a.a.313 (SEQ ID NO:3)必要片段即可。

[0120] 抗原可为致病蛋白、多肽或肽,其可引起因病原体造成的疾病,或能够在受病原体或肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen,TAA)感染的宿主体内诱发免疫反应,所述肿瘤相关抗原(TAA)为明确表达于肿瘤细胞中的多肽。抗原可选自病原体或癌细胞,包括但不限于,人乳头瘤病毒(HPV)、猪生殖与呼吸综合症病毒(PRRSV)、人类免疫缺陷病毒-1(HIV-1)、流感病毒、登革热病毒、丙型肝炎病毒(HCV)、乙型肝炎病毒(HBV)、猪圆环病毒2(PCV2)、猪瘟病毒(CSFV)、口蹄疫病毒(FMDV)、新城鸡瘟病毒(NDV)、传染性胃肠炎病毒(TGEV)、猪流行性下痢病毒(PEDV)、流行性感冒病毒、假性狂犬病病毒、微小病毒、猪水疱病病毒(SVDV)、痘病毒、轮状病毒、肺炎霉浆菌、疱疹病毒、传染性支气管炎病毒、传染性华氏囊病病毒、非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer)、乳腺癌(breast carcinoma)、黑色素瘤(melanoma)、淋巴瘤(lymphomas)、大肠癌(colon carcinoma)、肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)及其任何组合。例如,HPV E7蛋白质(E7)、HCV核心蛋白(HCV核心)、HBV X蛋白质(HBx)为疫苗开发所选用的抗原。抗原可为两种或更多种选自一种或多种致病蛋白的抗原所融合而成的融合抗原。例如,PRRSV ORF6与ORF5片段的融合抗原,或PRRSV与PCV2病原体的抗原蛋白融合。

[0121] 内质网滞留序列的作用在于协助抗原自胞吞区室(endocytotic compartment)转位进入ER,并使其保留在内腔中。其包含序列Lys Asp Glu Leu (KDEL)或RDEL。ER滞留序列可包含KKDLRDELKDEL (SEQ ID NO:16)、KKDELRDELKDEL (SEQ ID NO:17)、KKDELRVELKDEL (SEQ ID NO:18)或KDELKDELKDEL (SEQ ID NO:19)的序列,或是主要由上述序列所构成,或是由上述序列所构成。

[0122] 分子量39kDa的受体相关蛋白质(RAP1)为ER常驻蛋白(ER resident protein)及LDL受体相关蛋白质的分子伴侣(molecular chaperone)。其对于CD91(Kd~3nM)的结合亲和力极高,且由三个具有类似功能的区域组成。

[0123] PE<sub>407</sub> (SEQ ID NO.40)在前案专利(US 7,335,361B2)中称为PE(Δ III)。

[0124] 核输出信号(NES)意指蛋白质中4个疏水性残基的短氨基酸序列,将其标定以利用核运输从细胞核经核孔复合体输出至细胞质。输出蛋白(exproins)识别并结合NES。最常见的疏水性残基间隔为L<sup>1</sup>X<sup>2</sup>X<sup>3</sup>K<sup>4</sup>L<sup>5</sup>X<sup>6</sup>X<sup>7</sup>L<sup>8</sup>X<sup>9</sup>L<sup>10</sup>X<sup>11</sup> (SEQ ID NO.44),其中“L”为亮氨酸,“K”为赖氨酸,且“X<sup>2,3,6,7,9,11</sup>”为任何自然产生的氨基酸。例如,人造NES可包含序列Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala(LQKKLEELELA;SEQ ID NO:45)。

[0125] 术语“NESK”意指NES与ER滞留信号的融合肽(亦即,NES融合至ER滞留信号)。其为人工肽,负责处理核输出信号(NES)和ER滞留序列功能。因此,其可从细胞核将抗原经核孔复合体输出至细胞质,并协助抗原从细胞质转位至ER并将抗原保留于ER的内腔内。例如,NESK的氨基酸序列可为LQKKLEELELAKDEL (SEQ ID NO:43)。

[0126] 术语“患者”意指人类或非人类动物。

[0127] 术语“治疗”意指对于具有癌症或感染的患者,或有罹此疾病症状或倾向的人,施

予有效量的融合蛋白,以期治愈、缓和、解除、医治、改善或预防该疾病、其症状或其倾向。该病患可由医疗专业人士依据任何适当诊断方法的结果而判定。

[0128] 术语“有效量”意指在受治疗对象身上产生疗效所需活性化合物的用量。如本领域的技术人员所知,有效剂量依据给药路径、赋形剂使用及是否与其他治疗方式同时使用而异。

[0129] 缩写:CD 28,分化簇28。

[0130] 实施例

[0131] 以下依据本发明实施例提供示范性仪器、装置、方法及其相关结果,但不构成对于本发明范围的限制。应知晓实例中为便于阅读,可能加注标题或副标,其不应限制本发明的范围。此外,下文提出特定并公开特定理论,然而其不论对错,只要本发明的实施不受影响,不论任何特定理论或行动方案均不应限制本发明的范围。

[0132] 免疫原性蛋白质制备:

[0133] 免疫原性蛋白质在大肠杆菌表达系统中表达。其可能仅为抗原,或为抗原及ER滞留信号(K3)融合到绿脓杆菌外毒素A结构域I及II(亦即PE<sub>407</sub>)的C端,以产生PE<sub>407</sub>-(抗原)-K3融合蛋白,或为抗原及ER滞留信号融合到RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>融合蛋白的C端,以产生RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-(抗原)-K3融合蛋白(图1)。在此所用抗原为E7抗原,且以下实验使用产生的两种融合蛋白PE<sub>407</sub>-E7-K3(SEQ ID NO:54)及RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3(SEQ ID NO:55)。

[0134] 不同免疫原性组合物的免疫原性分析:

[0135] E7免疫原性蛋白质(包括E7抗原、PE<sub>407</sub>-E7-K3融合蛋白或RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3融合蛋白)被搭配以不同的佐剂,如铝盐(alum)、GPI-0100或QS-21,并于小鼠身上测试其免疫原性。所有免疫原性蛋白质与铝盐、GPI-0100或QS-21结合时均可能诱发中度至强度E7抗原特定体液免疫反应。E7抗原或PE<sub>407</sub>-E7-K3融合蛋白结合GPI-0100或QS-21时,可诱发轻度至重度的E7抗原特定细胞介导免疫反应。另一方面,RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3融合蛋白如果结合铝盐、GPI-0100及QS-21时,可诱发中度至强度细胞介导免疫反应。上述结果显示GPI-0100及QS-21为较能刺激体液免疫反应及细胞介导免疫反应两者的佐剂。此外,PE<sub>407</sub>-E7-K3或RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3融合蛋白仅有在与基于皂苷的佐剂(如GPI-0100或QS-21)结合时,才能诱发比E7抗原更强的反应。

[0136] T细胞介导免疫反应的动物研究

[0137] 从乐斯科生物科技股份有限公司购入5周龄雌性小鼠C57BL/6。每笼5只给予12小时昼/12小时夜照明周期。供其自由取用食物饮水,豢养一周并于实验前维持标准条件。用于实验的免疫原性蛋白质为生控基因疫苗股份有限公司所生产,经冻干的PE<sub>407</sub>-E7-K3(SEQ ID NO:54),每瓶含0.6毫克蛋白质。佐剂如下:GPI-0100(Hawaii Biotech);MPL(Cat.No.699800P,Avanti);Poly I:C(Cat.No.tlrl-pic-5,InvivoGen);R837(Cat.No.tlrl-imqs,InvivoGen);R848(Cat.No.tlrl-r848,InvivoGen);CpG1826(Cat.No.tlrl-1826,InvivoGen);以及实验室级QS-21(TheVax)。

[0138] 免疫接种程序示于图4。小鼠于3周期间每周一次以表1及图5A-B、7A-C所示的疫苗制剂接种。所有小鼠于最后一次免疫接种完的7天后处死,收取脾脏。将脾细胞分离出来。

[0139] 佐剂制剂

[0140] 评估表1所列佐剂制剂以调查免疫原性组合物的最佳免疫反应。

[0141] 表1

[0142]

| 制剂编号                  | 第一组       |          | 第二组                        |                      |                         |       |                          |
|-----------------------|-----------|----------|----------------------------|----------------------|-------------------------|-------|--------------------------|
|                       | (基于皂苷的佐剂) |          | (TLR 激动剂佐剂)                |                      |                         |       |                          |
|                       | QS-21     | GPI-0100 | Poly I: C<br>(TLR3<br>激动剂) | MPL<br>(TLR4<br>激动剂) | 咪唑喹啉                    |       | CpG1826<br>(TLR9<br>激动剂) |
| R837<br>(TLR7<br>激动剂) |           |          |                            |                      | R848<br>(TLR7/8<br>激动剂) |       |                          |
| A                     | 安慰剂       |          |                            |                      |                         |       |                          |
| B                     |           | 100 微克   |                            |                      |                         |       |                          |
| C                     |           | 50 微克    |                            |                      |                         |       |                          |
| D                     |           |          | 50 微克                      |                      |                         |       |                          |
| E                     |           |          |                            | 50 微克                |                         |       |                          |
| F                     |           |          |                            |                      | 50 微克                   |       |                          |
| G                     |           |          |                            |                      |                         | 50 微克 |                          |
| H                     |           |          |                            |                      |                         |       | 50 微克                    |
| I                     |           | 50 微克    | 50 微克                      |                      |                         |       |                          |
| J                     |           | 50 微克    |                            | 50 微克                |                         |       |                          |
| K                     |           | 50 微克    |                            |                      | 50 微克                   |       |                          |
| L                     |           | 50 微克    |                            |                      |                         | 50 微克 |                          |
| M                     |           | 50 微克    |                            |                      |                         |       | 50 微克                    |
| N                     | 10 微克     |          |                            |                      |                         |       |                          |
| O                     |           |          | 10 微克                      |                      |                         |       |                          |
| P                     |           |          |                            | 10 微克                |                         |       |                          |
| Q                     |           |          |                            |                      | 10 微克                   |       |                          |
| R                     |           |          |                            |                      |                         | 10 微克 |                          |
| S                     |           |          |                            |                      |                         |       | 10 微克                    |
| T                     | 10 微克     |          | 10 微克                      |                      |                         |       |                          |
| U                     | 10 微克     |          |                            | 10 微克                |                         |       |                          |
| V                     | 10 微克     |          |                            |                      | 10 微克                   |       |                          |
| W                     | 10 微克     |          |                            |                      |                         | 10 微克 |                          |
| X                     | 10 微克     |          |                            |                      |                         |       | 10 微克                    |

[0143] CD8<sup>+</sup>细胞的胞内细胞激素染色。

[0144] 在6孔平底组织培养盘装入脾细胞 ( $2 \times 10^7$ ) 并于37℃培养两小时, 加入或不加入1微克/毫升HPV<sub>16</sub>-E7肽 (其为全长PE的第49-57个氨基酸) 及布雷非德菌素A (Brefeldin A) 以及莫能菌素 (Monensin), 以增加细胞中细胞激素的累积, 提升对于细胞激素产生细胞 (cytokine-producing cell) 的可检测性。经培养后, 以300×g离心5分钟将细胞移入试管。弃置上清液, 大致震荡混合孔盘内容物, 然后以每一样本0.2毫克的荧光素异硫氰酸酯共轭

