(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114555113 A
(43)申请公布日 2022.05.27

(21)申请号 202080071928.2
(22)申请日 2020.03.04
(30)优先权数据
19195692.9 2019.09.05 EP
PID2019-07241 2019.08.16 ID
16/561,953 2019.09.05 US
PCT/US2019/049749 2019.09.05 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.04.13
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/020991 2020.03.04
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/034349 EN 2021.02.25
(71)申请人 武田疫苗股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 D.华莱士
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 涂滔
(51)Int.Cl.
A61K 39/295(2006.01)
A61K 39/12(2006.01)
A61K 39/00(2006.01)
A61K 39/125(2006.01)
A61K 39/29(2006.01)

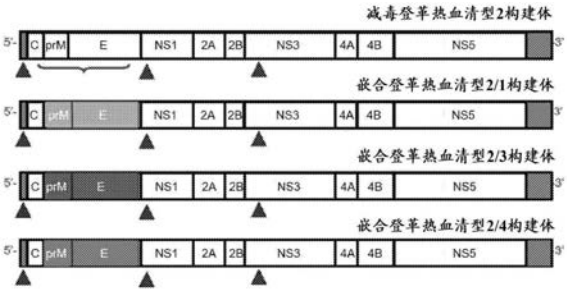
权利要求书5页 说明书108页
序列表131页 附图5页

(54)发明名称

用于预防登革热和甲型肝炎的方法

(57)摘要

本发明涉及一种通过在同一天同时施用单位剂量的登革热疫苗组合物和甲型肝炎疫苗来预防受试者或受试者群体中的登革热病和甲型肝炎的方法。单位剂量的登革热疫苗组合物包含各种浓度的每种登革热血清型如TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4的构建体,以提高对登革热感染的保护。



CN 114555113 A

1.一种用于在预防受试者中或受试者群体中的甲型肝炎和登革热疾病的方法中使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物,所述方法包括在同一天同时施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物,其中所述单位剂量包含含四种活的减毒登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

2.根据权利要求1所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型肝炎疫苗是灭活病毒疫苗。

3.根据权利要求1或2所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述登革热疫苗组合物在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含

(i)浓度为至少3.3log10pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/1株,

(ii)浓度为至少2.7log10pfu/0.5mL的登革热血清型2株,

(iii)浓度为至少4.0log10pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株,和

(iv)浓度为至少4.5log10pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/4株。

4.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述受试者群体或受试者对所有登革热血清型呈血清阴性。

5.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物通过皮下注射施用,并且所述甲型肝炎疫苗通过肌内注射施用,并且其中所述注射优选施用于手臂,更优选施用于所述手臂的三角肌区域。

6.根据权利要求5所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物和所述甲型肝炎疫苗施用于不同的解剖部位,诸如施用于相对的手臂。

7.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述登革热疫苗组合物的两个所述单位剂量在12个月或更久内、或6个月内、或3个月内施用。

8.根据权利要求7所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其包括特别是根据以下时间表施用两个所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物和一个剂量的所述甲型肝炎疫苗

-在第0天第一单位剂量的所述登革热疫苗组合物和所述甲型肝炎疫苗的第一同时施用,和

-在所述第一同时施用之后,如约3个月后,第二单位剂量的所述登革热疫苗组合物的第二施用。

9.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述受试者群体或受试者是2至60岁。

10.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述受试者群体或受试者来自登革热流行地区。

11.根据权利要求1至9中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述受试者群体或受试者来自登革热非流行地区,优选来自登革热和甲型肝炎非流行地区。

12.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型肝炎疫苗包含源自甲型肝炎病毒株HM-175的甲型肝炎病毒。

13.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒,并且所述灭活的甲型肝炎病毒来源于甲型肝炎病毒株HM-175。

14.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型

肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且其中所述灭活的甲型肝炎病毒吸附在铝上。

15.根据权利要求14所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述铝是氢氧化铝或硫酸羟基磷酸铝。

16.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且其中所述甲型肝炎疫苗包含磷酸盐缓冲盐水溶液以及以氨基酸形式和以聚山梨醇酯形式溶解于其中的赋形剂。

17.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述甲型肝炎疫苗包含浓度在500ELISA单位(EL.U.)至2000ELISA单位(EL.U.)范围内的表达病毒抗原的甲型肝炎病毒。

18.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述方法不包括在施用所述甲型肝炎疫苗之前和在施用所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物之前确定所述受试者群体中或所述受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者

其中在施用所述甲型肝炎疫苗之前和在施用所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物之前，所述受试者群体或所述受试者的所述甲型肝炎血清状况和/或所述登革热血清状况是未知的。

19.根据权利要求18所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述方法不包括在施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间确定所述受试者群体中或所述受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者

其中在施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间，所述受试者群体或所述受试者的所述甲型肝炎血清状况和/或所述登革热血清状况是未知的。

20.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

(A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用所述单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和所述甲型肝炎疫苗的受试者，而无需确定是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染，和

(B)向所述受试者施用第一单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及任选地

(C)在施用所述第一单位剂量的3至12个月内向所述受试者施用至少一个另外单位剂量的所述四价登革热病毒组合物，以及任选地

(D)在施用所述第一单位剂量的6至18个月内向所述受试者施用至少一个另外剂量的所述甲型肝炎疫苗。

21.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

(A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用所述单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和所述甲型肝炎疫苗的受试者，和

(B)向所述受试者施用第一单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，

以及

(C)在施用所述第一单位剂量的约6个月和约12个月时向所述受试者施用两个另外单位剂量的所述四价登革热病毒组合物,并在施用所述第一单位剂量的约6个月或约12个月时向所述受试者施用甲型肝炎疫苗。

22.根据权利要求21所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中步骤(A)在无需确定是否存在先前甲型肝炎感染的情况下进行。

23.根据权利要求3至22中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中在用药学上可接受的稀释剂复溶所述登革热疫苗组合物后,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于pfu/0.5mL的所述总浓度,以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10%,并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50%,并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1%,并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6%、至少8%、或至少10%、或至少12%、或至少14%、或至少16%、或至少18%。

24.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法提供所述登革热疫苗组合物与所述甲型肝炎疫苗之间的相容性。

25.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法提供所述登革热疫苗组合物与所述甲型肝炎疫苗之间的协同作用。

26.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法在包括分为一个受试者群体和一个对照受试者群体的至少60或至少120名健康受试者的非劣效性临床研究中提供非劣效性,其中所述受试者群体在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物,并且所述对照受试者群体在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂施用。

27.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95%或至少98%的甲型肝炎血清保护率。

28.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异,所述差异在非劣效性临床研究中确定,所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少60或至少120名健康受试者,

所述健康受试者被分为

e)在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体,和

f)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体,

其中确定在所述施用(第0/1天)后第30天所述对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在所述施用(第0/1天)后第30天所述受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异,并且

其中所述差异具有在双侧95%置信区间内低于10%的上限。

29.根据权利要求1至26中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95%或至少98%或至少99%的甲型肝炎血清保护率,其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者。

30.根据权利要求1至26中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异,所述差异在非劣效性临床研究中确定,所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少60或120名健康受试者,其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,

所述健康受试者被分为

e)在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体,其中所述受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,和

f)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体,其中所述对照受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,

其中确定在所述施用(第0/1天)后第30天所述对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在所述施用(第0/1天)后第30天所述受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异,并且

其中所述差异具有在双侧95%置信区间内低于10%的上限。

31.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述受试者或受试者群体暴露于甲型肝炎病毒爆发和/或登革热病毒爆发。

32.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少70mIU/ml或至少80mIU/ml或至少90mIU/ml的抗甲型肝炎病毒抗体几何平均浓度(GMC)。

33.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物在同一天同时施用给所述受试者或所述受试者群体是安全的。

34.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中不存在与所述在同一天同时施用相关的严重不良事件。

35.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述方法

提供通过MNT50测量的以下中和抗体的几何平均效价(GMT)：

-对于登革热血清型1,至少110或至少140或至少150，

-对于登革热血清型2,至少3000或至少3500或至少3900，

-对于登革热血清型3,至少100或至少120或至少140,和/或

-对于登革热血清型4,至少80或至少110或至少140，

在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天。

36.根据前述权利要求中任一项所述使用的甲型肝炎疫苗和单位剂量,其中所述受试者或受试者群体是18至60岁。

37.一种针对甲型肝炎和登革热病的药盒,所述药盒包括

盒子,所述盒子至少含有：

(a)容纳甲型肝炎疫苗的第一容器,和

(b)容纳单位剂量的登革热疫苗组合物的第二容器,其中所述单位剂量包含含四种活的减毒登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

用于预防登革热和甲型肝炎的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于在同一天将单位剂量的登革热疫苗组合物与甲型肝炎疫苗同时施用于受试者或受试者群体的方法。根据本发明的单位剂量提供针对登革热病毒的所有血清型(即DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4)以及针对甲型肝炎病毒的免疫响应。

[0002] 发明背景

[0003] 用于预防病毒感染的疫苗已被有效地用于降低人疾病的发病率。病毒疫苗最成功的技术之一是用弱化或减毒的病毒株(“活减毒病毒”)对动物或人进行免疫。由于免疫后复制有限,减毒病毒株不会引起疾病。然而,有限的病毒复制足以表达病毒抗原的全谱,并且可对病毒产生有效且持久的免疫响应。因此,在随后暴露于致病病毒株后,经免疫个体被保护免于疾病。这些活减毒病毒疫苗是用于公共卫生的最成功的疫苗之一。

[0004] 登革热疾病是由登革热病毒感染引起的蚊媒疾病。登革热病毒感染可导致衰弱和痛苦的症状,包括突然高热、头痛、关节和肌肉疼痛、恶心、呕吐和皮疹。迄今为止,已鉴定了登革热病毒的四种血清型:登革热-1(DENV-1)、登革热-2(DENV-2)、登革热-3(DENV-3)和登革热-4(DENV-4)。登革热病毒血清型1-4也可引起登革出血热(DHF)和登革休克综合征(DSS)。在最严重的情况下,DHF和DSS可能会危及生命。登革热病毒每年导致5000万-1亿例使人衰弱的登革热、500,000例DHF/DSS以及超过20,000例,其中很大一部分是儿童。所有四种登革热病毒血清型都在世界热带地区流行,并构成对那里的人而言最重要的蚊媒病毒威胁。登革热病毒主要通过埃及伊蚊(Aedes aegypti)蚊子传播给人类,但也通过白纹伊蚊(Aedes albopictus)蚊子传播给人类。感染一种登革热病毒血清型导致终生保护免受所述血清型再感染,但不能预防其他三种登革热病毒血清型之一的继发感染。事实上,先前感染一种登革热病毒血清型可导致在继发感染不同的血清型后患严重疾病(DHF/DSS)的风险增加。

[0005] 迄今为止,只有一种疫苗,即基于黄热病主链的四价登革热疫苗CYD-TDV(Dengvaxia®,Sanofi Pasteur,Lyon,France),基于在亚洲和拉丁美洲中针对56%-61%的儿童的病毒学确认的登革热(VCD)的总体疫苗效力(VE)的临床证明已在多个国家获得许可(Capeding MR等人Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia:a phase 3,randomised,observer-masked,placebo-controlled trial.Lancet 2014,384:1358-65;Villar LA等人Safety and immunogenicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16year olds:a randomized,controlled,phase II trial in Latin America.Pediatr Infect Dis J 2013,32:1102-9)。然而,临床试验表明,Dengvaxia®可提高而不是降低先前未感染登革热病毒的个体(血清阴性群体)因登革热感染而患严重疾病的风险。因此,Dengvaxia®仅被推荐用于先前曾感染过至少一种登革热病毒血清型(血清阳性群体)的个体。更具体地,根据所述产品的欧洲药品管理局欧洲公共评估报告(European Public Assessment report,EPAR),Dengvaxia®仅适用于9至45岁先前曾感染过登革热病毒并居住在这种感

染流行的地区的人群。流行地区是所述疾病全年定期发生的地区。还参见Sridhar S等人Effect of Dengue Serostatus on Dengue Vaccine Safety and Efficacy.N Engl J Med 2018,379:327-40;和世界卫生组织(World Health Organization).Dengue vaccine: WHO position paper-2018年9月.Wkly.Epidemiol.Rec.2018,93:457-476。S.R.Hadinegoro等人在New England Journal of Medicine,第373卷,第1195页,在“Efficacy and Long-Term Safety of a Dengue Vaccine in Regions of Endemic Disease”中报告,9岁以下人群中病毒学确认的登革热疾病的综合住院风险为1.58,表明疫苗接种组关于重症登革热的风险增加。这使得对于在登革热初始性和登革热血清阳性个体,包括生活在流行地区的那些登革热初始性群体、可能对登革热未产生任何血清阳性响应或已经暴露于登革热的年轻个体以及来自非流行地区的旅行者和个体中具有良好安全性特征的有效疫苗存在显著未满足的需求。还需要进行暴发控制或旅行疫苗接种,从而在仅一个剂量后提供登革热风险的降低。

[0006] 目前唯一获批的登革热疫苗Dengvaxia®的另一个缺点是,它必需只能提供给显示先前感染过登革热病毒(EPAR)的检测结果呈阳性的人,即已知登革热血清状况的人。因此,登革热血清状况未知的个体不能用Dengvaxia®进行疫苗接种。

[0007] 因此,需要刺激针对所有登革热血清型的免疫响应、优选针对所有血清型的平衡免疫响应并预防血清阴性群体和血清阳性群体中任何严重程度的登革热病(包括DSS、DHF)的登革热疫苗和相应的接种方法,其对更大的年龄组是安全的,特别是对于9岁及更年轻的受试者也是如此。开发能够保护所有群体,包括血清阴性和血清阳性群体两者且特别是流行环境中和为了旅行目的的儿童和年轻人以及老年受试者的安全且有效的疫苗代表预防和控制这种全球性疾病的重要方法。

[0008] 因此,对于无论血清状况如何而且在广泛年龄组中都是安全且有效的登革热疫苗和相应的接种方法存在医学需求。需要避免昂贵且耗时的血清状况测试或血清阳性率考虑的登革热疫苗和相应的接种方法。需要可在爆发情况下使用的登革热疫苗和相应的接种方法。此外,对不仅安全且有效,而且可施用于登革热血清状况未知的个体、9岁以下的儿童和血清阴性个体的登革热疫苗存在医学需求。

[0009] 还需要以比当前的3个剂量、间隔6个月的Dengvaxia®给药方案更少的剂量施用的疫苗,如可仅以两个剂量或一个剂量施用即有效的疫苗。

[0010] 上述主题与WHO在Dengue Vaccine:WHO position paper-2018年9月(Wkly.Epidemiol.Rec.2018,93:457-476)中提供的研究重点相称。

[0011] 甲型肝炎是由甲型肝炎病毒(HAV)引起的肝脏疾病。所述病毒主要在未感染(和未接种疫苗)的人摄入被感染者的粪便污染的食物或水时传播。所述疾病与不安全的水或食物、卫生设施不足和个人卫生差密切相关。所述病毒还可通过与感染者的密切身体接触传播。与乙型肝炎和丙型肝炎不同,甲型肝炎感染不会导致慢性肝病并且很少致命,但它可导致衰弱症状和暴发性肝炎(急性肝功能衰竭),这通常是致命的。甲型肝炎偶发并且在世界范围内流行,并有周期性复发的趋势。

[0012] 甲型肝炎病毒是食源性感染的最常见原因之一。与受污染的食物或水有关的流行病可能爆发性爆发,如1988年上海的流行病影响了约30万人。甲型肝炎病毒在环境中持续

存在,并且可耐受通常用于灭活和/或控制细菌病原体的食品生产过程。所述疾病可在社区中造成重大的经济和社会后果。从疾病中恢复的人可能需要数周或数月才能重返工作、学校或日常生活。对被鉴定具有所述病毒的食品企业以及总体上当地生产力的影响可能是巨大的。在卫生条件和卫生习惯较差的发展中国家,大多数儿童(90%)在10岁之前就感染了甲型肝炎病毒。

[0013] 近几十年来,国际旅行的人数大幅增加。根据联合国世界旅游组织(United Nations World Tourism Organization,UNWTO),2014年有超过11亿游客出国旅游。在国际旅行期间生病的风险取决于许多因素,如所访问的世界地区、旅行的长度以及计划活动的多样性。疫苗建议是国际旅行前健康准备的重要部分。通常建议前往包括亚洲、非洲和拉丁美洲的世界风险地区的旅行者针对甲型肝炎病毒进行疫苗接种。

[0014] 对于常规的甲型肝炎疫苗接种,建议两剂量时间表,特别是对于有感染甲型肝炎高风险的旅行者和免疫功能低下的个体。然而,在健康个体中,使用单剂量已达到可比较的有效性。儿童/青少年(12个月至18岁)以及成人(≥19岁)的疫苗接种计划包括肌内施用的初次剂量,以及6至18个月后肌内注射的进一步加强剂量。

[0015] 可用的甲型肝炎疫苗包括HAVRIX®和VAQTA®。

[0016] 因此,需要同时预防登革热病和甲型肝炎的安全且有效的方法。特别地,需要当同时向受试者或受试者群体施用时提供非劣效性和合适的施用时间表以实现协同作用的甲型肝炎和登革热疫苗。

[0017] 此外,需要有效且安全地预防不知道其甲型肝炎和/或登革热血清状况的受试者,特别是来自非流行国家而前往登革热和甲型肝炎流行国家旅行的受试者中的登革热病和甲型肝炎。

发明内容

[0018] 本发明的一个目的是提供一种针对登革热和甲型肝炎的安全且有效的保护。

[0019] 本发明的一个目的是提供一种用于预防甲型肝炎和登革热病的施用方法,所述方法可用于典型的疫苗接种环境,其中受试者不知道他们的登革热和/或甲型肝炎的血清状况并且相应的血清测试不可用、不切实际或不可靠。

[0020] 本发明的一个目的是为来自甲型肝炎和登革热非流行国家的旅行者,特别是为在旅行诊所接种疫苗的旅行者提供针对登革热病和甲型肝炎的安全且有效的保护。在这种情况下,如果避免在同一医疗预约期间多次就诊并且可同时针对多于一种疾病进行疫苗接种,则将是有益的。

[0021] 本发明的一个目的是提供一种用于预防受试者或受试者群体中的甲型肝炎和登革热病的安全且有效的疫苗,以及一种预防来自登革热流行地区和登革热非流行地区和广泛年龄范围的受试者或受试者群体、特别是2至60岁的受试者、优选介于18与60岁之间的受试者中的甲型肝炎和登革热病并且独立于先前暴露于任何登革热病毒血清型和/或甲型肝炎病毒并且独立于疫苗接种前关于登革热和/或甲型肝炎的相应血清阳性或血清阴性的相应方法。

[0022] 本发明的一个目的是提供预防甲型肝炎和登革热病的疫苗和相应方法,所述方法避免在将甲型肝炎和登革热疫苗单独施用于受试者或受试者群体之前测试个体的登革热

和/或甲型肝炎血清状况或对要接种疫苗的受试者或受试者群体的登革热和/或甲型肝炎的血清阳性率进行分析。

[0023] 本发明的一个目的是提供在受试者前往HAV和登革热流行国家国际旅行之前作为旅行疫苗的一种登革热疫苗和可与TDV安全地共同施用的一种甲型肝炎疫苗，以及一种安全地施用这些疫苗的方法。

[0024] 因此，本发明涉及一种预防登革热以及甲型肝炎的方法。

[0025] 本发明进一步涉及一种预防受试者或受试者群体中的甲型肝炎和登革热病的方法，所述方法包括在同一天同时施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物，其中所述单位剂量包含含有四种减毒活登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

[0026] 定义

[0027] 在描述本发明中，以下术语按以下所示使用。除非上下文另外明确指出，否则如在本文中使用，单数形式“一个(种)”和“所述”包括多个指示物。

[0028] 如本文所用，术语“登革热疫苗组合物的单位剂量”、“单位剂量”和“如本文所述的本发明的单位剂量”是指以单剂量施用于受试者的登革热疫苗的量。在一个实施方案中，一个单位剂量存在于小瓶中并且此单位剂量被施用于受试者，例如任选地在复溶之后。在一个实施方案中，多于一个单位剂量的登革热疫苗组合物可存在于小瓶中，使得可用一个小瓶的内容物对多于一名受试者进行疫苗接种。

[0029] “冻干单位剂量”或“冻干形式的单位剂量”是指通过使给定体积的液体登革热疫苗组合物如0.5mL经受冻干而获得的单位剂量。因此，通过将药学上可接受的赋形剂和包含四种登革热病毒株，优选TDV-1至TDV-4的登革热病毒组合物组合而产生的登革热疫苗组合物的水性制剂经受冻干以获得冻干的单位剂量。

[0030] “复溶的单位剂量”或“复溶形式的单位剂量”通过用药学上可接受的稀释剂复溶从冻干剂量获得。稀释剂剂量不含登革热病毒。复溶的单位剂量是液体，其可例如通过注射如皮下注射施用于受试者。

[0031] 如本文所用，术语“在用0.5mL复溶后”并不限制使用0.5mL稀释剂进行复溶，而是指当使用0.5mL稀释剂进行复溶时，复溶的单位剂量中将存在的登革热病毒的浓度。虽然使用不同的体积(例如0.8mL)进行复溶将导致复溶的单位剂量中不同浓度的登革热病毒，但施用单位剂量的总体积(例如0.8mL)将导致施用相同的登革热病毒总量。

[0032] 如本文所用，“至少X log10 pfu/0.5mL的浓度”是指登革热血清型在0.5mL中的浓度，但不将单位剂量限制为0.5mL。如果单位剂量的体积不同于0.5mL，或从不同于0.5mL的体积冻干，或用不同于0.5mL的体积复溶，则所述浓度将不同于“至少X log10 pfu/0.5mL的浓度”。然而，如果单位剂量的体积为0.5mL，或从0.5mL的体积冻干，或用0.5mL的体积复溶，则所述浓度将是“至少X log10 pfu/0.5mL的浓度”。因此，虽然浓度可能不同，但单位剂量中的病毒总量保持相同。

[0033] 如本文所用，术语“登革热血清型”是指一种登革热病毒，其由其细胞表面抗原定义并且因此可通过本领域已知的血清学方法进行区分。目前，已知登革热病毒的四种血清型，即登革热血清型1(DEN V-1)、登革热血清型2(DENV-2)、登革热血清型3(DENV-3)和登革热血清型4(DENV-4)。

[0034] 如本文所用，术语“四价登革热病毒组合物”是指包含来自四种不同的登革热血清

型DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4的四种不同免疫原性组分的登革热病毒组合物，优选地包含四种不同的减毒活登革热病毒，每种代表一种登革热血清型，并且旨在刺激对所有四种登革热血清型的免疫响应。

[0035] 如本文所用，术语“减毒活登革热病毒”是指经突变以提供降低的毒性的活登革热病毒。减毒活登革热病毒可以是其中所有组分均源自同一登革热血清型的登革热病毒，或者它可以是具有来自两种或更多种登革热血清型的部分的嵌合登革热病毒或具有来自其他黄病毒的部分的混合嵌合登革热病毒。

[0036] “病毒株”并且特别是“登革热病毒株”是病毒的遗传亚型，特别是登革热病毒的遗传亚型，其特征在于特异性核酸序列。登革热血清型可包括具有不同核酸序列的不同株，所述株具有相同的细胞表面抗原。登革热病毒株可以是其中所有组分均源自同一登革热血清型的登革热病毒，或者它可以是具有来自两种或更多种登革热血清型的部分的嵌合登革热病毒。

[0037] 如本文所用，“TDV-2”是指源自减毒活DEN-2PDK-53病毒株的分子表征和克隆的登革热血清型2株。PDK-53株例如描述于Bhamarapravati等人(1987)Bulletin of the World Health Organization 65(2):189-195中。在一个实施方案中，TDV-2株充当嵌合TDV-1、TDV-3和TDV-4株的主链，其中引入来自TDV-1、TDV-3和TDV-4株的部分。

[0038] “非嵌合登革热病毒”或“非嵌合登革热血清型株”或“非嵌合登革热株”仅包含来自一种登革热血清型的部分。特别地，非嵌合登革热病毒不包含来自不同黄病毒属的部分，所述黄病毒属如黄热病病毒、寨卡病毒、西尼罗河病毒、日本脑炎病毒、圣路易斯脑炎病毒、蜱传脑炎病毒。TDV-2是非嵌合登革热病毒的实例。

[0039] “嵌合登革热病毒”或“嵌合登革热血清型株”或“嵌合登革热株”包含来自至少两种不同登革热血清型的部分。如本文所用，嵌合登革热病毒不包含来自不同黄病毒属的部分，所述黄病毒属如黄热病病毒、寨卡病毒、西尼罗河病毒、日本脑炎病毒、圣路易斯脑炎病毒、蜱传脑炎病毒。特别地，本文所述的嵌合登革热病毒不包含来自黄热病病毒的部分。如本文所用，“嵌合登革热血清型2/1株”或“DENV-2/1嵌合体”或“TDV-1”是指包含来自DENV-2和DENV-1两者的部分的登革热病毒嵌合构建体。特别地，在嵌合登革热血清型2/1株中，来自DENV-1的prM和E蛋白替代来自DENV-2的prM和E蛋白，如下文所详述。如本文所用，“嵌合登革热血清型2/3株”或“DENV-2/3嵌合体”或“TDV-3”是指包含来自DENV-2和DENV-3两者的部分的登革热病毒嵌合构建体。特别地，在嵌合登革热血清型2/3株中，来自DENV-3的prM和E蛋白替代来自DENV-2的prM和E蛋白，如下文所详述。如本文所用，“嵌合登革热血清型2/4株”或“DENV-2/4嵌合体”或“TDV-4”是指包含来自DENV-2和DENV-4两者的部分的登革热病毒嵌合构建体。特别地，在嵌合登革热血清型2/4株中，来自DENV-4的prM和E蛋白替代来自DENV-2的prM和E蛋白，如下文所详述。混合嵌合登革热病毒具有来自其他黄病毒属的部分。

[0040] 如本文所用，“TDV”是指四价减毒活登革热疫苗，所述疫苗包含表达来自四种登革热血清型DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4的表面抗原的四种减毒活登革热病毒株TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4的混合物。在一个实施方案中(例如也在实施例中)，TDV-1具有根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和/或根据SEQ ID No.2的氨基酸序列。在一个实施方案中，TDV-2具有根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和/或根SEQ ID No.4的氨基酸序列。在一个实施方案中，TDV-3具有根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和/或根据SEQ ID No.6的氨基酸序列。在一

个实施方案中,TDV-4具有根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和/或根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0041] 如本文所用,术语“登革热病”是指由登革热病毒感染引起的疾病。登革热病的症状包括突然高热、头痛、关节和肌肉疼痛、恶心、呕吐和皮疹。术语登革热病还包括更严重形式的登革出血热(DHF)和登革休克综合征(DSS)。DHF的症状包括血管通透性增加、血容量不足和凝血机制异常。患有DHF的受试者可能出现严重的血浆渗漏和出血表现。当患有DHF的受试者经历休克时,他或她将被归类为患有DSS。DSS的症状包括出血,可能表现为皮肤上的小血点和皮肤下较大的血块。长期休克是与并发症,包括可导致死亡的大量胃肠出血相关的主要因素。如本文所用,DHF病例被定义为符合WHO 1997DHF标准的VCD病例。在预防老年受试者的登革热病的上下文中,术语“预防登革热病”优选地包括预防DHF和/或DSS。在预防老年受试者的登革热病的上下文中,术语“预防登革热病”优选地包括预防登革热的严重终末器官表现,如肝肿大和急性肾功能衰竭。

[0042] 如本文所用,“预防登革热”是指预防受试者因感染登革热病毒而发展一种或多种登革热病症状。特别地,预防登革热病是通过用登革热疫苗组合物如本文所述的复溶单位剂量对受试者进行疫苗接种或接种来实现。如本文所用,术语“预防性治疗登革热”等同于“预防登革热”。在一个特定实施方案中,预防登革热病包括预防DHS和/或DSS。

[0043] 如本文所用,术语“病毒学确认的登革热病”、“VCD病例”或“VCD热”是指发热性疾病或临床上怀疑为登革热病且具有阳性血清型特异性逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)的疾病。术语“病毒学可确认的登革热”疾病是指患有发热性疾病或临床上怀疑为登革热病的疾病的受试者,其中例如使用RT-PCR测试所述受试者将确认至少一种登革热血清型的存在。重症形式的VCD热将如下坚定:登革出血热(DHF)根据WHO 1997标准定义。重症登革热是通过独立登革热病例评审委员会的评估来定义的,其将根据章程中重新定义的标准评估所有住院的VCD病例(重症/非重症)。所有非住院病例均被视为非重症。

[0044] 如本文所用,术语“发热性疾病”被定义为连续3天中的任意2天体温≥38℃。

[0045] 如本文所用,术语“病毒学确认的住院登革热病”被认为是重症登革热的替代,并且“病毒学确认的登革热住院发病率”被用作安全参数。如本文所用,“病毒学确认的住院登革热病的相对风险”是指病毒学确认的住院登革热病的事件的数量除以用如本文公开的单位剂量治疗的受试者数量,再除以病毒学确认的登革热住院事件的数量除以用安慰剂治疗的受试者数量。如果“关于病毒学确认的住院登革热病的相对风险”为1或更低,则疫苗提供的病毒学确认的住院登革热病的风险与安慰剂相同或更低,并且因此被认为是“安全的”。在这种情况下,病毒学确认的住院登革热病的风险也可以是0.9或更低、0.8或更低、0.7或更低、0.6或更低、0.5或更低、0.4或更低、0.3或更低、0.2或更低或0.1或更低,特别是在从第二施用后30天直到第二施用后12个月确定时,特别是在选自4至16岁受试者年龄组、4至9岁以下受试者年龄组、2至9岁以下受试者年龄组、4至5岁年龄组、6至11岁年龄组和12至16岁年龄组的年龄组中确定时。

[0046] 如本文所用,可替代地,当疫苗效力(VE)相对于病毒学确认的住院登革热病为0%或更高时,疫苗被认为是“安全的”。这意味着疫苗为病毒学确认的登革热住院提供与安慰剂相同或更低的可能性。特别地被认为是“安全的”是针对所有四种血清型针对病毒学确认的登革热住院的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于25%),特别是约从

第一施用或从施用时间表的第二或最后施用后30天直到施用时间表的第二或最后施用后至少12个月、12至18个月、12个月或18个月在基线时针对所有血清型呈血清阴性或在基线时针对至少一种血清型呈血清阳性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时(特别是在具体地选自4至16岁受试者年龄组、4至9岁以下受试者年龄组、2至9岁以下受试者年龄组、4至5岁受试者年龄组、6至11岁受试者年龄组和12至16岁受试者年龄组的年龄组中测量时),特别是当所述单位剂量或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次时。特别地,下限可超过30%、超过40%、超过50%、超过60%、超过65%、超过66%、超过67%、超过68%、超过70%或超过75%。特别地,当比较血清阳性和血清阴性受试者时,针对所有四种血清型针对病毒学确认的登革热住院的联合疫苗效力的双侧95%置信区间提供双侧置信区间的在10%个点内或在15%个点内或在20%个点内的下限。在一个特定实施方案中,"安全"是指当从施用时间表的第一施用直到施用时间表的最后施用后12至18个月在至少5,000名健康的4至16岁受试者(无论基线时的血清状况如何)的受试者群体中针对安慰剂测量时,提供针对所有四种血清型针对病毒学确认的登革热住院的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于65%)。

[0047] 如果满足如以上针对术语"安全"定义的标准之一,则认为疫苗在本发明的含义内是安全的。在这种情况下,安全尤其是指对所有受试者安全的疫苗,无论他们在基线时的血清状况如何。这意味着可施用疫苗而无需在施用前确定受试者是否发生先前登革热感染。优选地,疫苗如上文所定义相对于从4岁开始的所有年龄组且优选地不管血清状况如何,特别是从4岁至60岁或4岁到16岁的所有年龄组是安全的。在此背景下的相关亚组是9岁以下、2岁至9岁以下、4岁至9岁以下、4至5岁、6至11岁和12至16岁或4至16岁内的任何年龄组。对于针对病毒学确认的住院登革热病的VE的进一步定义,参考以下关于某些治疗方法的公开内容。

[0048] 如本文所用,"疫苗效力"或"VE"衡量接种疫苗的人中病例的比例降低。疫苗效力(VE)是通过计算接种疫苗和未接种疫苗的人的疾病风险并确定接种疫苗的人相对于未接种疫苗的人的疾病风险降低百分比来衡量的。疫苗接种组中疾病的降低百分比越大,疫苗效力就越大。例如,90%的VE表示疫苗接种组中的疾病发生率降低90%,或者如果他们没有接种疫苗,则将预期的病例数减少90%。疫苗效率通过以下公式计算:100*(1-HR),其中HR为危险比,其被定义为疫苗的危害率(λ_v)除以安慰剂的危险率(λ_c),即$HR=\lambda_v/\lambda_c$。λ_v表示用如本文公开的四价登革热疫苗组合物进行疫苗接种的受试者的危险率,并且λ_c表示未疫苗接种的受试者,即接受安慰剂的受试者的危险率。危险率比HR是根据Cox比例危险模型估计的,其中研究疫苗作为因子,针对年龄进行调整并按地区分层。如本文所用,术语"针对所有四种血清型的联合疫苗效力"被定义为与登革热病风险相关的疫苗效力,而不管导致病毒学确认的登革热病的血清型和受试者基线血清状况如何。如果联合疫苗效力超过30%,则认为疫苗是"有效的"。在这种情况下,联合疫苗效力也可以是40%或更高、50%或更高、60%或更高、70%或更高、72%或更高或80%或更高,特别是在从第二施用后30天直到第二施用后12个月或第二疫苗接种后18个月确定时,特别是在选自4至16岁受试者年龄组、4至9岁以下受试者年龄组、2至9岁以下受试者年龄组、4至5岁年龄组、6至11岁年龄组和12至16岁年龄组的年龄组中确定时。在这种情况下,有效特别是指对所有受试者有效的疫苗,无论他们在基线时的血清状况如何。优选地,疫苗相对于从4岁开始且优选地不管血清状况如何

的所有年龄组，特别是从4岁至60岁或4岁至16岁且不管血清状况如何的所有年龄组是安全的。在此背景下的相关亚组是9岁以下、2岁至9岁以下、4岁至9岁以下、4至5岁、6至11岁和12至16岁或4至16岁内的任何年龄组。在某些实施方案中，“有效”是指当从施用时间表的第一施用直到施用时间表的最后施用后18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且4至16岁的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学确认的登革热病中提供针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于60％)。可定义进一步的具体效力。如本文所用，“在血清阴性受试者中针对所有四种血清型的联合疫苗效力”是指在基线时血清阴性的受试者中测量的效力。如本文所用，“针对特定血清型，例如血清型1的疫苗效力”是指与导致病毒学确认的登革热病的特定血清型相关的效力。如本文所用，“针对病毒学确认的登革热住院针对所有四种血清型的联合疫苗效力”是指其中仅考虑病毒学确认的登革热住院病例的效力。可相对于在基线时为血清阴性或血清阳性的受试者且针对不同年龄组确定此类疫苗效力。

[0049] 如本文所用，“相对风险”是指病毒学确认的登革热病事件的数量除以用如本文公开的单位剂量治疗的受试者数量，再除以病毒学确认的登革热病事件的数量除以用安慰剂治疗的受试者数量。如本文所用，术语“针对所有四种血清型的组合相对风险”被定义为与登革热病风险相关的相对风险，而不管导致病毒学确认的登革热病的血清型和受试者基线血清状况如何。