(fluorescein isothiocyanate-conjugated) 抗小鼠CD8 (复制体53-6.7, eBioscience) 及抗小鼠CD3 (复制体17A2, BioLegend) 进行表面标记物染色30分钟。在黑暗中于冰上以1毫升荧光流式细胞分选仪 (FACS) 缓冲液 (1% FBS于PBS中) 及IC固定溶液 (eBioscience) 清洗细胞30分钟, 之后再次悬浮于1毫升细胞透化清洗缓冲液 (BioLegend)。将细胞以Permwash (BD Pharmingen) 清洗两次, 而后以0.2毫克/样本的比例, 在黑暗中于冰上以在细胞透化清洗缓冲液中稀释的异藻蓝蛋白共轭 (allophycocyanin-conjugated) 抗小鼠IFN- $\gamma$  (复制体XMG1.2, eBioscience) 对胞内IFN- $\gamma$  进行染色30分钟。将细胞再次悬浮于1毫升FACS缓冲液中, 然后使用FACS Calibur流式细胞仪加以分析。

[0145] 在免疫原性检验中, 通过测量脾细胞中的CD3+/CD8+/IFN+T细胞数量评估各种疫苗制剂所诱发的抗原特异性T细胞介导免疫反应。图5A显示以各种疫苗制剂治疗的动物组每 $2 \times 10^7$ 脾细胞中的E7特定CD8+/IFN+双阳性CD3+T细胞百分比。将各组数据与以PE<sub>407</sub>-E7-K3与50微克/剂的GPI-0100组合治疗的动物组的数据进行比较 (图5B)。数据显示GPI-0100结合MPL或CpG1826可将免疫原性蛋白质诱发的T细胞介导免疫反应强化2至3倍。

[0146] 图7A显示以不同疫苗制剂接种的动物组每 $2 \times 10^7$ 脾细胞中的E7特定CD8+/IFN+双阳性CD3+T细胞百分比。将各组数据与以PE<sub>407</sub>-E7-K3与QS-21 (10微克/剂; 图7B) 或GPI-0100 (100微克/剂; 图7C) 组合治疗的动物组数据进行比较。数据显示, 相较于仅含单一佐剂QS-21 (10微克/剂) 的疫苗组合物, QS-21结合MPL (10微克/剂) 或CpG1826 (10微克/剂) 可将免疫原性蛋白质PE<sub>407</sub>-E7-K3诱发的T细胞介导免疫反应强化3至4倍 (图7B)。此外, 由包含组合佐剂QS-21及MPL或QS-21及CpG1826的疫苗制剂于动物组所诱发的T细胞介导免疫反应为仅包含单一佐剂GPI-0100 (100微克/剂) (图7C) 的疫苗制剂的8倍。

[0147] 体液免疫性的研究

[0148] 以如上所述的方式对动物进行接种并收集血清样本。将每一动物于各收集时点的血清样本在阻断缓冲液中稀释一万倍。使用ELISA法测定HPV16E7特定IgG程度 (涂覆E7pet32a 1微克/孔)。

[0149] 图6显示疫苗组合物使用单一TLR激动剂佐剂时, 仅诱发少量抗体, 但如果以TLR激动剂佐剂配合基于皂苷的佐剂GPI-0100 (50微克/剂) 使用, 则在第三次免疫接种后于小鼠身上诱发大量抗体。

[0150] 图8显示疫苗组合物使用单一TLR激动剂佐剂时, 仅诱发少量抗体, 但如果以TLR激动剂佐剂配合基于皂苷的佐剂QS-21 (10微克/剂) 使用, 包含QS-21+MPL或QS-21+CpG1826两种佐剂的制剂在对动物组进行第二次免疫接种后, 在动物体内产生大量抗体 (数据未示出)。QS-21结合所有TLR激动剂佐剂均于第三次免疫接种后产生大量抗体。数据显示QS-21或GPI-0100与Poly I:C的组合并没有强化QS-21或GPI-0100的效果, 因此GPI-100或QS-21可能是经由TLR3相关机制运作。咪唑喹啉佐剂 (R837、R848) 的作用路径与CpG1826相同, 但却展现完全不同的T细胞介导免疫性。至于咪唑喹啉是否能够经由K细胞和/或巨噬细胞作用则仍有待调查。

[0151] 不同平台融合蛋白所诱发的T细胞介导免疫原性反应

[0152] 进一步利用上述发现的最佳佐剂组合检验不同免疫原性蛋白质PE<sub>407</sub>-E7-K3及RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3所诱发的T细胞介导免疫原性反应, 并执行与图5A所示相同的免疫原性测定。从乐斯科生物科技股份有限公司购入5周龄小鼠57BL/6。免疫接种程序与图4

所示相同。表2显示用于此研究的疫苗制剂。

[0153] 图9显示融合蛋白RAP1-CD28convPE<sub>t</sub>-E7-K3诱发的T细胞介导免疫反应较融合蛋白PE<sub>407</sub>-E7-K3强。然而,不论使用何种佐剂组合,两种平台所诱发的T细胞介导免疫反应的模式相似。

[0154] 表2

[0155]

| 制剂编号 | 蛋白质                                         | QS-21 | GPI-0100 | MPL   | CpG1826 |
|------|---------------------------------------------|-------|----------|-------|---------|
| A    | 安慰剂                                         |       |          |       |         |
| B    | PE <sub>407</sub> -E7-K3                    | 10 微克 | 50 微克    |       |         |
| C    |                                             |       | 50 微克    |       |         |
| D    |                                             |       | 50 微克    | 50 微克 |         |
| E    |                                             |       | 50 微克    |       | 50 微克   |
| F    |                                             | 10 微克 |          |       |         |
| G    |                                             | 10 微克 |          | 10 微克 |         |
| H    |                                             | 10 微克 |          |       | 10 微克   |
| I    |                                             | 10 微克 | 50 微克    |       |         |
| J    | RAP1-<br>CD28convPE <sub>t</sub> -<br>E7-K3 |       | 50 微克    |       |         |
| K    |                                             |       | 50 微克    | 50 微克 |         |
| L    |                                             |       | 50 微克    |       | 50 微克   |
| M    |                                             | 10 微克 |          |       |         |
| N    |                                             | 10 微克 |          | 10 微克 |         |
| O    |                                             | 10 微克 |          |       | 10 微克   |

[0156] TC-1肿瘤动物模型的研究

[0157] 疫苗:100微克的PE<sub>407</sub>-E7-K3与不同佐剂或其组合配制成剂。疫苗制剂如图10A所示。以TC-1细胞株 ( $5 \times 10^4$  细胞/小鼠,皮下注射) 刺激7天之后,每7天对小鼠接种疫苗一次,共计三次(图10B)。结果显示相较于单一佐剂GPI-0100 (100微克/剂),组合佐剂QS-21 (10微克/剂) 与MPL (10微克/剂)、QS-21 (10微克/剂) 与CpG1826 (10微克/剂)、GPI-0100 (50微克/剂) 与MPL (50微克/剂),或GPI-0100 (50微克/剂) 与CpG1826 (50微克/剂) 更能够有效抑制TC-1肿瘤细胞的生长(图11)。

[0158] 表3显示各种融合蛋白成分的序列标识符 (SEQ ID NO.)。

[0159] 表4显示在动物体内测试T细胞介导免疫反应效果的融合蛋白及抗原序列。

[0160] 表3

[0161]

| 成分                                                                                                                             | 序列标识符<br>SEQ ID NO: | 长度<br>(残基) |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------|
| hCD28 核心<br>TDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH                                                                                       | 1                   | 28         |
| hCD28 最大<br>NCDGKLGNESVTFYLNQLYVNQTDIYFCKIEVM<br>YPPPYLDNEKSNGTIIHVKG                                                          | 2                   | 53         |
| PE <sub>t</sub> 核心 (PE 转位结构域核心; PE 的 a.a. 280- a.a. 313)                                                                       | 3                   | 34         |
| PE <sub>t</sub> 最大(转位结构域最大, PE 的 a.a. 253 - a.a. 364)                                                                          | 4                   | 112        |
| RAP1 最大 (RAP1 的结构域 III)                                                                                                        | 5                   | 104        |
| A2M 最小                                                                                                                         | 6                   | 153        |
| HIV-Tat 最小                                                                                                                     | 7                   | 24         |
| HSPs 最小, 热休克 70 kDa 蛋白质 (HSP; 人类)                                                                                              | 8                   | 641        |
| 最小绿脓杆菌外毒素 A (PE)结合域 Ia (APC 结合域, PE 的 a.a. 1- a.a. 252)                                                                        | 9                   | 252        |
| 连接子 R <sup>1</sup> X <sup>2</sup> R <sup>3</sup> X <sup>4</sup> K <sup>5</sup> R <sup>6</sup> , 其中“X <sup>2,4</sup> ”为任何氨基酸残基。 | 15                  | 6          |
| 全长 PE (外毒素 A 成熟型, 绿脓杆菌)                                                                                                        | 10                  | 613        |
| 全长 RAP1 (人类低密度脂蛋白受体相关蛋白的相关蛋白质 1, LRPAP1); 结构域 1: a.a. 1- a.a. 112; 结构域 2: a.a. 113 - a.a. 218; 结构域 3: a.a. 219 - a.a. 323.     | 11                  | 323        |
| 全长 A2M (人类 α-2-巨球蛋白受体相关蛋白质前驱物)                                                                                                 | 12                  | 357        |
| HIV-Tat (人类免疫缺陷病毒 1)                                                                                                           | 13                  | 101        |
| KDEL (内质网滞留序列)                                                                                                                 | 14                  | 4          |
| KKDLRDELKDEL (K3)                                                                                                              | 16                  | 12         |
| KKDELRLDELKDEL (K3)                                                                                                            | 17                  | 13         |
| KKDELRLVELKDEL (K3)                                                                                                            | 18                  | 13         |
| KDELKDELKDEL (K3)                                                                                                              | 19                  | 12         |

[0162]

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|-----|
| PE <sub>268-313</sub> (全长 PE 的 a.a. 268- a.a. 313)<br>PLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLA<br>ARLSWNQVDQVIR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 20 | 46  |
| CD28convPE <sub>t</sub><br>T <sup>1</sup> D <sup>2</sup> I <sup>3</sup> Y <sup>4</sup> F <sup>5</sup> C <sup>6</sup> K <sup>7</sup> X <sup>8</sup> E <sup>9</sup> X <sup>10</sup> X <sup>11</sup> Y <sup>12</sup> P <sup>13</sup> P <sup>14</sup> P <sup>15</sup> Y <sup>16</sup> X <sup>17</sup> D <sup>18</sup> N <sup>19</sup><br>E <sup>20</sup> K <sup>21</sup> S <sup>22</sup> N <sup>23</sup> G <sup>24</sup> T <sup>25</sup> I <sup>26</sup> I <sup>27</sup> H <sup>28</sup> R <sup>29</sup> X <sup>30</sup> R <sup>31</sup> X <sup>32</sup> K <sup>33</sup> R <sup>34</sup> G <sup>35</sup> W <sup>36</sup><br>E <sup>37</sup> Q <sup>38</sup> L <sup>39</sup> E <sup>40</sup> Q <sup>41</sup> C <sup>42</sup> G <sup>43</sup> Y <sup>44</sup> P <sup>45</sup> V <sup>46</sup> Q <sup>47</sup> R <sup>48</sup> L <sup>49</sup> V <sup>50</sup> A <sup>51</sup> L <sup>52</sup><br>Y <sup>53</sup> L <sup>54</sup> A <sup>55</sup> A <sup>56</sup> R <sup>57</sup> L <sup>58</sup> S <sup>59</sup> W <sup>60</sup> N <sup>61</sup> Q <sup>62</sup> V <sup>63</sup> D <sup>64</sup> Q <sup>65</sup> V <sup>66</sup> T <sup>67</sup> R <sup>68</sup> ,<br>其中 X <sup>8</sup> 为 I 或 L; X <sup>10</sup> 为 V、F 或 A, X <sup>11</sup> 为 M 或 L, X <sup>17</sup> 为 L 或 I, X <sup>30-32</sup> 为任何氨基酸残基。 | 30 | 68  |
| CD28 共有序列<br>T <sup>1</sup> D <sup>2</sup> I <sup>3</sup> Y <sup>4</sup> F <sup>5</sup> C <sup>6</sup> K <sup>7</sup> X <sup>8</sup> E <sup>9</sup> X <sup>10</sup> X <sup>11</sup> Y <sup>12</sup> P <sup>13</sup> P <sup>14</sup> P <sup>15</sup> Y <sup>16</sup> X <sup>17</sup><br>D <sup>18</sup> N <sup>19</sup> E <sup>20</sup> K <sup>21</sup> S <sup>22</sup> N <sup>23</sup> G <sup>24</sup> T <sup>25</sup> I <sup>26</sup> I <sup>27</sup> H <sup>28</sup> , 其中 X <sup>8</sup> 为 I 或 L;<br>X <sup>10</sup> 为 V、F 或 A, X <sup>11</sup> 为 M 或 L, X <sup>17</sup> 为 L 或 I。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 31 | 28  |
| CD28 关键区<br>K <sup>1</sup> X <sup>2</sup> E <sup>3</sup> X <sup>4</sup> X <sup>5</sup> Y <sup>6</sup> P <sup>7</sup> P <sup>8</sup> P <sup>9</sup> Y <sup>10</sup> , 其中 X <sup>2</sup> 为 I 或 L; X <sup>4</sup> 为 V、F 或 A, X <sup>5</sup> 为 M 或 L。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 32 | 10  |
| SSX2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 33 | 187 |
| MAGE-A3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 34 | 314 |
| NY-ESO-1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 35 | 181 |
| iLRP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 36 | 296 |
| WT12-281                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 37 | 279 |
| RNF43 (2-116 + 696-783)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 38 | 406 |
| CEA-NE3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 39 | 284 |
| PE <sub>407</sub> (全长 PE 的 a.a. 1- a.a. 407)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 40 | 407 |
| PE <sub>253-313</sub> (全长 PE 的 a.a. 253- a.a. 313)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 41 | 61  |
| PE <sub>313</sub> (全长 PE 的 a.a. 1- a.a. 313)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 42 | 313 |
| NESK 为 LQKKLEELELAKDEL *                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 43 | 15  |
| NES 共有序列为 L <sup>1</sup> X <sup>2</sup> X <sup>3</sup> K <sup>4</sup> L <sup>5</sup> X <sup>6</sup> X <sup>7</sup> L <sup>8</sup> X <sup>9</sup> L <sup>10</sup> X <sup>11</sup> , 其中<br>“L”为亮氨酸, “K”为赖氨酸且“X <sup>2,3,6,7,9,11</sup> ”为任何自然产生的氨基酸。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 44 | 11  |
| NES 为 LQKKLEELELA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 45 | 11  |
| PCV2 ORF2 (猪圆环病毒类型 2 开放阅读框 2)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 46 | 192 |
| CSFV E2 (猪瘟病毒包膜糖蛋白 E2)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 47 | 328 |

[0163]

|                                             |    |     |
|---------------------------------------------|----|-----|
| FMDV VP1 肽 (VP1 的病毒衣壳蛋白 a.a. 127- a.a. 176) | 48 | 50  |
| FMDV 3A 肽 (3A 的 a.a. 21-35)                 | 49 | 15  |
| FMDV (口蹄疫病毒) VP1-3A 肽**                     | 50 | 65  |
| NDV F 肽 (融合蛋白的 a.a. 65- a.a. 82)            | 51 | 18  |
| NDV HN 肽 (血球凝集素神经氨酸酶的 a.a. 101- a.a. 111)   | 52 | 11  |
| NDV FHN 肽***                                | 53 | 29  |
| PE <sub>407</sub> -E7-K3                    | 54 | 525 |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -E7-K3         | 55 | 290 |

[0164] \*:粗体字代表人工核输出信号的氨基酸序列;带下划线的字代表内质网滞留信号的氨基酸序列。

[0165] \*\*:VP1-3A肽 (SEQ ID NO:50) 是由VP1的a.a.127-a.a.176与3A的a.a.21-a.a.35所组成的融合抗原;亦即FMDV VP1肽 (SEQ ID NO:48) 与FMDV3A肽 (SEQ ID NO:49) 的融合蛋白。

[0166] \*\*\*:FHN肽 (SEQ ID NO:53) 是由融合蛋白的a.a.65-a.a.82与血球凝集素神经氨酸酶的a.a.101-a.a.111所组成的融合抗原;亦即,NDV F肽 (SEQ ID NO:51) 与NDV HN肽 (SEQ ID NO:52) 的融合蛋白。

[0167] 表4

[0168]

| 融合蛋白名称                                             | 抗原名称                                                                              | 抗原<br>SEQ ID NO: |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -E7-K3                | HPV16 E7 (全长)                                                                     | 21               |
| PE <sub>407</sub> -E7-K3                           |                                                                                   |                  |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -E7 <sub>18</sub> -K3 | HPV18 E7 (全长)                                                                     | 22               |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -HCVc-K3              | HCV 核心蛋白 (全长)                                                                     | 23               |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -HBx-K3               | HBV X 蛋白 (全长)                                                                     | 24               |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -PCV2-K3              | PCV2 ORF2 (ORF2 的片段)                                                              | 25               |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -DGD-K3               | PRRSV 核壳体<br>(ORF7 a.a. 64 - a.a. 123、连接子<br>与 ORF7 a. a. 64- a.a. 123 的融合<br>抗原) | 26               |
| RAP1-CD28convPE <sub>t</sub> -M12-K3               | PRRSV RNA 依赖 RNA 聚合酶<br>(ORF1b a.a.1046-a.a. 1210)                                | 27               |

[0169]

|                                       |                                                               |    |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----|
| RAP1-CD28convPE <sub>T</sub> -PQAB-K3 | PRRSV 美株: ORF6 (a.a. 2-a.a. 26)与 ORF5 (a.a. 31- a.a. 63)的融合抗原 | 28 |
| RAP1-CD28convPE <sub>T</sub> -RSAB-K3 | PRRSV 欧株: ORF6 (a.a. 2-a.a. 28)与 ORF5 (a.a. 31-a.a. 64)的融合抗原  | 29 |

[0170] 上述实施例及实例的选择及描述用以说明本发明的原理及其实际应用,以利于本领域的技术人员运用本发明及各种实施例,并就实际使用需要进行适当的各种修改。熟悉本发明所属领域技术的人员应可轻易想到不脱离本发明精神及范畴的替代实施例。本说明书中引述及讨论的所有参考文献均以其整体于此合并参照,如同其各自于此提及而并入本说明书的程度。

## 序列表

<110> 生控基因疫苗股份有限公司  
<120> 包含免疫原性蛋白质及组合佐剂并用以诱发抗原特异性T细胞反应的疫苗组合  
物

<130> 10021-004PCT

<150> US/62121406

<151> 2015-02-26

<160> 55

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hCD28 核心

<400> 1

Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10 15

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His

20 25

<210> 2

<211> 53

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hCD28 最大

<400> 2

Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr Phe Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile Glu Val

20 25 30

Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile

35 40 45

Ile His Val Lys Gly

50

<210> 3

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PEt 核心

<400> 3

Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val

1 5 10 15

Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val

20 25 30

Ile Arg

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PEt 最大

<400> 4

Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro

1 5 10 15

Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu

20 25 30

Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala

35 40 45

Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu

50 55 60

Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln

65 70 75 80

Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu

85 90 95

Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn

100 105 110

<210> 5

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> RAP1 最小

<400> 5

Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln

1 5 10 15

Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu  
 20 25 30  
 Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln  
 35 40 45  
 Leu Glu Ile Ala His Glu Lys Leu Arg His Ala Glu Ser Val Gly Asp  
 50 55 60  
 Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser Arg Glu Lys His Ala Leu Leu Glu Gly  
 65 70 75 80  
 Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu  
 85 90 95  
 Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg  
 100