[0050] 如本文所用，“疫苗接种”或“接种”是指向受试者施用疫苗，目的是预防受试者发展疾病的一种或多种症状。如本文所用，“针对登革热病进行疫苗接种”或“针对登革热病接种”是指向受试者施用登革热疫苗组合物，目的是预防受试者发展登革热病的一种或多种症状。原则上，所述方法包括初次疫苗接种和任选的一次或多次加强疫苗接种。初次疫苗接种被定义为用于施用如本文公开的组合物或单位剂量以建立保护性免疫响应的初次施用时间表，并且例如由例如三个月内的两次施用组成。每当在本公开中提及施用时，这种施用是指初次疫苗接种，除非它被指定为加强疫苗接种。加强疫苗接种是指在初次疫苗接种后，例如在初次疫苗接种时间表的最后施用，例如第二施用后至少1年、或4至4.5年、或甚至5或10年进行的施用或施用时间表。加强施用试图增强或重建初次疫苗接种的免疫响应。

[0051] 如本文所用，术语“受试者(subject)”或“受试者(subjects)”限于人受试者(例如婴儿、儿童或成人)。术语“老年受试者(elderly subject)”或“老年受试者(elderly subjects)”是指年龄超过60岁，例如61岁至100岁、61岁至90岁、61岁至80岁、61岁至75岁或61岁至70岁的受试者。

[0052] 如本文所用，“受试者群体”是指一组受试者。受试者群体可指至少40名受试者、至少50名受试者、至少60名受试者、至少100名受试者或至少1000名受试者并且由某些参数定义。可用于定义受试者群体的参数包括但不限于受试者的年龄、受试者是来自登革热流行地区还是来自登革热非流行地区以及受试者的血清状况。

[0053] 如本文所用，“流行地区”是指疾病或传染因子在此地区的群体中持续存在和/或通常流行的地区。如本文所用，“非流行地区”是指疾病不存在或通常不流行的地区。因此，“登革热流行地区”是指登革热病毒感染持续保持在基线水平的地理区域。“登革热非流行地区”是指登革热病毒感染并非始终保持在基线水平的地理区域。因此，“来自登革热流行地区”或“来自登革热非流行地区”的受试者群体或受试者是指生活在如上文定义的地理区

域中的受试者群体或受试者。地理区域或受试者群体是否是登革热流行的可通过不同的计算方法来确定，如Bhatt等人(2013)Nature 496(7446):504-507和补充材料以及Stanaway等人(2016)Lancet Infect Dis.16(6):712-723和补充材料中描述的方法。登革热流行地区和登革热流行病学的概述例如由WHO或CDC定期出版。典型的登革热流行地区位于拉丁美洲、东南亚和太平洋岛屿，并且登革热流行国家包括但不限于澳大利亚、巴西、孟加拉国、哥伦比亚、中国、多米尼加共和国、印度尼西亚、印度、墨西哥、马来西亚、尼加拉瓜、尼日利亚、巴基斯坦、巴拿马、菲律宾、波多黎各、新加坡、斯里兰卡、泰国和越南。区域的感染力通过以血清阳性率提供的血清阳性率调查来衡量。感染力非常高的区域被认为具有超过80％的血清阳性率。如本文所用，当涉及血清阳性率时，术语“地区”是指可确定或已知血清阳性率的地理区域，例如，村、镇、城市、地区、县、州、省或前述的部分地区或整个国家。

[0054] 如本文所用，“血清状况”是指受试者具有的关于某种传染因子，特别是登革热病毒的抗体的量。如本文所用，“血清阴性”或“血清初始性”是指受试者在血清中不具有针对登革热血清型DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4中任一者的中和抗体。血清阴性或血清初始性受试者或受试者群体由四种登革热血清型中的每一者的中和抗体效价小于10来定义。对于至少一种登革热血清型具有等于或大于10的中和抗体效价的受试者或受试者群体被定义为关于所述登革热血清型而言为“血清阳性的”。基线时的血清状况是指在施用如本文所述的登革热疫苗组合物之前的血清状况。

[0055] 如本文所用，“中和抗体效价”是指受试者血清中中和相应登革热血清型的抗体的量。抗DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4的中和抗体效价在受试者的血清样品中使用已知方法测定，所述方法如WHO指南(World Health Organization Department of Immunization Vaccines Biologicals(2007)Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses,WHO/IVB/07.07)中所述的噬斑减少中和测试(PRNT)或如本文所述的微量中和(MNT50)测定。如本文所用，“登革热血清型2的中和抗体效价与登革热血清型4的中和抗体效价的比率不超过20”是指登革热血清型2的中和抗体效价除以登革热血清型4的中和抗体效价并且由此获得的比率不超过20。换言之，受试者中登革热血清型2的中和抗体效价比登革热血清型4的中和抗体效价高不超过20倍。

[0056] 如本文所用，术语“几何平均中和抗体效价”和“GMT”是指受试者群体中受试者的血清中针对相应登革热血清型的中和抗体的效价的几何平均值。几何平均值通过众所周知的公式计算。如本文所用，“登革热血清型2的GMT与登革热血清型4的GMT的比率不超过20”是指登革热血清型2的几何平均中和抗体效价(GMT DENV-2)除以登革热血清型4的几何平均中和抗体效价(GMT DENV-4)并且由此获得的比率不超过20。换言之，受试者群体中登革热血清型2的几何平均中和抗体效价比登革热血清型4的几何平均中和抗体效价高不超过20倍。

[0057] 如本文所用，“免疫响应”是指受试者对施用登革热疫苗的响应。特别地，免疫响应包括针对一种或多种登革热血清型的中和抗体的形成。它还可包括刺激细胞介导的响应或形成针对非结构蛋白质(如NS1)的抗体。如果在单位剂量的施用后针对至少一种登革热病毒血清型且优选针对所有四种登革热病毒血清型的中和抗体的效价增加，则通过如本文所述的本发明的所述单位剂量的所述施用刺激免疫响应。如果在单位剂量的施用后用来自登革热病毒蛋白质的肽刺激的外周血单核细胞对干扰素γ的分泌增加，则通过如本文所述的

本发明的所述单位剂量的所述施用来刺激免疫响应。如果在单位剂量的施用后针对非结构蛋白质(如NS1)的抗体的效价增加,则通过如本文所述的本发明的所述单位剂量的所述施用来刺激免疫响应。在一个特定实施方案中,如本文所述的本发明的复溶单位剂量的施用刺激针对一种或多种登革热血清型的中和抗体的形成、细胞介导的响应和针对非结构蛋白质(如NS1)的抗体的形成。

[0058] 如本文所用,“平衡的免疫响应”是指对四种登革热血清型的免疫响应足以提供针对所有四种登革热血清型感染的保护,并且优选地对四种登革热血清型的免疫响应具有相似的强度。特别地,在施用如本文所述的本发明的第一复溶单位剂量后第180天或第365天针对四种登革热血清型的中和抗体效价是相似的,即其差异小于30倍、小于25倍或小于20倍。

[0059] 对于包含浓度为3.60log10pfu/0.5ml的登革热血清型1、浓度为4.00log10pfu/0.5ml的登革热血清型2、浓度为4.60log10pfu/0.5ml的登革热血清型3和浓度为5.11log10pfu/0.5ml的登革热血清型4的一种示例性四价疫苗组合物,显示了用作计算四价登革热疫苗的每种单独组分的浓度百分比的基值的“以pfu/0.5ml计的总浓度”。

[0060] 首先,将浓度的对数值转换为数值。这种转换的结果对于血清型1为$4x10^3$ pfu/0.5ml,对于血清型2为$1x10^4$ pfu/0.5ml,对于血清型3为$4x10^4$ pfu/0.5ml并且对于血清型4为$1.3x10^5$ pfu/0.5ml。以pfu/0.5ml计的总浓度是前面数值的和,得到$1.84x10^5$ pfu/0.5ml。

[0061] 血清型1、2、3和4中的每一者的“浓度百分比”是通过将单个血清型的浓度数值(以pfu/0.5ml表示)除以总浓度(以pfu/0.5ml表示)并且将结果乘以100而获得,即:

[0062] 血清型1的浓度百分比=($4x10^3$ pfu/0.5ml÷$1.84x10^5$ pfu/0.5ml)x100=2%

[0063] 血清型2的浓度百分比=($1x10^4$ pfu/0.5ml÷$1.84x10^5$ pfu/0.5ml)x100=5%

[0064] 血清型3的浓度百分比=($4x10^4$ pfu/0.5ml÷$1.84x10^5$ pfu/0.5ml)x100=22%

[0065] 血清型4的浓度百分比=($1.3x10^5$ pfu/0.5ml÷$1.84x10^5$ pfu/0.5ml)x100=71%。

[0066] 浓度百分比四舍五入为整数。

[0067] 如本文所用,“同时”施用是指在同一天施用至少两种不同的疫苗,如登革热疫苗和甲型肝炎疫苗。“在同一天”具有24小时内,例如一个日历日内的普通含义。同时施用可由同一执业医师进行,如在同一医疗预约期间进行。

[0068] 如本文所用,“依序”施用是指在不同或随后的日子如在90天内但是在联合施用时间中施用至少两种不同的疫苗,如登革热疫苗和黄热病疫苗或登革热疫苗和甲型肝炎疫苗。

[0069] 如本文所用,术语“慢性疾病或疾患”包括在老年受试者中持续三个月或更久的那些疾病和疾患。特别地,它包括糖尿病、高血压、过敏、先前中风、缺血性心脏病、慢性肾功能损害和慢性阻塞性肺病。

[0070] 如本文所用,术语“免疫系统受损”是指免疫系统的至少一个组成部分的至少一种功能弱于年轻受试者,即年龄小于60岁的受试者。这些功能包括单核细胞针对由登革热病毒诱导的氧化应激的抗氧化响应较低,以及响应于登革热病毒感染的T细胞响应和细胞因子产生较低。

[0071] 如本文所用，“诉求的全身性不良事件”在6岁以下儿童中被定义为每次疫苗接种后14天内发生的发热、易怒/哭闹、嗜睡和食欲不振，并且在6岁或6岁以上儿童中被定义为每次疫苗接种后14天内出现的发热、头痛、虚弱、不适和肌痛。

[0072] 如本文所用，“诉求的局部不良事件”是每次疫苗接种后7天内发生的注射部位疼痛、注射部位红斑和注射部位肿胀。

[0073] 如本文所用，“未诉求的不良事件”是如上文定义的未诉求的局部或全身性AE的任何不良事件(AE)。

[0074] 如本文所用，“严重不良事件”或“SAE”是在任何剂量下导致死亡、危及生命、需要住院治疗或延长现有住院治疗、导致持续或重大残疾/无能、是先天性异常/出生缺陷或由于上述标准以外的其他原因而具有医学重要性的任何不良的医疗事件或影响。

[0075] 将使用以下类别评估每个AE，包括诉求的全身性AE(诉求的局部AE被认为是相关的)与试验疫苗的关系：如本文所用，“IP相关AE”或“疫苗相关AE”是指怀疑在疫苗与AE之间存在关系(未确定概率的程度)；存在疫苗导致AE的合理可能性。如本文所用，“非IP相关”或“非疫苗相关”是指不怀疑在疫苗与AE之间存在关系；还有其他更可能的原因，并且不怀疑施用疫苗会导致AE。

[0076] 如本文所用，“2至60岁”“或18至60岁”的受试者或受试者群体是指在如本文所述的登革热疫苗组合物施用的第一天年龄为2至60岁或18至60岁的受试者或受试者群体。

[0077] 如本文所用，“％个点”是指％值中两个％值的差异。例如，在5％个点内的以％计的两个值是指例如一个值为1％，并且第二个值为6％。

[0078] 如本文所用，术语“在施用前确定受试者的先前登革热感染”是指必须在疫苗接种之前评估先前的登革热感染，由于有登革热的实验室确认史或通过适当验证的血清学测试，例如通过如本文公开的方法，如实施例2中描述的MNT50测试或基于场所疾病流行病学在特异性和交叉反应性方面具有足够性能的任何血清测试。

[0079] 如本文所用，％w/v是指％mg/ml，其中例如150mg/ml为15％w/v。

[0080] 如本文所用，术语“甲型肝炎病毒”可缩写为“HAV”。

[0081] 如本文所用，术语“安慰剂”可缩写为“Pbo”。

[0082] 如本文所用，“基线时甲型肝炎血清阴性”或“未患甲型肝炎(基线时)”均指受试者的血清中不具有预定量的抗甲型肝炎抗体。定量地，受试者的甲型肝炎血清阴性被定义为<10mIU/ml的抗甲型肝炎抗体水平。当通过ELISA测定抗甲型肝炎抗体水平时，较低的定量水平为12.5mIU/ml，这实际上是用于确定血清阴性的较低抗HAV抗体水平。具有≥12.5mIU/ml的抗甲型肝炎抗体水平的受试者被定义为甲型肝炎血清阳性。用于确定抗甲型肝炎抗体的ELISA例如公开于Beck等人J Travel Med 2004;11:201-207中。

[0083] 如本文所用，“基线时”是指在第一次疫苗接种之前最后一次测量受试者血清状况的时间点。

[0084] 如本文所用，单位“mIU/ml”是指每毫升毫国际单位。此浓度单位是指受试者的血清中抗甲型肝炎抗体的数量(例如，在疫苗接种之前或之后测量时)。如本文所用，本发明的“甲型肝炎疫苗的病毒抗原活性”根据WHO的标准推荐使用酶联免疫吸附测定(ELISA)来表示。根据WHO的这一建议(参见WHO信息表“Observed Rate of Vaccine Reactions-Hepatitis A Vaccine”，2012年6月公开)，甲型肝炎疫苗的病毒抗原活性以ELISA单位

(EL.U.)表示。甲型肝炎疫苗的病毒抗原活性可例如根据Andre FE.,Hepburn A.D'Hondt E.,"Inactivated candidate vaccines for hepatitis",A.Prog Med Virol 1990;37:72-95通过ELISA测定。

[0085] 如本文所用,术语"CCID"是指感染50%细胞培养物的病毒(例如疫苗病毒)的量。CCID50测定是具有统计效价计算的极限稀释测定(Morrison D等人,J Infect Dis.2010;201(3):370-7))。

[0086] 如本文关于在同一天同时施用甲型肝炎疫苗和四价登革热疫苗所用的"非劣效性"特别是在接受HAV和安慰剂(在同一天同时,即对照受试者群体)的受试者组的SPR与接受HAV和TDV(在同一天同时)的受试者组的SPR之间的血清保护率(SPR)差异具有低于设定在10%的非劣效性界值的双侧95%置信区间的上限的情况下断定,其中血清保护率是基于在第1天同时施用后第30天的测量值,使用Newcombe评分法计算。非劣效性临床研究是旨在提供至少两种治疗方法之间,在目前情况下在同时施用登革热疫苗和甲型肝炎疫苗与单一施用登革热疫苗或甲型肝炎疫苗之间的比较的研究。

[0087] 如本文所用,术语"血清保护率",缩写为"SPR",由在第一次疫苗接种后第30天(第1个月)分别针对HAV或DENV有血清保护的基线时HAV或DEN初始性的受试者的比例/百分比定义。

[0088] 如本文所用,术语"对照受试者群体"是指在同一天在临床研究环境中,例如在非劣效性临床研究中不接受同时施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物,而是接受单一真剂(如甲型肝炎疫苗或单位剂量的登革热疫苗组合物)和安慰剂的一组受试者。

[0089] 如本文所用,术语"协同作用(synergism)"或"协同作用(synergy)"定义为在同一天向受试者或受试者群体同时施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的效果,其中所述施用提供与在同一天相应同时施用甲型肝炎疫苗和安慰剂和/或在同一天同时施用单位剂量的登革热疫苗组合物和安慰剂(单次施用)相比,更高的抗甲型肝炎抗体浓度和/或更高的针对每种登革热病毒血清型的平均中和抗体效价。与单次施用相比,同时施用后这种更高的抗体浓度是有利于同时施用的迹象。

附图说明

[0090] 图1:TDV中包含的四种登革热株的遗传结构。实心红色三角形表示5'NCR、NS1和NS3蛋白中存在的三种减毒突变。TDV-1、TDV-3和TDV-4株是嵌合病毒,其中来自登革热血清型1、3和4的prM和E基因分别插入TDV-2主链中。

[0091] 图2:说明用于确定中和抗体效价的微量中和试验(MNT)的示意图。

[0092] 图3:实施例3的临床试验的流程图。

[0093] 图4:根据基线血清状况,在第1部分研究期间随时间推移A)病毒学确认的登革热病例和B)住院病毒学确认的登革热病例的累积发病率(安全集数据;数据在第18个月截断)。表格示出在第1部分研究期结束的各个时间点接受随访的参与者数量。

[0094] 图5:实施例3中描述的III期研究的研究设计。

[0095] 图6:实施例4中描述的HAV和TDV同时施用研究的试验设计的方案。

具体实施方式

[0096] 登革热病毒株

[0097] 登革热病毒是黄病毒科的单链正义RNA病毒。分类学在表1中概述。黄病毒科包括三个属,黄病毒属、肝炎病毒属和瘟病毒属。黄病毒属包含高致病性和潜在出血热病毒,如黄热病病毒和登革热病毒;脑炎病毒,如日本脑炎病毒、墨累山谷脑炎病毒和西尼罗河病毒;以及许多致病性较低的病毒。

[0098] 表1.GMO亲本菌株的登革热病毒分类学

[0099]

科	黄病毒科
属	黄病毒属
种	登革热病毒
株	登革热血清型2(株16681),株DEN-2PDK-53
GMO亲本	TDV-2

[0100] 黄病毒基因组在5'至3'方向上包含(参见图1):

[0101] -5'-非编码区(5'-NCR),

[0102] -衣壳蛋白(C)编码区,

[0103] -前膜蛋白(prM)编码区,

[0104] -包膜蛋白(E)编码区,

[0105] -编码非结构蛋白质(NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、NS5)的区和

[0106] -3'非编码区(3'-NCR)。

[0107] 病毒结构蛋白质是C、prM和E,并且非结构蛋白质是NS1至NS5。结构蛋白质和非结构蛋白至被翻译为单一多蛋白并由细胞和病毒蛋白酶加工。

[0108] 如本文所述的本发明的单位剂量包含登革热病毒组合物,所述登革热病毒组合物包含代表登革热血清型1、登革热血清型2、登革热血清型3和登革热血清型4的四种减毒活登革热病毒株(四价登革热病毒组合物)。优选地,所述组合物包含嵌合登革热病毒和任选的至少一种非嵌合登革热病毒,特别是源自减毒活DEN-2PDK-53病毒株的分子表征和克隆的登革热血清型2株(TDV-2),以及源自所述TDV-2株的三种嵌合登革热株,通过用来自其他登革热血清型的相应结构蛋白质替代来自TDV-2的结构蛋白质prM和E,从而产生以下嵌合登革热株:

[0109] -DENV-2/1嵌合体(TDV-1),

[0110] -DENV-2/3嵌合体(TDV-3)和

[0111] -DENV-2/4嵌合体(TDV-4)。

[0112] 经遗传修饰的四价登革热疫苗TDV是基于分子表征和克隆的登革热-2病毒株(TDV-2)。这种减毒的TDV-2株是通过最初在泰国曼谷的玛希隆大学(Kinney等人(1997)Virology 230(2):300-308)分离的实验室来源的减毒DEN-2PDK-53病毒株的cDNA克隆产生。DEN-2PDK-53是在32℃下在原代狗肾(PDK)细胞中53次连续传代产生的(Bhamarapravati等人(1987)Bull.World Health Organ.65(2):189-195)。

[0113] 减毒DEN-2PDK-53株(TDV-2的前体)源自野生型病毒株DEN-2 16681(SEQ ID NO 11),并且如下所示在9个核苷酸上与野生型不同(Kinney等人(1997)Virology 230(2):300-308):

[0114] (i)5'-非编码区(NCR)-57(nt-57C至T):主要减毒基因座

[0115] (ii)prM-29Asp至Val(nt-524A至T)

[0116] (iii)nt-2055C至T(E基因)沉默突变

[0117] (iv)NS1-53 Gly至Asp(nt-2579G至A):主要减毒基因座

[0118] (v)NS2A-181Leu至Phe(nt-4018C至T)

[0119] (vi)NS3-250 Glu至Val(nt-5270A至T):主要减毒基因座

[0120] (vii)nt-5547(NS3基因)T至C沉默突变

[0121] (viii)NS4A-75Gly至Ala(nt-6599G至C)

[0122] *nt-8571C至T(NS5基因)沉默突变

[0123] 位于5'非编码区(NCR)(核苷酸57)(突变(i))、NS-1基因(SEQ ID NO.4的氨基酸828)(突变(iv))和NS-3基因(SEQ ID NO.4的氨基酸1725)(突变(vi))中的三个核苷酸变化构成DEN-2PDK-53株的减毒表型的基础(Butrapet等人(2000)J.Virol.74(7):3111-3119)(表2)。这三个突变在本文中被称为"减毒突变"并且包含在TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4中。

[0124] 表2.所有TDV株的共有遗传主链中的减毒突变

[0125]

突变的位置	TDV-2 中的核苷酸变化	TDV-2 中的氨基酸变化
5'非编码区(5'NCR)	57 C 至 T	不适用(沉默)
非结构蛋白质 1 (NS1)	2579 G 至 A	828 Gly 至 Asp
非结构蛋白质 3 (NS3)	5270 A 至 T	1725 Glu 至 Val

[0126] 在一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-2还包含选自以下的一个或多个突变:

[0127] a)prM基因中在核苷酸524处从腺嘌呤至胸苷的突变,从而导致在位置143处从天冬酰胺至缬氨酸的氨基酸变化,和/或

[0128] b)E基因中在核苷酸2055处从胞嘧啶至胸苷的沉默突变,和/或

[0129] c)NS2A基因中在核苷酸4018处从胞嘧啶至胸苷的突变,从而导致在位置1308处从亮氨酸至苯丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0130] d)NS3基因中在核苷酸5547处从胸苷至胞嘧啶的沉默突变,和/或

[0131] e)NS4A基因中在核苷酸6599处从鸟嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置2168处从甘氨酸至丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0132] f)prM基因中在核苷酸900处从胸苷至胞嘧啶的沉默突变。

[0133] DEN-2PDK-53的NS5基因中在核苷酸8571处从胞嘧啶至胸苷的沉默突变在TDV-2株中不存在。

[0134] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-2还包含选自以下的一个或多个突变:

[0135] g)prM基因中在核苷酸592处从腺嘌呤至鸟嘌呤的突变,从而导致在位置166处从赖氨酸至谷氨酰胺的氨基酸变化,和/或

[0136] h)NS5基因中在核苷酸8803处从腺嘌呤至鸟嘌呤的突变,从而导致在位置2903处从异亮氨酸至缬氨酸的氨基酸变化。

[0137] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-2还包含突变a)和g),优选突变a)、g)、c)、e)和h),更优选突变a)、g)、c)、e)、h)和b),甚至更优选突变a)、g)、c)、e)、h)、b)和d),并且最优选突变a)至h)。TDV-2的核苷酸位置和氨基酸位置是指如SEQ ID NO.3中所示的核苷酸序列和如SEQ ID NO.4中所示的氨基酸序列。

[0138] 登革热病毒结构包膜(E)蛋白和前膜(prM)蛋白已被鉴定为引发中和保护性抗体响应的主要抗原(Plotkin 2001)。为了产生四价登革热疫苗(TDV),通过使用标准分子遗传工程化方法(Huang等人(2003)J.Virol.77(21):11436-11447)用分别来自DENV-1、DENV-3和DENV-4野生型株DENV-1 16007、DENV-3 16562或DENV-4 1036病毒的编码相应野生型prM和E糖蛋白的核酸序列(参见表3)替代编码DENV-2prM和E糖蛋白的核酸序列来对TDV-2进行修饰。

[0139] 表3.TDV病毒株的prM/E基因区的病毒起源

[0140]

病毒	株	起源	来源	参考文献	核苷酸序列	氨基酸序列
DENV-1	16007	泰国,1964	DHF/DSS患者	Halstead和Simasthien,1970	SEQ ID NO. 9	SEQ ID NO. 10

[0141]

DENV-2	16681	泰国,1964	DHF/DSS患者	Halstead和Simasthien,1970	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12
DENV-3	16562	菲律宾,1964	DHF患者	Halstead和Simasthien,1970	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14
DENV-4	1036	印度尼西亚,1976	DF患者	Gubler等人,1979	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16

[0142] 包含在登革热疫苗组合物中的四种TDV株的图表在图1中示出。

[0143] 嵌合登革热毒株TDV-1、TDV-3和TDV-4分别表达DENV-1、DENV-3或DENV-4病毒的表面抗原prM和E,如表3中所描绘,并保留负责TDV-2的减毒的遗传改变。因此,TDV-1、TDV-3和TDV-4株中的每一者均包含表2中描述的减毒突变。

[0144] 在一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-1还包含选自以下的一个或多个突变:

[0145] c)NS2A基因中在核苷酸4018处从胞嘧啶至胸苷的突变,从而导致在位置1308处从亮氨酸至苯丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0146] d)NS3基因中在核苷酸5547处从胸苷至胞嘧啶的沉默突变,和/或

[0147] e)NS4A基因中在核苷酸6599处从鸟嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置2168处从甘氨酸至丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0148] i)E基因中在核苷酸1575处从胸苷至胞嘧啶的沉默突变,和/或

[0149] j)prM-E基因与DEN-2PDK-53主链之间的接合位点中在核苷酸453处从腺嘌呤至鸟嘌呤的沉默突变,和/或

[0150] k)prM-E基因与DEN-2PDK-53主链之间的接合位点中在核苷酸2381/2382处从胸苷-鸟嘌呤至胞嘧啶-胞嘧啶的突变,从而导致在位置762处从缬氨酸至丙氨酸的氨基酸变化。

[0151] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-1还包含选自以下的一个或多个突变:

[0152] l)NS2A基因中在核苷酸3823处从腺嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置1243处从异亮氨酸至亮氨酸的氨基酸变化,和/或

[0153] m)NS2B基因中在核苷酸4407处从腺嘌呤至胸苷的突变,从而导致在位置1437处从谷氨酰胺至天冬酰胺的氨基酸变化,和/或

[0154] n)NS4B基因中在核苷酸7311处从腺嘌呤至鸟嘌呤的沉默突变。

[0155] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-1株还包含突变l)和m),优选突变l)、m)、c)和e),甚至更优选突变l)、m)、c)、e)、d)和n),并且最优选突变l)、m)、c)、e)、d)、n)、i)、j)和k)。TDV-1的核苷酸位置和氨基酸位置是指如SEQ ID NO.1中所示的核苷酸序列和如SEQ ID NO.2中所示的氨基酸序列。

[0156] 在一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-3还包含选自以下的一个或多个突变:

[0157] c)NS2A基因中在核苷酸4012处从胞嘧啶至胸苷的突变,从而导致在位置1306处从亮氨酸至苯丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0158] d)NS3基因中在核苷酸5541处从胸苷至胞嘧啶的沉默突变,和/或

[0159] e)NS4A基因中在核苷酸6593处从鸟嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置2166处从甘氨酸至丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0160] j)prM-E基因与DEN-2PDK-53主链之间的接合位点中在核苷酸453处从腺嘌呤至鸟嘌呤的沉默突变,和/或

[0161] k)prM-E基因与DEN-2PDK-53主链之间的接合位点中在核苷酸2375/2376处从胸苷-鸟嘌呤至胞嘧啶-胞嘧啶的突变,从而导致在位置760处从缬氨酸至丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0162] o)prM基因中在核苷酸552处从胞嘧啶至胸苷的沉默突变,和/或

[0163] p)E基因中在核苷酸1970处从腺嘌呤至胸苷的突变,从而导致在位置625处从组氨酸至亮氨酸的氨基酸变化。

[0164] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-3还包含选自以下的一个或多个突变:

[0165] q)E基因中在核苷酸1603处从腺嘌呤至胸苷的突变,从而导致在位置503处从苏氨酸至丝氨酸的氨基酸变化,和/或

[0166] r)NS5基因中在核苷酸7620处从腺嘌呤至鸟嘌呤的沉默突变。

[0167] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-3还包含突变p)和q),优选突变p)、q)、c)和e),甚至更优选突变p)、q)、c)、e)、d)和r),并且最优选突变p)、q)、c)、e)、d)、r)、j)、k)和o)。TDV-3的核苷酸位置和氨基酸位置是指如SEQ ID NO.5中所示的核苷酸序列和如SEQ ID NO.6中所示的氨基酸序列。

[0168] 在一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-4还包含选自以下的一个或多个突变:

[0169] c)NS2A基因中在核苷酸4018处从胞嘧啶至胸苷的突变,从而导致在位置1308处从亮氨酸至苯丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0170] d)NS3基因中在核苷酸5547处从胸苷至胞嘧啶的沉默突变,和/或

[0171] e)NS4A基因中在核苷酸6599处从鸟嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置2168处从甘氨酸至丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0172] j)prM-E基因与DEN-2PDK-53主链之间的接合位点中在核苷酸453处从腺嘌呤至鸟嘌呤的沉默突变,和/或

[0173] k)prM-E基因与DEN-2PDK-53主链之间的接合位点中在核苷酸2381/2382处从胸苷-鸟嘌呤至胞嘧啶-胞嘧啶的突变,从而导致在位置762处从缬氨酸至丙氨酸的氨基酸变化,和/或

[0174] s)C基因中在核苷酸396处从腺嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置100处从精氨酸至丝氨酸的氨基酸变化,和/或

[0175] t)E基因中在核苷酸1401处从腺嘌呤至鸟嘌呤的沉默突变,和/或

[0176] u)E基因中在核苷酸2027处从胞嘧啶至胸苷的突变,从而导致在位置644处从丙氨酸至缬氨酸的氨基酸变化,和/或

[0177] v)E基因中在核苷酸2275处从腺嘌呤至胞嘧啶的突变,从而导致在位置727处从甲硫氨酸至亮氨酸的氨基酸变化。

[0178] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-4还包含选自以下的一个或多个突变:

[0179] w)C基因中在核苷酸225处从腺嘌呤至胸苷的沉默突变,和/或

[0180] x)NS2A基因中在核苷酸3674处从腺嘌呤至鸟嘌呤的突变,从而导致在位置1193处从天冬酰胺至甘氨酸的氨基酸变化,和/或

[0181] y)NS2A基因中在核苷酸3773处从腺嘌呤至腺嘌呤/鸟嘌呤混合物的突变,从而导致在位置1226处从赖氨酸至赖氨酸/天冬酰胺混合物的氨基酸变化,和/或

[0182] z)NS3基因中在核苷酸5391处从胞嘧啶至胸苷的沉默突变,和/或

[0183] aa)NS4A基因中在核苷酸6437处从胞嘧啶至胸苷的突变,从而导致在位置2114处从丙氨酸至缬氨酸的氨基酸变化,和/或

[0184] bb)NS4B基因中在核苷酸7026处从胸苷至胸苷/胞嘧啶混合物的沉默突变,和/或

[0185] cc)NS5基因中在核苷酸9750处从腺嘌呤至胞嘧啶的沉默突变。

[0186] 在另一个实施方案中,除了所述三个减毒突变外,TDV-4还包含突变s)、u)和v),优选突变s)、u)、v)、c)、e)、x)、y)和aa),甚至更优选突变s)、u)、v)、c)、e)、x)、y)、aa)和w),甚至更优选突变s)、u)、v)、c)、e)、x)、y)、aa)、w)、d)、z)、bb)和cc),并且最优选突变s)、u)、

v)、c)、e)、x)、y)、aa)、w)、d)、z)、bb)、cc)、j)、k)和t)。TDV-4的核苷酸位置和氨基酸位置是指如SEQ ID NO.7中所示的核苷酸序列和如SEQ ID NO.8中所示的氨基酸序列。

[0187] 在一个优选的实施方案中,TDV-1具有SEQ ID NO.1的核苷酸序列,TDV-2具有SEQ ID NO.3的核苷酸序列,TDV-3具有SEQ ID NO.5的核苷酸序列,和/或TDV-4具有SEQ ID NO.7的核苷酸序列。在进一步优选的实施方案中,TDV-1具有SEQ ID NO.2的氨基酸序列,TDV-2具有SEQ ID NO.4的氨基酸序列,TDV-3具有SEQ ID NO.6的氨基酸序列,并且TDV-4具有SEQ ID NO.8的氨基酸序列。在进一步优选的实施方案中,TDV-1具有编码SEQ ID NO.2的氨基酸序列的核苷酸序列,TDV-2具有编码SEQ ID NO.4的氨基酸序列的核苷酸序列,TDV-3具有编码SEQ ID NO.6的氨基酸序列的核苷酸序列,并且TDV-4具有编码SEQ ID NO.8的氨基酸序列的核苷酸序列。

[0188] 表4.TDV病毒株的序列

[0189]

SEQ ID NO.	登革热病毒株	序列类型
SEQ ID NO.1	TDV-1	核苷酸序列
SEQ ID NO.2	TDV-1	氨基酸序列
SEQ ID NO.3	TDV-2	核苷酸序列
SEQ ID NO.4	TDV-2	氨基酸序列
SEQ ID NO.5	TDV-3	核苷酸序列
SEQ ID NO.6	TDV-3	氨基酸序列
SEQ ID NO.7	TDV-4	核苷酸序列
SEQ ID NO.8	TDV-4	氨基酸序列

[0190] 因此,在一个特别优选的实施方案中,如本文所述的本发明的单位剂量包含减毒活登革热病毒株TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4,其中TDV-1、TDV-3和TDV-4是基于TDV-2,并且分别包含DENV-1、-3和-4的prM和E区。在另一个特别优选的实施方案中,TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列,TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列,TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列,并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0191] DENV-3的E蛋白比DENV-2的E蛋白少两个氨基酸。因此,在DENV-3的E区之后开始于SEQ ID NO.5的核苷酸2374和SEQ ID NO.6的氨基酸760的TDV-2的核苷酸和编码的氨基酸主链分别比原始TDV-2核苷酸和氨基酸位置少6个核苷酸和2个氨基酸。

[0192] 登革热疫苗组合物

[0193] 本发明部分地涉及单位剂量的如所描述的登革热疫苗组合物。登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物(也称为登革热病毒组合物)以及药学上可接受的赋形剂。

[0194] 登革热病毒组成、病毒浓度和%-浓度

[0195] 本发明部分地涉及单位剂量的登革热疫苗组合物,其中所述登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株:

[0196] (i)优选浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1,

[0197] (ii)优选浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2,

[0198] (iii)优选浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3,和(iv)优选浓度为

至少4.5log10 pfu/0.5mL的登革热血清型4株。

[0199] 在一个实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株:

[0200] (i)优选浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL至3.8log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1,

[0201] (ii)优选浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2,

[0202] (iii)优选浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3,和(iv)优选浓度为至少4.5log10 pfu/0.5ml或4.6log10 pfu/0.5mL、任选地至6.2log10 pfu/0.5ml的登革热血清型4株。

[0203] 本发明进一步部分地涉及单位剂量的登革热疫苗组合物,其中所述登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株:

[0204] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/1株,

[0205] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2株,

[0206] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株,和

[0207] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/4株。

[0208] 在一个实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株:

[0209] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL至3.8log10 pfu/0.5ml的嵌合登革热血清型2/1株,

[0210] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2株,

[0211] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株,和

[0212] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL或至少4.6log10 pfu/0.5mL至任选地6.2log10 pfu/0.5ml的嵌合登革热血清型2/4株。

[0213] 优选地,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。

[0214] 在一个实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中:

[0215] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/0.5mL至5.3log10 pfu/0.5mL,