<210> 6

<211> 153

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> A2M 最小

<400> 6

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

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HIV-Tat 最小

&lt;400&gt; 7

Arg Gly Asp Pro Thr Gly Gln Glu Glu Ser Lys Glu Lys Val Glu Lys

1 5 10 15

Glu Thr Val Val Asp Pro Val Thr

20

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 641

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HSPs 最小

&lt;400&gt; 8

Met Ala Lys Ala Ala Ala Ile Gly Ile Asp Leu Gly Thr Thr Tyr Ser

1 5 10 15

Cys Val Gly Val Phe Gln His Gly Lys Val Glu Ile Ile Ala Asn Asp

20 25 30

Gln Gly Asn Arg Thr Thr Pro Ser Tyr Val Ala Phe Thr Asp Thr Glu

35 40 45

Arg Leu Ile Gly Asp Ala Ala Lys Asn Gln Val Ala Leu Asn Pro Gln

50 55 60

Asn Thr Val Phe Asp Ala Lys Arg Leu Ile Gly Arg Lys Phe Gly Asp

65 70 75 80

Pro Val Val Gln Ser Asp Met Lys His Trp Pro Phe Gln Val Ile Asn

85 90 95

Asp Gly Asp Lys Pro Lys Val Gln Val Ser Tyr Lys Gly Glu Thr Lys

100 105 110

Ala Phe Tyr Pro Glu Glu Ile Ser Ser Met Val Leu Thr Lys Met Lys

115 120 125

Glu Ile Ala Glu Ala Tyr Leu Gly Tyr Pro Val Thr Asn Ala Val Ile

130 135 140

Thr Val Pro Ala Tyr Phe Asn Asp Ser Gln Arg Gln Ala Thr Lys Asp

145 150 155 160

Ala Gly Val Ile Ala Gly Leu Asn Val Leu Arg Ile Ile Asn Glu Pro

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |     |     |
| Thr | Ala | Ala | Ala | Ile | Ala | Tyr | Gly | Leu | Asp | Arg | Thr | Gly | Lys | Gly | Glu |
|     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |     |
| Arg | Asn | Val | Leu | Ile | Phe | Asp | Leu | Gly | Gly | Gly | Thr | Phe | Asp | Val | Ser |
|     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |
| Ile | Leu | Thr | Ile | Asp | Asp | Gly | Ile | Phe | Glu | Val | Lys | Ala | Thr | Ala | Gly |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Asp | Thr | His | Leu | Gly | Gly | Glu | Asp | Phe | Asp | Asn | Arg | Leu | Val | Asn | His |
| 225 | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |     |     |     |     |
| Phe | Val | Glu | Glu | Phe | Lys | Arg | Lys | His | Lys | Lys | Asp | Ile | Ser | Gln | Asn |
|     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |     |     |
| Lys | Arg | Ala | Val | Arg | Arg | Leu | Arg | Thr | Ala | Cys | Glu | Arg | Ala | Lys | Arg |
|     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |     |
| Thr | Leu | Ser | Ser | Ser | Thr | Gln | Ala | Ser | Leu | Glu | Ile | Asp | Ser | Leu | Phe |
|     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |
| Glu | Gly | Ile | Asp | Phe | Tyr | Thr | Ser | Ile | Thr | Arg | Ala | Arg | Phe | Glu | Glu |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Leu | Cys | Ser | Asp | Leu | Phe | Arg | Ser | Thr | Leu | Glu | Pro | Val | Glu | Lys | Ala |
| 305 | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |     |     |     |     |
| Leu | Arg | Asp | Ala | Lys | Leu | Asp | Lys | Ala | Gln | Ile | His | Asp | Leu | Val | Leu |
|     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |     |     |     |
| Val | Gly | Gly | Ser | Thr | Arg | Ile | Pro | Lys | Val | Gln | Lys | Leu | Leu | Gln | Asp |
|     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |     |     |
| Phe | Phe | Asn | Gly | Arg | Asp | Leu | Asn | Lys | Ser | Ile | Asn | Pro | Asp | Glu | Ala |
|     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |     |
| Val | Ala | Tyr | Gly | Ala | Ala | Val | Gln | Ala | Ala | Ile | Leu | Met | Gly | Asp | Lys |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Ser | Glu | Asn | Val | Gln | Asp | Leu | Leu | Leu | Leu | Asp | Val | Ala | Pro | Leu | Ser |
| 385 | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |     |     |     |     |
| Leu | Gly | Leu | Glu | Thr | Ala | Gly | Gly | Val | Met | Thr | Ala | Leu | Ile | Lys | Arg |
|     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |     |     |     |
| Asn | Ser | Thr | Ile | Pro | Thr | Lys | Gln | Thr | Gln | Ile | Phe | Thr | Thr | Tyr | Ser |
|     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |     |     |
| Asp | Asn | Gln | Pro | Gly | Val | Leu | Ile | Gln | Val | Tyr | Glu | Gly | Glu | Arg | Ala |
|     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |     |
| Met | Thr | Lys | Asp | Asn | Asn | Leu | Leu | Gly | Arg | Phe | Glu | Leu | Ser | Gly | Ile |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Pro | Pro | Ala | Pro | Arg | Gly | Val | Pro | Gln | Ile | Glu | Val | Thr | Phe | Asp | Ile |
| 465 | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |     |     |     |     |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Asp Ala Asn Gly Ile Leu Asn Val Thr Ala Thr Asp Lys Ser Thr Gly |     |     |
| 485                                                             | 490 | 495 |
| Lys Ala Asn Lys Ile Thr Ile Thr Asn Asp Lys Gly Arg Leu Ser Lys |     |     |
| 500                                                             | 505 | 510 |
| Glu Glu Ile Glu Arg Met Val Gln Glu Ala Glu Lys Tyr Lys Ala Glu |     |     |
| 515                                                             | 520 | 525 |
| Asp Glu Val Gln Arg Glu Arg Val Ser Ala Lys Asn Ala Leu Glu Ser |     |     |
| 530                                                             | 535 | 540 |
| Tyr Ala Phe Asn Met Lys Ser Ala Val Glu Asp Glu Gly Leu Lys Gly |     |     |
| 545                                                             | 550 | 555 |
| Lys Ile Ser Glu Ala Asp Lys Lys Lys Val Leu Asp Lys Cys Gln Glu |     |     |
| 565                                                             | 570 | 575 |
| Val Ile Ser Trp Leu Asp Ala Asn Thr Leu Ala Glu Lys Asp Glu Phe |     |     |
| 580                                                             | 585 | 590 |
| Glu His Lys Arg Lys Glu Leu Glu Gln Val Cys Asn Pro Ile Ile Ser |     |     |
| 595                                                             | 600 | 605 |
| Gly Leu Tyr Gln Gly Ala Gly Gly Pro Gly Pro Gly Gly Phe Gly Ala |     |     |
| 610                                                             | 615 | 620 |
| Gln Gly Pro Lys Gly Gly Ser Gly Ser Gly Pro Thr Ile Glu Glu Val |     |     |
| 625                                                             | 630 | 635 |
| Asp                                                             |     |     |
| <210> 9                                                         |     |     |
| <211> 252                                                       |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |
| <213> 绿脓杆菌                                                      |     |     |
| <400> 9                                                         |     |     |
| Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  |
| Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro |     |     |
| 20                                                              | 25  | 30  |
| Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val |     |     |
| 35                                                              | 40  | 45  |
| Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu |     |     |
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |
| Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn |     |     |

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

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 613

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 绿脓杆菌

&lt;400&gt; 10

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

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

Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln  
 435 440 445  
 Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala  
 450 455 460  
 Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly  
 465 470 475 480  
 Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly  
 485 490 495  
 Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr  
 500 505 510  
 Arg Thr Ser Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu  
 515 520 525  
 Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly  
 530 535 540  
 Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu  
 545 550 555 560  
 Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg  
 565 570 575  
 Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln  
 580 585 590  
 Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro  
 595 600 605  
 Arg Glu Asp Leu Lys  
 610

<210> 11

<211> 323

<212> PRT

<213> 人类

<400> 11

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

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| Leu Asn Val Ile Leu Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Gly Lys Lys Asp Ala |     |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |     |
| Arg Gln Val Thr Ser Asn Ser Leu Ser Gly Thr Gln Glu Asp Gly Leu |     |     |     |
| 100                                                             | 105 | 110 |     |
| Asp Asp Pro Arg Leu Glu Lys Leu Trp His Lys Ala Lys Thr Ser Gly |     |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |     |
| Lys Phe Ser Gly Glu Glu Leu Asp Lys Leu Trp Arg Glu Phe Leu His |     |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |     |
| His Lys Glu Lys Val His Glu Tyr Asn Val Leu Leu Glu Thr Leu Ser |     |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| Arg Thr Glu Glu Ile His Glu Asn Val Ile Ser Pro Ser Asp Leu Ser |     |     |     |
| 165                                                             | 170 | 175 |     |
| Asp Ile Lys Gly Ser Val Leu His Ser Arg His Thr Glu Leu Lys Glu |     |     |     |
| 180                                                             | 185 | 190 |     |
| Lys Leu Arg Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asp Arg Leu Arg Arg Val Ser |     |     |     |
| 195                                                             | 200 | 205 |     |
| His Gln Gly Tyr Ser Thr Glu Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile |     |     |     |
| 210                                                             | 215 | 220 |     |
| Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu |     |     |     |
| 225                                                             | 230 | 235 | 240 |
| Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys |     |     |     |
| 245                                                             | 250 | 255 |     |
| His Asn His Tyr Gln Lys Gln Leu Glu Ile Ala His Glu Lys Leu Arg |     |     |     |
| 260                                                             | 265 | 270 |     |
| His Ala Glu Ser Val Gly Asp Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser Arg Glu |     |     |     |
| 275                                                             | 280 | 285 |     |
| Lys His Ala Leu Leu Glu Gly Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val |     |     |     |
| 290                                                             | 295 | 300 |     |
| Lys Lys His Leu Gln Asp Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg His |     |     |     |
| 305                                                             | 310 | 315 | 320 |
| Asn Glu Leu                                                     |     |     |     |
| <210> 12                                                        |     |     |     |
| <211> 357                                                       |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人类                                                        |     |     |     |
| <400> 12                                                        |     |     |     |
| Met Ala Pro Arg Arg Val Arg Ser Phe Leu Arg Gly Leu Pro Ala Leu |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Leu Leu Leu Leu Leu Phe Leu Gly Pro Trp Pro Ala Ala Ser His Gly |     |     |     |

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

Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala  
340 345 350

Arg His Asn Glu Leu  
355

<210> 13

<211> 101

<212> PRT

<213> 人类免疫缺陷病毒

<400> 13

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

Gln Pro Lys Thr Pro Cys Thr Lys Cys Tyr Cys Lys Lys Cys Cys Leu  
20 25 30

His Cys Gln Val Cys Phe Met Thr Lys Gly Leu Gly Ile Ser Tyr Gly  
35 40 45

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala Pro Gln Asp Asn Lys Asn  
50 55 60

His Gln Val Ser Leu Ser Lys Gln Pro Thr Ser Arg Ala Arg Gly Asp  
65 70 75 80

Pro Thr Gly Gln Glu Glu Ser Lys Glu Lys Val Glu Lys Glu Thr Val  
85 90 95

Val Asp Pro Val Thr  
100

<210> 14

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 内质网滞留序列

<400> 14

Lys Asp Glu Leu  
1

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD28-PEt连接子

<220>

<221> misc\_feature  
<222> (2) .. (2)  
<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸  
<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4) .. (4)  
<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸  
<400> 15  
Arg Xaa Arg Xaa Lys Arg  
1 5  
<210> 16  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 内质网滞留序列  
<400> 16  
Lys Lys Asp Leu Arg Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10  
<210> 17  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 内质网滞留序列  
<400> 17  
Lys Lys Asp Glu Leu Arg Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10  
<210> 18  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 内质网滞留序列  
<400> 18  
Lys Lys Asp Glu Leu Arg Val Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10  
<210> 19  
<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 内质网滞留序列

<400> 19

Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 20

<211> 46

<212> PRT

<213> 绿脓杆菌

<400> 20

Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln

1 5 10 15

Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu

20 25 30

Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg

35 40 45

<210> 21

<211> 98

<212> PRT

<213> 人乳头瘤病毒16型

<400> 21

Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln

1 5 10 15

Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser

20 25 30

Glu Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp

35 40 45

Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr

50 55 60

Leu Arg Leu Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr Leu Glu

65 70 75 80

Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln

85 90 95

Lys Pro

<210> 22

<211> 105

<212> PRT

## &lt;213&gt; 人乳头瘤病毒18型

&lt;400&gt; 22

```

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

```

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 190

&lt;212&gt; PRT

## &lt;213&gt; 丙型肝炎

&lt;400&gt; 23

```

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

```

Gly Gly Val Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp  
145 150 155 160  
Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile  
165 170 175  
Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Thr Pro Ala Ser  
180 185 190

&lt;210&gt; 24

⟨211⟩ 154

&lt;212&gt; PRT

## 〈213〉 乙型肝炎

&lt;400&gt; 24

Met Ala Ala Arg Met Cys Cys Gln Leu Asp Pro Ala Arg Asp Val Leu  
1 5 10 15

Cys Leu Arg Pro Val Gly Ala Glu Ser Arg Gly Arg Pro Leu Pro Gly  
20 25 30

Pro Leu Gly Ala Leu Pro Pro Ser Ser Ala Ser Ala Val Pro Ala Asp  
35 40 45

His Gly Ser His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Pro Val Cys Ser Phe Ser  
50 55 60

Ser Ala Gly Pro Cys Ala Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg Met Glu  
65 70 75 80

Thr Thr Val Asn Ala Pro Trp Ser Leu Pro Thr Val Leu His Lys Arg  
85 90 95

Thr Ile Gly Leu Ser Gly Arg Ser Met Thr Trp Ile Glu Glu Tyr Ile  
100 105 110

Lys Asp Cys Val Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu Gly Glu Glu Ile Arg  
115 120 125

Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys Arg His Lys Leu Val Cys Ser  
130 135 140

Pro Ala Pro Cys Asn Phe Phe Thr Ser Ala  
145 150

&lt;210&gt; 25

⟨211⟩ 192

&lt;212&gt; PRT

### 〈213〉 猪圆环病毒

&lt;400&gt; 25

Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Ile  
1 5 10 15

Lys Arg Thr Thr Val Lys Thr Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg

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

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 220

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 猪生殖与呼吸综合症病毒

&lt;400&gt; 26

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

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 100                                                             | 105 | 110 |
| Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |
| Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |
| Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 |
| Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile |     |     |
| 165                                                             | 170 | 175 |
| Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser |     |     |
| 180                                                             | 185 | 190 |
| Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr |     |     |
| 195                                                             | 200 | 205 |
| Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala                 |     |     |
| 210                                                             | 215 | 220 |
| <210> 27                                                        |     |     |
| <211> 165                                                       |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |
| <213> 猪生殖与呼吸综合症病毒                                               |     |     |
| <400> 27                                                        |     |     |
| Asn Asn Lys Glu Cys Thr Val Ala Gln Ala Leu Gly Asn Gly Asp Lys |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  |
| Phe Arg Ala Thr Asp Lys Arg Val Val Asp Ser Leu Arg Ala Ile Cys |     |     |
| 20                                                              | 25  | 30  |
| Ala Asp Leu Glu Gly Ser Ser Ser Pro Leu Pro Lys Val Ala His Asn |     |     |
| 35                                                              | 40  | 45  |
| Leu Gly Phe Tyr Phe Ser Pro Asp Leu Thr Gln Phe Ala Lys Leu Pro |     |     |
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Ile Glu Leu Asp Pro His Trp Pro Val Val Ser Thr Gln Asn Asn Glu |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Lys Trp Pro Asp Arg Leu Val Ala Ser Leu Arg Pro Leu Asp Lys Tyr |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |
| Ser Arg Ala Cys Ile Gly Ala Gly Tyr Met Val Gly Pro Ser Val Phe |     |     |
| 100                                                             | 105 | 110 |
| Leu Gly Thr Pro Gly Val Val Ser Tyr Tyr Leu Thr Lys Phe Val Lys |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |
| Gly Glu Ala Gln Val Leu Pro Glu Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |
| Glu Val Asp Cys Arg Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala |     |     |