[0216] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/0.5mL至5.0log10 pfu/0.5mL,

[0217] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0 log10 pfu/0.5mL至6.0log10 pfu/0.5mL,并且

[0218] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/0.5mL至6.5log10 pfu/0.5mL。

[0219] 在一个这样的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中:

[0220] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/0.5mL

至5.0log10 pfu/0.5mL，

[0221] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/0.5mL至4.9log10 pfu/0.5mL，

[0222] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/0.5mL至5.7log10 pfu/0.5mL,并且

[0223] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/0.5mL至6.2log10 pfu/0.5mL。

[0224] 在另一个这样的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中：

[0225] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/剂量，

[0226] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至4.9log10 pfu/剂量，

[0227] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至5.7log10 pfu/剂量,并且

[0228] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.5log10 pfu/剂量。

[0229] 在另一个这样的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中：

[0230] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至4.1log10 pfu/剂量，

[0231] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至3.6log10 pfu/剂量，

[0232] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至4.7log10 pfu/剂量,并且

[0233] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.3log10 pfu/剂量。

[0234] 在另一个这样的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中：

[0235] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/0.5mL至3.6log10 pfu/0.5mL，

[0236] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/0.5mL至4.0log10 pfu/0.5mL，

[0237] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/0.5mL至4.6log10 pfu/0.5mL,并且

[0238] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/0.5ml或4.6log10 pfu/0.5mL至5.1log10 pfu/0.5mL。

[0239] 在另一个实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中：

[0240] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为4.3log10 pfu/0.5mL至4.4log10 pfu/0.5mL，

[0241] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为3.7log10 pfu/0.5mL至3.8log10 pfu/0.5mL，

[0242] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.5log10 pfu/0.5mL至5.0log10 pfu/0.5mL,并且

[0243] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为5.5log10 pfu/0.5mL至5.6log10 pfu/0.5mL。

[0244] 在一个特别优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中：

[0245] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为4.4log10 pfu/0.5mL，

[0246] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为3.8log10 pfu/0.5mL，

[0247] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.5log10 pfu/0.5mL,并且

[0248] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为5.6log10 pfu/0.5mL。

[0249] 在另一个特别优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中：

[0250] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.6log10 pfu/0.5mL，

[0251] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为4.0log10 pfu/0.5mL，

[0252] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.6log10 pfu/0.5mL,并且

[0253] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为5.1log10 pfu/0.5mL。

[0254] 在另一个优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中所有四种血清型的算术和小于6.7log10 pfu/0.5mL,优选小于5.5log10 pfu/0.5mL。在某些此类实施方案中,所有四种血清型的算术和是至少4.6log10 pfu/0.5mL。在一个优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中所有四种血清型的算术和在4.6log10 pfu/0.5mL至6.7log10 pfu/0.5mL的范围内,优选在4.6log10 pfu/0.5mL至5.5log10 pfu/0.5mL的范围内。

[0255] 优选地,在所述实施方案中,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地,TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列,TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列,TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列,并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0256] 本发明部分地涉及单位剂量的登革热疫苗组合物,其中所述登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株:

[0257] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/剂量的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株),

[0258] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/剂量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株),

[0259] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/剂量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株),和

[0260] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/剂量的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)。

[0261] 在一个实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中:

[0262] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至5.3log10 pfu/剂量,

[0263] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/剂量,

[0264] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至6.0log10 pfu/剂量,并且

[0265] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至6.5log10 pfu/剂量。

[0266] 在一个这样的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中:

[0267] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/剂量,

[0268] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至4.9log10 pfu/剂量,

[0269] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至5.7log10 pfu/剂量,并且

[0270] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至6.2log10 pfu/剂量。

[0271] 在另一个这样的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中:

[0272] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/剂量,

[0273] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至4.9log10 pfu/剂量,

[0274] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至5.7log10 pfu/剂量,并且

[0275] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.5log10 pfu/剂量。

[0276] 在另一个这样的实施方案中，登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中：

[0277] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至4.1log10 pfu/剂量，

[0278] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至3.6log10 pfu/剂量，

[0279] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至4.7log10 pfu/剂量，并且

[0280] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.3log10 pfu/剂量。

[0281] 在另一个这样的实施方案中，登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中：

[0282] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至3.6log10 pfu/剂量，

[0283] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10pfu/剂量至4.0log10 pfu/剂量，

[0284] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至4.6log10 pfu/剂量，并且

[0285] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量4.6log10 pfu/剂量至5.1log10 pfu/剂量。

[0286] 在另一个实施方案中，登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中：

[0287] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为4.3log10 pfu/剂量至4.4log10 pfu/剂量，

[0288] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为3.7log10 pfu/剂量至3.8log10 pfu/剂量，

[0289] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/剂量，并且

[0290] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为5.5log10 pfu/剂量至5.6log10 pfu/剂量。

[0291] 在一个特别优选的实施方案中，登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中：

[0292] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为4.4log10 pfu/剂量，

[0293] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为3.8log10 pfu/剂量，

[0294] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量，并且

[0295] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为5.6log10 pfu/剂量。

[0296] 在另一个特别优选的实施方案中，登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合

物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中:

[0297] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.6log10 pfu/剂量,

[0298] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量,

[0299] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.6log10 pfu/剂量,并且

[0300] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为5.1log10 pfu/剂量。

[0301] 在另一个优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中所有四种血清型的算术和小于6.7log10 pfu/剂量,优选小于5.5log10 pfu/剂量。在某些此类实施方案中,所有四种血清型的算术和是至少4.6log10 pfu/剂量。在一个优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中所有四种血清型的算术和在4.6log10 pfu/剂量至6.7log10 pfu/剂量的范围内,优选在4.6log10 pfu/剂量至5.5log10 pfu/剂量的范围内。

[0302] 在组合物的一个实施方案中,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述浓度,(iii)的浓度是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少10%。

[0303] 在组合物的一个实施方案中,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述总浓度,以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10%,并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50%,并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1%,并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6%、或至少8%、或至少10%、或至少12%、或至少14%、或至少16%、或至少18%。

[0304] 优选以pfu/0.5mL计的(iii)的复溶单位剂量中的浓度是至少10%。

[0305] 在组合物的一个实施方案中,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述总浓度,以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于2%,以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50%,以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1%,并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6%。

[0306] 优选地,在所述实施方案中,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地,TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列,TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列,TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列,并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0307] 不同登革热病毒的浓度优选地通过本领域已知的免疫聚焦测定来确定。例如,浓度可通过免疫聚焦测定来确定,其中登革热病毒的连续稀释液施加至贴壁细如Vero细胞胞的单层。在允许感染性病毒与细胞结合并被细胞吸收一段时间后,添加含有增稠剂(如琼脂糖或羧甲基纤维素)的覆盖层以防止病毒扩散,以使得子代病毒只能感染与原始感染细胞相邻的细胞。在一段时间孵育以允许病毒复制后,将细胞固定并使用血清型特异性抗登革热单克隆抗体和第二抗体(如用碱性磷酸酶标记的抗体)对细胞进行染色。通过添加与第二抗体连接的酶的合适的底物,如5-溴-4-氯-3-吲哚基-磷酸/硝基蓝四唑磷酸酶底物,对病

灶进行染色。板上的噬斑数量对应于施加至细胞的溶液中病毒的噬斑形成单位。例如，1,000pfu/μl的浓度表明，施加至细胞的1μl溶液含有足够的病毒以在细胞单层中产生1,000个噬斑。

[0308] 登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中嵌合登革热血清型2/1株、登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株提供以pfu/0.5mL计的总浓度。术语“以pfu/0.5mL计的总浓度”或“以pfu/剂量计的总浓度”是登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)、登革热血清型2(例如登革热血清型2株)、登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)和登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度之和，优选TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4的浓度之和，并且被定义为100％的登革热病毒浓度，如以0.5mL或剂量中的pfu(噬斑形成单位)确定。

[0309] 在一个实施方案中，登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)、登革热血清型2(例如登革热血清型2株)、登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)和登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)提供以pfu/0.5mL计的总浓度，其中基于所述总浓度，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度是总浓度的小于10％或总浓度的小于8％或总浓度的小于6％，并且其中以pfu/0.5mL测量的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度是总浓度的至少50％或至少60％或至少65％。在一个实施方案中，基于所述总浓度，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度是总浓度的0.3％至10％或0.5％至8％，并且以pfu/0.5mL测量的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度是总浓度的50％至90％或60％至88％。这意味着登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度低于登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度。

[0310] 在一个这样的实施方案中，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度是总浓度的至少1％，和/或以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度是总浓度的至少6％，或总浓度的至少7％或8％、10％、12％、14％、16％或18％。在一个这样的实施方案中，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度是总浓度的1％至7％或2％至6％或2.0％至5.0％，和/或以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)浓度是总浓度的6％至25％或7％至25％或10％至25％或18％至25％。这意味着登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度低于登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度。

[0311] 在一个优选的实施方案中，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2株如TDV-2的浓度是总浓度的小于10％，优选小于6％或小于2％，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4的浓度是总浓度的至少50％，优选至少65％，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1是总浓度的至少1％，优选地介于1％与7％或2.0％与5.0％之间，并且以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3的浓度是总浓度的至少6％，优选介于6％与25％或10％至25％或18％至25％之间。

[0312] 在进一步优选的实施方案中，提供了登革热病毒组合物包含登革热血清型1(例如

嵌合登革热血清型2/1株)、登革热血清型2(例如登革热血清型2株)、登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/3株)和登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株),如TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4,其中以pfu/0.5mL测量的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度是总浓度的至少1%,优选介于1%与7%或2.0%与5.0%之间,以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度是总浓度的小于10%,优选小于6%或小于2%,并且以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度是总浓度的至少6%,优选介于6%与25%或10%至25%或18%至25%之间。特别优选登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)具有所有四种登革热血清型的最高浓度。

[0313] 在进一步优选的实施方案中,登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中以pfu/0.5mL测量的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度是总浓度的1%至7%,以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度是总浓度的小于8%,如在总浓度的1%至8%的范围内,以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度是总浓度的至少10%,并且以pfu/0.5mL测量的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度是总浓度的至少65%,如在65%至80%的范围内。在某些此类实施方案中,所有四种血清型的算术和在4.6log10 pfu/0.5mL至6.7log10 pfu/0.5mL的范围内,优选在4.6log10 pfu/0.5mL至5.5log10pfu/0.5mL的范围内。

[0314] 在进一步优选的实施方案中,登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1和登革热血清型2(例如登革热血清型2株)如TDV-2各自基于以pfu/0.5mL计的总浓度以在彼此的5%个点以内的浓度存在,和/或一起是以pfu/0.5mL计的总浓度的小于约10%。在某些此类实施方案中,登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3优选地是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约10%,并且更优选登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少70%。在某些此类实施方案中,登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4代表所有四种血清型的组合物中的最高浓度,优选以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约70%,登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3代表所有四种血清型的组合物中的第二最高浓度,优选以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约10%,并且登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1和登革热血清型2(如登革热血清型2株)如TDV-2各自代表与血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3的浓度相比更低的浓度,并且任选地一起代表以pfu/0.5mL计的总浓度的小于约10%。

[0315] 优选地,在所述实施方案中,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地,TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列,TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列,TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列,并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0316] 根据另一个实施方案,嵌合登革热血清型2/4株(优选TDV-4)在登革热疫苗组合物中具有最高浓度,然后是嵌合登革热血清型2/3株(优选TDV-3),然后是嵌合登革热血清型2/1株(优选TDV-1),然后是登革热血清型2株(优选TDV-2)。特别优选登革热血清型2株具有

登革热疫苗组合物中存在的四种株的最低浓度。

[0317] 每当提及浓度/0.5ml时，这并不将本文所述的单位剂量的体积限制为0.5ml。0.5ml是用于测定组合物中病毒株浓度(以pfu/ml表示)的参考体积。每单位剂量的体积和/或量在相应章节中进行了描述。

[0318] 药学上可接受的赋形剂

[0319] 本发明部分地涉及单位剂量的登革热疫苗组合物，其中所述登革热疫苗组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。在一个实施方案中，登革热疫苗组合物包含非还原糖、表面活性剂、蛋白质和无机盐。优选地，非还原糖是海藻糖，表面活性剂是泊洛沙姆407，蛋白质是人血清白蛋白，并且无机盐是氯化钠。

[0320] 在一个实施方案中，登革热疫苗组合物的单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂：

[0321] -约10%w/v至约20%w/vα,α-海藻糖二水合物或等摩尔量的其他形式的α,α-海藻糖，

[0322] -约0.5%w/v至约1.5%w/v的泊洛沙姆407，

[0323] -约0.05%w/v至约2%w/v人血清白蛋白，和

[0324] -约70mM至140mM氯化钠。

[0325] 在一个实施方案中，当以0.5ml测量时，登革热疫苗组合物的单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂：

[0326] -约10%w/v至约20%w/vα,α-海藻糖或等摩尔量的其他形式的α,α-海藻糖，

[0327] -约0.5%w/v至约1.5%w/v的泊洛沙姆407，

[0328] -约0.05%w/v至约2%w/v人血清白蛋白，和

[0329] -约70mM至140mM氯化钠，并且优选

[0330] -具有7至8.5的pH。

[0331] 在一个实施方案中，当以0.5ml测量时，登革热疫苗组合物的单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂：

[0332] -约143mg/ml至约185mg/mlα,α-海藻糖二水合物或等摩尔量的其他形式的α,α-海藻糖，

[0333] -约9.1mg/ml至约12.4mg/ml泊洛沙姆407，

[0334] -约0.88%mg/ml至约1.32mg/ml人血清白蛋白，和

[0335] -约70mM至140mM氯化钠，并且优选

[0336] -具有7至8.5的pH。

[0337] 在一个优选的实施方案中，如本文所述的本发明的冻干单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂：

[0338] -约15%w/vα,α-海藻糖二水合物，

[0339] -约1%w/v泊洛沙姆407，

[0340] -约0.1%w/v人血清白蛋白，和

[0341] -约100mM氯化钠。

[0342] 在一个优选的实施方案中，当以0.5ml测量时，如本文所述的本发明的冻干单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂：

[0343] -约15%w/vα,α-海藻糖,

[0344] -约1%w/v泊洛沙姆407,

[0345] -约0.1%w/v人血清白蛋白,和

[0346] -约100mM氯化钠。

[0347] 在一个优选的实施方案中,如本文所述的本发明的冻干单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂:

[0348] -约82.9mgα,α海藻糖二水合物,

[0349] -约5mg泊洛沙姆407,

[0350] -约0.5mg人血清白蛋白,和

[0351] -约50微摩尔氯化钠。

[0352] 在一个优选的实施方案中,如本文所述的本发明的复溶单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂:

[0353] -约15%w/vα,α-海藻糖二水合物,

[0354] -约1%w/v泊洛沙姆407,

[0355] -约0.1%w/v人血清白蛋白,和

[0356] -约137mM氯化钠,并且优选

[0357] -具有7至8.5的pH

[0358] 在一个优选的实施方案中,当以0.5ml测量时,如本文所述的本发明的复溶单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂:

[0359] -约15%w/vα,α-海藻糖,

[0360] -约1%w/v泊洛沙姆407,

[0361] -约0.1%w/v人血清白蛋白,和优选地

[0362] -约137mM氯化钠,并且优选

[0363] -具有7至8.5的pH。

[0364] 在一个优选的实施方案中,如本文所述的本发明的复溶单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂:

[0365] -约82.9mgα,α海藻糖二水合物,

[0366] -约5mg泊洛沙姆407,

[0367] -约0.5mg人血清白蛋白,和优选地

[0368] -约68.5微摩尔氯化钠,并且优选

[0369] -具有7至8.5的pH。

[0370] 人血清白蛋白可以是天然或重组人血清白蛋白(rHSA)。泊洛沙姆407可以是例如普朗尼克F127。

[0371] 在一个实施方案中,单位剂量还包含缓冲剂。缓冲剂可以是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。缓冲剂可包括氯化钠(NaCl)、磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)、磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、氯化钾(KCl)和磷酸二氢钾(KH_2PO_4)中的至少一者。在一个优选的实施方案中,缓冲剂可包括磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、氯化钾(KCl)和磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。在25℃下,缓冲剂具有在7.0至8.5范围内的pH。

[0372] 单位剂量

[0373] 本发明部分地涉及单位剂量的登革热疫苗组合物,所述登革热疫苗组合物包含如本文所述的四价登革热病毒组合物和如本文所述的药学上可接受的赋形剂。

[0374] 本发明部分地涉及单位剂量的如上所述的登革热疫苗组合物,例如具有

[0375] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株),

[0376] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2(例如登革热血清型2株),

[0377] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株),和

[0378] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)。

[0379] 优选地,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地,TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列,TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列,TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列,并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0380] 在一个实施方案中,单位剂量是冻干的。在一个这样的实施方案中,冻干单位剂量是通过使0.5mL体积的水性登革热疫苗组合物经受冻干而获得,所述水性登革热疫苗组合物是通过将如本文所述的药学上可接受的赋形剂与如本文所述的包含四种登革热病毒株(特别是TDV-1至TDV-4)的登革热疫苗组合物组合而产生的。在一个优选的实施方案中,如通过卡尔费休测定所测定的残余水分含量等于或小于5.0%,优选等于或小于3%。

[0381] 在另一个实施方案中,单位剂量被复溶。优选在施用登革热疫苗之前通过用药学上可接受的稀释剂对冻干的单位剂量进行复溶而获得复溶的单位剂量。在一个这样的实施方案中,复溶将通过将药学上可接受的稀释剂,如注射用水、磷酸盐缓冲盐水或氯化钠水溶液添加至冻干的单位剂量中来完成。在一个实施方案中,将氯化钠水溶液,如37mM氯化钠水溶液添加至冻干的单位剂量中用于复溶。在一个这样的实施方案中,冻干的单位剂量将用0.3至0.8mL、或0.4至0.7mL或0.5mL稀释剂复溶。在一个优选的实施方案中,冻干的单位剂量用0.3至0.8mL、0.4至0.7mL或0.5mL 37mM氯化钠水溶液复溶。在更优选的实施方案中,冻干的单位剂量用0.5mL的37mM氯化钠水溶液复溶。随后可皮下施用复溶的单位剂量。

[0382] 优选地,呈冻干形式的单位剂量是在制造单位剂量和单位剂量的储存形式之后的最终产品,其中呈复溶形式的单位剂量是在向受试者施用单位剂量之前制备的。

[0383] 此外,本发明部分地涉及单位剂量的登革热疫苗组合物,所述登革热疫苗组合物包含:

[0384] 四价病毒组合物,所述四价病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株,其中所述单位剂量是冻干的,并且在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含:

[0385] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5ml的登革热血清型1,如嵌合登革热血清型2/1株,

[0386] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5ml的登革热血清型2,如登革热血清型2株,

[0387] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5ml的登革热血清型3,如嵌合登革热血清型2/

3株,和

[0388] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5ml的登革热血清型4,如嵌合登革热血清型2/4株。

[0389] 在一个实施方案中,复溶的单位剂量具有例如0.5mL的体积,其中在用药学上可接受的稀释剂复溶后,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述浓度,(iii)的浓度是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少10%。

[0390] 在另一个实施方案中,复溶的单位剂量具有例如0.5mL的体积,其中在用药学上可接受的稀释剂复溶后,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述总浓度,以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10%,并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50%,并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1%,并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6%、或至少8%、或至少10%、或至少12%、或至少14%、或至少16%、或至少18%。

[0391] 优选以pfu/0.5mL计的(iii)的复溶单位剂量中的浓度是至少10%。

[0392] 在一个实施方案中,复溶的单位剂量具有例如0.5mL的体积,其中在用药学上可接受的稀释剂复溶后,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述总浓度,以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于2%,以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50%,以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1%,并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6%。

[0393] 在一个实施方案中,本发明涉及一种冻干单位剂量的登革热疫苗组合物,所述冻干单位剂量的登革热疫苗组合物在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)、浓度为至少2.7log10pfu/0.5mL的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)、浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)和浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)以及如本文所述的药学上可接受的赋形剂,其中所述单位剂量优选在冻干前以0.5mL配制。优选地,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地,TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列,TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列,TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列,并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0394] 在一个这样的实施方案中,冻干的单位剂量是通过将0.5mL的登革热疫苗组合物冻干而获得,所述登革热疫苗组合物包含浓度为3.3log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)、浓度为2.7log10 pfu/剂量至4.9log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)、浓度为4.0log10 pfu/剂量至5.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)和浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.5log10 pfu/0.5mL的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)以及如本文所述的药学上可接受的赋形剂。优选地,嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1,登革热血清型2株是TDV-2,嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3,并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。

[0395] 在一个这样的实施方案中,冻干的单位剂量是通过将0.5mL的登革热疫苗组合物

冻干而获得，所述登革热疫苗组合物包含浓度为3.3log10 pfu/0.5mL至3.6log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)、浓度为2.7log10 pfu/0.5mL至4.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)、浓度为4.0log10 pfu/0.5mL至4.6log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)和浓度为4.5log10 pfu/0.5mL或4.6log10 pfu/0.5mL至5.1log10 pfu/0.5mL的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)以及如本文所述的药学上可接受的赋形剂。优选地，嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1，登革热血清型2株是TDV-2，嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3，并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。

[0396] 在某些实施方案中，冻干的单位剂量是指冻干前的0.5mL，其中TDV-2和TDV-4基于以pfu/0.5mL计的TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4的总浓度以某些相对量存在，并且以pfu/0.5mL测量的TDV-2的浓度小于10％、或小于8％、或小于6％，并且以pfu/0.5mL测量的TDV-4的浓度是至少50％或至少65％。在这些实施方案中的一些中，以pfu/0.5mL测量的TDV-1的浓度是至少1％，和/或以pfu/0.5mL测量的TDV-3的浓度是至少6％、7％、8％、10％、12％、14％、16％或至少18％。

[0397] 在某些实施方案中，复溶的单位剂量具有0.5mL的体积，并且TDV-2和TDV-4基于以pfu/0.5mL计的TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4的总浓度以某些相对量存在，并且以pfu/0.5mL测量的TDV-2的浓度小于10％、或小于8％、或小于6％，并且以pfu/0.5mL测量的TDV-4的浓度是至少50％或至少65％。在这些实施方案中的一些中，以pfu/0.5mL测量的TDV-1的浓度是至少1％，和/或以pfu/0.5mL测量的TDV-3的浓度是至少6％、7％、8％、10％、12％、14％、16％或至少18％。

[0398] 在进一步优选的实施方案中，复溶的单位剂量具有0.5mL的体积并且包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中以pfu/0.5mL测量的登革热血清型1(例如登革热血清型2/1株)的浓度是总浓度的1％至7％，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度是总浓度的小于8％，如在总浓度的1％至8％的范围内，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如登革热血清型2/3株)的浓度是总浓度的至少10％，并且以pfu/0.5mL测量的登革热血清型4(例如登革热血清型2/4株)的浓度是总浓度的至少65％，如在65％至80％的范围内。在某些此类实施方案中，所有四种血清型的算术和在4.6log10 pfu/0.5mL至6.7log10 pfu/0.5mL的范围内，优选在4.6log10 pfu/0.5mL至5.5log10 pfu/0.5mL的范围内。

[0399] 在进一步优选的实施方案中，复溶的单位剂量具有0.5mL的体积并且包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株，其中登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1和登革热血清型2(例如登革热血清型2株)如TDV-2各自基于以pfu/0.5mL计的总浓度以在彼此的5％个点以内的浓度存在，和/或一起是以pfu/0.5mL计的总浓度的小于约10％。在某些此类实施方案中，登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3优选地是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约10％，并且更优选登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少70％。在某些此类实施方案中，登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4代表所有四种血清型的组合物中的最高浓度，优选以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约70％，登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3代表所有四种血清型的组合物中的第

二最高浓度，优选以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约10％，并且登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1和登革热血清型2(如登革热血清型2株)如TDV-2各自代表与血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3的浓度相比更低的浓度，并且任选地一起代表以pfu/0.5mL计的总浓度的小于约10％。

[0400] 以0.5mL复溶的冻干单位剂量将为四种登革热血清型提供上述浓度。虽然如本文所述的登革热疫苗组合物的单位剂量是指在0.5mL中登革热血清型的浓度，但冻干的单位剂量可用其他体积的药学上可接受的稀释剂(如氯化钠水溶液)复溶，而不会改变施用的绝对病毒量或病毒彼此的比率。

[0401] 在某些实施方案中，本发明的冻干单位剂量由包含非还原糖、表面活性剂、蛋白质和无机盐的溶液制备。

[0402] 在某些实施方案中，本发明的冻干单位剂量由包含海藻糖、泊洛沙姆407、人血清白蛋白和氯化钠的溶液制备。

[0403] 在某些实施方案中，本发明的冻干单位剂量由包含约10％w/v至约20％w/vα,α-海藻糖二水合物或等摩尔量的其他形式的α,α-海藻糖、约0.5％w/v至约1.5％w/v泊洛沙姆407、约0.05％w/v至约2％w/v人血清白蛋白和约70mM至约120mM氯化钠的溶液制备。

[0404] 在优选的实施方案中，如本文所述的本发明的冻干单位剂量由包含约15％w/vα,α-海藻糖二水合物、约1％w/v泊洛沙姆407、约0.1％w/v人血清白蛋白和约100mM氯化钠的溶液制备。

[0405] 在一个实施方案中，由其制备冻干单位剂量的溶液还包含缓冲剂。缓冲剂可以是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。缓冲剂可包括氯化钠(NaCl)、磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)、磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、氯化钾(KCl)和磷酸二氢钾(KH_2PO_4)中的至少一者。在一个优选的实施方案中，缓冲剂可包括磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、氯化钾(KCl)和磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。缓冲剂可具有在25℃下在约7.0至约8.5范围内的pH，或在25℃下约6.8至约7.6的pH，优选在25℃下约7.2的pH。

[0406] 在优选的实施方案中，如本文所述的本发明的复溶单位剂量包含约15％w/vα,α-海藻糖二水合物、约1％w/v泊洛沙姆407、约0.1％w/v人血清白蛋白和约137mM氯化钠。复溶的单位剂量可具有在25℃下约7.0至约8.5的pH，优选在25℃下约7.2的pH。

[0407] 如本文所述的本发明的单位剂量在血清阴性和血清阳性受试者群体中或在血清阴性和血清阳性受试者中激活免疫系统的多个臂——中和抗体、细胞免疫和抗NS1抗体。因此，如本文所述的本发明的单位剂量保护登革热血清阴性和登革热血清阳性受试者群体或受试者免受登革热病。

[0408] 在一个实施方案中，一个单位剂量存在于容器中，优选小瓶中，并且所述单位剂量在复溶后施用于受试者。在一个实施方案中，多于一个单位剂量的登革热疫苗组合物可存在于容器、优选小瓶中，使得可用一个容器、优选小瓶的内容物对多于一名受试者进行疫苗接种。在一个实施方案中，包括如本文所述的本发明的多于一个单位剂量的容器用于提供待用于如本文所述的本发明方法中的复溶的单位剂量。

[0409] 在某些实施方案中，包括本发明的单位剂量的容器是药盒的一部分。因此，本发明部分地涉及一种用于制备复溶的单位剂量的药盒，所述药盒包括如本文所述的本发明的冻干单位剂量和用于复溶的药学上可接受的稀释剂。

[0410] 在某些实施方案中，用于复溶的稀释剂提供在容器，优选小瓶或预填充注射器中。在一些实施方案中，用于复溶的稀释剂选自注射用水、磷酸盐缓冲盐水或氯化钠水溶液。在一个优选的实施方案中，用于复溶的稀释剂是30至40mM氯化钠，如37mM氯化钠。

[0411] 在某些实施方案中，药盒还可包括甲型肝炎疫苗，如HAVRIX®或VAQTA®。在一些实施方案中，甲型肝炎疫苗可在单独的容器中，如小瓶中。在另一个实施方案中，甲型肝炎疫苗和本发明的单位剂量可在同一容器中。因此，本发明部分地涉及联合登革热/甲型肝炎疫苗，其中将如本文所述的本发明的单位剂量与甲型肝炎疫苗组合。这种联合登革热/甲型肝炎疫苗在同一制剂中包含如本文所述的本发明的单位剂量和甲型肝炎疫苗，如HAVRIX®或VAQTA®。在某些实施方案中，本发明涉及一种药盒，所述药盒包括这种联合登革热/甲型肝炎疫苗和如本文所述的本发明的单位剂量。

[0412] 甲型肝炎疫苗

[0413] 在某些实施方案中，甲型肝炎疫苗是灭活的甲型肝炎疫苗。

[0414] 在某些实施方案中，甲型肝炎疫苗包含源自甲型肝炎病毒株HM-175的甲型肝炎病毒。

[0415] 在某些实施方案中，其中甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒并且所述灭活的甲型肝炎病毒来源于野生型甲型肝炎病毒株HM-175。

[0416] 在某些实施方案中，灭活的甲型肝炎病毒吸附在载体铝上。在这些实施方案中的一些中，铝是氢氧化铝或硫酸羟基磷酸铝。

[0417] 在某些实施方案中，其中甲型肝炎疫苗包含磷酸盐缓冲盐水溶液以及以氨基酸形式和以聚山梨醇酯形式溶解于其中的赋形剂。在此类实施方案中，氨基酸以0.2至0.8％w/v的浓度存在和/或聚山梨醇酯以0.01至0.09mg/ml的浓度存在。

[0418] 在某些实施方案中，甲型肝炎疫苗包含浓度在500ELISA单位(EL.U.)至2000ELISA单位(EL.U.)、优选700EL.U.至1600EL.U.、最优选1300至1550EL.U.范围内的表达病毒抗原的甲型肝炎病毒。可替代地，浓度在500EL.U.至900EL.U.的范围内。在另一实施方案中，浓度在200至400EL.U的范围内。

[0419] 在某些实施方案中，甲型肝炎疫苗包含在液体1ml剂量或0.5ml剂量中。

[0420] 这种甲型肝炎疫苗的一个实例是来自GlaxoSmithKline的HAVRIX®，其是用于肌内施用的灭活病毒的无菌悬浮液。HAVRIX®利用甲型肝炎病毒株HM-175，所述株源自野生型甲型肝炎病毒(HAV)HM-175，其完整核苷酸序列公开于Cohen et al.,Journal of Virology,第61卷,第1期,1987年1月出版,第50至59页中(特别地，野生型甲型肝炎病毒HM-175的完整序列提供在所述出版物的图1中)。

[0421] 所述病毒(株HM175)在MRC-5人二倍体细胞中繁殖。除去细胞培养基后，使细胞裂解形成悬浮液。此悬浮液通过超滤和凝胶渗透色谱法程序纯化。用福尔马林处理这种裂解物可确保病毒灭活。病毒抗原活性使用酶联免疫吸附测定(ELISA)参照标准物，并且因此以ELISA单位(EL.U.)表示。成人(≥18岁)疫苗的每1-mL剂量含有1440EL.U.的病毒抗原，吸附在0.5mg呈氢氧化铝形式的铝上。儿童和青少年(12个月至18岁)疫苗的每个0.5-mL剂量含有720EL.U.病毒抗原，吸附在0.25mg呈氢氧化铝形式的铝上。HAVRIX®含有以下赋形剂：磷酸盐缓冲盐水溶液中的氨基酸补充剂(0.3％w/v)和聚山梨醇酯20(0.05mg/mL)。在制

造过程中，HAVRIX®还含有残留的MRC-5细胞蛋白(不超过5μg/mL)、福尔马林(不超过0.1mg/mL)和硫酸新霉素(不超过40ng/mL)、包含在细胞生长培养基中的氨基糖苷类抗生素。HAVRIX®在没有防腐剂的情况下配制。

[0422] 另一种有用的甲型肝炎疫苗是来自Merck Sharp&Dohme Corp.的VAQTA®，它是源自在人MRC-5二倍体成纤维细胞的细胞培养物中生长的甲型肝炎病毒的灭活全病毒疫苗。它含有株的灭活病毒，所述株最初通过已证实的减毒株的进一步连续传代而获得。将所述病毒生长、收获、通过默克研究实验室开发的物理和高效液相色谱技术的组合进行纯化，福尔马林灭活，然后吸附到无定形硫酸羟基磷酸铝上。VAQTA®是用于肌内注射的无菌悬浮液。一毫升疫苗含有大约50U的甲型肝炎病毒抗原，所述甲型肝炎病毒抗原经过纯化并且在不含防腐剂的情况下配制。在当前测定可变性的限制内，50U剂量的VAQTA®含有少于0.1μg的非病毒蛋白、少于$4x10^{-6}$μg的DNA、少于10^{-4}μg的牛白蛋白和少于0.8μg的甲醛。其他工艺化学残留物少于10十亿分率(ppb)，包括新霉素。每个0.5-mL儿科剂量含有在0.9％氯化钠中25U的甲型肝炎病毒抗原并吸附到大约0.225mg以无定形硫酸羟基磷酸铝形式提供的铝上，以及35μg硼酸钠作为pH稳定剂。每个1-mL成人剂量含有在0.9％氯化钠中50U的甲型肝炎病毒抗原并吸附到大约0.45mg以无定形硫酸羟基磷酸铝形式提供的铝上，以及70μg硼酸钠作为pH稳定剂。

[0423] 黄热病疫苗

[0424] YF-VAX®是来自Sanofi的用于皮下使用的黄热病疫苗，是通过在不含活禽白血病病毒(不含ALV)的鸡胚中培养黄热病病毒的YF-17D株而制备的。所述疫苗含有山梨糖醇和明胶作为稳定剂并被冻干。不添加防腐剂。YF-VAX被配制为在产品的整个生命周期内每0.5mL剂量含有不少于$4.74\log_{10}$ pfu。

[0425] 联合疫苗组合物

[0426] 本发明还部分地涉及联合疫苗组合物，所述联合疫苗组合物包含如在HAVRIX®或VAQTA®中的甲型肝炎抗原和登革热抗原，如本文公开的四价登革热疫苗TDV或任何其他合适的四价减毒活登革热病毒疫苗。

[0427] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中所述登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株：

[0428] (i)优选浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的登革热血清型1，

[0429] (ii)优选浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2，

[0430] (iii)优选浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的登革热血清型3，和(iv)优选浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的登革热血清型4株。

[0431] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中所述登革热疫苗组合物包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株：

[0432] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL至3.8log10 pfu/0.5ml的嵌合登革热血清型2/1株，

[0433] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2株，

[0434] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株，和

[0435] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL或至少4.6log10 pfu/0.5mL至任选地

6.2log10 pfu/0.5ml的嵌合登革热血清型2/4株。

[0436] 优选地，在所述实施方案中，嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1，登革热血清型2株是TDV-2，嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3，并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地，TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列，TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列，TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列，并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0437] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中在用药学上可接受的稀释剂复溶登革热疫苗组合物后，(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度，并且基于pfu/0.5ml的所述总浓度，以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10％，并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50％，并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1％，并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6％、至少8％、或至少10％、或至少12％、或至少14％、或至少16％、或至少18％。

[0438] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中所述登革热疫苗组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。在一个实施方案中，登革热疫苗组合物包含非还原糖、表面活性剂、蛋白质和无机盐。优选地，非还原糖是海藻糖，表面活性剂是泊洛沙姆407，蛋白质是人血清白蛋白，并且无机盐是氯化钠。

[0439] 此外，本领域技术人员已知的任何疫苗赋形剂或其组合(例如在WO 2018/027075 A1中所公开的)可用于联合疫苗组合物。

[0440] 在一个实施方案中，登革热疫苗组合物的单位剂量包含以下药学上可接受的赋形剂：

[0441] -约10％w/v至约20％w/vα,α-海藻糖二水合物或等摩尔量的其他形式的α,α-海藻糖，

[0442] -约0.5％w/v至约1.5％w/v的泊洛沙姆407，

[0443] -约0.05％w/v至约2％w/v人血清白蛋白，和

[0444] -约70mM至140mM氯化钠。

[0445] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中所述登革热疫苗组合物包含其他登革热疫苗，如Dengvaxia®。Dengvaxia®是基于黄热病主链的含有混合嵌合登革热病毒的四价登革热疫苗CYD-TDV(Dengvaxia®,Sanofi Pasteur,Lyon,France)，并且基于在亚洲和拉丁美洲的儿童中针对56％-61％的儿童的病毒学确认的登革热(VCD)的总体疫苗效力(VE)的临床证明已在多个国家获得许可(Capeding MR等人Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3,randomised,observer-masked,placebo-controlled trial.Lancet 2014, 384:1358-65;Villar LA等人Safety and immunogenicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16 year olds:a randomized,controlled,phase II trial in Latin America.Pediatr Infect Dis J 2013,32:1102-9)。这些特定株CYD1、CYD2、CYD3和CYD4的制备已在国际专利申请WO 98/37911、WO 03/101397、WO07/021672、WO 08/007021、WO 08/047023和WO 08/065315中进行了详细描述，关于其制备过程的精确描述可参考所述国际专利申请。CYD1、CYD2、CYD3和CYD4的prM-E区的相应核苷酸序列提供于

WO2016034629中，并且SEQID NO在此参考文献的表16中列出。

[0446] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中包含在本发明的疫苗组合物中的CYD-TDV内的嵌合登革热病毒的量在约10^5CCID50至约10^6CCID50的范围内。包含在CYD剂型，例如Dengvaxia®中的血清型1至4中的每一者的减毒活嵌合登革热病毒的量优选是相等的。

[0447] 在此类实施方案中，CYD-TDV溶解/可溶解于含有0.4%NaCl的溶液中。

[0448] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中所述登革热疫苗组合物包含其他登革热疫苗，如TV003或TV005。由美国国家过敏和传染病研究所开发的TV003包含疫苗组分rDEN1Δ30、rDEN2/4Δ30、rDEN3Δ30/31和rDEN4Δ30，其中这些组分中的每一者以$3\log_{10}$PFU的浓度存在。TV005与TV003相似，区别在于TV005中rDEN2/4Δ30的浓度是$4\log_{10}$PFU。疫苗TV003和TV005及其疫苗组分以及它们的生产在WO 2008/022196 A2和S.S.Whitehead,Expert Rev Vaccines,2016,15(4):509至517中进行了更详细的描述。使用重组DNA技术，对于TV003或TV005的疫苗组分采用了两种减毒策略:3'非翻译区中的缺失和结构基因嵌合。例如，组分rDEN4Δ30含有野生型DENV-4的所有结构和非结构蛋白质，但由于3'非翻译区中的30个核苷酸缺失而减毒(表示为“Δ30”)。由于3'非翻译区中的30个核苷酸缺失，其他疫苗组分也被减毒。此外，rDEN3Δ30/31在3'非翻译区中包含31个核苷酸的缺失(详细显示在WO 2008/022196 A2的图1c和图13中)。rDEN2/4Δ30组分是通过将DENV-2的prM和E基因取代到rDEN4Δ30基因组中而产生的。可用于产生TV003或TV005的登革热株的完整基因组序列可在WO 2008/022196 A1的表A中的Genbank登录号下获得。

[0449] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中甲型肝炎疫苗是灭活的甲型肝炎疫苗。

[0450] 在某些实施方案中，其中甲型肝炎疫苗包含源自甲型肝炎病毒株HM-175的甲型肝炎病毒。

[0451] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒并且所述灭活的甲型肝炎病毒来源于野生型甲型肝炎病毒株HM-175。

[0452] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，灭活的甲型肝炎病毒吸附在载体铝上。在这些实施方案中的一些中，铝是氢氧化铝或硫酸羟基磷酸铝。

[0453] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中甲型肝炎疫苗包含磷酸盐缓冲盐水溶液以及以氨基酸形式和以聚山梨醇酯形式溶解于其中的赋形剂。在此类实施方案中，氨基酸以0.2至0.8%w/v的浓度存在和/或聚山梨醇酯以0.01至0.09mg/ml的浓度存在。

[0454] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中甲型肝炎疫苗包含浓度在500ELISA单位(EL.U.)至2000ELISA单位(EL.U.)、优选700EL.U.至1600EL.U.、最优选1300至1550EL.U.范围内的表达病毒抗原的甲型肝炎病毒。可替代地，浓度在500EL.U.至900EL.U.的范围内。在另一实施方案中，浓度在200至400EL.U.的范围内。

[0455] 在某些实施方案中，本发明涉及联合疫苗组合物，其中所述联合疫苗包含在含有液体的剂量中，其中所述液体具有0.5ml、1ml或1.5ml的体积。

[0456] 在某些实施方案中，联合疫苗组合物以液体形式或以脱水形式(如冻干形式)提供在单个小瓶中。

[0457] 在某些实施方案中，联合疫苗组合物通过在注射器中混合登革热疫苗组合物的单位剂量和甲型肝炎疫苗的剂量而获得。

[0458] 本发明还部分地涉及将任何上述联合疫苗组合物施用于受试者或受试者群体的方法。

[0459] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中联合疫苗组合物皮下或肌内施用。

[0460] 预防登革热病和甲型肝炎的方法、相应的用途和相应的药盒

[0461] 本发明涉及一种预防甲型肝炎和登革热病的方法。

[0462] 本发明部分地涉及一种预防受试者或受试者群体中的甲型肝炎和登革热病的方法，所述方法包括在同一天同时施用甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®和单位剂量的登革热疫苗组合物，其中所述单位剂量包含含有四种减毒活登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

[0463] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中甲型肝炎疫苗如HAVRIX®包含灭活的病毒。优选地，甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒并且所述灭活的甲型肝炎病毒来源于甲型肝炎病毒株HM-175。

[0464] 在某些实施方案中，甲型肝炎疫苗如HAVRIX®来源于甲型肝炎病毒株HM-175。

[0465] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中甲型肝炎疫苗如HAVRIX®被吸附在铝上，所述甲型肝炎疫苗优选地是来源于甲型肝炎病毒株HM-175的病毒。根据这些实施方案中的一些，铝是氢氧化铝或硫酸羟基磷酸铝。

[0466] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中甲型肝炎疫苗如HAVRIX®包含磷酸盐缓冲盐水溶液以及以氨基酸形式和以聚山梨醇酯形式溶解于其中的赋形剂，所述甲型肝炎疫苗优选地来源于甲型肝炎病毒株HM-175。

[0467] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中甲型肝炎疫苗如HAVRIX®包含浓度在500ELISA单位(EL.U.)至2000ELISA单位(EL.U.)、优选700EL.U.至1600EL.U.、最优选1300至1550EL.U.范围内的表达病毒抗原的甲型肝炎病毒。可替代地，浓度在500EL.U.至900EL.U.的范围内。在另一实施方案中，浓度在200至400EL.U.的范围内。

[0468] 例如，甲型肝炎疫苗的病毒抗原活性可根据Andre FE.,Hepburn A.,D'Hondt E.,"Inactivated candidate vaccines for hepatitis",A.Prog Med Virol 1990;37:72-95中公开的方法进行测量。

[0469] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中登革热疫苗组合物在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含

[0470] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/1株，

[0471] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2株，

[0472] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株，和

[0473] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/4株。

[0474] 根据这些实施方案中的一些，在用药学上可接受的稀释剂复溶登革热疫苗组合物后，(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度，并且基于pfu/0.5ml的所述总浓度，以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10％，并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50％，并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1％，并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6％、至

少8%、或至少10%、或至少12%、或至少14%、或至少16%、或至少18%。

[0475] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体或受试者关于所有登革热血清型呈血清阴性。根据这些实施方案中的一些，受试者群体或受试者在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性。

[0476] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中如本文所述的本发明的单位剂量和甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®在第0/1天施用。

[0477] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中如本文所述的本发明的单位剂量通过皮下注射施用，并且其中甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®通过肌内注射施用。根据一些实施方案，将注射液施用于手臂，优选施用于手臂的三角肌区域。根据这些实施方案中的一些，如本文所述的本发明的单位剂量的皮下注射和甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®的肌内注射被施用至不同的解剖部位，如相对的手臂。

[0478] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中施用两个单位剂量的如本文所述的本发明的登革热疫苗组合物。在一些实施方案中，如本文所述的本发明的两个单位剂量在12个月或更久内、或6个月内、或三个月内，如在第0/1天和第90天施用。根据这些实施方案中的一些，如本文所述的本发明的另外的第三单位剂量在第二施用之后施用。这样的第三施用可在第一施用后6至12个月之间施用，如在第一施用后12个月，或在第一施用后12个月之后，如在第二施用后12个月(1年)或甚至第一或第二施用后5年或更久，并且可充当加强剂。

[0479] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中施用如本文所述的本发明的两个单位剂量和一个剂量的甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®，特别是根据以下时间表

[0480] -在第0/1天第一单位剂量和所述甲型肝炎疫苗的第一同时施用，和

[0481] -在所述第一同时施用之后，如约3个月后，如在第90天，第二单位剂量的第二施用。

[0482] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的单位剂量皮下施用于受试者或受试者群体，并且将甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®肌内施用于受试者或受试者群体，并且其中所述受试者或受试者群体关于所有登革热血清型呈血清阴性。在其他实施方案中，受试者或受试者群体关于至少一种登革热血清型呈血清阳性。

[0483] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的单位剂量和甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®施用于来自登革热流行地区的受试者或受试者群体。在某些实施方案中，如本文所述的本发明的单位剂量皮下施用的，并且甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®肌内施用于来自登革热流行地区的受试者或受试者群体。

[0484] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体来自登革热非流行地区，优选来自登革热非流行地区和甲型肝炎非流行地区。

[0485] 根据一些实施方案，施用甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®的第二剂量。

甲型肝炎疫苗的第二剂量可在甲型肝炎疫苗的第一施用后施用。这样的第二施用可作为加强剂并且可在甲型肝炎疫苗的第一施用后的6至12个月或6至18个月，如9个月，例如在第270天施用。

[0486] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中如本文所述的本发明的单位剂量皮下施用，并且其中将甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®肌内施用于超过17岁、或超过18岁、或18至60岁的受试者或受试者群体。在其他实施方案中，受试者或受试者群体是超过21岁、或21至60岁、或21至45岁的成人。在一些实施方案中，受试者或受试者群体来自登革热流行地区。在另一个实施方案中，受试者或受试者群体来自登革热非流行地区，优选来自登革热非流行地区和甲型肝炎非流行地区。根据某些实施方案，受试者或受试者群体对于所有四种登革热血清型呈血清阴性。

[0487] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法不包括在施用甲型肝炎疫苗之前和在施用单位剂量的登革热疫苗组合物之前确定受试者群体或受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者其中在施用甲型肝炎疫苗之前和在施用单位剂量的登革热疫苗组合物之前，受试者群体或受试者的甲型肝炎血清状况和/或登革热血清状况是未知的。根据某些实施方案，所述方法不包括在施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间确定受试者群体或受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者其中在施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间，受试者群体或受试者的甲型肝炎血清状况和/或登革热血清状况是未知的。

[0488] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

[0489] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用单位剂量的四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗的受试者，而无需确定是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染，和

[0490] (B)在同一天向所述受试者同时施用第一单位剂量的四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及任选地

[0491] (C)在施用所述第一单位剂量的3至12个月内向所述受试者施用至少一个另外单位剂量的四价登革热病毒组合物，以及任选地

[0492] (D)在施用所述第一单位剂量的6至18个月内向所述受试者施用至少一个另外剂量的甲型肝炎疫苗。

[0494] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

[0495] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用单位剂量的四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗的受试者，和

[0496] (B)在同一天向所述受试者同时施用第一单位剂量的四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及

[0497] (C)在施用第一单位剂量的约6个月和约12个月时向所述受试者施用两个另外单位剂量的四价登革热病毒组合物，并在施用第一单位剂量的约6个月或约12个月时向所述受试者施用另一甲型肝炎疫苗。在这些实施方案中的一些中，步骤(A)，受试者的选择是在

没有确定是否存在先前甲型肝炎感染的情况下进行的。

[0498] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中在用药学上可接受的稀释剂复溶单位剂量后，(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度，并且基于pfu/0.5ml的所述总浓度，以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10％，并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50％，并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1％，并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6％、至少8％、或至少10％、或至少12％、或至少14％、或至少16％、或至少18％。

[0499] 在某些实施方案中，所述方法提供登革热疫苗组合物与甲型肝炎疫苗之间的相容性。相容性特别是指同时施用后的免疫响应与这些疫苗的单一施用相比并不差。

[0500] 在某些实施方案中，所述方法提供登革热疫苗组合物与甲型肝炎疫苗之间的协同作用。协同作用特别是指一种或两种疫苗在同时施用后的免疫响应与这些疫苗的单一施用相比更好。

[0501] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法在包括分为一个受试者群体和一个对照受试者群体的至少60或至少120名健康受试者的非劣效性临床研究中提供非劣效性，其中所述受试者群体在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物，并且所述对照受试者群体在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂施用。

[0502] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95％或至少98％的甲型肝炎血清保护率。

[0503] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异，所述差异在非劣效性临床研究中确定，所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少60或120名健康受试者。

[0504] 健康受试者被分为

[0505] a)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体，和

[0506] b)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体，

[0507] 其中确定在施用(第0/1天)后第30天对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在施用(第0/1天)后第30天受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异，并且

[0508] 其中所述差异具有在双侧95％置信区间内低于10％的上限。

[0509] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95％或至少98％或至少99％的甲型肝炎血清保护率，其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者。

[0510] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异，所述差异在非劣效性临床研究中确定，所述非劣效性

临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少60或120名健康受试者，其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者。

[0511] 健康受试者被分为

[0512] a)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体，其中所述受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者，和

[0513] b)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体，其中所述对照受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者，

[0514] 其中确定在施用(第0/1天)后第30天对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在施用(第0/1天)后第30天受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异，并且

[0515] 其中所述差异具有在双侧95％置信区间内低于10％的上限。

[0516] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体暴露于甲型肝炎病毒爆发和/或登革热病毒爆发。

[0517] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法在向在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少70mIU/ml或至少80mIU/ml或至少90mIU/ml的抗甲型肝炎病毒抗体几何平均浓度(GMC)。

[0518] 用于确定抗甲型肝炎抗体的ELISA例如公开于Beck等人J Travel Med 2004;11:201-207中。

[0519] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中向受试者或受试者群体同时施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物不会提供与同时施用有关的严重不良事件。此外，没有与同时施用有关的死亡。

[0520] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法提供通过MNT50测量的以下中和抗体几何平均效价(GMT)：

[0521] -对于登革热血清型1，至少110或至少140或至少150，

[0522] -对于登革热血清型2，至少3000或至少3500或至少3900，

[0523] -对于登革热血清型3，至少100或至少120或至少140，和/或

[0524] -对于登革热血清型4，至少80或至少110或至少140，

[0525] 在向在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天。

[0526] 在一些实施方案中，受试者群体的几何平均中和抗体效价(GMT)或受试者的中和抗体效价根据微量中和试验，例如根据实施例2中描述的方法确定。

[0527] 本发明部分地涉及一种预防受试者或受试者群体中的甲型肝炎和登革热病的方

法,所述方法包括在同一天同时施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物,其中所述单位剂量包含含有四种减毒活登革热病毒株的四价登革热病毒组合物,其中所述四种减毒活登革热病毒株不同于如上文定义的单位剂量中使用的那些。

[0528] 在本发明的一个实施方案中,所述方法涉及在同一天同时施用甲型肝炎疫苗与其他登革热疫苗,如Dengvaxia®。Dengvaxia®是基于黄热病主链的四价登革热疫苗CYD-TDV(Dengvaxia®,Sanofi Pasteur,Lyon,France),并且基于在亚洲和拉丁美洲的儿童中针对56%-61%的儿童的病毒学确认的登革热(VCD)的总体疫苗效力(VE)的临床证明已在多个国家获得许可(Capeding MR等人Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia:a phase 3,randomised,observer-masked,placebo-controlled trial.Lancet 2014,384:1358-65;Villar LA等人Safety and immunoge nicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16year olds:a randomized,controlled,phase II trial in Latin America.Pediatr Infect Dis J 2013,32:1102-9)。这些特定株CYD1、CYD2、CYD3和CYD4的制备已在国际专利申请WO 98/37911、WO 03/101397、WO07/021672、WO 08/007021、WO 08/047023和WO 08/065315中进行了详细描述,关于其制备过程的精确描述可参考所述国际专利申请。CYD1、CYD2、CYD3和CYD4的prM-E区的相应核苷酸序列提供于WO2016034629中,并且SEQID NO在此参考文献的表16中列出。

[0529] 在一个这样的实施方案中,所述方法包括由以下步骤组成的疫苗接种:

[0530] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用等剂量的CYD-TDV组合物如Dengvaxia®和甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®的受试者,和

[0531] (B)在第0个月向所述受试者施用第一剂量的CYD-TDV组合物如Dengvaxia®,和甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®,

[0532] (C)在施用所述第一CYD-TDV剂量的3至11个月内,特别是在约第6个月,向所述受试者施用另一剂量的CYD-TDV组合物如Dengvaxia®,和任选的甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®,以及

[0533] (D)在约第12个月向所述受试者施用最后剂量的CYD-TDV如Dengvaxia®,和任选的甲型肝炎疫苗如HAVRIX®或VAQTA®。

[0534] 在某些实施方案中,受试者是2至60岁。

[0535] 在特定实施方案中,受试者是2至18岁、或4至16岁、或18至60岁。

[0536] 优选地,待施用的CYD-TDV的每种组分的确切量可根据疫苗接种的受试者的年龄和体重、施用频率以及组合物中的其他成分而变化。疫苗组合物的剂量中包含的CYD-TDV内嵌合登革热病毒的量在约10^5CCID50至约10^6CCID50的范围内。CYD剂型,例如Dengvaxia®中包含的血清型1至4中的每一者的减毒活嵌合登革热病毒的量优选是相等的。有利地,如本节所述的疫苗组合物包含有效量的如本文定义的登革热抗原。

[0537] 在某些实施方案中,本发明涉及所述方法,其中登革热疫苗组合物包含其他登革热疫苗,如TV003或TV005。由美国国家过敏和传染病研究所开发的TV003包含疫苗组分rDEN1Δ30、rDEN2/4Δ30、rDEN3Δ30/31和rDEN4Δ30,其中这些组分中的每一者以

$3log_{10}$PFU的浓度存在。TV005与TV003相似，不同之处在于TV005中rDEN2/4Δ30的浓度是$4log_{10}$PFU。疫苗TV003和TV005及其疫苗组分以及它们的生产在WO 2008/022196 A2和S.S.Whitehead,Expert Rev Vaccines,2016,15(4):509至517中进行了更详细的描述。使用重组DNA技术，对于TV003或TV005的疫苗组分采用了两种减毒策略：3'非翻译区中的缺失和结构基因嵌合。例如，组分rDEN4Δ30含有野生型DENV-4的所有结构和非结构蛋白质，但由于3'非翻译区中的30个核苷酸缺失而减毒(表示为"Δ30")。由于3'非翻译区中的30个核苷酸缺失，其他疫苗组分也被减毒。此外，rDEN3Δ30/31在3'非翻译区中包含31个核苷酸的缺失(详细显示在WO 2008/022196 A2的图1c和图13中)。rDEN2/4Δ30组分是通过将DENV-2的prM和E基因取代到rDEN4Δ30基因组中而产生的。可用于产生TV003或TV005的登革热株的完整基因组序列可在WO 2008/022196 A1的表A中的Genbank登录号下获得。

[0538] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)和本文公开的Dengvaxia®以及本文公开的甲型肝炎疫苗在同一天同时施用于受试者或受试者群体。

[0539] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)和本文公开的甲型肝炎疫苗在第0/1天作为第一施用在同一天同时施用于受试者或受试者群体，并且本文公开的Dengvaxia®随后在自所述第一施用的三个月内，如自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。可替代地，本文公开的Dengvaxia®和本文公开的甲型肝炎疫苗在第0/1天作为第一施用在同一天同时施用于受试者或受试者群体，并且本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)随后在自所述第一施用的三个月内，如在自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。

[0540] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)和本文公开的TV003或TV005以及本文公开的甲型肝炎疫苗在同一天同时施用于受试者或受试者群体。

[0541] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)和本文公开的甲型肝炎疫苗在第0/1天作为第一施用在同一天同时施用于受试者或受试者群体，并且其中本文公开的TV003或TV005随后在自所述第一施用的三个月内，如自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。可替代地，本文公开的TV003或TV005和本文公开的甲型肝炎疫苗在第0/1天作为第一施用在同一天同时施用于受试者或受试者群体，并且本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)随后在自所述第一施用的三个月内，如在自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。

[0542] 上述方法也应在如本文公开的登革热疫苗的单位剂量用于预防登革热病和甲型肝炎的此类方法的背景下考虑,或在登革热疫苗的单位剂量用于制造用于预防登革热和甲型肝炎的药物的背景下考虑。

[0543] 此外,本发明涉及一种针对甲型肝炎和登革热病的药盒,所述药盒包括

[0544] 盒子,所述盒子至少含有:

[0545] (a)容纳如上文定义的甲型肝炎疫苗如HAVRIX®的第一容器,和

[0546] (b)容纳单位剂量的如上文定义的登革热疫苗组合物的第二容器,其中所述单位剂量包含含四种减毒活登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

[0547] 预防登革热病和黄热病的方法和用途

[0548] 本发明部分地涉及一种预防受试者中的登革热病以及黄热病的方法。因此,在某些实施方案中,本发明涉及一种预防受试者中的登革热病的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本文所述的本发明的复溶单位剂量,其中所述方法还包括通过向所述受试者伴随施用黄热病疫苗,特别是YF-17D而预防所述受试者中的黄热病。

[0549] 本发明部分地涉及一种预防受试者群体中的登革热病以及黄热病的方法。因此,在某些实施方案中,本发明涉及一种预防受试者群体中的登革热病的方法,所述方法包括向所述受试者群体施用如本文所述的本发明的复溶单位剂量,其中所述方法还包括通过向所述受试者群体伴随施用黄热病疫苗,特别是YF-17D而预防所述受试者群体中的黄热病。

[0550] 在某些实施方案中,本发明涉及所述方法,其中同时施用如本文所述的本发明的单位剂量和黄热病疫苗,特别是YF-17D。在这些实施方案中的一些中,同时施用在第0天或第90天,优选在第0天进行。在其他实施方案中,依序进行如本文所述的本发明的单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D的施用,如其中黄热病疫苗在如本文所述的登革热疫苗的单位剂量之前或之后,如在约6周内、或如在约4周内、或如在约2周内、或如在约1周内施用。

[0551] 在某些实施方案中,本发明涉及所述方法,其中施用如本文所述的本发明的复溶单位剂量并且通过皮下注射施用黄热病疫苗,特别是YF-17D。根据一些实施方案,将皮下注射液施用于手臂,优选施用于手臂的三角肌区域。根据这些实施方案中的一些,如本文所述的本发明的单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D的皮下注射被施用至不同的解剖部位,如相对的手臂,特别是当所述疫苗时同施用时。

[0552] 在某些实施方案中,本发明涉及所述方法,其中施用如本文所述的本发明的两个单位剂量。在一些实施方案中,如本文所述的本发明的两个单位剂量在12个月或更久内、或在6个月内、或在3个月内,如在第0/1天和第90天施用。根据这些实施方案中的一些,如本文所述的本发明的另外的第三单位剂量在第二单位剂量之后施用。这样的第三施用可充当加强剂并且可在第一施用后6至12个月之间施用,如在第一施用后12个月,或在第一施用后12个月之后,如在第二施用后12个月(1年)或甚至第一或第二施用后5年或更久。

[0553] 在某些实施方案中,本发明涉及所述方法,其中施用如本文所述的本发明的两个复溶单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D的一个剂量,特别是根据以下时间表

[0554] -在第0天施用所述黄热病疫苗,

[0555] -在所述黄热病疫苗施用后,如3个月后且优选在第90天,第一复溶单位剂量的第一施用,和

[0556] -在所述复溶单位剂量的所述第一施用后,如3个月后且优选在第180天,第二复溶

单位剂量的第二施用。

[0557] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中施用如本文所述的本发明的两个复溶单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D的一个剂量，特别是根据以下时间表

[0558] -在0天第一复溶单位剂量的第一施用，

[0559] -在所述复溶单位剂量的所述第一施用后，如3个月后且优选在第90天，第二复溶单位剂量的第二施用，和

[0560] -在所述复溶单位剂量的第二施用后，如3个月后且优选在第180天施用所述黄热病疫苗。

[0561] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中施用如本文所述的本发明的两个复溶单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D的一个剂量，特别是根据以下时间表

[0562] -在第0天同时施用第一复溶单位剂量和所述黄热病疫苗，和

[0563] -在所述同时施用后，如3个月后且优选在第90天，第二复溶单位剂量的第二施用。

[0564] 在一个优选的实施方案中，黄热病疫苗和如本文所述的本发明的单位剂量在第0天同时施用或在第90天同时施用。

[0565] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体对所有登革热血清型呈血清阴性。在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的复溶单位剂量皮下施用于受试者或受试者群体，并且将黄热病疫苗，特别是YF-17D疫苗皮下施用于受试者或受试者群体，并且其中所述受试者或受试者群体关于所有登革热血清型呈血清阴性。在其他实施方案中，受试者或受试者群体关于至少一种登革热血清型呈血清阳性。

[0566] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D施用于来自登革热流行地区的受试者或受试者群体。在某些实施方案中，将如本文所述的本发明的复溶单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D皮下施用于来自登革热流行地区的受试者或受试者群体。在其他实施方案中，受试者或受试者群体来自登革热非流行地区。这样的受试者群体或这样的受试者可在前往登革热流行地区和黄热病流行地区旅行的背景下根据本发明进行疫苗接种。

[0567] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的复溶单位剂量和黄热病疫苗、特别是YF-17D皮下施用于超过17岁、或超过18岁、或18至60岁的受试者或受试者群体。在其他实施方案中，受试者或受试者群体是超过21岁、或21至60岁、或21至45岁的成人。在一些实施方案中，受试者或受试者群体来自登革热流行地区。在另一个实施方案中，受试者或受试者群体来自登革热非流行地区，优选来自登革热非流行地区和黄热病非流行地区。根据这些实施方案中的一些，受试者或受试者群体对于所有四种登革热血清型呈血清阴性。

[0568] 上述方法也应在如本文公开的登革热疫苗的单位剂量用于此类方法的背景下或在登革热疫苗的单位剂量用于制造用于此类方法的药物的背景下考虑。

[0569] 预防方法和用途、针对登革热病的接种方法和用途

[0570] 本发明部分地涉及一种预防受试者中的登革热病(特别是病毒学上可确认的登革热病，VCD)的方法。因此，在某些实施方案中，本发明涉及一种预防受试者中的登革热病的方法，所述方法包括向所述受试者施用单位剂量/四价登革热病毒组合物，特别是如本文所

述的本发明的复溶单位剂量。

[0571] 本发明部分地涉及抑制预防登革出血热(DHF)和登革休克综合征(DSS)的方法。因此,在某些实施方案中,本发明涉及一种预防登革出血热(DHF)和登革休克综合征(DSS)的方法,所述方法包括向受试者施用如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物。

[0572] 因此,本发明涉及一种用四价登革热病毒组合物针对病毒学上可确认的登革热病对受试者进行接种的方法,所述四价登革热病毒组合物包含代表血清型1、血清型2、血清型3和血清型4的四种减毒活登革热病毒株,其中特别地所述四价登革热病毒组合物包含嵌合登革热血清型2/1株和登革热血清型2株和嵌合登革热血清型2/3毒株和嵌合登革热血清型2/4株,其中特别地所述登革热血清型2株来源于野生型病毒株DEN-2 16681(SEQ ID NO 11)并且如下所示在至少三个核苷酸上与野生型不同:

[0573] a)5'-非编码区(NCR)-57(nt-57C至T):主要减毒基因座

[0574] b)NS1-53 Gly至Asp(nt-2579G至A):主要减毒基因座

[0575] c)NS3-250 Glu至Val(nt-5270A至T):主要减毒基因座;并且

[0576] 其中所述三种嵌合登革热株来源于血清型2株,通过用来自其他登革热血清型的相应结构蛋白质替代来自血清型2株的结构蛋白质prM和E,从而产生以下嵌合登革热株:

[0577] -DENV-2/1嵌合体,

[0578] -DENV-2/3嵌合体和

[0579] -DENV-2/4嵌合体。

[0580] 关于四价组合物的血清型的其他信息可从上文"登革热病毒株"章节获得。

[0581] 用于这种方法的四价登革热病毒组合物可呈单位剂量形式,所述单位剂量包含:

[0582] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5ml的登革热血清型1,

[0583] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5ml的登革热血清型2,

[0584] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5ml的登革热血清型3,和

[0585] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5ml的登革热血清型4。

[0586] 本发明特别地涉及这样一种方法,其中所述单位剂量是冻干的,并且在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含:

[0587] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5ml的登革热血清型1,

[0588] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5ml的登革热血清型2,

[0589] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5ml的登革热血清型3,和

[0590] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5ml的登革热血清型4。

[0591] 关于四价组合物或单位剂量的其他信息,可上文的"登革热疫苗组合物"和"单位剂量"章节获得。

[0592] 因此,本发明涉及一种方法和相应的用途,所述方法包括仅用单位剂量的两次施用进行初次疫苗接种,所述方法包括以下步骤:

[0593] (A)向受试者施用第一单位剂量的四价登革热病毒组合物,和

[0594] (B)在施用所述第一单位剂量的3个月内向所述受试者施用第二单位剂量的四价登革热病毒组合物。

[0595] 根据这一实施方案,在3个月内仅施用两个剂量足以提供针对随后的登革热感染的有效保护。

[0596] 当从施用时间表的第一施用直到施用时间表的第二施用后18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且14至16岁的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，这种方法优选地在预防病毒学确认的登革热病中提供针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间,其中下限大于60％)。

[0597] 当从施用时间表的第二施用后30天直到施用时间表的第二施用后18个月在基线时针对所有血清型呈血清阴性且14至16岁的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时,这种方法也优选地在预防病毒学确认的登革热病中提供针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间),其中下限大于45％。

[0598] 根据某些实施方案,针对病毒学上可确认的登革热病的接种方法是由于登革热血清型2和/或登革热血清型1。所述方法针对登革热血清型2和登革热血清型1具有非常高的效力并且针对登革热血清型2具有最高效力。

[0599] 在某些实施方案中,本发明涉及当从第二施用后30天直到第二施用后12至18个月(例如在12或18个月)在无论基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型1的疫苗效力(具有双侧95％置信区间,其中下限大于25％)的所述方法。在某些此类实施方案中,下限大于30％、大于35％、大于40％、大于45％、大于50％或大于54％。在某些此类实施方案中,至少1,500的受试者群体在基线时针对所有血清型呈血清阴性,并且下限大于35％。在某些此类实施方案中,血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型1的疫苗效力(具有双侧95％置信区间),其中下限在10％个点内。

[0600] 在某些实施方案中,本发明涉及当从第二施用后30天直到第二施用后12至18个月(例如在12或18个月)在无论基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型1的疫苗效力的所述方法。在某些此类实施方案中,疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％或大于65％。在某些此类实施方案中,至少1,500的受试者群体在基线处针对所有血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中,血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型1的在5％个点内的疫苗效力。

[0601] 在某些实施方案中,本发明涉及当从第二施用后30天直到第二施用后12至18个月(例如在12或18个月)在无论基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型2的疫苗效力(具有双侧95％置信区间,其中下限大于25％)的所述方法。在某些此类实施方案中,下限大于50％、大于60％、大于70％、大于80％或大于85％。在某些此类实施方案中,至少1,500的受试者群体针所有血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中,血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型2的疫苗效力(具有双侧95％置信区间),其中下限在5％个点内。

[0602] 在某些实施方案中,本发明涉及当从第二施用后30天直到第二施用后12至18个月(例如在12或18个月)在无论基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针

对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型2的疫苗效力的所述方法。在某些此类实施方案中，疫苗效力大于60％、大于70％、大于80％或大于90％。在某些此类实施方案中，至少1,500的受试者群体在基线处针对所有血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中，血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型2的在5％个点内的疫苗效力。

[0603] 所述方法的功效在本章节下文中进一步更详细地描述。

[0604] 在某些实施方案中，单位剂量被复溶并通过皮下注射施用。根据这些实施方案中的一些，将皮下注射液施用于手臂，优选施用于所述手臂的三角肌区域。

[0605] 根据一个实施方案，这种方法不包括在施用单位剂量之前确定受试者中是否存在先前登革热感染的步骤，或者者其中在施用单位剂量之前受试者的血清状况是未知的。

[0606] 根据一个实施方案，这种方法不包括优选地在施用步骤之前、期间或之后的任何时间确定受试者中的先前登革热感染的步骤，或者其中优选地在施用步骤之前、期间或之后的任何时间，受试者的血清状况是未知的。

[0607] 根据本发明的方法不需要在疫苗接种之前测试血清状况，并且因此允许立即治疗和爆发控制。根据某些实施方案，所述用途用于其中受试者暴露于登革热爆发的方法。在某些此类实施方案中，爆发是由于登革热血清型2和/或是由于血清型1。

[0608] 根据这种方法的一个实施方案，受试者来自其中血清阳性率未知和/或其中血清阳性率低于80％、或低于70％、或低于60％的区域。

[0609] 根据这种方法的一个实施方案，受试者在基线时呈血清阴性并且来自或前往其中血清流行率关于血清型1和/或血清型2高，即80％或90％或更高的地区。

[0610] 根据这一实施方案，疫苗和相应的方法对于血清阴性和血清阳性受试者是安全的，并且因此不需要分析血清状况或确定先前登革热感染或所述地区的高血清流行率。当从施用时间表的第一施用直到施用时间表的第二施用后12至18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康4至16岁的受试者的受试者群体、优选在至少1,500名在基线时血清阴性的健康4至16岁的受试者中针对安慰剂测量时，这种方法优选地提供针对所有四种血清型针对病毒学确认的登革热住院的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间)，其中下限大于65％。优选地，当比较血清阳性和血清阴性受试者时，针对所有四种血清型针对病毒学确认的登革热住院的联合疫苗效力的双侧95％置信区间提供双侧置信区间的在10％个点内或在15％个点内或在20％个点内的下限。所述方法优选地关于血清型1和血清型2是安全的，因此其可用于由于血清型1和/或血清型2引起的爆发情况，或甚至用于由于血清型1和/或血清型2所致的血清阳性率非常高(>80％)的地区中的血清阴性受试者(例如旅行者)或未知血清状况的受试者。

[0611] 所述方法的安全性在“预防方法、接种方法”章节中更详细地进一步描述。

[0612] 根据一个实施方案，这种方法不包括在施用第一和第二单位剂量后关于受试者的发热性疾病的主动监测。在主动监测期间，任何患有发热性疾病的受试者(定义为连续3天中的任意2天发热≥38℃)将被要求返回现场接受研究者的登革热评估。将至少每周联系受试者/监护人，以通过提醒受试者/监护人在发热性疾病的情况下他们有义务返回现场来确保发热性疾病的稳健鉴定。这种联系将通过每个试验地点可能不同的适当方法(例如，电话、短信、家访、基于学校的监测)来实施。