---

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| Ala Ser Leu Pro His                                             |     |     |     |
|                                                                 | 165 |     |     |
| <210> 28                                                        |     |     |     |
| <211> 58                                                        |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 猪生殖与呼吸综合症病毒                                               |     |     |     |
| <400> 28                                                        |     |     |     |
| Gly Ser Ser Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Pro Gln Lys |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser |     |     |     |
|                                                                 | 20  | 25  | 30  |
| His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr |     |     |     |
|                                                                 | 35  | 40  | 45  |
| Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala                         |     |     |     |
| 50                                                              | 55  |     |     |
| <210> 29                                                        |     |     |     |
| <211> 62                                                        |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 猪生殖与呼吸综合症病毒                                               |     |     |     |
| <400> 29                                                        |     |     |     |
| Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Phe Val Ala Gly |     |     |     |
|                                                                 | 20  | 25  | 30  |
| Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys Glu |     |     |     |
|                                                                 | 35  | 40  | 45  |
| Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Asn His Phe Asp Trp Ala         |     |     |     |
| 50                                                              | 55  | 60  |     |
| <210> 30                                                        |     |     |     |
| <211> 68                                                        |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人工序列                                                      |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| <223> CD28-PEt                                                  |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| <221> misc_feature                                              |     |     |     |
| <222> (8) .. (8)                                                |     |     |     |
| <223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸                                          |     |     |     |

<220>

<221> misc\_feature

<222> (10) .. (11)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (17) .. (17)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (30) .. (30)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (32) .. (32)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<400> 30

Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Xaa Glu Xaa Xaa Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10 15

Xaa Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Arg Xaa Arg Xaa

20 25 30

Lys Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg

35 40 45

Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp

50 55 60

Gln Val Ile Arg

65

<210> 31

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD28共有序列

<220>

<221> misc\_feature

<222> (8) .. (8)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (10) .. (11)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (17) .. (17)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<400> 31

Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Xaa Glu Xaa Xaa Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10 15

Xaa Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His

20 25

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD28关键区

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2) .. (2)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4) .. (5)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<400> 32

Lys Xaa Glu Xaa Xaa Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10

<210> 33

<211> 187

<212> PRT

<213> 人类

<400> 33

Met Asn Gly Asp Asp Ala Phe Ala Arg Arg Pro Thr Val Gly Ala Gln

1 5 10 15

Ile Pro Glu Lys Ile Gln Lys Ala Phe Asp Asp Ile Ala Lys Tyr Phe

20 25 30

Ser Lys Glu Glu Trp Glu Lys Met Lys Ala Ser Glu Lys Ile Phe Tyr

35 40 45

Val Tyr Met Lys Arg Lys Tyr Glu Ala Met Thr Lys Leu Gly Phe Lys  
 50 55 60  
 Ala Thr Leu Pro Pro Phe Met Cys Asn Lys Arg Ala Glu Asp Phe Gln  
 65 70 75 80  
 Gly Asn Asp Leu Asp Asn Asp Pro Asn Arg Gly Asn Gln Val Glu Arg  
 85 90 95  
 Pro Gln Met Thr Phe Gly Arg Leu Gln Gly Ile Ser Pro Lys Ile Met  
 100 105 110  
 Pro Lys Lys Pro Ala Glu Glu Gly Asn Asp Ser Glu Glu Val Pro Glu  
 115 120 125  
 Ala Ser Gly Pro Gln Asn Asp Gly Lys Glu Leu Cys Pro Pro Gly Lys  
 130 135 140  
 Pro Thr Thr Ser Glu Lys Ile His Glu Arg Ser Gly Pro Lys Arg Gly  
 145 150 155 160  
 Glu His Ala Trp Thr His Arg Leu Arg Glu Arg Lys Gln Leu Val Ile  
 165 170 175  
 Tyr Glu Glu Ile Ser Asp Pro Glu Glu Asp Asp  
 180 185

<210> 34

<211> 314

<212> PRT

<213> 人类

<400> 34

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

|                                                                 |     |             |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-------------|
| Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln |     |             |
| 130                                                             | 135 | 140         |
| Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu |     |             |
| 145                                                             | 150 | 155 160     |
| Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr |     |             |
|                                                                 | 165 | 170 175     |
| Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp |     |             |
|                                                                 | 180 | 185 190     |
| Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile |     |             |
|                                                                 | 195 | 200 205     |
| Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu |     |             |
|                                                                 | 210 | 215 220     |
| Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly |     |             |
|                                                                 | 225 | 230 235 240 |
| Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu |     |             |
|                                                                 | 245 | 250 255     |
| Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu |     |             |
|                                                                 | 260 | 265 270     |
| Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His |     |             |
|                                                                 | 275 | 280 285     |
| His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu |     |             |
|                                                                 | 290 | 295 300     |
| His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu                         |     |             |
| 305                                                             | 310 |             |
| <210> 35                                                        |     |             |
| <211> 181                                                       |     |             |
| <212> PRT                                                       |     |             |
| <213> 人类                                                        |     |             |
| <400> 35                                                        |     |             |
| Phe Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala |     |             |
| 1                                                               | 5   | 10 15       |
| Asp Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala |     |             |
|                                                                 | 20  | 25 30       |
| Gly Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly |     |             |
|                                                                 | 35  | 40 45       |
| Ala Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly |     |             |
|                                                                 | 50  | 55 60       |
| Pro His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly |     |             |
| 65                                                              | 70  | 75 80       |

Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro  
85 90 95  
Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln  
100 105 110  
Asp Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr  
115 120 125  
Val Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg  
130 135 140  
Gln Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu  
145 150 155 160  
Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro  
165 170 175  
Ser Gly Gln Arg Arg  
180

<210> 36

<211> 296

<212> PRT

<213> 人类

<400> 36

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

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

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

<210> 38

<211> 406

<212> PRT

<213> 人类

<400> 38

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

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Arg Ala Pro Ala His Pro Leu Ile Cys Gly Pro Pro Gly Leu Asp Lys |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |
| Arg Leu Leu Pro Glu Thr Pro Gly Pro Cys Tyr Ser Asn Ser Gln Pro |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |
| Val Trp Leu Cys Leu Thr Pro Arg Gln Pro Leu Glu Pro His Pro Pro |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 |
| Gly Glu Gly Pro Ser Glu Trp Ser Ser Asp Thr Ala Glu Gly Arg Pro |     |     |
|                                                                 | 165 | 170 |
| Cys Pro Tyr Pro His Cys Gln Val Leu Ser Ala Gln Pro Gly Ser Glu |     |     |
|                                                                 | 180 | 185 |
| Glu Glu Leu Glu Glu Leu Cys Glu Gln Ala Val Ser Gly Gly His Gln |     |     |
|                                                                 | 195 | 200 |
| Leu Gln Leu Ala Ala Leu Trp Pro Trp Leu Leu Met Ala Thr Leu Gln |     |     |
|                                                                 | 210 | 215 |
| Ala Gly Phe Gly Arg Thr Gly Leu Val Leu Ala Ala Ala Val Glu Ser |     |     |
| 225                                                             | 230 | 235 |
| Glu Arg Ser Ala Glu Gln Lys Ala Ile Ile Arg Val Ile Pro Leu Lys |     |     |
|                                                                 | 245 | 250 |
| Met Asp Pro Thr Gly Lys Leu Asn Leu Thr Leu Glu Gly Val Phe Ala |     |     |
|                                                                 | 260 | 265 |
| Gly Val Ala Glu Ile Thr Pro Ala Glu Gly Lys Leu Met Gln Ser His |     |     |
|                                                                 | 275 | 280 |
| Pro Leu Tyr Leu Cys Asn Ala Ser Asp Asp Asp Asn Leu Glu Pro Gly |     |     |
|                                                                 | 290 | 295 |
| Phe Ile Ser Ile Val Lys Leu Glu Ser Pro Arg Arg Ala Pro Ala His |     |     |
| 305                                                             | 310 | 315 |
| Pro Leu Ile Cys Gly Pro Pro Gly Leu Asp Lys Arg Leu Leu Pro Glu |     |     |
|                                                                 | 325 | 330 |
| Thr Pro Gly Pro Cys Tyr Ser Asn Ser Gln Pro Val Trp Leu Cys Leu |     |     |
|                                                                 | 340 | 345 |
| Thr Pro Arg Gln Pro Leu Glu Pro His Pro Pro Gly Glu Gly Pro Ser |     |     |
|                                                                 | 355 | 360 |
| Glu Trp Ser Ser Asp Thr Ala Glu Gly Arg Pro Cys Pro Tyr Pro His |     |     |
|                                                                 | 370 | 375 |
| Cys Gln Val Leu Ser Ala Gln Pro Gly Ser Glu Glu Glu Leu Glu Glu |     |     |
| 385                                                             | 390 | 395 |
| Leu Cys Glu Gln Ala Val                                         |     |     |
|                                                                 | 405 |     |

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 284

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 39

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

| 275                                                             | 280 |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| <210> 40                                                        |     |
| <211> 407                                                       |     |
| <212> PRT                                                       |     |
| <213> 绿脓杆菌                                                      |     |
| <400> 40                                                        |     |
| Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val |     |
| 1 5 10 15                                                       |     |
| Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro |     |
| 20 25 30                                                        |     |
| Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val |     |
| 35 40 45                                                        |     |
| Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu |     |
| 50 55 60                                                        |     |
| Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu |     |
| 65 70 75 80                                                     |     |
| Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser |     |
| 85 90 95                                                        |     |
| Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn |     |
| 100 105 110                                                     |     |
| Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His |     |
| 115 120 125                                                     |     |
| Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys |     |
| 130 135 140                                                     |     |
| Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu |     |
| 145 150 155 160                                                 |     |
| Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met |     |
| 165 170 175                                                     |     |
| Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser |     |
| 180 185 190                                                     |     |
| Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr |     |
| 195 200 205                                                     |     |
| Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile |     |
| 210 215 220                                                     |     |
| Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys |     |
| 225 230 235 240                                                 |     |
| Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu |     |
| 245 250 255                                                     |     |
| Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe |     |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 260                                                             | 265 | 270 |
| Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly |     |     |
| 275                                                             | 280 | 285 |
| Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser |     |     |
| 290                                                             | 295 | 300 |
| Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly |     |     |
| 305                                                             | 310 | 315 |
| Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala |     |     |
| 325                                                             | 330 | 335 |
| Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg |     |     |
| 340                                                             | 345 | 350 |
| Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val |     |     |
| 355                                                             | 360 | 365 |
| Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp |     |     |
| 370                                                             | 375 | 380 |
| Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe |     |     |
| 385                                                             | 390 | 395 |
| Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val                                     |     | 400 |
| 405                                                             |     |     |

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 61

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 绿脓杆菌

&lt;400&gt; 41

|                                                                 |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|
| Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro |    |    |
| 1                                                               | 5  | 10 |
| Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu |    |    |
| 20                                                              | 25 | 30 |
| Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala |    |    |
| 35                                                              | 40 | 45 |
| Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg             |    |    |
| 50                                                              | 55 | 60 |

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 313

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 绿脓杆菌

&lt;400&gt; 42

|                                                                 |   |    |
|-----------------------------------------------------------------|---|----|
| Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val |   |    |
| 1                                                               | 5 | 10 |
|                                                                 |   | 15 |