[0613] 根据一个实施方案，这种方法不包括疫苗免疫原性分析，包括用于登革热中和抗体的GMT。

[0614] 根据一个实施方案，这种方法不包括反应原性分析。这种反应原性分析涉及诉求的局部AE(注射部位疼痛、注射部位红斑和注射部位肿胀)和诉求的全身性AE(儿童<6岁：发热、易怒/哭闹、嗜睡和食欲不振；儿童≥6岁：虚弱、发热、头痛、全身乏力和肌痛)，其将例如在每次疫苗接种后(包括疫苗接种日)通过收集日记卡分别评估7天和14天。

[0615] 根据一个实施方案，所述方法不包括主动监测、免疫原性分析和反应原性分析。

[0616] 根据这种实施方案，疫苗和相应的接种方法是安全的，并且因此不需要进一步的监测或分析步骤。

[0617] 鉴于上述，根据一个实施方案的方法包括初次疫苗接种，所述初次疫苗接种包括以下步骤：

[0618] (A)选择需要预防登革热感染的用于施用单位剂量的四价登革热病毒组合物的受试者，而无需确定先前登革热感染，和

[0619] (B)向所述受试者施用第一单位剂量的四价登革热病毒组合物，以及

[0620] (C)在施用所述第一单位剂量的3个月内向所述受试者施用第二单位剂量的四价登革热病毒组合物。

[0621] 因此，在无需确定先前登革热感染的情况下完成所述接种方法。所述方法进一步任选地包括在施用所述第二单位剂量后至少1年的单位剂量的加强剂量。

[0622] 选择受试者可包括所有类型的考虑，但优选不包括确定先前登革热感染。选择可包括考虑年龄、健康状况和感染威胁。感染威胁包括考虑受试者正常生活或打算旅行的地区的血清阳性率、血清型特异性血清阳性率和爆发情况或血清型特异性爆发情况。可由于受试者暴露于血清型1和/或血清型2或者由于事实上受试者需要针对特定登革热血清型，即血清型1和/或血清型2的保护而选择受试者。

[0623] 根据本发明，所述方法适用于各种年龄的受试者。根据一个实施方案，受试者在9岁以下、或4至5岁、或6至11岁、或12至16岁、或6至16岁、或4至16岁、或2至17岁、或9岁、或在9岁以上、或9至17岁、或18至45岁、或46至60岁、或在60岁以上。

[0624] 特别地，本发明涉及这样一种方法，其中所述方法是安全的。

[0625] 特别地，本发明涉及这样一种方法，当从施用时间表的第一施用直到施用时间表的最后施用后12至18个月在至少5,000名健康的4至16岁受试者(无论基线时的血清状况如何)的受试者群体中针对安慰剂测量时，所述方法提供针对所有四种血清型针对病毒学确认的登革热住院的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间)，其中下限大于65％。

[0626] 特别地，本发明涉及这样一种方法，其中所述方法是有效的。

[0627] 特别地，本发明涉及这样一种方法，当从施用时间表的第一施用直到施用时间表的最后施用后18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且14至16岁的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，所述方法在预防病毒学确认的登革热病中提供针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间)，其中下限大于60％。

[0628] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者对所有登革热血清型呈血清阴性。

[0629] 本发明部分地涉及一种预防受试者群体中的登革热病(特别是病毒学上可确认的

登革热病,VCD)的方法。因此,在某些实施方案中,本发明涉及一种预防受试者群体中的登革热病的方法,所述方法包括向所述受试者群体施用单位剂量,特别是如本文所述的本发明的复溶单位剂量。

[0630] 本发明部分地涉及用于预防受试者群体中的登革热病(特别是病毒学上可确认的登革热,VCD)的方法,所述方法包括向所述受试者群体施用如本文所述的本发明的至少第一复溶单位剂量,其中在向所述受试者群体施用所述第一单位剂量后的第180天或第365天达到特定几何平均中和抗体效价(GMT)比率。根据一些实施方案,当在如本文所述的本发明的所述复溶单位剂量的至少第一施用和任选地在所述第一施用后90天如本文所述的本发明的复溶单位剂量的第二施用后的第180天或第365天在至少40、或至少50、或至少60名受试者中测试时,登革热血清型2的几何平均中和抗体效价(GMT DENV-2)和登革热血清型4的几何平均中和抗体效价(GMT DENV-4)提供不超过50、或不超过40、或不超过30、或不超20的GMT DENV-2:GMT DENV-4比率。在这些实施方案中的一些中,在施用所述第一复溶单位剂量后的第180天或第365天,GMT DENV-2:GMT DENV-1的比率不超过20、或不超过18、或不超过15,和/或在施用所述第一复溶单位剂量后的第180天或第365天,GMT DENV-2:GMT DENV-3的比率不超过20、或不超过18、或不超过15。

[0631] 本发明部分地涉及用于预防受试者中的登革热病(特别是病毒学上可确认的登革热,VCD)的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本文所述的本发明的至少第一复溶单位剂量,其中在向所述受试者施用所述第一单位剂量后的第180天或第365天达到特定中和抗体效价比率。根据一些实施方案,在如本文所述的本发明的复溶单位剂量的至少第一施用和任选地在所述第一施用后90天如本文所述的本发明的复溶单位剂量的第二施用后的第180天或第365天,登革热血清型2的中和抗体效价和登革热血清型4的中和抗体效价提供不超过50、或不超过40、或不超过30、或不超20的DENV-2的中和抗体效价:GMT DENV-4的中和抗体效价比率。在这些实施方案中的一些中,在施用所述第一复溶单位剂量后的第180天或第365天,DENV-2:DENV-1的中和抗体效价的比率不超过20、或不超过18、或不超过15,和/或在施用所述第一复溶单位剂量后的第180天或第365天,DENV-2:DENV-3的中和抗体效价的比率不超过20、或不超过18、或不超过15。

[0632] 受试者群体的几何平均中和抗体效价(GMT)或受试者的中和抗体效价根据本文公开的微量中和试验,例如根据实施例2中描述的方法确定。不希望受任何理论束缚,目前理解就针对四种登革热血清型的几何平均中和抗体效价(GMT)或针对四种登革热血清型的中和抗体效价之间的较小差异而言,由于施用如本文所述的本发明的复溶单位剂量而诱导更平衡的免疫响应的方法对要接种疫苗的受试者或受试者群体而言是有益的。特别地,应当理解,与其他血清型相比,对四种血清型中的任一者,如对DENV-2的更大响应是不太有益的。

[0633] 本发明部分地涉及用于预防受试者或受试者群体中的登革热病(特别是病毒学上可确认的登革热,VCD)的方法,其中所述方法在包括在第1天和第90天皮下施用两个单位剂量的至少50名受试者的受试者群体中提供血清阳性率,其中所述受试者群体的受试者在基线时对所有登革热血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中,在施用第一单位剂量后至少一个月,如在第30天,至少80%的受试者群体对所有四种登革热血清型菌呈血清阳性;和/或在施用第二单位剂量之前或之时,如在第90天,至少80%的受试者群体对所有四种登

革热血清型呈血清阳性;和/或在施用第二单位剂量后,如在第120天,至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少95%的受试者群体对所有四种登革热血清型呈血清阳性;和/或在施用第二单位剂量后,如在第270天,至少80%、或至少85%、或至少90%的受试者群体对所有四种登革热血清型呈血清阳性。

[0634] 本发明部分涉及地用于预防受试者或受试者群体中的登革热病(特别是病毒学上可确认的登革热,VCD)的方法,其中所述方法在包括在第1天和第90天皮下施用两个单位剂量的至少100名受试者的受试者群体中提供血清阳性率,其中所述受试者群体的受试者包括20%至40%在基线时对所有登革热血清型呈血清阴性的受试者和60%至80%在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性的受试者,其中在第120天和/或第270天,在所述受试者群体的血清阴性部分中对所有四种登革热血清型的血清阳性率和所述受试者群体的血清阳性部分中对所有四种登革热血清型的血清阳性率偏差不超过10%个点,和/或其中在第120天,在所述受试者群体的血清阴性部分中对所有四种登革热血清型的血清阳性率和在所述受试者群体的血清阳性部分中对所有四种登革热血清型的血清阳性率偏差不超过5%个点。

[0635] 本发明部分地涉及预防受试者或受试者群体中的病毒学上可确认的登革热病的方法,所述方法包括向所述受试者或受试者群体施用复溶单位剂量的四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热血清型,特别是如本文所述的病毒株。

[0636] 本发明部分地涉及预防受试者或受试者群体中的病毒学上可确认的住院登革热病的方法,所述方法包括向所述受试者或受试者群体施用复溶单位剂量的四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热血清型,特别是如本文所述的病毒株。

[0637] 在某些实施方案中,所述方法包括经施用以用于预防受试者或受试者群体中的登革热病的登革热疫苗组合物的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物,所述复溶单位剂量包含:包含四种减毒活登革热病毒株的四价病毒组合物,其中单位剂量是冻干的并且在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后,获得所述复溶单位剂量,所述复溶单位剂量包含:

[0638] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5ml的登革热血清型1,如嵌合登革热血清型2/1株,

[0639] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5ml的登革热血清型2,如登革热血清型2株,

[0640] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5ml的登革热血清型3,如嵌合登革热血清型2/3株,和

[0641] (vi)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5ml的登革热血清型4,如嵌合登革热血清型2/4株。

[0642] 优选将复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物用于本发明的预防登革热病的方法中,其中在用药学上可接受的稀释剂复溶单位剂量后,(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度,并且基于所述总浓度,以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于2%,以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50%,以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1%,并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6%,并且其中受试者或受试者群体是18至60岁。

[0643] 在另一个优选的实施方案中,将复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物用于本发

明的预防登革热病的方法中，其中在用药学上可接受的稀释剂复溶后，(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度，并且基于所述总浓度，以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10％，并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50％，并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1％，并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少8％，并且其中受试者或受试者群体是2至17岁。

[0644] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述单位剂量包含四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热血清型，特别是本文所述的病毒株，其中所述血清型具有如本文关于病毒组合物和单位剂量所述的特定浓度，如：

[0645] (i)登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度为3.3log10 pfu/剂量至5.0log10 pfu/剂量，或3.3log10 pfu/0.5mL至5.0log10 pfu/0.5mL

[0646] (ii)登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度为2.7log10 pfu/剂量至4.9log10pfu/0.5剂量，或2.7log10 pfu/0.5ml至4.9log10 pfu/0.5ml

[0647] (iii)登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度为4.0log10 pfu/剂量至5.7log10 pfu/0.5剂量，或4.0log10 pfu/0.5mL至5.7log10 pfu/0.5mL，并且

[0648] (iv)登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度为4.5log10 pfu/剂量至5.5log10 pfu/0.5剂量，或4.5log10 pfu/0.5mL至5.5log10 pfu/0.5mL。

[0649] 在优选的此类实施方案中，受试者或受试者群体是2至17岁，如4至16岁，并且优选小于9岁。在其他优选的实施方案中，受试者或受试者群体是4-5岁、6-11岁或12-16岁。

[0650] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后所述单位剂量对于登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)具有3.3log10 pfu/0.5mL至3.6log10 pfu/0.5mL的浓度，对于登革热血清型2(例如登革热血清型2株)具有2.7log10 pfu/0.5mL至4.0log10 pfu/0.5mL的浓度，对于登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)具有4.0log10 pfu/0.5mL至4.6log10 pfu/0.5mL的浓度，并且对于登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)具有4.5log10 pfu/0.5mL或4.6log10 pfu/0.5mL至5.1log10 pfu/0.5mL的浓度。在优选的此类实施方案中，受试者或受试者群体是2至17岁，如4至16岁，并且优选小于9岁。在其他优选的实施方案中，受试者或受试者群体是4-5岁、6-11岁或12-16岁。

[0651] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中以pfu/0.5mL测量的登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)的浓度是总浓度的1％至7％，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型2(例如登革热血清型2株)的浓度是总浓度的小于8％，如在总浓度的1％至8％的范围内，以pfu/0.5mL测量的登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)的浓度是总浓度的至少10％，并且以pfu/0.5mL测量的登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)的浓度是总浓度的至少65％，如在65％至80％的范围内。在某些此类实施方案中，所有四种血清型的算术和在4.6log10 pfu/0.5mL至6.7log10 pfu/0.5mL的范围内，优选在4.6log10 pfu/0.5mL至5.5log10 pfu/0.5mL的范围内。优选地在所述实施方案中，受试者或受试者群体是2至17岁，如4至16岁，并且甚至更优选小于9岁。在其他优选的实施方案中，受试者或受试者群体是4-5岁、6-11岁或12-16岁。

[0652] 在进一步优选的实施方案中，本发明涉及所述方法，其中登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1和登革热血清型2(例如登革热血清型2株)如TDV-2各自基

于以pfu/0.5mL计的总浓度以在彼此的5％个点以内的浓度存在，和/或一起是以pfu/0.5mL计的总浓度的小于约10％。在某些此类实施方案中，登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3优选地是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约10％，并且更优选登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4是以pfu/0.5mL计的总浓度的至少70％。在某些此类实施方案中，登革热血清型4(例如嵌合登革热血清型2/4株)如TDV-4代表所有四种血清型的组合物中的最高浓度，优选以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约70％，登革热血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3代表所有四种血清型的组合物中的第二最高浓度，优选以pfu/0.5mL计的总浓度的至少约10％，并且登革热血清型1(例如嵌合登革热血清型2/1株)如TDV-1和登革热血清型2(如登革热血清型2株)如TDV-2各自代表与血清型3(例如嵌合登革热血清型2/3株)如TDV-3的浓度相比更低的浓度，并且任选地一起代表以pfu/0.5mL计的总浓度的小于约10％。

[0653] 优选地，嵌合登革热血清型2/1株是TDV-1，登革热血清型2株是TDV-2，嵌合登革热血清型2/3株是TDV-3，并且嵌合登革热血清型2/4株是TDV-4。更优选地，TDV-1的特征在于根据SEQ ID No.1的核苷酸序列和根据SEQ ID No.2的氨基酸序列，TDV-2的特征在于根据SEQ ID No.3的核苷酸序列和根据SEQ ID No.4的氨基酸序列，TDV-3的特征在于根据SEQ ID No.5的核苷酸序列和根据SEQ ID No.6的氨基酸序列，并且TDV-4的特征在于根据SEQ ID No.7的核苷酸序列和根据SEQ ID No.8的氨基酸序列。

[0654] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中如本文所述的本发明的复溶单位剂量通过皮下注射施用。根据这些实施方案中的一些，将皮下注射液施用于手臂，优选施用于所述手臂的三角肌区域。

[0655] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中向血清状况未知的受试者施用复溶单位剂量和/或其中未进行测试来确定在施用如本文所述的单位剂量之前受试者是呈血清阳性还是呈血清阴性。在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，所述方法不包括确定一个或多个受试者中的先前登革热感染的步骤。在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，所述方法不包括分析所述地区中的血清阳性率或在血清阳性率低于80％、低于70％或低于60％的地区中进行。在某些实施方案中，本发明涉及一种方法，其中受试者的血清状况是未知的。在此类实施方案中，在与这种方法相关的施用之前和之后的任何时间均未确定血清状况。在本发明的某些实施方案中，所述方法用于爆发情况中。在某些实施方案中，本发明涉及在临床试验之外进行的所述方法。

[0656] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体对所有登革热血清型呈血清阴性。

[0657] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中施用如本文所述的本发明的两个单位剂量。在一些实施方案中，两个单位剂量在12个月或更久内、或在六个月内、或在三个月内并且任选地间隔至少4周，如在第0天和第90天或在第1天和第90天施用。根据这些实施方案中的一些，如本文所述的本发明的另外的第三单位剂量在第二施用之后施用。这样的第三施用可充当加强剂并且可在第一施用后6至12个月之间施用，如在第一施用后12个月，或在第一施用后12个月之后，如在第二施用后12个月(1年)或甚至第一或第二施用后5年或更久。

[0658] 在某些实施方案中，本发明的方法包括所施用的本发明的单一单位剂量或由其组

成。

[0659] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的复溶单位剂量皮下施用于关于所有登革热血清型呈血清响应阴性的受试者或受试者群体。在其他实施方案中，受试者或受试者群体关于至少一种登革热血清型呈血清阳性。

[0660] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的单位剂量施用于来自登革热流行地区的受试者或受试者群体。在这些实施方案中的一些中，受试者或受试者群体来自新加坡、多米尼加共和国、巴拿马、菲律宾、哥伦比亚、波多黎各或泰国，特别是来自新加坡、多米尼加共和国、巴拿马或菲律宾。在一个优选的实施方案中，受试者或受试者群体来自亚太地区或拉丁美洲。在这些实施方案中的一些其他实施方案中，受试者或受试者群体来自泰国、斯里兰卡、菲律宾、巴拿马、尼加拉瓜、多米尼加共和国、哥伦比亚或巴西。在其他实施方案中，受试者或受试者群体来自登革热非流行地区。这样的受试者群体或这样的受试者可在前往登革热流行地区旅行的背景下根据本发明进行疫苗接种。在某些实施方案中，将如本文所述的本发明的复溶单位剂量皮下施用于来自登革热流行地区或登革热非流行地区的受试者或受试者群体。

[0661] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的复溶单位剂量皮下施用于2至60岁的受试者或受试者群体。在一些实施方案中，受试者或受试者群体是超过17岁、或超过18岁、或18至60岁的成人。在其他具体实施方案中，受试者或受试者群体是超过21岁、或21至60岁、或21至45岁的成人。

[0662] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的复溶单位剂量皮下施用于2至17岁的儿童和青少年。在一些实施方案中，受试者或受试者群体小于9岁，或小于4岁。在一些实施方案中，受试者或受试者群体是2至9岁，或2至5岁，或4至9岁或6至9岁。在其他实施方案中，受试者或受试者群体是4至16岁。在一些此类实施方案中，受试者或受试者群体是4-5岁、6-11岁或12-16岁。任选地，受试者或受试者群体关于所有登革热血清型呈血清阴性。

[0663] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的单位剂量施用于小于2岁、优选2个月至2岁或2个月至1.5岁或2个月至1岁的儿童受试者或儿童受试者群体。根据这些实施方案中的一些，儿童受试者或儿童受试者群体呈血清阴性并且来自登革热流行地区。

[0664] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中将如本文所述的本发明的复溶单位剂量施用于小于2岁、优选2个月至2岁或2个月至1.5岁或2个月至1岁的儿童受试者或儿童受试者群体，优选通过皮下注射。根据这些实施方案中的一些，儿童受试者或儿童受试者群体呈血清阴性并且来自登革热流行地区。

[0665] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体是4-5岁且来自亚太地区、6-11岁且来自亚太地区、或12-16岁且来自亚太地区。在其他实施方案中，受试者或受试者群体是4-5岁且来自拉丁美洲、6-11岁且来自拉丁美洲、或12-16岁且来自拉丁美洲。

[0666] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体是4-5岁且对至少1种登革热血清型呈血清阳性、6-11岁且对至少1种登革热血清型呈血清阳性、或12-16岁且对至少1种登革热血清型呈血清阳性。在其他实施方案中，受试者或受试者群体是4-5

岁且对所有登革热血清型呈血清阴性、6-11岁且对所有登革热血清型呈血清阴性、或12-16岁且对所有登革热血清型呈血清阴性。

[0667] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体来自亚太地区或拉丁美洲并且在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性。在其他实施方案中，受试者或受试者群体来自亚太地区或拉丁美洲并且在基线时对所有登革热血清型呈血清阴性。

[0668] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体来自亚太地区，在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。在其他实施方案中，受试者或受试者群体来自亚太地区，在基线对所有登革热血清型呈血清阴性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。在其他实施方案中，受试者或受试者群体来自拉丁美洲，在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。在其他实施方案中，受试者或受试者群体来自美国，在基线对所有登革热血清型呈血清阴性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。

[0669] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者或受试者群体具有针对黄热病的先前疫苗接种。在其他实施方案中，受试者或受试者群体具有针对日本脑炎的先前疫苗接种。在其他实施方案中，受试者或受试者群体没有针对黄热病的先前疫苗接种。在其他实施方案中，受试者或受试者群体没有针对日本脑炎的先前疫苗接种。先前疫苗接种是指在第二施用后30天之前，如在第一施用后的4个月内，用如本文所述的复溶单位剂量进行疫苗接种。例如，对于如在实施例6中从第二疫苗接种后30天确定的疫苗效力(VE)，黄热病的先前疫苗接种被定义为在第二疫苗接种后30天之前发生的黄热病疫苗接种。在某些实施方案中，受试者或受试者群体在如本文所述的施用方案内或在施用第一剂量后4.5年内接受了Dengvaxia®。

[0670] 在施用市售登革热疫苗后，在血清阴性群体或受试者中观察到针对四种登革热血清型的中和抗体效价特别不平衡。本发明显示，特别是血清阴性受试者在施用如本文所述的本发明的复溶单位剂量后对四种登革热血清型表现出更平衡的免疫响应。因此预期如本文所述的本发明的单位剂量和如本文所述的本发明的方法可在包括血清阳性和血清阴性受试者的受试者群体中提供更稳健的免疫响应。需要这种平衡的响应和平衡的效力和安全性，以允许在没有先前血清状况分析的情况下进行接种，这在疫苗接种计划中，并且特别是在爆发情况下是主要优势。

[0671] 本发明部分地涉及一种预防受试者中的病毒学上可确认的登革热病的方法，所述方法包括向所述受试者施用四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含代表血清型1、血清型2、血清型3和血清型4的四种登革热病毒株，其中所述病毒毒株任选地是减毒活登革热病毒株。

[0672] 本发明部分地涉及一种预防受试者中的病毒学上可确认的登革热病的方法，所述方法包括向所述受试者施用四价登革热病毒组合物，所述四价登革热病毒组合物包含代表血清型1、血清型2、血清型3和血清型4的四种登革热病毒株，其中所述病毒毒株任选地是减毒活登革热病毒株。

[0673] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中不存在确定受试者在基线时的血清状况的步骤，换言之，所述方法不包括在施用四价登革热病毒组合物之前确定受试者在

基线时的先前登革热感染。特别地，此类方法是安全且有效的。因此，在某些此类实施方案中，尚未测试受试者中是否存在先前登革热感染。

[0674] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中疫苗施用是安全的，而不管在施用四价登革热病毒组合物之前是否确定受试者具有先前登革热感染。特别地，此类方法也是有效的。

[0675] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法是安全和/或有效的。

[0676] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述组合物包含至少一种嵌合登革热病毒。在某些此类实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述组合物包含至少一种非嵌合登革热病毒和至少一种嵌合登革热病毒，特别是嵌合登革热血清型2/1株和登革热血清型2株以及嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株。上文描述了组合物的细节。

[0677] 因此，在某些实施方案中，本发明涉及当在第一施用后或在第二/最后施用后30天直到第二/最后施用后至少12至18个月(例如在12或18个月)在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且例如14至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有疫苗效力、优选地针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在实施方案中，本发明涉及当直到施用时间表的第一施用后15至21个月(例如15或21个月)在至少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有疫苗效力、优选地针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂施用至少一次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％、大于50％、大于55％、大于60％、大于65％、大于70％或大于72％。优选地，所述复溶单位剂量或安慰剂在约3个月内，如在第0天和第90天皮下施用。

[0678] 因此，在某些实施方案中，本发明涉及当在第一施用后直到最后施用后18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于60％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在这些实施方案中，下限是例如大于62％、大于64％、大于66％、大于68％或大于69％。

[0679] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第一施用后或在第二/最后施用后30天直到第二施用/最后施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且例如14至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有大于30％的疫苗效力、优选地针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些实施方案中，本发明涉及当直到施用时间表的第一施用后15个月在至

少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有大于30%的疫苗效力、优选地针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂施用至少一次。在某些此类实施方案中,疫苗效力大于40%、大于50%、大于55%、大于60%、大于65%、大于70%、大于75%、大于78%、大于79%或约80%。优选地,所述复溶单位剂量或安慰剂在约3个月内,如在第0天和第90天皮下施用。

[0680] 因此,在某些实施方案中,本发明涉及当在第一施用后直到最后施用后18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何且14至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有大于66%的针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在这些实施方案中,疫苗效力是例如大于68%、大于70%、大于72%或大于74%。

[0681] 在某些实施方案中,本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有疫苗效力、优选地针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于0%)的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量或四价登革热病毒组合物或安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,下限大于10%、大于20%、大于30%、大于40%、大于50%、大于55%、大于60%、大于65%、大于70%或大于80%、或大于90%。

[0682] 在某些实施方案中,本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在基线时针对所有血清型呈血清阴性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时,在血清阴性受试者中具有针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于25%)的所述方法,其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,下限大于30%、大于40%、大于50%或大于55%。

[0683] 在某些实施方案中,本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于25%)的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,下限大于30%、大于35%、大于40%或大于45%。

[0684] 在某些实施方案中,本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区

间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于40％、大于45％、大于50％、大于60％或大于65％。

[0685] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性或在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，由在基线时血清阳性受试者与在基线时针对所有血清型血清阴性的受试者提供的下限之间的差异不超过15％个点。

[0686] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在基线时针对所有血清型呈血清阴性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，在血清阴性受试者中具有大于30％的针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，在血清阴性受试者中针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于65％或大于70％。

[0687] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，所述疫苗效力大于30％、大于40％、大于50％、大于55％、大于60％或大于65％。

[0688] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，所述疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于65％、大于70％或大于75％。

[0689] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性或在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，由在基线时血清阳性受试者与在基线时针对所有血清

型血清阴性的受试者提供的下限之间的差异不超过15％个点，或不超过10％个点。

[0690] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少1,000名在随机分组时4至5岁且不管基线时的血清状况如何的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％、大于45％。

[0691] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少1,000名在随机分组时4至5岁且不管基线时的血清状况如何的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于30％的针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于65％或大于70％。

[0692] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少1,000名在随机分组时6至11岁且不管基线时的血清状况如何的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％、大于50％、大于60％或大于70％。

[0693] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少1,000名在随机分组时6至11岁且不管基线时的血清状况如何的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于30％的针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于70％、大于75％或大于80％。

[0694] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少1,000名在随机分配时12至16岁且不管基线时的血清状况如何的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％、大于50％、大于60％、大于65％或大于68％。

[0695] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在至少1,000名在随机分配时12至16岁且不管基线时的血清状况如何的健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于30％的针对

所有四种登革热血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对所有四种登革热血清型的联合疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于70％、大于75％或大于80％。

[0696] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在不管基线时的血清状况如何的至少5,000名健康受试者、或至少10,000名健康受试者、或至少15,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对登革热血清型1的疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％或大于50％。

[0697] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12或18个月)在不管在基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型1的疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于35％、大于40％、大于45％、大于50％或大于54％。在某些此类实施方案中，至少1,500的受试者群体在基线时针对所有血清型呈血清阴性，并且下限大于35％。在某些此类实施方案中，血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型1的疫苗效力(具有双侧95％置信区间)，其中下限在10％个点内。

[0698] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在不管基线时的血清状况如何的至少5,000名健康受试者、或至少10,000名健康受试者、或至少15,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于30％的针对登革热血清型1的疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对登革热血清型1的疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于65％或大于70％。

[0699] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12或18个月)在不管在基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型1的疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％或大于65％。在某些此类实施方案中，至少1,500的受试者群体在基线处针对所有血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中，血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型1的在5％个点内的疫苗效力。

[0700] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在不管基线时的血

清状况如何的至少5,000名健康受试者、或至少10,000名健康受试者、或至少15,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对登革热血清型2的疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％、大于50％、大于60％、大于70％、大于80％或大于90％。

[0701] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12或18个月)在不管在基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型2的疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于50％、大于60％、大于70％、大于80％或大于85％。在某些此类实施方案中，至少1,500的受试者群体针所有血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中，血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型2的疫苗效力(具有双侧95％置信区间)，其中下限在5％个点内。

[0702] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在不管基线时的血清状况如何的至少5,000名健康受试者、或至少10,000名健康受试者、或至少15,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于30％的针对登革热血清型2的疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对登革热血清型2的疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于70％、大于80％或大于90％。

[0703] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12或18个月)在不管在基线时的血清状况如何且4至16岁的至少1,500、或至少2,000、或至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的登革热病中具有针对血清型2的疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，疫苗效力大于60％、大于70％、大于80％或大于90％。在某些此类实施方案中，至少1,500的受试者群体在基线处针对所有血清型呈血清阴性。在某些此类实施方案中，血清阴性和血清阳性群体各自提供针对血清型2的在5％个点内的疫苗效力。

[0704] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月在不管基线时的血清状况如何的至少5,000名健康受试者、或至少10,000名健康受试者、或至少15,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对登革热血清型3的疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％。

[0705] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月在不管基线时的血清状况如何的至少5,000名健康受试者、或至少10,000名健康受试者、或

至少15,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时,具有大于30%的针对登革热血清型3的疫苗效力的所述方法,其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,针对登革热血清型3的疫苗效力大于40%、大于50%、大于55%或大于60%。

[0706] 在某些实施方案中,本发明涉及当从第一施用直到第一施用后12至18个月(例如在12个月或18个月),或从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12或18个月)在至少5,000名不管基线时的血清状况如何且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于25%)的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,下限大于10%、大于20%、大于30%、大于40%、大于50%、大于55%、大于60%、大于65%、大于66%、大于67%、大于70%、大于75%、大于77%、或大于80%。

[0707] 在某些实施方案中,本发明涉及当从第一施用直到第一施用后12至18个月(例如在12个月或18个月),或从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12或18个月)在至少5,000名不管基线时的血清状况如何且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,疫苗效力大于70%、大于75%、大于80%、或大于82%、或大于85%、大于88%。

[0708] 在某些实施方案中,本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在基线时针对所有血清型呈血清阴性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时,具有针对所有四种血清型针对病理学确认的住院登革热的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于25%)的所述方法,其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,下限大于30%、大于40%、大于50%、大于60%、大于70%或大于75%。

[0709] 在某些实施方案中,本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时,在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95%置信区间,其中下限大于25%)的所述方法,其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中,下限大于60%、大于65%、大于66%、大于67%、大于70%、大于75%、大于77%或大于80%。

[0710] 在某些实施方案中,本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在基线时针对所有血清型呈血清阴性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时,具有大于30%的针对所有

四种血清型针对病理学确认的住院登革热的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对所有四种血清型针对病毒学确认的住院登革热的联合疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于70％、大于80％或大于90％。

[0711] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，所述疫苗效力大于60％、大于65％、大于66％、大于67％、大于70％、大于75％、大于77％、大于80％或大于85％。

[0712] 在某些实施方案中，本发明涉及当在施用时间表的第二施用后约30天直到施用时间表的第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在基线时血清阳性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对所有四种血清型针对病理学确认的住院登革热的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于30％、大于40％、大于50％、大于60％、大于70％或大于80％。

[0713] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，下限大于60％、大于65％、大于70％、大于75％或大于80％。

[0714] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或直到12至18个月(例如在12或18个月)在基线时呈血清阳性的至少1,500或至少2,000名健康受试者的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于30％的针对所有四种血清型针对病理学确认的住院登革热的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，针对所有四种血清型针对病毒学确认的住院登革热的联合疫苗效力大于40％、大于50％、大于60％、大于70％、大于80％或大于90％。

[0715] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，疫苗效力大于75％、大于70％、大于80％、大于85％或大于90％。

[0716] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性或在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于25％)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，由在基线时血清阳性受试者与在基线时针对所有血清型血清阴性的受试者提供的下限之间的差异不超过15％个点。

[0717] 在某些实施方案中，本发明涉及当从最后施用后30天直到最后施用后12至18个月(例如在12个月或18个月)在至少5,000名在基线时呈血清阳性或在基线时针对所有血清型呈血清阴性且4至16岁的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，在预防病毒学上可确认的住院登革热病中具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，由在基线时血清阳性受试者与在基线时针对所有血清型血清阴性的受试者提供的疫苗效力之间的差异不超过10％个点或不超过5％个点。

[0718] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有相对风险、优选地针对所有四种血清型的联合相对风险(具有双侧侧95％置信区间，其中上限小于0.75)的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，上限小于0.70、小于0.65、小于0.60、小于0.55、小于0.50、小于0.45、小于0.40、小于0.35、小于0.30或小于0.28。优选地，所述复溶单位剂量或安慰剂在约3个月内，如在第0天和第90天皮下施用。

[0719] 在某些实施方案中，本发明涉及当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有小于0.70的相对风险、优选地针对所有四种血清型的联合相对风险的所述方法，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，相对风险小于0.65、小于0.60、小于0.55、小于0.50、小于0.45、小于0.40、小于0.35、小于0.30、小于0.25或小于0.23。优选地，所述复溶单位剂量或安慰剂在约3个月内，如在第0天和第90天皮下施用。

[0720] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中当在第二施用后30天直到第二施用后至少12个月或至少18个月在至少5,000名无论基线时的血清状况如何的健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，病毒学确认的登革热病在少于2.5％的受试者中发生，其中如本文所述的复溶单位剂量/四价登革热病毒组合物或安慰剂例如在少于6个月内(如3个月内)施用至少两次。在某些此类实施方案中，病毒学上可确认的登革热病在少于2.0％的受试者、少于1.5％的受试者、少于1.0％的受试者、少于0.8％的受试者或少于0.6％的受试者中发生。优选地，所述复溶单位剂量或安

慰剂在约3个月内，如在第0天和第90天皮下施用。

[0721] 在某些实施方案中，本发明涉及在施用时间表的最后施用后约30天直到施用时间表的最后施用后至少12或13个月在至少5,000名来自流行地区的无论基线时的血清状况如何并且选自由在随机分组时4至16岁的受试者组成的组的健康受试者(或至少10,000名或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有针对所有四种血清型的联合疫苗效力(具有双侧95％置信区间，其中下限大于61.0％、或大于65.0％、或大于70.0％、或大于72.0％)的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在6个月或更短时间内施用至少两次。

[0722] 在某些实施方案中，本发明涉及在施用时间表的最后施用后约30天直到施用时间表的最后施用后至少12个月或13个月在至少5,000名来自流行地区的无论基线时的血清状况如何并且选自由在随机分组时4至16岁的受试者组成的组的健康受试者(或至少10,000名或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，具有大于66％、或大于70％、或大于75％、或大于77％、或大于80.0％的针对所有四种血清型的联合疫苗效力的所述方法，其中所述单位剂量/四价登革热病毒组合物或所述安慰剂在6个月或更短时间内施用至少两次。

[0723] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中针对所有四种血清型的联合疫苗效力在施用时间表的最后施用后约30天直到施用时间表的最后施用后12或13个月测量。

[0724] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述单位剂量或所述安慰剂在三个月内施用至少两次，特别是在约第1天和约第90天施用，并且其中针对所有四种血清型的联合疫苗效力在第二施用后30天直到第二施用后12或13个月测量。

[0725] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法是有效且安全的。在这些实施方案中的一些中，受试者或受试者群体是9岁以下、4岁以下、或2岁以下、或2至9岁、或2至5岁、或4至9岁、或6至9岁。任选地，受试者关于所有登革热血清型呈血清阴性。

[0726] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中当在至少5,000名健康受试者(或至少10,000或至少15,000名健康受试者)的受试者群体中针对安慰剂测量时，所述方法具有1或更低、或0.8或更低、或0.6或更低的病毒学确认的住院登革热的相对风险。在这些实施方案中的一些中，受试者或受试者群体是9岁以下、4岁以下、或2岁以下、或2至9岁、或2至5岁、或4至9岁、或6至9岁。任选地，受试者关于所有登革热血清型呈血清阴性。

[0727] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者是4至16岁。在一些此类实施方案中，受试者群体的健康受试者是4至5岁、6至11岁或12至16岁。