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

&lt;210&gt; 43

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NESK

<400> 43

Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala Lys Asp Glu Leu

1 5 10 15

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NES共有序列

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2) .. (3)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (6) .. (7)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9) .. (9)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (11) .. (11)

<223> Xaa可以是任何自然产生的氨基酸

<400> 44

Leu Xaa Xaa Lys Leu Xaa Xaa Leu Xaa Leu Xaa

1 5 10

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NES

&lt;400&gt; 45

Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 192

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 猪圆环病毒

&lt;400&gt; 46

Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Ile

1 5 10 15

Lys Arg Thr Thr Val Lys Thr Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg

20 25 30

Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Arg

35 40 45

Ser Val Pro Phe Glu Tyr Tyr Ser Ile Ser Lys Val Lys Val Glu Phe

50 55 60

Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr Gln Gly Asp Ser Gly Val Gly Ser Ser

65 70 75 80

Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr

85 90 95

Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro

100 105 110

Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser

115 120 125

Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu

130 135 140

Arg Leu Gln Thr Ala Gly Asn Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala

145 150 155 160

Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp Gln Glu Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met

165 170 175

Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro

180 185 190

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 328

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 猪瘟病毒

&lt;400&gt; 47

Arg Leu Ser Cys Lys Glu Asp His Arg Tyr Ala Ile Ser Ser Thr Asn

1 5 10 15

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

325

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 50

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 口蹄疫病毒

&lt;400&gt; 48

Ala Thr Val Tyr Asn Gly Ser Ser Lys Tyr Gly Asp Thr Ser Thr Ser  
1                    5                    10                    15  
Asn Val Arg Gly Asp Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys Ala Glu Arg Thr  
                  20                    25                    30  
Leu Pro Thr Ser Phe Asn Phe Gly Ala Ile Lys Ala Thr Arg Val Thr  
                  35                    40                    45  
Glu Leu  
                  50

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 口蹄疫病毒

&lt;400&gt; 49

Ala Ala Ile Glu Phe Phe Glu Gly Met Val His Asp Ser Ile Lys  
1                    5                    10                    15

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 65

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 口蹄疫病毒

&lt;400&gt; 50

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

Lys

65

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

<213> 副黏液病毒

<400> 51

Leu Leu Pro Asn Met Pro Lys Asp Lys Glu Gly Cys Ala Lys Ala Pro

1 5 10 15

Leu Glu

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> 副黏液病毒

<400> 52

Pro Asp Glu Gln Asp Tyr Gln Ile Arg Met Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 29

<212> PRT

<213> 副黏液病毒

<400> 53

Leu Leu Pro Asn Met Pro Lys Asp Lys Glu Gly Cys Ala Lys Ala Pro

1 5 10 15

Leu Glu Pro Asp Glu Gln Asp Tyr Gln Ile Arg Met Ala

20 25

<210> 54

<211> 525

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PE407-E7-K3融合蛋白

<400> 54

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val

1 5 10 15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro

20 25 30

Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val

35 40 45

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu

50 55 60

Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu

65 70 75 80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser

|                                                                 |    |     |    |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|----|-----|----|-----|-----|
|                                                                 | 85 |     | 90 |     | 95  |
| Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn |    |     |    |     |     |
| 100                                                             |    | 105 |    | 110 |     |
| Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His |    |     |    |     |     |
| 115                                                             |    | 120 |    | 125 |     |
| Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys |    |     |    |     |     |
| 130                                                             |    | 135 |    | 140 |     |
| Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu |    |     |    |     |     |
| 145                                                             |    | 150 |    | 155 | 160 |
| Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met |    |     |    |     |     |
| 165                                                             |    | 170 |    | 175 |     |
| Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser |    |     |    |     |     |
| 180                                                             |    | 185 |    | 190 |     |
| Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr |    |     |    |     |     |
| 195                                                             |    | 200 |    | 205 |     |
| Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile |    |     |    |     |     |
| 210                                                             |    | 215 |    | 220 |     |
| Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys |    |     |    |     |     |
| 225                                                             |    | 230 |    | 235 | 240 |
| Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu |    |     |    |     |     |
| 245                                                             |    | 250 |    | 255 |     |
| Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe |    |     |    |     |     |
| 260                                                             |    | 265 |    | 270 |     |
| Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly |    |     |    |     |     |
| 275                                                             |    | 280 |    | 285 |     |
| Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser |    |     |    |     |     |
| 290                                                             |    | 295 |    | 300 |     |
| Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly |    |     |    |     |     |
| 305                                                             |    | 310 |    | 315 | 320 |
| Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala |    |     |    |     |     |
| 325                                                             |    | 330 |    | 335 |     |
| Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg |    |     |    |     |     |
| 340                                                             |    | 345 |    | 350 |     |
| Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val |    |     |    |     |     |
| 355                                                             |    | 360 |    | 365 |     |
| Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp |    |     |    |     |     |
| 370                                                             |    | 375 |    | 380 |     |
| Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe |    |     |    |     |     |
| 385                                                             |    | 390 |    | 395 | 400 |

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val Glu Phe His Met Val Asp Met His Gly |     |     |     |
| 405                                                             | 410 | 415 |     |
| Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr |     |     |     |
| 420                                                             | 425 | 430 |     |
| Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser Glu Glu Glu |     |     |     |
| 435                                                             | 440 | 445 |     |
| Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His |     |     |     |
| 450                                                             | 455 | 460 |     |
| Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr Leu Arg Leu |     |     |     |
| 465                                                             | 470 | 475 | 480 |
| Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu |     |     |     |
| 485                                                             | 490 | 495 |     |
| Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln Lys Pro Leu |     |     |     |
| 500                                                             | 505 | 510 |     |
| Glu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu             |     |     |     |
| 515                                                             | 520 | 525 |     |
| <210> 55                                                        |     |     |     |
| <211> 290                                                       |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人工序列                                                      |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| <223> RAP1-CD28convPEt-E7-K3融合蛋白                                |     |     |     |
| <400> 55                                                        |     |     |     |
| Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu |     |     |     |
| 20                                                              | 25  | 30  |     |
| Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln |     |     |     |
| 35                                                              | 40  | 45  |     |
| Leu Glu Ile Ala His Glu Lys Leu Arg His Ala Glu Ser Val Gly Asp |     |     |     |
| 50                                                              | 55  | 60  |     |
| Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser Arg Glu Lys His Ala Leu Leu Glu Gly |     |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu |     |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |     |
| Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg Glu Leu Thr Asp Ile Tyr Phe Cys |     |     |     |
| 100                                                             | 105 | 110 |     |
| Lys Ile Glu Phe Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser |     |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |     |

---

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

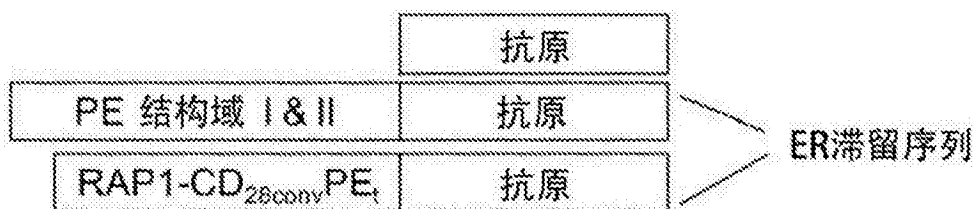


图1

**细胞介导免疫原性**

| 免疫原性蛋白<br>佐剂 | E7 | PE <sub>407</sub> -E7-K3 | RAP1-CD <sub>28conv</sub> PE <sub>T</sub> -E7-K3 |
|--------------|----|--------------------------|--------------------------------------------------|
| 铝盐           | -  | -                        | ++                                               |
| GPI-0100     | +  | +++                      | ++++                                             |
| QS-21        | +  | +++                      | ++++                                             |

+: 无,    \*: 弱,    \*\*: 中,    \*\*\*: 强,    \*\*\*\*: 非常强

图2

**体液免疫原性**

| 免疫原性蛋白<br>佐剂 | E7 | PE <sub>407</sub> -E7-K3 | RAP1-CD <sub>28conv</sub> PE <sub>T</sub> -E7-K3 |
|--------------|----|--------------------------|--------------------------------------------------|
| 铝盐           | ++ | ++                       | ++                                               |
| GPI-0100     | ++ | +++                      | +++                                              |
| QS-21        | ++ | +++                      | +++                                              |