[0728] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中鉴于实施例6中规定的排除标准，受试者群体的健康受试者被定义为健康的。

[0729] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者来自亚太地区或拉丁美洲。

[0730] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者关于至少一种血清型呈血清阳性。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者关于所有血清型呈血清阴性。

[0731] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者是4-5岁且来自亚太地区、6-11岁且来自亚太地区、或12-16岁且来自亚太地区。在其他实施方案中，

受试者群体的健康受试者是4-5岁且来自拉丁美洲、6-11岁且来自拉丁美洲、或12-16岁且来自拉丁美洲。

[0732] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者是4-5岁且对至少1种登革热血清型呈血清阳性、6-11岁且对至少1种登革热血清型呈血清阳性、或12-16岁且对至少1种登革热血清型呈血清阳性。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者是4-5岁且对所有登革热血清型呈血清阴性、6-11岁且对所有登革热血清型呈血清阴性、或12-16岁且对所有登革热血清型呈血清阴性。

[0733] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者来自亚太地区或拉丁美洲并且在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者来自亚太地区或拉丁美洲并且在基线时对所有登革热血清型呈血清阴性。

[0734] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者来自亚太地区，在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者来自亚太地区，在基线对所有登革热血清型呈血清阴性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者来自拉丁美洲，在基线时对至少一种登革热血清型呈血清阳性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者来自美国，在基线对所有登革热血清型呈血清阴性，并且是4-5岁、6-11岁或12-16岁。

[0735] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者具有针对黄热病的先前疫苗接种。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者没有针对黄热病的先前疫苗接种。先前疫苗接种是指在用如本文所述的复溶单位剂量第一次疫苗接种之前的疫苗接种。例如，对于如在实施例6中从第二疫苗接种后30天确定的疫苗效力(VE)，黄热病的先前疫苗接种被定义为在第二疫苗接种后30天之前发生的黄热病疫苗接种。

[0736] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者具有针对日本脑炎的先前疫苗接种。在其他实施方案中，受试者群体的健康受试者没有针对日本脑炎的先前疫苗接种。

[0737] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中受试者群体的健康受试者在如本文所述的施用方案内或在施用第一剂量后4.5年内接受了Dengvaxia®。在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中疫苗相关严重不良事件的发生率小于0.1％。

[0738] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中在施用的4周内发生的疫苗相关未诉求的不良事件的发生率小于2％。

[0739] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中在施用的2周内发生的疫苗相关诉求的不良事件的发生率小于35％。

[0740] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中在施用的1周内发生的疫苗相关诉求的局部反应的发生率小于40％。

[0741] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中所述方法不增加个体(如血清阴性个体)病毒学确任的住院登革热的风险。

[0742] 上述方法也应在用于此类方法的单位剂量的背景下或在此类单位剂量用于制造用于此类方法的药物的用途的背景下考虑。

[0743] 在某些实施方案中，四价登革热疫苗如Dengvaxia®用于针对登革热病进行接种。Dengvaxia®是基于黄热病主链的四价登革热疫苗CYD-TDV(Dengvaxia®,Sanofi Pasteur,Lyon,France)，并且基于在亚洲和拉丁美洲的儿童中针对56％-61％的儿童的病毒学确认的登革热(VCD)的总体疫苗效力(VE)的临床证明已在多个国家获得许可(Capeding MR等人Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia:a phase 3,randomised,observer-masked,placebo-controlled trial.Lancet 2014,384:1358-65;Villar LA等人Safety and immunogenicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16year olds:a randomized,controlled,phase II trial in Latin America.Pediatr Infect Dis J 2013,32:1102-9)。这些特定株CYD1、CYD2、CYD3和CYD4的制备已在国际专利申请WO 98/37911、WO 03/101397、WO07/021672、WO 08/007021、WO 08/047023和WO 08/065315中进行了详细描述，关于其制备过程的精确描述可参考所述国际专利申请。CYD1、CYD2、CYD3和CYD4的prM-E区的相应核苷酸序列提供于WO2016034629中，并且SEQID NO在此参考文献的表16中列出。

[0744] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)和本文公开的Dengvaxia®在同一天同时施用于受试者或受试者群体。

[0745] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)在第0/1天作为第一施用而施用于受试者或受试者群体，并且本文公开的Dengvaxia®随后在自所述第一施用的三个月内，如自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。可替代地，本文公开的Dengvaxia®在第0/1天作为第一施用而施用于受试者或受试者群体，并且本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)随后在自所述第一施用的三个月内，如在自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。

[0746] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中登革热疫苗组合物包含其他登革热疫苗，如TV003或TV005。由美国国家过敏和传染病研究所开发的TV003包含疫苗组分rDEN1Δ30、rDEN2/4Δ30、rDEN3Δ30/31和rDEN4Δ30，其中这些组分中的每一者以$3\log_{10}$PFU的浓度存在。TV005与TV003相似，区别在于TV005中rDEN2/4Δ30的浓度是$4\log_{10}$PFU。疫苗TV003和TV005及其疫苗组分以及它们的生产在WO 2008/022196 A2和S.S.Whitehead,Expert Rev Vaccines,2016,15(4):509至517中进行了更详细的描述。使用重组DNA技术，对于TV003或TV005的疫苗组分采用了两种减毒策略:3'非翻译区中的缺失和结构基因嵌合。例如，组分rDEN4Δ30含有野生型DENV-4的所有结构和非结构蛋白质，但由于3'非翻译区中的30个核苷酸缺失而减毒(表示为“Δ30”)。由于3'非翻译区中的30个核苷酸缺失，其他疫苗组分也被减毒。此外，rDEN3Δ30/31在3'非翻译区中包含31个核苷酸的缺失(详细显示在WO 2008/022196 A2的图1c和图13中)。rDEN2/4Δ30组分是通过将DENV-2的prM和E基因取代到rDEN4Δ30基因组中而产生的。可用于产生TV003或TV005的登革热株

的完整基因组序列可在WO 2008/022196 A1的表A中的Genbank登录号下获得。

[0747] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)和本文公开的TV003或TV005在同一天同时施用于受试者或受试者群体。

[0748] 在某些实施方案中，本发明涉及所述方法，其中本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)在第0/1天作为第一施用而施用于受试者或受试者群体，并且其中本文公开的TV003或TV005随后在自所述第一施用的三个月内，如自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。可替代地，本文公开的TV003或TV005在第0/1天作为第一施用而施用于受试者或受试者群体，并且本文公开的单位剂量(其具体地包含嵌合登革热血清型2/1株、减毒活登革热血清型2株、嵌合登革热血清型2/3株和嵌合登革热血清型2/4株)随后在自所述第一施用的三个月内，如在自所述第一施用的第90天作为第二施用而施用于受试者或受试者群体。

[0749] 实施例

[0750] 包括以下实施例以证明如权利要求书中所述的本发明的某些方面和实施方案。然而，本领域技术人员应当理解，以下描述仅是说明性的并且不应以任何方式视为对本发明的限制。

[0751] 实施例1:登革热病毒株的制备。

[0752] 用于产生嵌合登革热病毒株TDV-1、-3和-4的方法是标准分子克隆和DNA工程化方法，并在等人(2003)J.Virology 77(21):11436-11447中进行了描述。以下众所周知的方法用于构建登革热血清型1、3和4的prM-E基因并将其引入TDV-2主链中:逆转录酶PCR(RT-PCR)、PCR、限制性酶消化、DNA片段连接、通过电穿孔细菌转化、质粒DNA制备、通过T7 RNA聚合酶体外转录和通过电穿孔转染Vero细胞。

[0753] 如Huang等人(2013)PLOS Neglected Dis,7(5):e2243所述，在分别生长和纯化不同的登革热血清型后，将它们以实施例4中提供的特定浓度混合。登革热血清型的混合物存在于登革热疫苗组合物中并与药学上可接受的赋形剂的组合物合并，从而产生包含15%w/vα,α海藻糖二水合物、1%w/v泊洛沙姆407、0.1%w/v人血清白蛋白和100mM氯化钠的登革热疫苗组合物。登革热疫苗组合物是冻干的并且代表TDV的冻干单位剂量。冻干单位剂量用37mM氯化钠水溶液复溶，并且复溶的单位剂量包含15%w/vα,α海藻糖二水合物、1%w/v泊洛沙姆407、0.1%w/v人血清白蛋白和137mM氯化钠。

[0754] 实施例2:微量中和试验

[0755] 通过对四种登革热血清型中的每一者进行微量中和测定来测量免疫原性，其中效价被定义为导致噬斑值降低50%的稀释度(MNT50)。简言之，在第1天，将Vero细胞以2.5x 10^5个细胞/ml的密度接种在DMEM和10%FBS中的96孔测定板上，并在37℃下孵育24小时。在第2天，制备含有热灭活抗体的测试和对照血清样品(稀释范围为1:10至1:20480)的系列稀释液，并与恒定浓度的登革热病毒，特别是DENV-1株16007、DENV-2株16681、DENV-3株16562和DENV-4株1036(目标60-80pfu/孔)在96孔微量滴定板中混合并在2℃-8℃下孵育过夜，以使血清中存在的抗体能够中和病毒。孵育后，将病毒和抗体的混合物转移至含有Vero细胞的96孔板上，并将板在37℃下孵育90-120分钟以感染Vero细胞。将DMEM中的1%甲基纤维素

覆盖层施加至板以限制子代病毒的传播，并将板在34℃下孵育46-70小时，这取决于登革热血清型：

[0756] DENV1-66±2小时

[0757] DENV2-70±2小时

[0758] DENV3-66±2小时

[0759] DENV4-46±2小时

[0760] 孵育后，将细胞用PBS洗涤两次并通过添加冷甲醇固定并在≤-20℃的温度下孵育60分钟。固定后，将板干燥并用洗涤缓冲液(1x PBS，pH 7.4，含0.5％Tween)洗涤3次，然后每孔添加封闭溶液(PBST中2.5％脱脂乳粉)中的50μl血清型特异性抗登革热单克隆抗体并与细胞在2℃-8℃下孵育18±4小时。

[0761] 单克隆抗体如Gentry等人(1982)Am.J.Trop.Med.Hyg.31,548-555;Henchal等人(1985)Am.J.Trop.Med.Hyg.34,162-169;和Henchal等人(1982)Am.J.Trop.Med.Hyg.31(4):830-6)中所述制备。简言之，抗DENV-1HBD是针对登革热1株Hawaii,Envelope制备的，抗DENV-2是针对登革热2株New Guinea C,Envelope同种型1制备的，抗DENV-3HBD是针对登革热3株H87,Envelope同种型2A制备的，并且抗DENV-4HBD是针对登革热4株H241,Envelope同种型2A制备的。

[0762] 孵育后，将板用洗涤缓冲液洗涤3次，并添加50μl于封闭溶液中的第二过氧化物酶标记的山羊抗小鼠IgG(H+L)(KPL Cat#074-1806)并在37℃下孵育90至120分钟。然后将板用洗涤缓冲液洗涤3次，并添加50μl沉淀底物(2-氨基-9-乙基咔唑(AEC)片剂于2.5ml DMSO、47.5ml 50mM乙酸盐缓冲液和250μl过氧化氢中)并将混合物在室温下孵育20分钟。最后，移除底物，将板用dH_2O冲洗并干燥。

[0763] 使用线性回归方法计算样品效价并报告为每个样品的MNT50效价。临床数据报告为每个治疗组中所有个体MNT50效价的几何平均效价。简言之，计数每个孔中的感染灶的数量，并通过比较含有抗体的孔(测试样品)与仅含有病毒的孔中感染灶中心的百分比减少来确定中和抗体的效价。MNT50使用以下线性回归方程计算：MNT50＝10^[(50-c)/m])，其中c＝回归线的y截距并且m＝回归线的斜率

[0764] 每个测试样品一式三份进行测试，并从一式三份的平均值计算效价。此测试中执行的步骤的示意图提供在图2中。

[0765] 实施例3：儿童中的III期临床试验

[0766] 对生活在泰国、斯里兰卡、菲律宾、巴拿马、尼加拉瓜、多米尼加共和国、哥伦比亚或巴西的20100名4至16岁受试者进行了III期、双盲、随机化和安慰剂对照试验，评价在下文称为TDV(如本文所述的TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4)的四价登革热疫苗的效力、安全性和免疫原性。试验包括3个部分。第1部分评价疫苗效力(VE)，并持续直到均满足以下2个标准：(i)确认120例登革热和(ii)第二次疫苗接种后受试者随访的最短持续时间为12个月。第2部分持续额外的6个月，以评价VE和第二效力分析。第3部分将通过跟踪参与者的副作用来评价长期安全性，并将持续额外3年。

[0767] 第1部分：对在所有受试者中的效力的初步评估的主动监测。在此期间，至少每周联系受试者以确保鉴定可能由登革热引起的发热性疾病。这部分从接种疫苗当天开始，并在一旦均满足以下两个标准后就结束：(i)确认120例登革热和(ii)第二次疫苗接种后受试

者随访的最短持续时间为12个月。对于每个受试者限定第1部分的结束，以便所有受试者在第二次疫苗接种后的随访持续时间大致相同。如果在第二次疫苗接种后至少30天发生，则第1部分中的病毒学确认病例计入主要功效目标。第1部分在第二次疫苗接种后12个月完成

[0768] 第2部分：在第1部分，I完成后，即第二次疫苗接种后18个月，每个受试者额外进行6个月的主动监测。在此期间，至少每周联系受试者以确保鉴定可能由登革热引起的发热性疾病。第1部分和第2部分中的病毒学确认病例有助于次要功效目标。

[0769] 第3部分：在第2部分完成后，对所有受试者的安全性评估进行修改的主动监测，并且对于每个受试者持续3年。第3部分期间修改的监测将在试验的第3部分保持至少每周一次联系，但调查强度将根据住院需要进行修改。监测将鉴定可能由登革热引起的任何严重程度的发热性疾病。

[0770] 纳入标准包括：

[0771] • 在随机分组时，受试者的年龄为4至16岁(含端值)。

[0772] • 如通过病史、身体检查(包括生命体征)和研究者的临床判断确定的在进入试验时身体健康的个体。

[0773] • 在根据当地监管要求解释试验性质后，在启动任何试验程序前受试者和/或受试者的父母/监护人在适当情况下签署同意/书面知情同意书以及任何要求的隐私授权并注明日期。

[0774] • 能够遵守试验程序并能参加随访的持续时间的个体。

[0775] 排除标准包括：

[0776] 1.随机分组时发热性疾病(体温≥38℃)或中度或重度急性疾病或感染。

[0777] 2.研究者认为可能干扰试验结果或因参与试验而对受试者构成额外风险的病史或任何疾病，包括但不限于：

[0778] a.对任何疫苗组分的已知超敏反应或过敏。

[0779] b.正在怀孕或哺乳的女性受试者(初经后)。

[0780] c.根据研究者的判断患有任何严重的慢性或进行性疾病(例如，肿瘤、胰岛素依赖性糖尿病、心脏、肾脏或肝脏疾病、神经或癫痫病症或格林-巴利综合征(Guillain-Barré syndrome))的个体。

[0781] d.已知或疑似免疫功能受损/改变，包括：

[0782] i.在第1天(第0个月)前60天内长期使用口服类固醇(相当于20mg/天泼尼松≥12周/≥2mg/体重kg/天泼尼松≥2周)(允许使用吸入、鼻内或局部用皮质类固醇)。

[0783] ii.在第1天(第0个月)前的60天内接受胃肠外类固醇(相当于20mg/天泼尼松≥12周/≥2mg/体重kg/天泼尼松≥2周)。

[0784] iii.在第1天(第0个月)前的3个月内施用免疫球蛋白和/或任何血液产品，或在试验期间计划施用。

[0785] iv.在第1天(第0个月)前的60天内接受免疫刺激剂。

[0786] v.第1天(第0个月)前的6个月内的免疫抑制疗法，如抗癌化学疗法或放射疗法。

[0787] vi.人免疫缺陷病毒(HIV)感染或HIV相关疾病。

[0788] vii.遗传免疫缺陷。

[0789] 3.在第1天(第0个月)前的14天内(对于灭活疫苗)或28天(对于活疫苗)接受任何

其他疫苗,或计划在第1天(第0个月)之后的28天内接受任何疫苗。

[0790] 4.在第1天(第0个月)前30天参与使用另一种研究产品的任何临床试验,或打算在本试验进行期间的任何时间参与另一项临床试验。

[0791] 5.以前参与任何登革热候选疫苗的临床试验,或以前接受过登革热疫苗。

[0792] 6.参与试验进行的个体的一级亲属。

[0793] 7.在第1天(第0个月)前至少2个月性活跃且没有使用任何可接受的避孕方法的有生育能力的女性。

[0794] 8.性活跃且直到第二次疫苗接种后6周拒绝使用可接受的避孕方法的有生育能力的女性。

[0795] 9.被行政或法院命令剥夺自由,或在紧急情况下,或非自愿住院。

[0796] 10.可能干扰受试者遵守试验程序的能力的当前酒精滥用或药物成瘾。

[0797] 11.鉴定为研究者或试验中心的雇员,直接参与所述研究者或试验中心指导下的所提出试验或其他试验。

[0798] 符合条件的受试者被随机(2:1)分为两个治疗组:第1组在第1天和第90天在上臂接受一个皮下(SC)剂量的TDV,并且第2组在第1天和第90天在上臂接受一个皮下剂量的安慰剂。随机分组按地区(亚太地区和拉丁美洲)和年龄范围(4-5岁、6-11岁和12-16岁的儿童)进行分层,以确保每个年龄范围在每个地区都有适当的TDV与安慰剂比率。随机分组后的退出者没有被替代。研究第1天被定义为TDV或安慰剂的第一剂量施用的日期。如实施例1所述制备TDV。TDV的每个皮下剂量是0.5mL,并且每个剂量中TDV疫苗中的四种登革热血清型的浓度是TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4分别为3.6$\log_{10}$PFU/剂量、4.0$\log_{10}$ PFU/剂量、4.6$\log_{10}$ PFU/剂量和5.1$\log_{10}$ PFU/剂量。

[0799] 对于包含浓度为3.60$\log_{10}$pfu/0.5ml的登革热血清型1、浓度为4.00$\log_{10}$pfu/0.5ml的登革热血清型2、浓度为4.60log10pfu/0.5ml的登革热血清型3和浓度为5.11$\log_{10}$pfu/0.5ml的登革热血清型4的一种示例性四价疫苗组合物,显示了用作计算四价登革热疫苗的每种单独组分的浓度百分比的基值的“以pfu/0.5ml计的总浓度”。

[0800] 首先,将浓度的对数值转换为数值。这种转换的结果对于血清型1为4x10^3 pfu/0.5ml,对于血清型2为1x10^4 pfu/0.5ml,对于血清型3为4x10^4 pfu/0.5ml并且对于血清型4为1.3x10^5 pfu/0.5ml。以pfu/0.5ml计的总浓度是前面数值的和,得到1.84x10^5 pfu/0.5ml。

[0801] 血清型1、2、3和4中的每一者的“浓度百分比”是通过将单个血清型的浓度数值(以pfu/0.5ml表示)除以总浓度(以pfu/0.5ml表示)并且将结果乘以100而获得,即:

[0802] 血清型1的浓度百分比=(4x10^3 pfu/0.5ml÷1.84x10^5 pfu/0.5ml)x100=2%

[0803] 血清型2的浓度百分比=(1x10^4 pfu/0.5ml÷1.84x10^5 pfu/0.5ml)x100=5%

[0804] 血清型3的浓度百分比=(4x10^4 pfu/0.5ml÷1.84x10^5 pfu/0.5ml)x100=22%

[0805] 血清型4的浓度百分比=(1.3x10^5 pfu/0.5ml÷1.84x10^5 pfu/0.5ml)x100=71%。

[0806] 浓度百分比四舍五入为整数。

[0807] 主要结果量度包括两个剂量的TDV在预防由任何登革热血清型引起的病毒学确认的登革热(VCD)中的疫苗效力(VE)[时间范围:第二次疫苗接种后30天(第120天)直到第1部

分结束]。VE被定义为1-(λv/λc),其中λv和λc分别表示TDV组和安慰剂组的危险率。病毒学确认的登革热病例被定义为发热性疾病(定义为连续3天中的任何2天体温≥38℃)或临床上被研究者怀疑为登革热且血清型特异性逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)呈阳性的疾病。发热性疾病将需要与之前的发热性疾病间隔至少14天,以避免一次发作的急性和恢复期就诊与第二次发作的那些重叠。

[0808] 次要结果量度包括:

[0809] 1)两个剂量的TDV在预防由每种登革热血清型引起的病毒学确认的登革热中的VE[时间范围:从第二次疫苗接种后30天(第120天)直到第2部分结束]。

[0810] 2)两个剂量的TDV在预防在基线时登革热血清阴性的参与者中由任何登革热血清型引起的病毒学确认的登革热中的VE[时间范围:从第二次疫苗接种后30天(第120天)直到第2部分结束(至多21个月)]。

[0811] 3)两个剂量的TDV在预防在基线时登革热血清阳性的参与者中由任何登革热血清型引起的病毒学确认的登革热中的VE[时间范围:从第二次疫苗接种后30天(第120天)直到第2部分结束]。

[0812] 4)两个剂量的TDV在预防因任何登革热血清型引起的病毒学确认的登革热而住院中的VE[时间范围:从第二次疫苗接种后30天(第120天)直到第2部分结束]。

[0813] 5)两个剂量的TDV在预防由任何登革热血清型引起的病毒学确认的重症登革热中的VE[时间范围:从第二次疫苗接种后30天(第120天)直到第2部分结束]。

[0814] 6)安全性子集中具有诉求的局部注射部位不良事件(AE)的参与者百分比[时间范围:每次接种疫苗后第1天至第7天]和诉求的局部注射AE的严重程度。诉求的注射部位处的局部AE定义为每次疫苗接种后7天内出现的疼痛、红斑和肿胀。

[0815] 7)安全性子集中具有诉求的全身性不良事件(AE)的参与者百分比[时间范围:每次疫苗接种后第1至14天]和诉求的全身性AE的严重程度。儿童(<6岁)中的诉求的全身性AE定义为每次疫苗接种后14天内发生的发热、易怒/哭闹、嗜睡和食欲不振。儿童(≥6岁)中的诉求的全身性AE定义为每次疫苗接种后14天内发生的发热、头痛、虚弱、不适和肌痛。

[0816] 8)安全性子集中具有任何未诉求的不良事件(AE)的参与者的百分比[时间范围:每次疫苗接种后第1至28天]。未诉求的AE是如上文定义的未诉求的局部或全身性AE的任何AE。

[0817] 9)第1部分和第2部分期间具有严重不良事件(SAE)的参与者的百分比[时间范围:从第1天直到第1部分和第2部分结束]。严重不良事件(SAE)是在任何剂量下导致死亡、危及生命、需要住院病人住院或延长现有住院、导致持续或重大残疾/无能、是先天性异常/出生缺陷或由于上述标准以外的其他原因而具有医学重要性的任何不良的医疗事件或影响。

[0818] 10)在第3部分的前半部分和后半部分期间具有致命SAE和与研究药物相关的SAE的参与者百分比[时间范围:从第2部分结束(第一次疫苗接种后约21个月)开始持续3年(18个月一半)]。

[0819] 11)免疫原性子集中对四种登革热血清型中的每一者具有血清阳性响应的参与者的百分比[时间范围:第1天和第1、3、4、9、15个月,然后每年(至多3年)]。血清阳性响应被定义为倒数中和效价≥10。四种DENV血清型是DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4。

[0820] 12)免疫原性子集中对多种登革热血清型具有血清阳性响应的参与者的百分比

[时间范围:第1天和第1、3、4、9、15个月,然后每年(至多3年)]。

[0821] 13)免疫原性子集中四种登革热血清型中的每一者的中和抗体的几何平均效价(GMT)[时间范围:第1天和第1、3、4、9、15个月,然后每年(至多3年)]。中和抗体的GMT将通过如实施例2中所述的微量中和试验(MNT)进行测量。

[0822] a)研究群体:

[0823] 筛选后,20,099名参与者被随机分组,并且20,071名接受了至少一次注射。总共97.4%的安慰剂参与者(n/N:6,521/6,698)和97.3%的疫苗接种者(n/N:13,038/13,401)完成了研究的第1部分(图3)。研究退出的原因包括AE、参与者失去随访、怀孕、违反协议以及由参与者(或父母/监护人)退出。两个治疗组的基线特征相似(表5)。研究参与者的平均年龄是9.6岁,基线血清阴性率是27.7%,并且各地区的招募率大致平衡(亚洲为46.5%,拉丁美洲为53.5%)。最高血清阴性率是在巴拿马(62.2%),其次是斯里兰卡(38.5%)、泰国(34.4%)、巴西(28.8%)、尼加拉瓜(22.3%)、哥伦比亚(15.4%)、菲律宾(12.4%)和多米尼加共和国(2.8%)。

[0824] 表5.研究群体的基线特征(数量,%)

[0825]

	TDV	安慰剂	总计
符合方案集			
参与者的数量	12,704	6,317	19,021
平均年龄(岁, SD)	9.6 (3.35)	9.6 (3.34)	9.6 (3.35)
基线血清阴性[a]	3,533 (27.8)	1,726 (27.3)	5,259 (27.7)
女性	6,314 (49.7)	3,098 (49.0)	9,412 (49.5)
男性	6,390 (50.3)	3,219 (51.0)	9,609 (50.5)
亚太地区	5,896 (46.4)	2,942 (46.6)	8,838 (46.5)
基线血清阴性[a]	1,503 (25.5)	773 (26.3)	2,276 (25.8)
拉丁美洲	6,808 (53.6)	3,375 (53.4)	10,183 (53.5)
基线血清阴性[a]	2,030 (29.8)	953 (28.2)	2,983 (29.3)
安全集[b]			
参与者的数量	13,380	6,687	20,071
平均年龄(岁, SD)	9.6 (3.36)	9.6 (3.34)	9.6 (3.35)
基线血清阴性[a]	3,714 (27.8)	1,832 (27.4)	5,547 (27.6)
女性	6,651 (49.7)	3,276 (49.0)	9,929 (49.5)
男性	6,729 (50.3)	3,411 (51.0)	10,142 (50.5)
子集的安全集[b]			
参与者的数量	2,663	1,329	3,993
基线血清阴性[a]	740 (27.8)	369 (27.8)	1,109 (27.8)

[0826] [a]对于所有血清型呈血清阴性;血清阳性定义为倒数中和抗体效价≥10;SD,标准偏差。

[0827] [b]TVD组加安慰剂组中的参与者数量不等于显示的总数,因为分配错误的参与者(即由于施用错误而接受TVD和安慰剂两者的参与者)不包括在TDV和安慰剂组数据中。

[0828] b)发热性疾病和VCD

[0829] 在第1部分中,亚洲和拉丁美洲站点分别报告了5,754和4,663例发热性疾病发作。在这些病例中的99.5%和96.6%中获得了急性样品,在亚洲和拉丁美洲分别在五天内采集了98.3%和85.1%的样品。在整个第1部分期期间,安全集中有278例VCD病例(76例住院),其中210例(58例住院)是PPS中的第二次疫苗接种后30天(表6;表8)并包括在主要终点分析中。

[0830] c)主要终点分析中包含的VCD的分布

[0831] 在所有具有VCD的国家中都报告了DENV-1,并且包括巴拿马的所有21例病例。在斯里兰卡60例VCD中有54例是DENV-2,并且在菲律宾109例VCD中有87例是DENV-3。在菲律宾报告了所有七例DENV-4VCD。在尼加拉瓜或多米尼加共和国未报告VCD。在相关的58例住院VCD中,在斯里兰卡报告了43例。报告了总计2例重症登革热(均为DENV-3)和5例登革出血热(DHF;3例DENV-2;2例DENV-3)病例(表7)。这七例也是整个第1部分安全集中仅有的此类病例。

[0832] d)疫苗效力

[0833] 针对任何血清型的VCD的VE是80.2%(95%CI:73.3-85.3;P<0.001)。在安全集中,剂量之间和从第一剂量开始的81%(95%CI:64.1-90.0)的相似效力(表6)表明疫苗在第一剂量后是有效的。次要功效终点的探索性分析显示根据血清型的差异效力的趋势,针对DENV-2的效力最高(97.7%),其次是DENV-1(73.7%)、DENV-4(63.2%,CI包含零)和DENV-3(62.6%;表7)。总体而言,在基线血清阴性者(74.9%)和血清阳性者(82.2%;图4上图)中效力相似;然而,这因血清型而异。针对DENV-2的效力不受血清状况的影响;针对DENV-1的效力在基线血清阳性者(79.8%;95%CI:51.3-91.6)中略高于基线血清阴性者(67.2%;95%CI:23.2-86.0)。与基线血清阳性者(71.3%;95%CI:54.2-82.0)相比,在基线血清阴性者中未观察到针对DENV-3的效力(-38.7%;95%CI:-335.7-55.8)。不能计算DENV-4的根据血清状况的效力,因为在基线血清阴性者中未观察到病例。在PPS的主要终点时间范围内,疫苗组中仅报告了5例需要住院的VCD,相比之下安慰剂组中报告了53例,VE为95.4%(95%CI:88.4-98.2;对于基线血清阴性者为97.2%并且对于基线血清阳性者为94.4%;表7;图4下图),与从第一剂量开始的安全集中93.3%(95%CI:86.7-96.7)的VE一致。

[0834] 两个剂量的TDV在预防由任何登革热血清型引起的病毒学确认的登革热(VCD)中的主要疫苗效力(VE)显示在表6中。

[0835] 表6.从第二次疫苗接种后30天直到符合方案集(PPS)的第1部分结束(即第二次疫苗接种后12个月),TDV在预防针对任何血清型的病毒学确认的登革热(VCD)中的疫苗效力。从第一剂量至第1部分研究期结束,即第二次疫苗接种后12个月的安全集分析

[0836]

	安慰剂 n= 6317	TDV (PPS) n= 12,704
评价的受试者的数量	6,316	12,700
患有发热性疾病的受试者的数量	1,712	3,195
发热性疾病病例的数量	2,591	4,692
病毒学确认的登革热(n [%])	149 [2.4]	61 [0.5]
处于风险的人-年	5,670.1	11,578.7
发病密度	2.6	0.5
相对风险	0.20	
相对风险的 95% CI	(0.15，0.27)	
疫苗效力(%)	80.2	
疫苗效力的 95% CI	(73.3，85.3)	
疫苗效力的 p 值	<0.001	
	安慰剂	TDV (安全集)*
评价的受试者的数量	6,687	13,380
病毒学确认的登革热(n [%])	199 [3.0]	78 [0.6]
处于风险的人-年	8,072.0	16,351.5
发病密度	2.5	0.5
疫苗效力(%)	80.9	

[0837]

疫苗效力的 95% CI	(75.2，85.3)

[0838] 注释1:病毒学确认的登革热(VCD)的百分比是基于评价的受试者的数量。

[0839] 注释2:处于风险的人-年定义为直到VCD热开始或直到第1部分研究期结束或终止日期(以先到者为准)的累积时间(以年计)。发病密度定义为每100个处于风险的人-年的病例数量。百分比是基于评价的分析集参与者的总数(分母),并且可能不等于每个方案分析集中参与者的总数。

[0840] *一名参与者在第1部分期间具有两次VCD实例,仅第一VCD包含在效力计算中

[0841] 注释3:疫苗效力(VE)和双侧95%CI是根据Cox比例危险模型估算的,其中TDV作为因子,根据年龄进行调整并按地区分层。

[0842] 注释4:如果VE的95%CI的下限高于25%,将得出统计显著性结论。由于假设将在5%的双侧显著性水平下以验证方式进行检验,因此计算的p值应与0.025进行比较。

[0843] 注释5:相对风险被计算为事件数量除以在TDV组中评价的受试者的数量,再除以事件数量除以在安慰剂组中评价的受试者的数量。

[0844] 对于表6中所示的效力评价,VCD病例被定义为发热性疾病(定义为连续3天中的任何2天发热≥38℃),血清型特异性RT-PCR呈阳性(即登革热检测RT-PCR呈阳性)并发生在从第二次疫苗接种后30天(第120天[第4个月])开始直到第1部分结束的任何时间。分析是对符合方案集(PPS)和安全集进行的。

[0845] 如本文所用,“符合方案集(PPS)”由全分析集(FAS)中的所有受试者组成,所述全

分析集由接受至少一个剂量的TDV或安慰剂且没有重大方案违反的所有随机分组受试者组成。重大方案违反是没有接受两个剂量的TDV或安慰剂施用,没有在正确的间隔内接受两个剂量,没有正确施用TDV或安慰剂,受试者使用违禁药物/疫苗,受试者符合上文定义的2d、3、4或5的任何排除标准或产品制备错误。

[0846] p值是通过求解以下等式中的临界值Z获得的:

[0847] HR=0.75的单侧(1-p%)CI的上限,其中HR是危险比并且定义为HR=λV/λC。

[0848] e^[β^+Z*S^E]=0.75,其中β定义治疗,并且S^E定义相关标准误差。

[0849] 单测p值是1-(标准正态分布中临界值Z左侧的区域)。由于假设将在5%的显著性水平下以验证方式进行双侧检验,因此计算的单侧p值应与0.025进行比较。

[0850] 总之,在此研究的第1部分中,发现在4-16岁儿童中针对任何血清型的病毒学确认的登革热的80.2%的高疫苗效力。它包括在基线血清阴性者中74.9%的效力和住院的稳健95.4%降低。在第一剂量后可观察到保护的开始,剂量之间的效力为81%。总体而言,这些结果表明,无论先前登革热暴露或年龄如何,对于每个疫苗接受者都有潜在益处。这一发现意义重大,因为针对登革热的疫苗开发一直具有挑战性,尤其是对于登革热初始性的个体而言,并且登革热仍然是WHO在2019.19对全球健康的十大威胁之一。此外,在第一剂量后的保护开始在爆发控制或旅行疫苗接种的背景下具有潜在效用,从而提供在仅一个剂量后登革热的风险降低。

[0851] 重症形式的登革热评如下估:如由1997年WHO定义.Severe Dengue through the Dengue Case Adjudication Committee所定义的登革出血热(DHF)。登革热病例裁决委员会(The Dengue Case Adjudication Committee,DCAC)由四名成员组成:一名投票主席、两名投票成员和一名独立的无投票权统计员。三名DCAC投票成员都是医生和临床登革热专家。DCAC成员不是研究调查人员,并且没有任何将影响他们对试验数据的审查的利益冲突。所有非住院病例均被视为非重症。以设盲方式应用于病毒学确认的住院登革热病例的DCAC重症登革热病例标准是如下:1)出血异常,对于被认为是重症的病例,需要响应于出血事件的重大干预,如输血、鼻腔填塞、激素疗法,或发生在诸如脑的关键器官中的出血;2)血浆渗漏,对于被认为是重症的病例,需要有血浆渗漏和功能障碍的证据(血浆渗漏包括临床证据、放射学证据或红细胞比容升高超过正常水平或基线>20%;功能障碍定义为休克或呼吸窘迫);3)肝脏,对于被认为是重症的病例,需要有肝炎和功能障碍两者的证据(肝炎定义为天冬氨酸转氨酶[AST]或丙氨酸转氨酶[ALT]>10正常范围上限[ULN];功能障碍定义为凝血酶原[PT]>1.5ULN或低白蛋白血症);4)肾脏,血清肌酐>2.5倍ULN或需要透析;5)心脏,心脏固有的异常(即不是由血管内容量耗减引起)和功能障碍的证据(固有异常的实例:心肌炎、心包炎和心肌心包炎;功能障碍的实例:导致心律不齐的新的传导异常[即不是暂时性一度心脏传导阻滞]);6)中枢神经系统,除单纯高热惊厥或短暂谵妄外的任何异常;7)休克,所有休克病例均视为重症。需要存在至少1项功能障碍(标准3、4、5、6),但成员在其评估中考虑了全部数据。