+: 无,    \*: 弱,    \*\*: 中,    \*\*\*: 强

图3

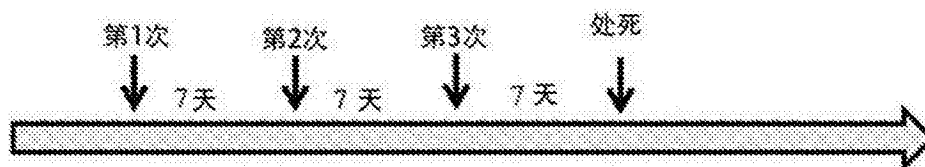


图4

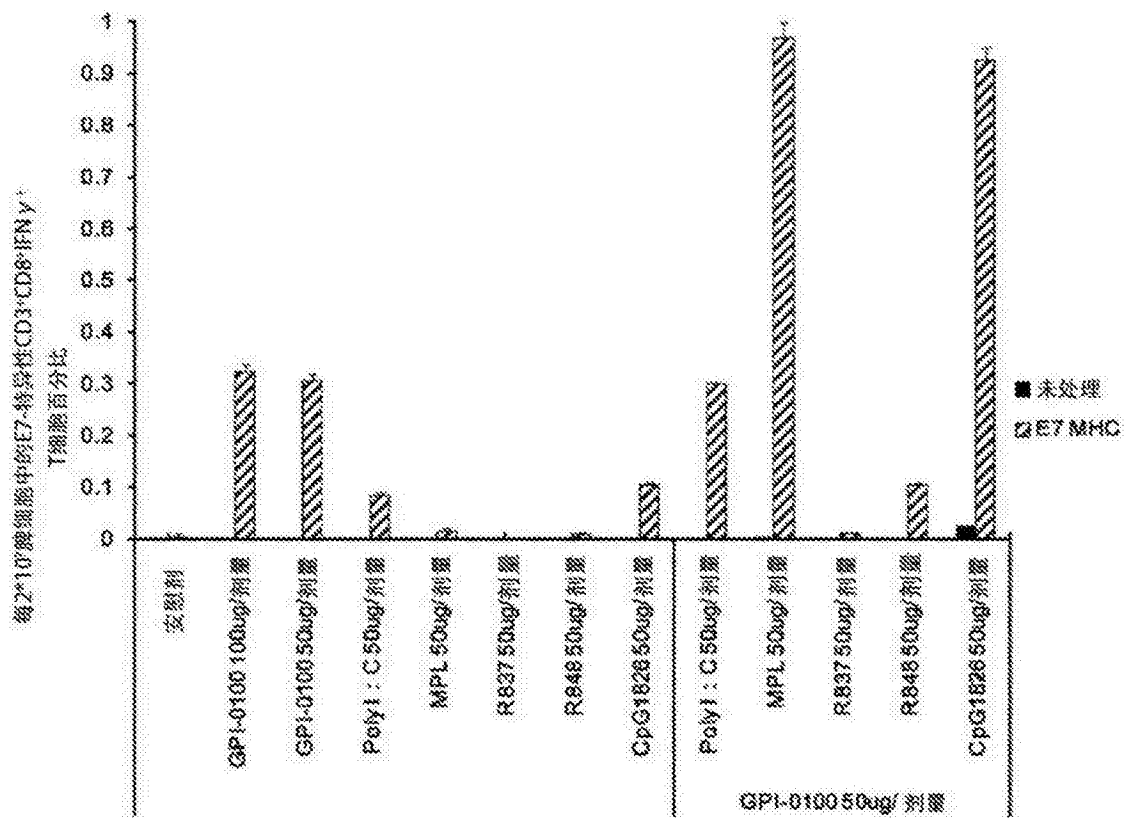


图5A

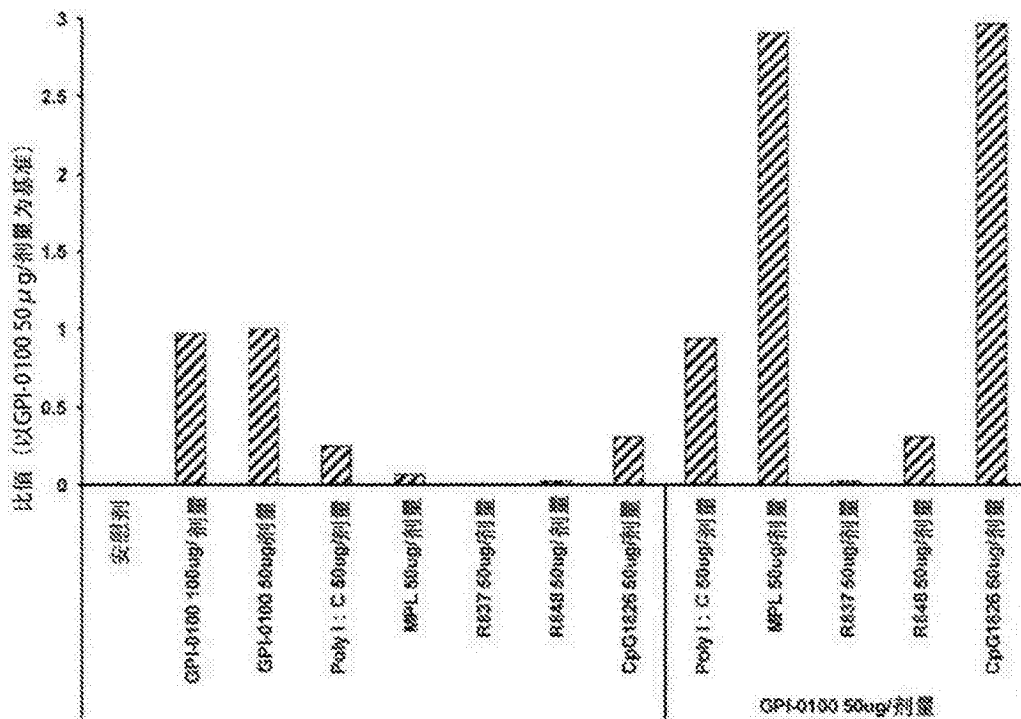


图5B

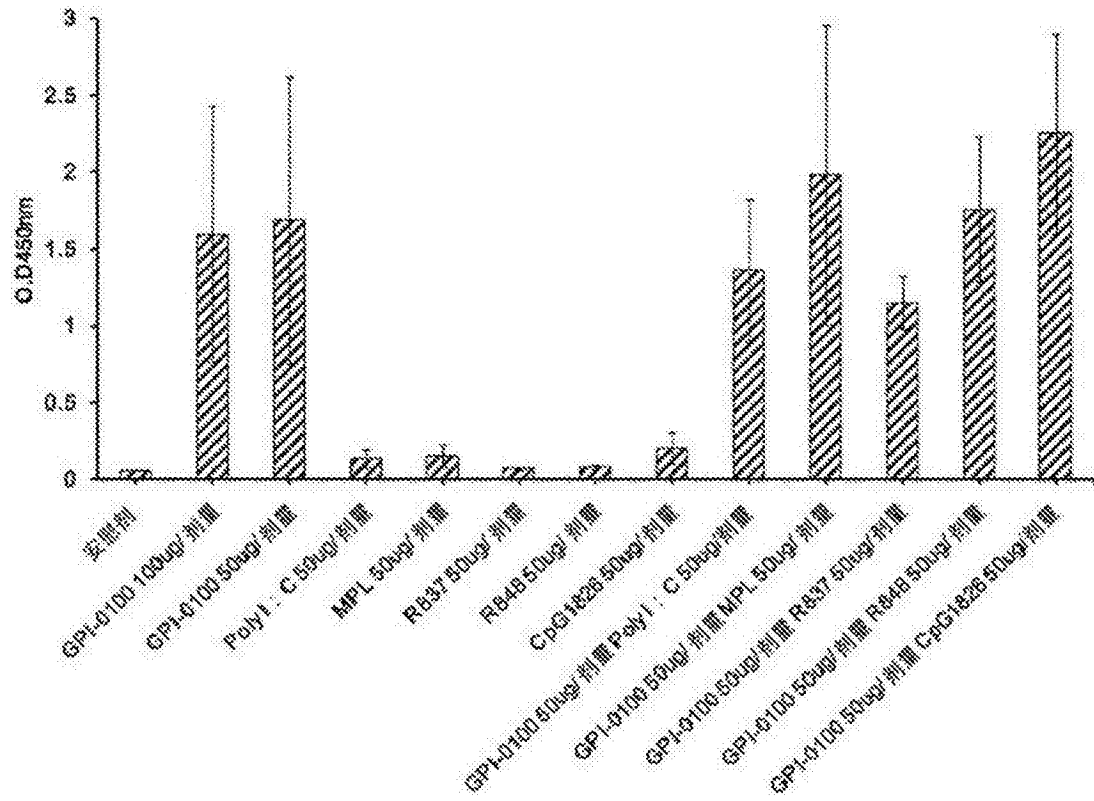


图6

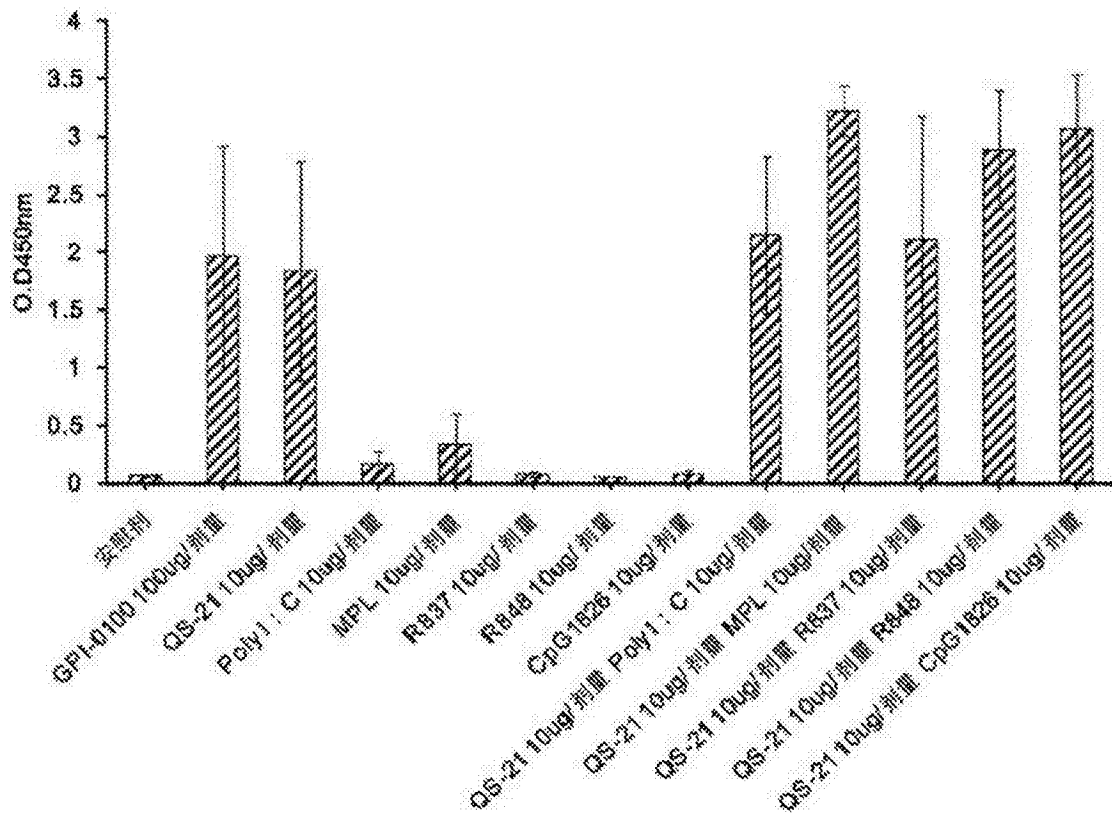


图8

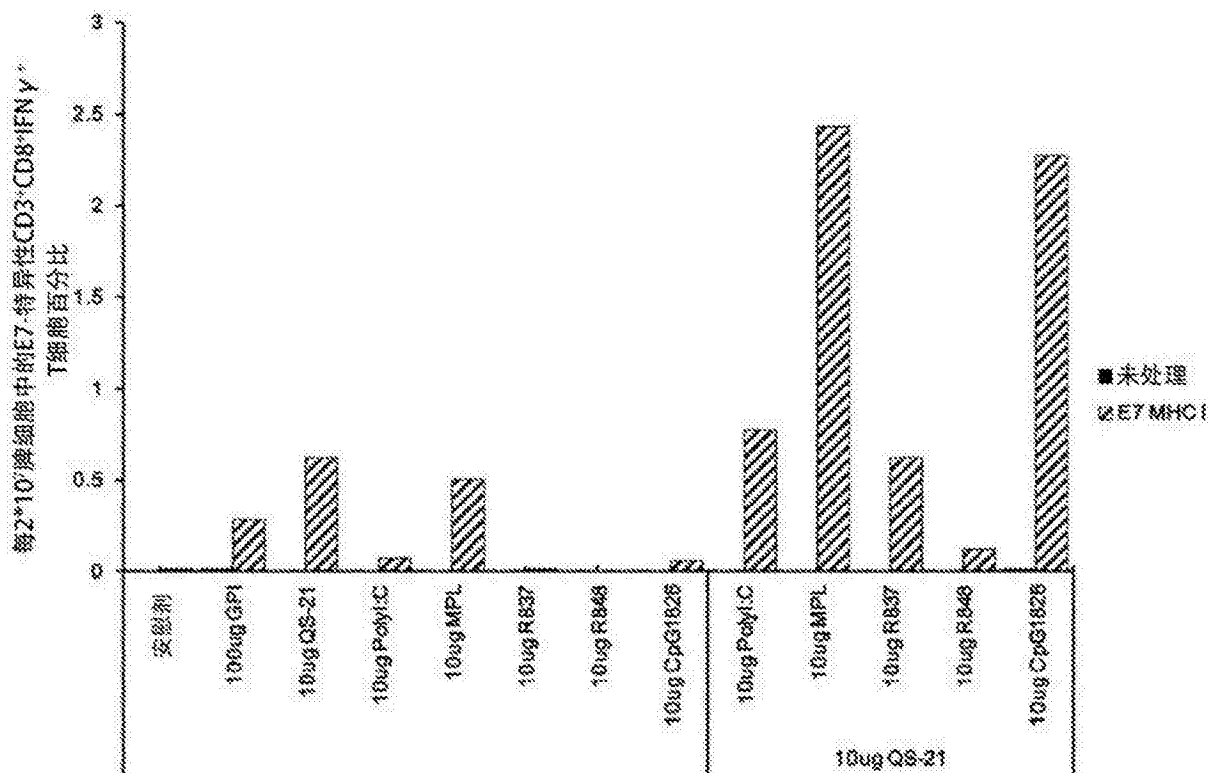


图7A

| 制剂编号 | 蛋白                      | QS-21 | GPI-0100 | MPL   | CpG1826 |
|------|-------------------------|-------|----------|-------|---------|
| A    | PE <sub>40</sub> -E7-K3 | 安慰剂   |          |       |         |
| B    |                         |       | 100 μg   |       |         |
| C    |                         | 10 μg |          |       |         |
| D    |                         |       | 50 μg    |       |         |
| E    |                         | 10 μg |          | 10 μg |         |
| F    |                         | 10 μg |          |       | 10 μg   |
| G    |                         |       | 50 μg    | 50 μg |         |
| H    |                         |       | 50 μg    |       | 50 μg   |