[0852] 第1部分和第2部分的进一步结果呈现于表7a至c中。

[0853] 表7a:按根据符合方案集亚组的有助于主要终点的病例的分布(第二次疫苗接种后30天直到第1部分结束,即第二次疫苗接种后12个月)

[0854]

	TDV 登革热病例	TDV 发病密度	安慰剂 登革热病例	安慰剂 发病密度	疫苗效力 (95% CI)
VCD 病例					
基线血清阳性[a]	41/9,165 (0.4%)	0.5	110/4,587 (2.4%)	2.7	82.2% (74.5%–87.6%)
基线血清阴性[a]	20/3,531 (0.6%)	0.6	39/1,726 (2.3%)	2.5	74.9% (57.0%–85.4%)
DENV-1	16/12,700 (0.1%)	0.1	30/6,316 (0.5%)	0.5	73.7% (51.7%–85.7%)
DENV-2	3/12,700 (<0.1%)	<0.1	64/6,316 (1.0%)	1.1	97.7% (92.7%–99.3%)
DENV-3	39/12,700 (0.3%)	0.3	51/6,316 (0.8%)	0.9	62.6% (43.3%–75.4%)
DENV-4[d]	3/12,700 (<0.1%)	<0.1	4/6,316 (<0.1%)	<0.1	63.2% (-64.6%–91.8%)
4–5 岁	13/1,619 (0.8%)	0.9	23/801 (2.9%)	3.2	72.8% (46.2%–86.2%)
6-11 岁	34/7,009 (0.5%)	0.5	85/3,491 (2.4%)	2.7	80.7% (71.3%–87.0%)
12-16 岁	14/4,072 (0.3%)	0.4	41/2,024 (2.0%)	2.2	83.3% (69.3%–90.9%)
[0855] 亚洲	54/5,894 (0.9%)	1.0	127/2,942 (4.3%)	4.9	79.5% (71.8%–85.1%)
拉丁美洲	7/6,806 (0.1%)	0.1	22/3,374 (0.7%)	0.7	84.3% (63.1%–93.3%)
住院 VCD 病例					
基线血清阳性[a]	4/9,165 (<0.1%)	<0.1	35/4,587 (0.8%)	0.8	94.4% (84.3%–98.0%)
基线血清阴性[a]	1/3,531 (<0.1%)	<0.1	18/1,726 (1.0%)	1.2	97.2% (79.1%–99.6%)
DHF 的病例[b]					
所有参与者	1/12,700 (<0.1%)	<0.1	4/6,316 (<0.1%)	<0.1	87.3% (-13.5%–98.6%)
重症 VCD 病例[c]					
所有参与者	1/12,700 (<0.1%)	<0.1	1/6,316 (<0.1%)	<0.1	50.8% (-686.9%–96.9%)

[0856] VCD,病毒学确认的登革热;DHF,登革出血热

[0857] [a]对于所有血清型呈血清阴性;基线血清阳性定义为对一种或多种血清型的倒数中和抗体效价≥10。

[0858] [b]符合WHO 1997DHF标准的VCD病例;发病密度定义为每100处于风险的人-年的病例数量;百分比是基于所评价的符合方案集参与者的总数(分母)。

[0859] [c]两例重症VCD未被分类为DHF。

[0860] [d]鉴定的病例数量足以提供针对所有单个血清型(DENV-4除外)的疫苗效力的合理准确估值。

[0861] 表7b:按根据符合方案集亚组的有助于次要终点的病例的分布(第二次疫苗接种

后30天直到第2部分结束,即第二次疫苗接种后18个月)

[0862]

	TDV 登革热病例	TDV 发病密度	安慰剂 登革热病例	安慰剂 发病密度	疫苗效力 (95% CI)
VCD 病例					
总体					73.3% (66.5%-78.8%)
基线血清阳性[a]	75	0.6	150	2.4	76.1% (68.5%–81.9%)
基线血清阴性[a]	39	0.8	56	2.4	66.2% (49.1%–77.5%)
DENV-1	38	0.2	62	0.7	69.8% (54.8%–79.9%)
基线血清阳性[a]	21	0.2	37	0.6	72.0 (52.2%-83.6%)
基线血清阴性[a]	17	0.3	25	1	67.8 (40.3%-82.6%)
DENV-2	8	<0.1	80	0.9	95.1% (89.9%–97.6%)
基线血清阳性[a]	7	<0.1	54	0.9	93.7 (86.1%-97.1%)
基线血清阴性[a]	1	<0.1	26	1.1	98.1 (85.8%-99.7%)
住院 VCD 病例					
总体	13	<0.1	66	0.8	90.4% (82.6%-94.7%)
基线血清阳性[a]	8	<0.1	45	0.7	91.4% (81.7%–95.9%)
基线血清阴性[a]	5	0.1	21	0.9	88.1% (68.5%–95.5%)

[0863] VCD,病毒学确认的登革热;

[0864] [a]对于所有血清型呈血清阴性;基线血清阳性定义为对一种或多种血清型的倒数中和抗体效价≥10。

[0865] 表7c:根据安全集有助于次要终点的病例的分布(第一次疫苗接种直到第2部分结束,即第一次疫苗接种后21个月)

[0866]

	TDV 登革热病例	TDV 发病密度	安慰剂 登革热病例	安慰剂 发病密度	疫苗效力 (95% CI)
VCD 病例					
总体					75.3 % (69.5%-80.0%)
总体介于之间[a]					81.0% (64.1%-90.0%)
基线血清阳性[b]	89	0.5	187	2.3	77.2% (70.6%–82.3%)
基线血清阴性[b]	42	0.7	70	2.3	70.6% (56.9%–79.9%)
DENV-1	41	0.2	78	0.7	73.9% (61.9%–82.1%)
DENV-2	14	<0.1	109	1.0	93.7% (89.0%–96.4%)
住院 VCD 病例					
总体	17	<0.1	81	0.7	89.7% (82.6%-93.9%)

[0867]

[0868] VCD,病毒学确认的登革热;

[0869] [a]介于之间:第一次疫苗接种后和第二次疫苗接种前的VCD。

[0870] [b]对于所有血清型呈血清阴性;基线血清阳性定义为对一种或多种血清型的倒数中和抗体效价≥10。

[0871] 表7d:**Dengvaxia®**VCD(第一次疫苗接种直到第一次疫苗接种后25个月(即第三次疫苗接种后13个月),来自CYD15的ITT,9至16岁)[a]

[0872]

	疫苗效力 (95% CI)
总体 VCD	64.7 % (58.7%-69.8%)
基线血清阳性 [b]	83.7% (62.2%-93.7%)
基线血清阴性 [b]	43.2% (-61.5%–80.0%)
DENV-1	58.8% (40.2%–65.9%)
DENV-2	50.2%(31.8%-63.6%)
总体住院 VCD	80.3% (64.7%-89.5%)

[0873] [a]Luis Villar等人Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in Children in Latin America:N Engl J of Med 2015第372卷第2期,113-123

[0874] 安全集数据中第1部分研究期间病毒学确认的登革热病例的临床体征和症状显示在表8中。

[0875] 表8:第1部分研究期间病毒学确认的登革热病例的临床体征和症状(安全集数据)

[0876]

	TDV (N=13,380)	安慰剂 (N=6,687)	相对风险
VCD 病例的数量	78	200	–
发热性疾病的中值持续时间(天; 95% CI)[a]	6.0 (5.7–7.4)	6.0 (5.9–6.8)	–
发热的中值持续时间(天; 95% CI)	4.0 (3.9-4.6)	5.0 (4.5-5.0)	–
住院 VCD 病例的数量	9	67	–
住院的中值持续时间(天; 95% CI)	5.0 (2.8-5.4)	5.0 (4.6-5.4)	–
出血迹象(%, n/N)	3.8% (3/78)	3.5% (7/200)	1.10
血浆渗漏(%, n/N)	2.6% (2/78)	6.5% (13/200)	0.39
血浆渗漏 - 胸腔积液(%, n/N)	1.3% (1/78)	1.5% (3/200)	–
血浆渗漏 - 腹水(%, n/N)	1.3% (1/78)	3.0% (6/200)	–
血浆渗漏 - 放射学体征(%, n/N)	40.0% (2/5)	19.6% (10/51)	–
血浆渗漏 - 血细胞比容增加≥20% (%, n/N)[b]	3.8% (2/53)	9.5% (13/137)	–
血小板计数≤100x10^9 (%, n/N)[c]	6.4% (5/78)	22.0% (44/200)	0.29
血小板计数≤50x10^9 (%, n/N)[c]	3.8% (3/78)	11.0% (22/200)	0.35
ALT 或 AST ≥1000 U/L (%, n/N)[c]	0% (0/78)	0% (0/200)	–

[0877] VCD,病毒学确认的登革热;ALT,丙氨酸转氨酶;AST,天冬氨酸转氨酶

[0878] [a]发热性疾病的持续时间定义为最早症状的开始日期至最新症状的结束日期加一天(所考虑的症状包括发热和任何一般症状)。

[0879] [b]血细胞比容增加定义为从发热开始第3天与第7天(含端值)之间的最大血细胞比容相对于从发热开始第3天之前或第7天之后的最小血细胞比容增加≥20%。

[0880] [c]对于血小板、ALT和AST数据,已考虑在发热性疾病发作的14天内的评估。

[0881] N是指具有特定参数的可用数据的VCD病例的数量

[0882] e)免疫原性

[0883] 无论基线血清状况如何,都观察到针对DENV-2的最高几何平均效价(GMT)(表10)。

观察到在第二剂量后一个月在基线血清阴性者中非常高的四价血清阳性率(99.5%)(表9和10)。

[0884] 四种登革热血清型中的每一者的血清阳性率(血清阳性受试者的百分比)在第1天(第0个月)疫苗接种前、第30天(第1个月)第一次疫苗接种后、第90天(第3个月)疫苗接种前、第120天(第4个月)第二次疫苗接种后、第270天(第9个月)、第450天(第15个月)测定,然后每年一次测定。第0天、第30天、第90天、第120天和第270天的免疫原性数据的符合方案集根据登革热血清型的血清阳性率(参与者%,95%CI)在表9中示出。

[0885] 第0天、第30天、第90天、第120天和第270天的免疫原性数据的符合方案集的根据针对三种或更多血清型(三价)和针对所有四种血清型(四价)的登革热血清型的血清阳性率(参与者%,95%CI)在表9中示出。在第二剂量后6个月,在基线血清阴性者中四价血清阳性率较高(>91%)。

[0886] 表9:根据登革热血清型的血清阳性率(参与者%,95%CI)(免疫原性数据的符合方案集)

[0887]

基线血清阳性		基线血清阴性	
TDV N=1,816	安慰剂 N=902	TDV N=702	安慰剂 N=345
DENV-1			
89.1 (87.6-90.5)	90.6 (88.5-92.4)	0 (0-0.5)	0 (0-1.1)
99.5 (99.1-99.8)	88.6 (86.3-90.7)	94.1 (92.0-95.8)	4.9 (2.8-7.8)
99.3 (98.8-99.6)	90.2 (88.1-92.1)	91.6 (89.3-93.5)	6.1 (3.8-9.2)
>99.9 (99.7–100)	90.3 (88.1-92.3)	99.5 (98.6-99.9)	8.3 (5.5-11.9)
99.6 (99.1-99.8)	89.8 (87.5-91.8)	95.1 (93.0-96.6)	9.0 (6.0-12.8)
DENV-2			
96.5 (95.6-97.3)	97.2 (95.9-98.2)	0 (0-0.5)	0 (0-1.1)
99.9 (99.6-100)	93.3 (91.4-94.9)	98.6 (97.4-99.4)	10.7 (7.5-14.5)
>99.9 (99.7–100)	94.0 (92.2-95.5)	99.0 (98.0-99.6)	12.2 (8.9-16.1)
99.9 (99.6-100)	93.6 (91.7-95.2)	100 (99.4-100)	14.7 (11.0-19.1)
100 (99.8-100)	94.6 (92.8-96.1)	100 (99.4-100)	18.3 (14.1-23.2)

[0888]

DENV-3			
88.1 (86.5-89.6)	88.0 (85.7-90.1)	0 (0-0.5)	0 (0-1.1)
99.8 (99.4-99.9)	87.6 (85.1-89.7)	96.1 (94.3-97.4)	4.0 (2.1-6.7)
99.5 (99.1-99.8)	87.3 (84.9-89.4)	94.4 (92.5-96.0)	2.0 (0.8-4.1)
99.8 (99.5-100)	87.9 (85.5-90.1)	100 (99.4-100)	5.1 (2.9-8.2)
99.7 (99.4-99.9)	87.1 (84.6-89.4)	96.4 (94.6-97.7)	7.7 (4.9-11.3)
DENV-4			
88.1 (86.5-89.6)	87.4 (85.0-89.5)	0 (0-0.5)	0 (0-1.1)
99.6 (99.2-99.9)	86.6 (84.1-88.8)	90.5 (88.0-92.6)	1.8 (0.7-3.9)
99.3 (98.8-99.7)	86.9 (84.5-89.0)	92.0 (89.8-93.9)	2.9 (1.4-5.3)
>99.9 (99.7–100)	88.3 (85.9-90.4)	99.8 (99.1-100)	4.8 (2.7-7.8)
99.7 (99.3-99.9)	87.6 (85.1-89.9)	97.0 (95.4-98.2)	6.3 (3.9-9.7)
三种或更多种血清型			
87.5 (85.9-89.0)	87.3 (84.9-89.4)	0 (0-0.5)	0 (0-1.1)
99.8 (99.5-100)	87.2 (84.7-89.4)	96.5 (94.8-97.8)	1.2 (0.3-3.1)
99.7 (99.3-99.9)	87.7 (85.3-89.7)	94.9 (93.0-96.4)	1.7 (0.6-3.7)
99.9 (99.6-100)	88.4 (86.0-90.5)	99.8 (99.1-100)	4.2 (2.2-7.0)
99.7 (99.4-99.9)	87.3 (84.7-89.5)	97.5 (96.0-98.6)	5.7 (3.3-8.9)
所有四种血清型			
83.5 (81.7-85.2)	83.5 (80.9-85.8)	0 (0-0.5)	0 (0-1.1)
99.1 (98.5-99.5)	82.9 (80.2-85.4)	85.3 (82.4-87.9)	0.9 (0.2-2.6)
98.6 (97.9-99.1)	83.6 (81.0-86.0)	84.3 (81.4-86.9)	1.4 (0.5-3.3)
99.8 (99.5-100)	85.2 (82.6-87.6)	99.5 (98.6-99.9)	3.5 (1.8-6.2)
99.2 (98.7-99.6)	84.6 (81.9-87.0)	91.3 (88.7-93.4)	5.3 (3.1-8.5)

[0889] 根据登革热血清型的血清阳性率(参与者%,95%CI)(免疫原性数据的符合方案集;血清阳性定义为倒数中和抗体效价≥10;基线血清阴性定义为对所有血清型呈血清阴性;基线血清阳性定义为对一种或多种血清型呈血清阳性;N是指分析集中参与者的数量;在每个时间点评价的参与者的数量可变化)

[0890] 每种登革热血清型的中和抗体的几何平均效价(GMT)(微量中和试验[MNT])在第1天(第0个月)疫苗接种前、第30天(第1个月)第一次疫苗接种后、第90天(第3个月)疫苗接种前、第120天(第4个月)第二次疫苗接种后、第270天(第9个月)、第450天(第15个月)测定,然后每年一次测定。第0天、第30天、第90天、第120天和第270天的免疫原性数据的符合方案集根据登革热血清型的几何平均效价(95%CI)在表10中示出。

[0891] 表10:根据登革热血清型的几何平均效价(95%CI)(免疫原性数据的符合方案集)

[0892]

	基线血清阳性		基线血清阴性	
	TDV N=1,816	安慰剂 N-902	TDV N=702	安慰剂 N=345
DENV-1				
第 1 天	410 (365-461)	445 (377-524)	5.0 (5.0-5.0)	5.0 (5.0-5.0)
第 30 天	2,404 (2,204-2,622)	430 (361-512)	118 (106-131)	5.8 (5.3-6.3)
第 90 天	1,945 (1,791-2,112)	410 (349-481)	91 (82-102)	5.9 (5.4-6.3)
第 120 天	2,115 (1,957-2,286)	451 (381-534)	184 (169-201)	6.3 (5.7-7.0)
第 270 天	1,447 (1,329-1,574)	415 (350-492)	87 (79-97)	6.3 (5.7-6.9)
DENV-2				
第 1 天	745 (674-825)	802 (697-924)	5.0 (5.0-5.0)	5.0 (5.0-5.0)
第 30 天	6,697 (6,301-7,117)	744 (635-870)	6,277 (5,648-6,977)	6.6 (6.0-7.3)
第 90 天	4,826 (4,571-5,096)	729 (629-845)	1,682 (1,544-1,834)	7.0 (6.3-7.9)
第 120 天	4,897 (4,646-5,163)	766 (655-896)	1,730 (1,614-1,855)	7.7 (6.7-8.8)
第 270 天	3,692 (3,496-3,898)	776 (665-906)	929 (856-1,010)	8.7 (7.4-10.2)
DENV-3				
第 1 天	357 (321-398)	356 (305-415)	5.0 (5.0-5.0)	5.0 (5.0-5.0)
第 30 天	2,255 (2,094-2,428)	349 (298-409)	194 (173-218)	5.5 (5.2-5.9)
第 90 天	1,563 (1,453-1,682)	321 (277-374)	94 (85-104)	5.5 (5.1-5.9)
第 120 天	1,761 (1,646-1,885)	353 (301-414)	228 (212-246)	6.0 (5.4-6.6)
第 270 天	1,089 (1,009-1,175)	307 (261-360)	72 (66-78)	6.3 (5.7-7.0)
DENV-4				
第 1 天	218 (198-241)	234 (203-270)	5.0 (5.0-5.0)	5.0 (5.0-5.0)
第 30 天	1,303 (1,221-1,391)	222 (191-258)	111 (98-125)	5.4 (5.0-5.7)
第 90 天	1,002 (940-1,069)	215 (187-248)	63 (57-70)	5.5 (5.1-5.9)
第 120 天	1,129 (1,066-1,196)	241 (208-280)	144 (134-155)	5.8 (5.3-6.4)
第 270 天	778 (730-830)	229 (197-266)	64 (59-70)	6.2 (5.6-6.9)

[0893] 在每次疫苗接种后30天内患有发热性疾病的受试者中通过三种PCR评估疫苗病毒血症:登革热检测RT-PCR、疫苗筛查PCR和TDV测序。

[0894] f)安全性

[0895] 疫苗组和安慰剂组中严重不良事件(SAE)的比率相似(分别为3.1%和3.8%的参与者;表11)。一名疫苗接种者和四名安慰剂接受者经历了被认为与研究者接受设盲研究产品有关的SAE(两名经历超敏反应,两名被诊断患有登革热,并且一名患有DHF)。第1部分期间有5例死亡,并且全部被认为与研究产品或研究程序无关。疫苗组和安慰剂组之间未诉求的AE的总比率相似。根据优选条款在任一剂量的四周内最常(≥1%的疫苗接受者)报告的未诉求AE是发热(疫苗组1.5%;安慰剂1.4%)、鼻咽炎(疫苗2.7%;安慰剂3.0%)、上呼吸

道感染(疫苗2.6%;安慰剂2.9%)和病毒感染(疫苗1.1%;安慰剂0.9%)。在疫苗组中更频繁地报告了诉求的局部反应。

[0896] 表11a:安全性数据的概述。在任一疫苗剂量后具有至少一次不良事件的受试者。除非另有说明,否则数据呈现为事件的数量(受试者百分比;受试者的数量[n]/总受试者[N])(安全集数据)

[0897]

	TDV	安慰剂
安全集	N=13,380	N=6,687
SAE	3.1% (409/13,380)	3.8% (255/6,687)
非 IP 相关的[a] SAE	3.0% (408/13,380)	3.8% (251/6,687)
IP 相关的[a] SAE	<0.1% (1/13,380)	<0.1% (4/6,687)
导致 IP 退出和/或试验中止的 SAE	0.1% (18/13,380)	0.1% (8/6,687)
死亡	<0.1% (4/13,380)	<0.1% (1/6,687)
IP 相关的死亡	0% (0/13,380)	0% (0/6,687)
安全子集	N=2,663	N=1,329
任一剂量的 4 周内发生的未诉求的 AE	18.4% (490/2,663)	18.8% (250/1,329)
任一剂量的 4 周内发生的 IP 相关的[a]未诉求的 AE	1.0% (27/2,663)	1.6% (21/1,329)
任一剂量的 2 周内发生的诉求的全身性 AE[b]	42.0% (1,107/2,635)	38.0% (501/1,317)
任一剂量的 2 周内发生的 IP 相关的[a]诉求的全身性 AE	31.2% (821/2,635)	28.2% (371/1,317)
任一剂量的 1 周内发生的诉求的局部反应[c]	36.7% (967/2,633)	25.7% (338/1,317)

[0898] AE,不良事件;SAE,严重不良事件;IP,研究产品/TDV

[0899] [a]IP相关的,定义为如通过研究者评估与研究产品相关

[0900] [b]仅评价了具有可用日记数据的参与者

[0901] [c]被认为是IP相关的所有注射部位(诉求的局部)反应

[0902] 表11b:通过MedDRA(监管活动医学词典(Medical Dictionary for Regulatory Activities))系统器官类别按频率递减顺序排列的在第1部分期间任何疫苗接种后具有严重不良事件的参与者的数量(%)(针对由于非设盲风险在>3名参与者中发生的事件由TDV和安慰剂组提供的安全集数据)。

[0903]

MedDRA 系统器官类别	TDV N=13,380	安慰剂 N=6,687	总计* N=20,071
任何严重不良事件	409 (3.1)	255 (3.8)	664 (3.3)
感染和侵扰	235 (1.8)	179 (2.7)	414 (2.1)
损伤、中毒和程序并发症	87 (0.7)	37 (0.6)	124 (0.6)
胃肠病症	23 (0.2)	9 (0.1)	32 (0.2)
神经系统病症	14 (0.1)	6 (<0.1)	20 (<0.1)
呼吸系统、胸和纵隔病症	14 (0.1)	6 (<0.1)	20 (<0.1)
肾脏和泌尿系统病症	15 (0.1)	3 (<0.1)	18 (<0.1)
血液和淋巴系统病症	8 (<0.1)	2 (<0.1)	10 (<0.1)
妊娠、产褥期和围产期疾患	8 (<0.1)	2 (<0.1)	10 (<0.1)
皮肤和皮下组织病症	7 (<0.1)	3 (<0.1)	10 (<0.1)
精神病症	7 (<0.1)	2 (<0.1)	9 (<0.1)
一般病症和施用部位疾患	5 (<0.1)	3 (<0.1)	8 (<0.1)
免疫系统病症	3 (<0.1)	4 (<0.1)	7 (<0.1)
代谢和营养病症	6 (<0.1)	1 (<0.1)	7 (<0.1)
肌肉骨骼和结缔组织	1 (<0.1)	5 (<0.1)	6 (<0.1)
社会环境	2 (<0.1)	4 (<0.1)	6 (<0.1)
先天性、家族性和遗传性病症	3 (<0.1)	2 (<0.1)	5 (<0.1)
良性、恶性和未指明的肿瘤(包括囊肿和息肉)	3 (<0.1)	1 (<0.1)	4 (<0.1)
内分泌病症	–	–	3 (<0.1)
肝胆病症	–	–	3 (<0.1)
生殖系统和乳腺病症	–	–	3 (<0.1)
血管病症	–	–	3 (<0.1)
心脏病症	–	–	2 (<0.1)
眼病症	–	–	2 (<0.1)

[0904]

研究	–	–	1 (<0.1)
产品问题	–	–	1 (<0.1)
外科和医疗程序	–	–	1 (<0.1)

[0905] *总计列包括由于施用错误而接受TAK-003和安慰剂两者并且被排除在TAK-003和安慰剂组之外的参与者。列标题中的N是指安全集中参与者的数量

[0906] 表11c:通过MedDRA系统器官类别按频率递减顺序排列的直到任何疫苗接种后28天具有任何严重程度的未诉求不良事件的参与者的数量(%)(针对由于非设盲风险在>6名参与者中发生的事件由TDV和安慰剂组提供的安全集数据的子集)

[0907]

MedDRA 系统器官类别	TDV N=2,663	安慰剂 N=1,329	总计 N=3,993
任何未诉求的不良事件	487 (18.3)	249 (18.7)	736 (18.4)
感染和侵扰	368 (13.8)	190 (14.3)	558 (14.0)
损伤、中毒和程序并发症	21 (0.8)	22 (1.7)	43 (1.1)
胃肠病症	33 (1.2)	9 (0.7)	42 (1.1)
一般病症和施用部位疾患	30 (1.1)	11 (0.8)	41 (1.0)
皮肤和皮下组织病症	27 (1.0)	7 (0.5)	34 (0.9)
神经系统病症	18 (0.7)	13 (1.0)	31 (0.8)
呼吸系统、胸和纵隔病症	18 (0.7)	10 (0.8)	28 (0.7)
血液和淋巴系统病症	6 (0.2)	5 (0.4)	11 (0.3)
肌肉骨骼和结缔组织病症	6 (0.2)	5 (0.4)	11 (0.3)
免疫系统病症	–	–	6 (0.2)
精神病症	–	–	3 (<0.1)
生殖系统和乳腺病症	–	–	3 (<0.1)
耳和迷路病症	–	–	2 (<0.1)
心脏病症	–	–	1 (<0.1)
先天性、家族性和遗传性病症	–	–	1 (<0.1)
眼病症	–	–	1 (<0.1)
肾脏和泌尿系统病症	–	–	1 (<0.1)
社会环境	–	–	1 (<0.1)

[0908] *总计列包括由于施用错误而接受TAK-003和安慰剂两者并且被排除在TAK-003和安慰剂组之外的参与者。列标题中的N是指安全集的子集中参与者的数量

[0909] 表11d:直到任何疫苗接种7天的日记报告的注射部位反应和直到14天的全身性不良事件的总结(安全集数据的子集)。数据呈现为具有事件的参与者的数量/分析集中评价的参与者的数量(具有事件的经评估参与者的%)。

[0910]

诉求的事件	TDV	安慰剂
注射部位反应(年龄< 6 岁)		
任何	106/331 (32.0)	43/169 (25.4)
疼痛	104/331 (31.4)	43/169 (25.4)
红斑	5/331 (1.5)	1/169 (0.6)
肿胀	11/331 (3.3)	2/169 (1.2)
注射部位反应(年龄≥ 6 岁)		
任何	861/2302 (37.4)	295/1148 (25.7)
疼痛	853/2302 (37.1)	293/1148 (25.5)
红斑	33/2301 (1.4)	1/1147 (<0.1)
肿胀	33/2300 (1.4)	6/1147 (0.5)
全身性不良事件(年龄< 6 岁)		
任何	88/331 (26.6)	35/169 (20.7)
易怒/哭闹	41/331 (12.4)	16/169 (9.5)
嗜睡	45/331 (13.6)	21/169 (12.4)
食欲不振	57/331 (17.2)	22/169 (13.0)
发热(体温>= 38℃或 100.4°F)	45/327 (13.8)	23/169 (13.6)
全身性不良事件(年龄≥ 6 岁)		
任何	941/2302 (40.9)	422/1147 (36.8)
头痛	715/2302 (31.1)	326/1147 (28.4)
虚弱	404/2302 (17.5)	187/1147 (16.3)
不适	510/2301 (22.2)	226/1147 (19.7)
肌痛	554/2302 (24.1)	216/1147 (18.8)
发热(体温>= 38℃或 100.4°F)	221/2279 (9.7)	124/1134 (10.9)

[0911] 此外,作为上述III期研究的后续研究的评估加强剂量的效力的研究是可能的,以使得在上述III期研究的足够大的子集中在第二次剂量后4至4.5年给予加强剂量,其中所述子集例如包括至少20名受试者或至少200名受试者。

[0912] 实施例4:甲型肝炎疫苗和登革热疫苗的同时施用

[0913] 4.1研究的介绍、目的和目标

[0914] 在登革热病和甲型肝炎病毒(HAV)非流行国家的900名18至60岁(分布在整个年龄范围内)的健康成人受试者中进行随机、观察者设盲的3期试验,以研究两个剂量的四价登革热疫苗TDV(皮下(SC)注射)以及在同一天同时施用单剂量的HAV疫苗(包含灭活的HAV;肌内(IM)注射)和TDV(SC注射)的免疫原性和安全性。

[0915] 所述研究的目的是评估HAV疫苗是否能够在受试者前往HAV和登革热(DENV)流行国家进行国际旅行之前,与TDV在同一天安全地同时施用作为旅行疫苗。

[0916] 此研究的主要目标是证明在疫苗接种后一个月在DENV/HAV初始性的受试者中,与在同一天与安慰剂一起在同一天同时施用一个剂量HAV疫苗相比,对在同一天与一个剂量TDV一起在同一天同时施用一个剂量的HAV疫苗的免疫响应的非劣效性(NI)。

[0917] 此研究的次要目标是描述在DENV/HAV初始性的受试者中单剂量的TDV后TDV诱导的免疫原性;描述在DENV/HAV初始性的受试者中间隔90天施用的两个剂量的TDV后TDV诱导

的免疫原性;描述在DENV/HAV初始性的受试者中HAV疫苗诱导的免疫原性;以及评估所有试验组中每次疫苗注射后的安全性特征。

[0918] 4.2资格标准

[0919] 纳入标准包括:

[0920] 1.参与者年龄在18至60岁(含端值)。

[0921] 2.如通过病史、身体检查(包括生命体征)和研究者的临床判断确定的在进入试验时处于良好健康的受试者。

[0922] 3.在根据当地监管要求解释试验性质后,在启动任何试验程序前参与者签署书面知情同意书以及任何要求的隐私授权,并注明日期。

[0923] 4.能够遵守试验程序并能参加随访的持续时间的参与者。

[0924] 排除标准包括:

[0925] 1.在预定疫苗接种日期的3天内口腔温度升高(≥38℃或100.4℉)的参与者。

[0926] 2.对任何疫苗组分(包括研究疫苗或安慰剂的赋形剂)的已知超敏反应或过敏。

[0927] 3.患有在研究者看来可能干扰参与者参与试验的能力的行为或认知障碍或精神疾病的参与者。

[0928] 4.具有任何进行性或严重神经系统病症、癫痫发作或神经炎症性疾病(例如,格林-巴利综合征)病史的参与者。

[0929] 5.具有在研究者看来可能干扰试验结果或因参与试验而对受试者构成额外风险的病史或任何疾病的参与者。

[0930] 6.已知或疑似免疫功能受损/改变,包括:

[0931] 1.在第1天(M0)前60天内长期使用口服类固醇(相当于20mg/天泼尼松≥12周/≥2mg/体重kg/天泼尼松≥2周)(允许使用吸入、鼻内或局部用皮质类固醇)。

[0932] 2.在第1天(M0)前的60天内接受胃肠外类固醇(相当于20mg/天泼尼松≥12周/≥2mg/体重kg/天泼尼松≥2周)。

[0933] 3.在第1天(M0)前的3个月内施用免疫球蛋白和/或任何血液制品,或在试验期间计划施用。

[0934] 4.在第1天(M0)前的60天内接受免疫刺激剂。

[0935] 5.第1天(M0)前的6个月内进行免疫抑制疗法,如抗癌化学疗法或放射疗法。

[0936] 6.人免疫缺陷病毒(HIV)感染或HIV相关疾病。

[0937] 7.甲型肝炎病毒(HAV)感染。

[0938] 8.丙型肝炎病毒感染。

[0939] 9.遗传免疫缺陷。

[0940] 7.脾脏或胸腺功能异常。

[0941] 8.具有已知出血素质或任何可能与出血时间延长相关疾患的参与者。

[0942] 9.根据研究者的判断患有任何严重的慢性或进行性疾病(例如,肿瘤、胰岛素依赖性糖尿病、心脏、肾脏或肝脏疾病)的参与者。

[0943] 10.体重指数(BMI)大于或等于35kg/m^2(=重量(kg)/[身高(m)^2])的参与者。

[0944] 11.在第1天(M0)前30天参与使用另一种研究产品的任何临床试验,或打算在本试验进行期间的任何时间参与另一项临床试验的参与者。

[0945] 12.在招募于本试验前14天(对于灭活疫苗)或28天(对活疫苗)内接受任何其他疫苗或计划在试验疫苗施用的28天内接受任何疫苗的参与者。

[0946] 13.先前HAV疫苗接种(在临床试验中或使用批准的产品)。

[0947] 14.参与试验进行的参与者或其一级亲属。

[0948] 15.在过去2年内有药物或酒精滥用史的参与者。

[0949] 16.正在怀孕或哺乳的女性参与者。

[0950] 17.在第1天(M0)前至少2个月性活跃且没有使用任何可接受的避孕方法的有生育能力的女性。

[0951] 1.具有生育能力被定义为初经开始后的状态并且不满足任何以下条件:双侧输卵管结扎术(至少1年前)、双侧卵巢切除术(至少1年前)或子宫切除术

[0952] 2.可接受的节育方法被定义为以下中的一项或多项:

[0953] i.激素类避孕药(如口服、注射、透皮贴剂、植入物、宫颈环)。

[0954] ii.每次和每一次性交时使用屏障方法(含杀精子剂的避孕套或含加杀精子剂的隔膜)。

[0955] iii.宫内节育器(IUD)。

[0956] iv.与切除输精管的伴侣的一夫一妻制关系(伴侣必须在第1天[M0]之前已切除输精管至少6个月)。

[0957] 其他避孕方法可考虑与发起人达成一致,并且只有在监管机构和适当的伦理委员会批准重大修订后才能实施。

[0958] 18.性活跃且拒绝使用可接受的避孕方法直到最后剂量的试验疫苗后6周(第90天[M3])的有生育潜能的女性。此外,必须建议他们在此期间不要捐赠卵子。

[0959] 19.任何阳性或不确定的妊娠试验。

[0960] 20.针对任何黄病毒,包括登革热、黄热病(YF)、日本脑炎(JE)病毒或蜱传脑炎的先前和计划的疫苗接种(在试验进行期间)。

[0961] 21.以前参与过登革热或其他黄病毒(例如西尼罗河[WN]病毒)候选疫苗的任何临床试验,在那些试验中接受安慰剂的参与者除外。

[0962] 22.当前或先前感染黄病毒如登革热、寨卡、YF、JE、WN热、蜱传脑炎或墨累山谷脑炎(Murray Valley encephalitis)的参与者,以及有登革热流行地区长期(≥1年)居住史的参与者。

[0963] 23.有用产品信息中规定的HAV疫苗进行疫苗接种的禁忌症、警告和/或预防措施的参与者。

[0964] 4.3研究设计和疫苗接种

[0965] 将符合条件的受试者相等地(1:1:1比例)随机分组至以下3个试验组之一(每组300名受试者):