图10A

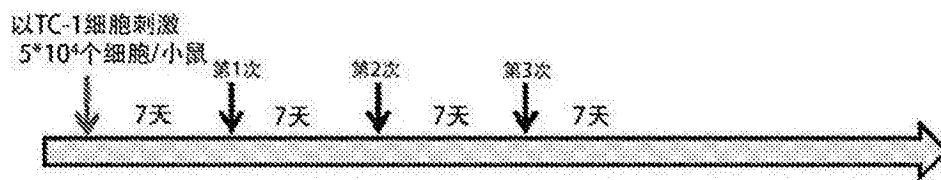


图10B

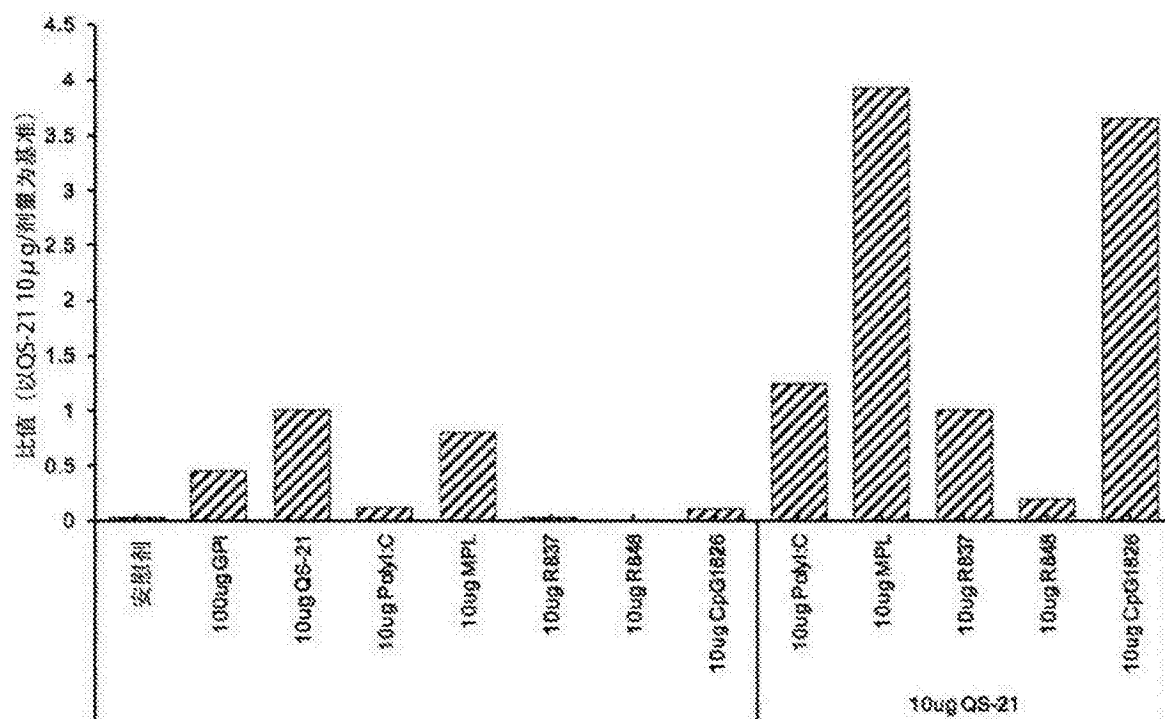


图7B

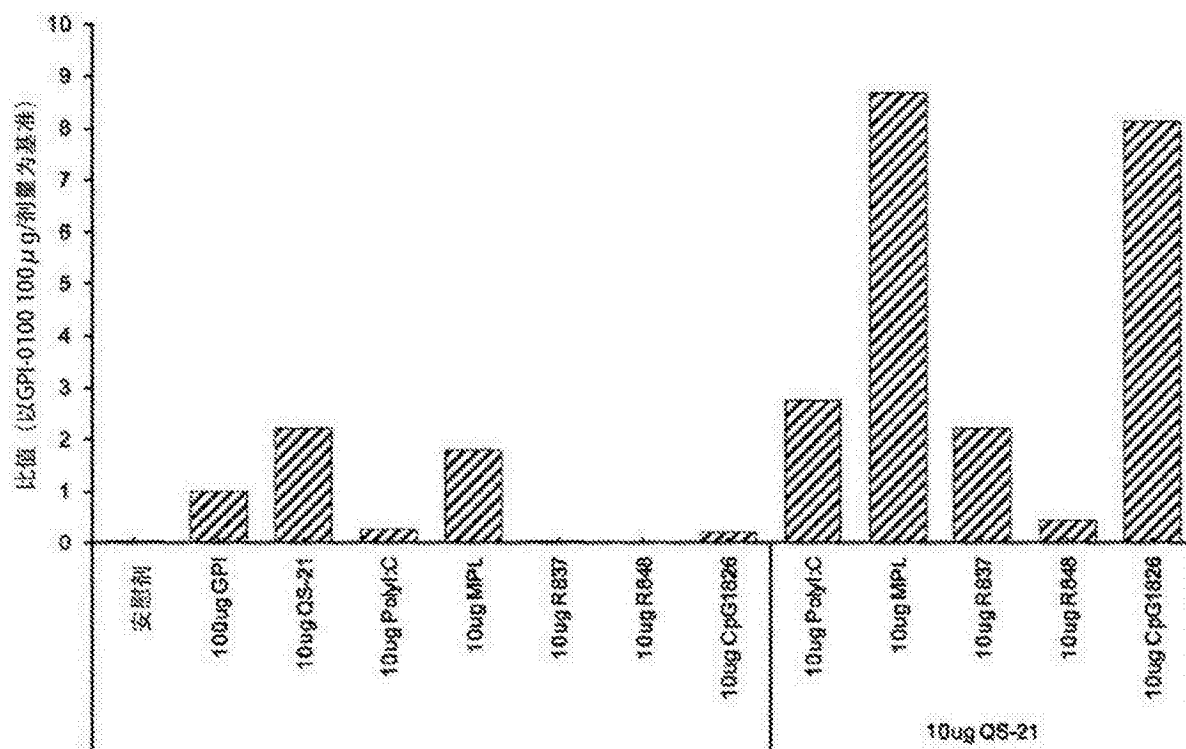


图7C

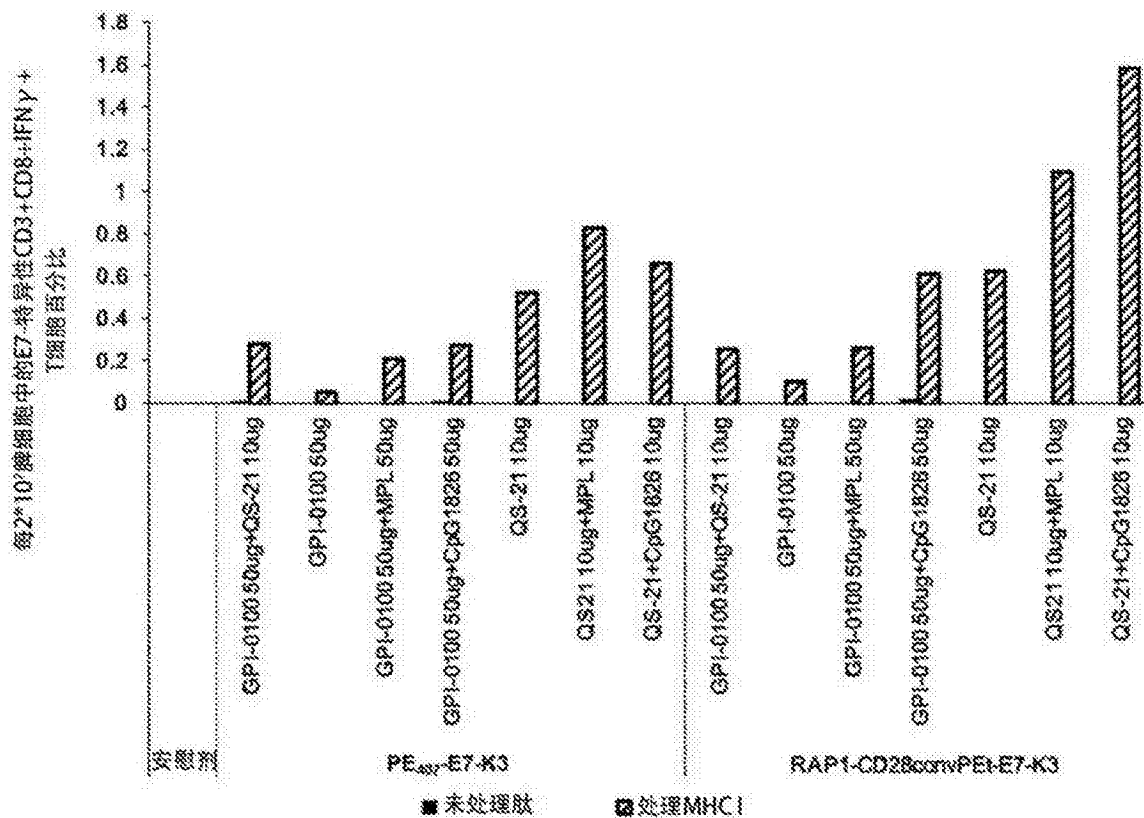


图9

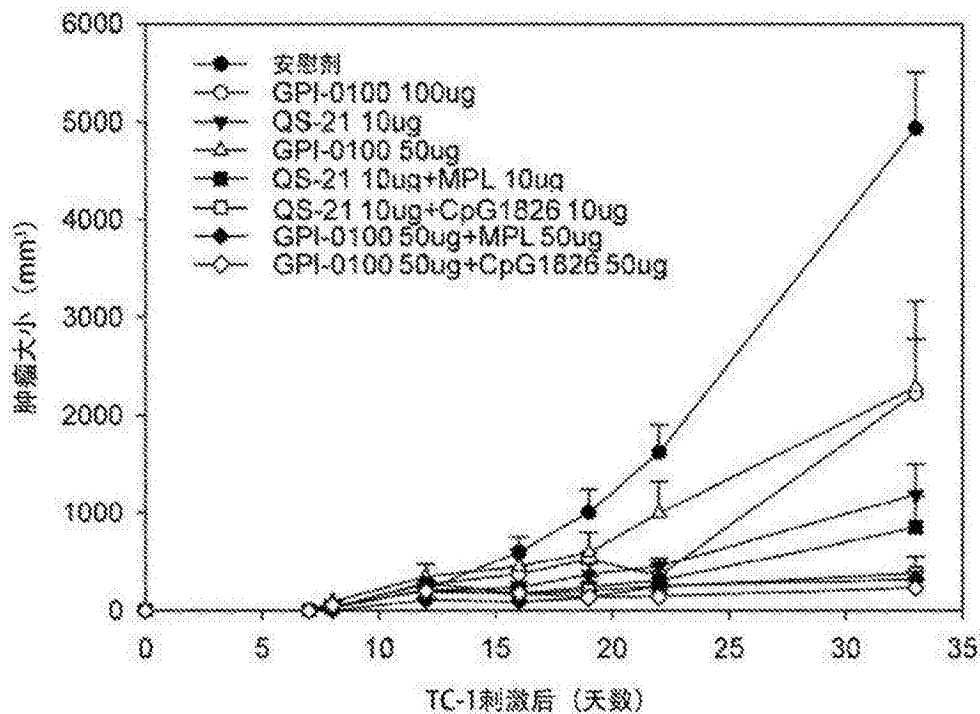


图11