[0966] -第1组:在第1天(第0个月)同一天同时施用HAV疫苗(IM)和安慰剂(SC);在第90天(第3个月)施用安慰剂(SC)。

[0967] -第2组:在第1天(第0个月)同一天同时施用TDV(SC)和安慰剂(IM);在第90天(第3个月)施用TDV(SC)。

[0968] -第3组:在第1天(第0个月)同一天同时施用TDV(SC)和HAV疫苗(IM);在第90天(第

3个月)施用TDV(SC)。

[0969] 更详细的研究设计方案在图6中示出。直到第一次疫苗接种前28天,进行招募并采集了血液样品以筛选抗HAV抗体。在第1天,采集疫苗接种前血液样品。在第30天(在第1天第一次疫苗接种后)采集疫苗接种后血液样品。在第120天(在第1天第一次疫苗接种后)采集另一血液样品。在第270天(在第1天第一次疫苗接种后)发生安全性随访。

[0970] 如实施例1所述制备TDV。每个皮下剂量的TDV具有0.5ml的体积,并且每个剂量的TDV中的四种登革热血清型的浓度是TDV-1、TDV-2、TDV-3和TDV-4分别是5.1log10pfu/0.5ml、4.5log10pfu/0.5ml、5.4log10pfu/0.5ml和5.9log10pfu/0.5ml。每个皮下剂量包含分散在0.5ml水溶液中的TDV,所述水溶液含有普朗尼克F127(10.6mg/ml)、海藻糖二水合物(170mg/ml)和人血清白蛋白(1.08mg/ml)。

[0971] HAV疫苗包含源自甲型肝炎病毒株HM-175的灭活甲型肝炎病毒(参见上文定义),并且如上所述以商品名HAVRIX®可商购获得。施用于组1)和3)的HAV疫苗的肌内剂量是1ml,并且每1ml剂量具有约1440EL.U.的病毒抗原活性,其中病毒抗原吸附在0.5mg呈氢氧化铝形式的铝上。甲型肝炎疫苗含有溶解于磷酸盐缓冲盐水溶液中的呈氨基酸补充剂(约0.3%w/v)和聚山梨醇酯(约0.05mg/ml)形式的赋形剂。

[0972] 将在同一天同时施用的试验疫苗注射至相对的手臂。注射用生理盐水(0.9%NaCl)用作安慰剂。在筛选时从所有受试者收集用于抗HAV抗体测试的血液样品,以排除直到疫苗接种前28天对抗HAV抗体呈阳性的受试者(参见图6)。所有受试者在第90天(第3个月)第二次疫苗接种后随访持续6个月,因此对于每个受试者,试验持续时间是270天或9个月(不包括筛选期)。在本试验范围之外,在第270天(第9个月)完成试验程序后,将向第1组和第3组中的受试者提供HAV疫苗加强剂量。

[0973] 使用在第一次试验疫苗接种前(第1天(第0个月))、第一次试验疫苗接种后1个月(第30天(第1个月))和第二次试验疫苗接种后1个月(第120天(第4个月))收集的血液样品测量登革热中和抗体(微量中和试验(MNT50))。在第一次试验疫苗接种前(第1天(第0个月))和第一次试验疫苗接种后1个月(第30天(第1个月))收集用于测量抗HAV抗体(酶联免疫吸附测定(ELISA))的血液样品。

[0974] 4.4主要终点

[0975] 主要终点包括如通过酶联免疫吸附测定(ELISA)测量的在第30天(第1个月)针对HAV血清保护的基线时HAV/DENV初始性受试者的比例。换言之,主要终点包括血清保护率(SPR)。血清保护定义为血清抗HAV抗体水平≥10mIU/mL。对HAV/DENV的免疫初始性定义为抗HAV抗体水平<10mIU/mL和所有4种登革热血清型的倒数中和效价<10。

[0976] 4.5次要终点

[0977] a)次要免疫原性终点

[0978] 次要终点包括在基线时HAV/DENV初始性受试者中测定的在第30天(第1个月)和第120天(第4个月)4种登革热血清型中的每一者的中和抗体何平均效价(GMT)(微量中和试验(MNT50));在第30天(第1个月)和第120天(第4个月)对4种登革热血清型中的每一者呈血清阳性的基线时HAV/DENV初始性受试者的比例(血清保护率);以及在基线时HAV/DENV初始性受试者中在第30天(第1个月)抗HAV抗体的几何平均浓度(GMC)。

[0979] 登革热病毒的血清阳性定义为次要免疫原性终点内四种登革热血清型中的任一

者的倒数中和效价≥10。

[0980] b)次要安全性终点

[0981] 次要安全性终点包括每次试验疫苗接种后7天内诉求的局部不良事件(AE)的频率和严重程度;每次试验疫苗接种后14天内诉求的全身性AE的频率和严重程度;每次试验疫苗接种后28天内具有任何未诉求的AE的受试者的百分比;在整个试验过程中具有严重不良事件(SAE)的受试者的百分比;以及在整个试验过程中具有就医不良事件(MAAE)的受试者的百分比。

[0982] 4.6研究的分析集

[0983] 以下表12展示本研究的每个分析集。总计,1199名属于"所有筛选"组的受试者包括所有签署知情同意书的受试者,无论受试者是否筛选失败。在初始筛选后,900名受试者被纳入"随机分组集",其包括所有随机分组受试者,无论是否接受任何剂量的IP。安全集,由897名受试者组成,包括所有接受≥1剂量非IP的随机分组受试者。免疫原性受试者包括总计359名受试者并细分为以下四个子集。HAV全分析集(HAV-FAS)包括免疫原性子集中接受了≥1个剂量的试验疫苗并具有可用的第1天和第30天抗HAV抗体测量值的所有随机分组受试者。HAV-符合方案集(HAV-PPS)包括来自HAV-FAS的没有重大方案违反的所有HAV-和DENV-初始性的受试者。TDV-全分析集(TDV-FAS)包括免疫原性子集中接受了≥1个剂量的试验疫苗并具有可用的第1天和≥1次剂量后测量值的所有随机分组受试者。TDV-符合方案集(TDV-PPS),由197名受试者组成,包括来自TDV-FAS的没有重大方案违反的所有HAV-和DENV-初始性的受试者。

[0984] 表12.研究的分析集。

[0985]

	HAV/Pbo	TDV/Pbo	HAV/TDV	总计
所有筛选[1]	NA	NA	NA	1199
随机分组集[2]	300	300	300	900
安全集(SS)[3]	299	300	298	897
免疫原性子集	119	120	120	359
• HAV 全分析集(HAV-FAS)[4]	115	117	114	346
• HAV 符合方案集(HAV-PPS)[5]	75	71	81	227
• TDV-FAS[6]	116	117	115	348
• TDV-PPS[7]	67	63	67	197
针对主要非劣效性目标分析的受试者[8]	**69/115**	**NA**	**79/114**	**148/227**

[0986] [1]所有筛选:所有签署知情同意书的受试者,无论受试者是否筛选失败

[0987] [2]随机分组集:所有随机分组受试者,无论是否接受了任何剂量的试验疫苗。[3]安全集:所有接受了≥1个剂量的试验疫苗的随机分组受试者。

[0988] [4]HAV-FAS:免疫原性子集中接受了≥1个剂量的试验疫苗且具有可用的第1天和第30天HAV测量值的所有随机分组受试者。

[0989] [5]HAV-PPS:来自HAV-FAS的没有重大方案违反的所有HAV和DENV初始性的受试者。

[0990] [6]TDV-FAS:免疫原性子集中接受了≥1个剂量的试验疫苗并具有可用的第1天和≥

1次剂量后测量值的所有随机分组受试者。

[0991] [7]TDV-PPS:来自TDV-FAS的没有重大方案违反的所有HAV和DENV初始性的受试者。

[0992] [8]被排除在TDV-PPS之外但被纳入主要非劣效性目标分析中、第30天测量值超出方案定义的随访窗口的受试者。

[0993] 在免疫原性子集中的总计359名受试者(包括接受了≥1次疫苗接种的所有受试者)中,13名受试者被排除在HAV-FAS之外,因为没有提供HAV的有效基线和给药后测量值(在第30天)。此外,HAV-PPS包括HAV-FAS中没有重大方案违反的所有HAV和DENV初始性的受试者。针对主要非劣效性目标进行分析的受试者是基于HAV/Pbo和HAV/TDV组的HAV-PPS受试者,其中基于这两组(HAV/Pbo和HAV//TDV)的HAV-PPS,一些受试者不包括在30天分析中(HAV/Pbo组的6名受试者和HAV/TDV组的2名受试者),因为这些受试者的第30天测量值超出方案中定义的访问窗口。因此,总计69名受试者被纳入TDV/Pbo组中,并且总计79名受试者被纳入HAV/TDV组中,用于分析主要非劣效性目标。

[0994] 在免疫原性子集中的总计359名受试者(包括接受了≥1次疫苗接种的所有受试者)中,总计11名受试者被排除在TDV-FAS之外,因为他们没有提供TDV的有效基线和至少1次给药后测量值(第30天和/或第120天)。此外,总计151名受试者被排除在TDV-PPS之外,因为他们在基线时不是HAV和DENV初始性,或者没有接受疫苗接种1和2两者,或者如果疫苗接种2(通常在第90天)超出窗口-15/+25天或者如果发生重大方案违反。

[0995] 4.7HAV基线血清状况以及人口统计学和基线特征

[0996] 针对基线HAV抗体水平进行评价的安全集包括总计362名受试者,其中27.3%在基线时为HAV血清阳性(参见表13)。

[0997] HAS-FAS包括针对基线HAV抗体水平进行评价的总计346名受试者(参见表13)。HAV-初始性被定义为抗HAV抗体(ab)水平<10mIU/ml。然而,用于血清学分析的ELISA不能被验证低于12.5mIU/ml的水平。定性筛选测试的规格有效地达到了70mIU/ml的定量下限。鉴于这些标准,针对基线HAV抗体水平进行评价的所述HAS-FAS中72.5%的受试者在基线时为HAV初始性(参见表13)。

[0998] 表13.安全集和HAV-FAS中的HAV基线血清状况

[0999]

	HAV/Pbo	TDV/Pbo	HAV/TDV	总计
针对基线 HAV 抗体水平进行评价的安全集	**119**	**121**	**122**	**362**
• 在基线时 HAV 血清阳性	31 (26.1%)	38 (31.4%)	30 (24.6%)	99 (27.3%)
针对基线 HAV 抗体水平进行评价的 HAV-FAS	**115 (100%)**	**117 (100%)**	**114 (100%)**	**346 (100%)**
• 在基线时 HAV 血清阴性 <12.5 mIU/ml (a)	86 (74.8%)	79 (67.5%)	86 (74.4%)	251 (72.5%)
• 在基线时 HAV 血清阳性 (b)	29 (25.2%)	38 (32.5%)	28 (24.6%)	95 (27.5%)
• 基线 12.5-70 mIU/ml	18	23	13	54
• 基线 70-1000 mIU/ml	11	14	14	39
• 基线>1000	0	1	1	2

(a) HAV 初治定义为抗 HAV 抗体水平< 10 mIU/ml; 用于血清学分析的 ELISA 不能被验证低于 12.5 mIU/ml 的水平。

(b)定性筛选测试的规格有效地达到了 70 mIU/ml 的定量下限

[1000] HAV-PPS包括总计227名受试者(参见表14)。HAV-PPS的受试者(其是DENV和HAV初始性的)总数的平均年龄是34.8岁。HAV-PPS的受试者总数的31.3%是女性(参见表14)。总计,HAV-PPS的受试者总数的97.8%属于非西班牙裔或拉丁裔的种族,并且特别是89.9%的HAV-PPS参与者属于"欧洲白人"人种,尤其是为了反映HAV和登革热非流行国家旅行者的情况(参见表14)。

[1001] 安全集包括总计897名受试者(参见表14)。安全集的受试者总数的平均年龄是35.4岁,其中31.3%是女性。总计,HAV-PPS的受试者总数的97.7%属于非西班牙裔或拉丁裔的种族,并且特别是87.1%的HAV-PPS参与者属于种族"欧洲白人",尤其是为了反映HAV和登革热非流行国家旅行者的情况(参见表14)。

[1002] 表14.人口统计和基线特征(HAV-PPS和安全集)

[1003]

		HAV/Pbo	TDV/Pbo	HAV/TDV	总计
HAV-PPS (DENV/HAV 初始性)	**N**	**75**	**71**	**81**	**227**
年龄岁	平均值 (SD)	34.3 (11.68)	35.5 (11.24)	34.8 (11.70)	34.8 (11.51)
性别	女性 n (%)	24 (32.0%)	30 (42.3%)	17 (21.0%)	71 (31.3%)
种族非西班牙裔或拉丁裔	n (%)	72 (96.0%)	71 (100.0%)	79 (97.5%)	222 (97.8%)
种族欧洲白人	n (%)	64 (85.3%)	64 (90.1%)	76 (93.8%)	204 (89.9%)
		HAV/Pbo	**TDV/Pbo**	**HAV/TDV**	**总计**
安全集	**N**	**299**	**300**	**298**	**897**
年龄岁	平均值 (SD)	34.7 (12.04)	36.0 (11.88)	35.5 (11.96%)	35.4 (11.96)
性别	女性 n (%)	107 (35.8%)	120 (40.0%)	90 (30.2%)	317 (35.3%)
种族非西班牙裔或拉丁裔	n (%)	289 (96.7%)	293 (97.7%)	294 (98.7%)	876 (97.7%)
种族欧洲白人	n (%)	255 (85.3%)	265 (88.3%)	261 (87.6%)	781 (87.1%)

[1004] 4.8研究结果

[1005] a)主要终点和敏感性分析

[1006] 本研究成功地满足在同一天同时施用HAV和TDV的非劣效性的主要目标。表15展示第一次疫苗接种(第1天)后第30天第1组(接受HAV/Pbo)和第3组(接受HAV/TDV)的血清保护率(SPR),在第30天HAV/Pbo组与HAV/TDV组之间的SPR差异,以及HAV和DENV基线初始性受试者的这些SPR差异的置信区间(CI)。这些值(SPR、SPR差异;CI)用于研究的主要终点评价。表15进一步显示三个敏感性分析的结果的这些值(也用于非劣效性评估),其中受试者在基线时具有不同的,即混合的HAV/TDV血清状况。如果第1组(在同一第1天接受HAV和安慰剂)与第3组(在同一第1天接受HAV和TDV)之间的血清保护率(SPR)差异具有使用Newcombe评分方法计算的双侧95%置信区间的上限(所述上限低于10%非劣效性界值),则得出结论:在本研究中当在同一天同时施用时,甲型肝炎疫苗与四价登革热疫苗之间的非劣效性。表15中的每个组都满足此标准。在主要终点组中,SPR差异的95%CI的上限是4.31%,其小于10%的非劣效性界值(参见表15中上面的第二行)。

[1007] 如上所述,敏感性分析1至3用于评价包括基线时对于登革热和/或甲型肝炎呈血清阳性的受试者的群体,特别是反映非流行国家的“现实生活”旅行诊所环境,其中受试者,即计划前往登革热和HAV流行国家的旅行者在要求旅行前疫苗接种之前并不总是知道他们的HAV和/或登革热血清状况。

[1008] 在敏感性分析1至3中也满足了在同一天同时施用的非劣效性目标(SPR差异的95%CI的上限:3.21%;2.93%;和2.55%,其各自小于10%的非劣效性界值)。此外,HAV/TDV组的SPR(分别98.8%;99.0%;99.1%,参见表15)分别高于HAV/Pbo组的SPR(分别96.2%;96.9%;97.2%,参见表15)。

[1009] 因此,由于在同一天同时向关于HAV和所有登革热血清型具有混合基线血清状况(和基线初始性)的受试者施用HAV疫苗和TDV的非劣效性,因此无需确定或知道在同一天同时施用HAV疫苗和TDV之前,受试者关于两种疾病中的每一者的基线血清状况。

[1010] 表15.主要终点:非劣效性(NI)评估和敏感性分析

[1011]

分析	分析集	HAV/Pbo (第1组) SPR% (n/n)	HAV/TDV (第3组) SPR% (n/n)	SPR差异	95% CI[1] (SPR差异的)
主要终点	HAV PPS – 包括基线HAV-和DENV-受试者	**97.1% (67/69)**	**98.7% (78/79)**	-1.63	**(-8.78, 4.31)**
敏感性分析1	HAV PPS – 包括基线HAV-、DENV-和DENV+受试者	96.2% (76/79)	98.8% (83/84)	-2.61	(-9.46, 3.21)
敏感性分析2	HAV PPS – 包括基线HAV-; HAV+ (12.5-70 mIU/ml); DENV-; DENV+	96.9% (93/96)	99.0% (96/97)	-2.09	(-7.82, 2.93)
敏感性分析3	HAV PPS – 包括基线HAV-; HAV+; DENV-; DENV+	97.2% (103/106)	99.1% (109/110)	-1.92	(-7.14, 2.55)

[1]CI = 置信区间

非劣效性评估: HAV 第 1 组(HAV +安慰剂在同一天同时施用)对比第 3 组(HAV + TDV 在同一天同时施用)的血清保护率(SPR)

主要比较(第 1 组 - 第 3 组)的比率差异与使用 Newcombe 评分方法计算的 95% CI 一起呈现

如果 95% CI 的上限小于 10%的 NI 界值, 则在同一天同时施用 HAV 和 TDV 与单独 HAV 的 NI 将得出结论。

[1012]

[1013] b)次要免疫原性终点

[1014] 表16显示当DENV-PPS的受试者在第一次疫苗接种前第1天、在第一次疫苗接种(第1天)后第30天和在第一次疫苗接种(第1天)后第120天测量时的GMT(关于四种登革热病毒血清型DENV-1至DENV-4中的每一者),所述DENV-PPS包括分别接受HAV/TDV、TDV和安慰剂以及HAV和安慰剂(Pbo)的组。表16显示关于所有登革热GMT有利于同一天同时施用组(接受HAV/TDV)的积极趋势。

[1015] 所述有利于在同一天同时施用的积极趋势和在同一天同时施用的疫苗的第30天协同作用也在表17中得到证实。

[1016] 表16.DENV-PPS的免疫原性:DENV MNT50的GMT。特别地,显示相对于通过试验随访通过MNT50测量的每种登革热血清型的中和抗体的平均滴效价,针对每种血清型的DENV GMT。

[1017]

		DENV-1			DENV-2			DENV-3			DENV-4		
		HAV/p	TDV/p	HAV/TDV	HAV/p	TDV/p	HAV/TDV	HAV/p	TDV/p	HAV/TDV	HAV/p	TDV/p	HAV/TDV
第1天	n	67	63	67	67	63	67	67	63	67	67	63	67
	GMT (SD[1])	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)	5.0 (1.00)
第30天	n	62	60	65	62	60	65	62	60	65	62	60	65
	GMT (SD)	5.0 (1.00)	108.2 (5.64)	**152.5** (4.62)	6.0 (1.87)	2897.9 (13.86)	**3960.0** (8.79)	5.3 (1.49)	95.4 (6.24)	**140.5** (4.50)	5.0 (1.00)	74.3 (5.03)	**142.1** (6.19)
第120天	n	50	55	62	50	55	62	50	55	62	50	55	62
	GMT (SD)	5.0 (1.00)	171.3 (6.23)	173.7 (4.28)	5.7 (1.72)	2064.1 (3.60)	1764.3 (4.03)	5.0 (1.00)	83.8 (3.66)	92.6 (2.80)	5.0 (1.00)	56.1 (3.19)	81.4 (3.49)

[1018] [1]SD=标准偏差

[1019] 表17.次要终点:HAV几何平均浓度(GMC)

[1020]

	HAV/Pbo	TDV/Pbo	HAV/TDV	总计
基线				
• n	75	71	81	227
• 几何平均值(SD[1])	6.3 (1.00)	6.3 (1.00)	6.3 (1.00)	6.3 (1.00)
• 95% CI[2]	(NE，NE)	(NE，NE)	(NE，NE)	(NE，NE)
• 中值	6.3	6.3	6.3	6.3
• 最小值-最大值	6，6	6，6	6，6	6，6
第 30 天				
• n	69	66	79	214
• 几何平均值(SD)	80.5 (3.01)	6.7 (1.27)	**93.0 (2.44)**	39.5 (4.27)
• 95% CI	(61.8，105.0)	(6.4，7.2)	(76.1，113.6)	(32.5，48.0)
• 中值	81.5	6.3	94.5	52.4
• 最小值-最大值	6，1044	6，16	6，1859	6，1859

[1021] [1]SD＝标准偏差

[1022] [2]CI＝置信区间。

[1023] c)次要安全终点

[1024] 在整个研究过程中,针对诉求的不良事件、诉求的全身性不良事件、未诉求的不良事件和严重不良事件对安全集进行了调查。表18a至21c显示关于每个次要安全性终点,安全集的研究结果。

[1025] 表18a.第一次疫苗接种后诉求的局部AE和诉求的全身性AE的频率-安全集

[1026]

	HAV/Pbo (N=270)	TDV/Pbo (N=271)	HAV/TDV (N=257)
诉求的局部 (7 天内)	141/289 (48.8)	152/292 (52.1)	196/285 (68.8)

[1027]

诉求的全身性 (14 天内)	139/289 (48.1)	132/292 (45.2)	141/285 (49.5)
与 IP 相关	98/289 (33.9)	106/292 (36.3)	117/285 (41.1)
与 IP 无关	41/289 (14.2)	26/292 (8.9)	24/285 (8.4)

[1028] 注释:对于诉求的AE,不包括长期诉求的AE,百分比是基于在每个试验组中评价的具有非缺失数据的受试者的数量(n)计算的。对于特定类别的AE,具有1个或多个AE的受试者仅使用最相关的事件计数一次。

[1029] 表18b.第二次疫苗接种后诉求的局部AE和诉求的全身性AE的频率-安全集

[1030]

	Pbo (N=270)	TDV (N=271)	TDV (N=257)
诉求的局部 (7 天内)	28/255 (11.0)	100/264 (37.9)	103/251 (41.0)
诉求的全身性 (14 天内)	73/254 (28.7)	82/263 (31.2)	85/251 (33.9)
与 IP 相关	49/254 (19.3)	60/263 (22.8)	61/251 (24.3)
与 IP 无关	24/254 (9.4)	22/263 (8.4)	24/251 (9.6)

[1031] 注释:对于诉求的AE,不包括长期诉求的AE,百分比是基于在每个试验组中评价的具有非缺失数据的受试者的数量(n)计算的。对于特定类别的AE,具有1个或多个AE的受试者仅使用最相关的事件计数一次。

[1032] 表18c.任何疫苗接种后诉求的局部AE和诉求的全身性AE的频率-安全集

[1033]

	HAV/Pbo (n=299)	TDV/Pbo (n=300)	HAV/TDV (n=298)
诉求的局部 (7 天内)	151/289 (52.2)	175/292 (59.9)	216/285 (75.8)
诉求的全身性 (14 天内)	161/289 (55.7)	167/292 (57.2)	167/285 (58.6)
与 IP 相关	121/289 (41.9)	133/292 (45.5)	141/285 (49.5)
与 IP 无关	40/289 (13.8)	34/292 (11.6)	26/285 (9.1)

[1034] 注释:对于诉求的AE,不包括长期诉求的AE,百分比是基于在每个试验组中评价的具有非缺失数据的受试者的数量(n)计算的。对于特定类别的AE,具有1个或多个AE的受试者仅使用最相关的事件计数一次。

[1035] 表19a.直到疫苗接种后(第一次疫苗接种后)28天未诉求的AE的概述-安全集

[1036]

	HAV/Pbo N=299	TDV/Pbo N=300	HAV/TDV N=298
[任何 AE], n (%)	43 (14.4%)	51 (17.0%)	56 (18.8%)
轻度	32 (10.7%)	32 (10.7%)	43 (14.4%)
中度	11 (3.7%)	18 (6.0%)	12 (4.0%)
重度	0	1 (0.3%)	1 (0.3%)

[1037] 注释:

[1038] • 此总结包括所有未诉求的AE,其发作日期在每次试验疫苗接种后28天内。

[1039] • N是接受了特定疫苗接种的受试者的数量。百分比是基于相应列的N计算的。

[1040] • 表显示报告未诉求的AE的受试者的数量

[1041] • 对于特定类别的不良事件具有1个或多个AE的受试者仅使用最相关/最严重/最严重事件计算一次。

[1042] 表19b.直到疫苗接种后(第二次疫苗接种后)28天未诉求的AE的概述-安全集

[1043]

	Pbo N=270	TDV N =271	TDV N=257
任何 AE，n (%)	39 (14.4%)	27 (10.0%)	30 (11.7%)
轻度	17 (6.3%)	14 (5.2%)	15 (5.8%)
中度	22 (8.1%)	13 (4.8%)	13 (5.1%)
重度	0	0	2 (0.8%)

[1044]

[1045] 注释：

[1046] • 此总结包括所有未诉求的AE，其发作日期在每次试验疫苗接种后28天内。

[1047] • N是接受了特定疫苗接种的受试者的数量。百分比是基于相应列的N计算的。

[1048] • 表显示报告未诉求AE的受试者的数量所经历的AE的总数

[1049] 对于特定类别的不良事件具有1个或多个AE的受试者仅使用最相关/最严重/最严重事件计算一次。

[1050] 表20.直到疫苗接种后(任何疫苗接种后)28天最常见的未诉求的AE*-安全集

[1051]

AE，n (%)	HAV/Pbo N=299	TDV/Pbo N=300	HAV/TDV N=298
鼻咽炎	9 (3.0%)	8 (2.7%)	11 (3.7%)

[1052] *≥2.0%的受试者报告。

[1053] 表21a.安全性:任何剂量后的严重不良事件(SAE)的概述-安全集

[1054]

事件数量，具有SAE 的受试者数量(%)	HAV/Pbo (n=299) 事件	受试者	TDV/Pbo (n=300) 事件	受试者	HAV/TDV (n=298) 事件	受试者	总计 (N=597) 事件	受试者
SAEs – 任何	3	2 (0.7%)	10	8 (2.7%)	10	7 (2.3%)	23	17(2.8%)
• 第 1 剂量后直到第 2 剂量	0	0	3	3 (1.0%)	3	2 (0.7%)	6	5 (0.8%)
•第 2 剂量后直到试验结束	3	2 (0.7%)	7	5 (1.8%)	7	5 (1.9%)	17	12 (2.0%)
SAE – 相关的	0	0	0	0	0	0	0	0
SAE – 过早疫苗和/或试验中止	0	0	1	1 (0.3%)	0	0	1	1 (0.2%)
死亡	0	0	0	0	0	0	0	0

[1055]

[1056] p＝安慰剂

[1057] 表21b.安全性:第一和第二剂量后按系统器官类别和优选条款的严重不良事件-安全集

[1058]

具有 SAE 的受试者数量(%) SOC		HAV/Pbo (N=299)	TDV/Pbo (N=300)	HAV/TDV (N=298)
第 1 剂量后直到第 2 剂量 – 任何SAE		*0*	*3 (1.0)*	*2 (0.7)*
胃肠病症	克罗恩氏病*	0	1 (0.3)	0
损伤、中毒和程序并发症	故意过量	0	0	1 (0.3)
良性、恶性和未指明的肿瘤	膀胱癌 II 期	0	1 (0.3)	0
神经系统病症	意识丧失**	0	1 (0.3)	0
精神病症	故意自残	0	0	1 (0.3)
		Pbo (N=270)	TDV (N=271)	TDV (N=257)
第 2 剂量后直到试验结束 – 任何SAE		*2 (0.7)*	*5 (1.8)*	*5 (1.9)*
心脏病症	室上性心动过速	0	0	1 (0.4)
胃肠病症	腹痛	0	1 (0.4)	0
	腹部绞窄性疝	1 (0.4)	0	0
	肠道局部缺血	0	0	1 (0.4)

[1059]

	肠系膜静脉血栓形成	0	0	1 (0.4)
	食管炎	0	1 (0.4)	0

[1060] *受试者有肠易激综合征病史

[1061] **发生在疫苗接种后>2个月

[1062] 表21c.安全性:第一和第二剂量后按系统器官类别和优选条款的严重不良事件-安全集-续

[1063]

具有 SAE 的受试者数量 (%) SOC	PT	Pbo (N=270)	TDV (N=271)	TDV (N=257)
感染和侵扰	阑尾炎	0	1 (0.4)	0
	伤口感染	1 (0.4)	0	0
损伤、中毒和程序并发症	腹部损伤	0	1 (0.4)	0
	颈椎骨折	0	0	1 (0.4)
	尾骨骨折	1 (0.4)	0	0
	关节脱位	0	1 (0.4)	0
	下肢骨折	0	0	1 (0.4)
	热灼伤	0	1 (0.4)	0
良性、恶性和未指明的肿瘤	浸润性导管乳腺癌	0	1 (0.4)	0
	前列腺癌	0	0	1 (0.4)
呼吸系统、胸和纵隔病症	急性呼吸窘迫综合征	0	0	1 (0.4)

[1064] 本发明的第一条款列表

[1065] 1.一种预防受试者或受试者群体中的甲型肝炎和登革热病的方法,所述方法包括在同一天同时施用甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物,其中所述单位剂量包含含有四种活减毒登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

[1066] 2.根据条款1所述的方法,其中所述甲型肝炎疫苗是灭活病毒疫苗。

[1067] 3.根据条款1或2所述的方法,其中所述登革热疫苗组合物在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含

[1068] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/1株,

[1069] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2株,

[1070] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株,和

[1071] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/4株。

[1072] 4.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述受试者群体或受试者对所有登革热血清型呈血清阴性。

[1073] 5.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物通过皮下注射施用,并且所述甲型肝炎疫苗通过肌内注射施用,并且其中所述注射优选施用于手臂,更优选施用于所述手臂的三角肌区域。

[1074] 6.根据条款5所述的方法,其中所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物和所述甲型肝炎疫苗施用于不同的解剖部位,如施用于相对的手臂。

[1075] 7.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述登革热疫苗组合物的两个所述单

位剂量在12个月或更久内、或6个月内、或3个月内施用。

[1076] 8.根据条款7所述的方法，所述方法包括特别是根据以下时间表施用两个所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物和一个剂量的所述甲型肝炎疫苗

[1077] -在第0天第一单位剂量的所述登革热疫苗组合物和所述甲型肝炎疫苗的第一同时施用，和

[1078] -在所述第一同时施用之后，如约3个月后，第二单位剂量的所述登革热疫苗组合物的第二施用。

[1079] 9.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述受试者群体或受试者是2至60岁。

[1080] 10.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述受试者群体或受试者来自登革热流行地区。

[1081] 11.根据条款1至9中任一项所述的方法，其中所述受试者群体或受试者来自登革热非流行地区，优选来自登革热非流行地区和甲型肝炎非流行地区。

[1082] 12.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述甲型肝炎疫苗包含源自甲型肝炎病毒株HM-175的甲型肝炎病毒。

[1083] 13.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且所述灭活的甲型肝炎病毒来源于甲型肝炎病毒株HM-175。

[1084] 14.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且其中所述灭活的甲型肝炎病毒吸附在铝上。

[1085] 15.根据条款14所述的方法，其中所述铝是氢氧化铝或硫酸羟基磷酸铝。

[1086] 16.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且其中所述甲型肝炎疫苗包含磷酸盐缓冲盐水溶液以及以氨基酸形式和以聚山梨醇酯形式溶解于其中的赋形剂。

[1087] 17.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述甲型肝炎疫苗包含浓度在500ELISA单位(EL.U.)至2000ELISA单位(EL.U.)范围内的表达病毒抗原的甲型肝炎病毒。

[1088] 18.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述方法不包括在施用所述甲型肝炎疫苗之前和在施用所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物之前确定所述受试者群体中或所述受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者

[1089] 其中在施用所述甲型肝炎疫苗之前和在施用所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物之前，所述受试者群体或所述受试者的甲型肝炎血清状况和/或登革热血清状况是未知的。

[1090] 19.根据条款18所述的方法，其中所述方法不包括在施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间确定所述受试者群体中或所述受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者

[1091] 其中在施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间，所述受试者群体或所述受试者的所述甲型肝炎血清状况和/或所述登革热血清状况是未知的。

[1092] 20.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

[1093] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用所述单位剂量的所述四

价登革热病毒组合物和所述甲型肝炎疫苗的受试者，而无需确定是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染，和

[1094] (B)向所述受试者施用第一单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及任选地

[1095] (C)在施用所述第一单位剂量的3至12个月内向所述受试者施用至少一个另外单位剂量的所述四价登革热病毒组合物，以及任选地

[1096] (D)在施用所述第一单位剂量的6至18个月内向所述受试者施用至少一个另外剂量的所述甲型肝炎疫苗。

[1097] 21.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

[1098] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用所述单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和所述甲型肝炎疫苗的受试者，和

[1099] (B)向所述受试者施用第一单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及

[1100] (C)在施用所述第一单位剂量的约6个月和约12个月时向所述受试者施用两个另外单位剂量的所述四价登革热病毒组合物，并在施用所述第一单位剂量的约6个月或约12个月时向所述受试者施用甲型肝炎疫苗。

[1101] 22.根据条款21所述的方法，其中步骤(A)在无需确定是否存在先前甲型肝炎感染的情况下进行。

[1102] 23.根据条款3至22中任一项所述的方法，其中在用药学上可接受的稀释剂复溶所述登革热疫苗组合物后，(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度，并且基于pfu/0.5ml的所述总浓度，以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10％，并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50％，并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1％，并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6％、至少8％、或至少10％、或至少12％、或至少14％、或至少16％、或至少18％。

[1103] 24.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述方法提供所述登革热疫苗组合物与所述甲型肝炎疫苗之间的相容性。

[1104] 25.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述方法提供所述登革热疫苗组合物与所述甲型肝炎疫苗之间的协同作用。

[1105] 26.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述方法在包括分为一个受试者群体和一个对照受试者群体的至少60或至少120名健康受试者的非劣效性临床研究中提供非劣效性，其中所述受试者群体在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物，并且所述对照受试者群体在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂施用。

[1106] 27.根据前述条款中任一项所述的方法，其中所述甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95％或至少98％的甲型肝炎血清保护率。

[1107] 28.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异,所述差异在非劣效性临床研究中确定,所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少60或120名健康受试者,

[1108] 所述健康受试者被分为

[1109] a)在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体,和

[1110] b)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体,

[1111] 其中确定在施用(第0/1天)后第30天所述对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在施用(第0/1天)后第30天所述受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异,并且

[1112] 其中所述差异具有在双侧95%置信区间内低于10%的上限。

[1113] 29.根据条款1至26中任一项所述的方法,其中所述甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95%或至少98%或至少99%的甲型肝炎血清保护率,其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者。

[1114] 30.根据条款1至26中任一项所述的方法,其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异,所述差异在非劣效性临床研究中确定,所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少60或120名健康受试者,其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,

[1115] 所述健康受试者被分为

[1116] a)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体,其中所述受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,和

[1117] b)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体,其中所述对照受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,

[1118] 其中确定在施用(第0/1天)后第30天所述对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在施用(第0/1天)后第30天所述受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异,并且

[1119] 其中所述差异具有在双侧95%置信区间内低于10%的上限。

[1120] 31.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述受试者或受试者群体暴露于甲型肝炎病毒爆发和/或登革热病毒爆发。

[1121] 32.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述方法在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈

血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少70mIU/ml或至少80mIU/ml或至少90mIU/ml的抗甲型肝炎病毒抗体几何平均浓度(GMC)。

[1122] 33.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的所述在同一天同时施用于所述受试者或受试者群体是安全的。

[1123] 34.根据前述条款中任一项所述的方法,其中不存在与所述在同一天同时施用相关的严重不良事件。

[1124] 35.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述方法提供通过MNT50测量的以下中和抗体几何平均效价(GMT):

[1125] -对于登革热血清型1,至少110或至少140或至少150,

[1126] -对于登革热血清型2,至少3000或至少3500或至少3900,

[1127] -对于登革热血清型3,至少100或至少120或至少140,和/或

[1128] -对于登革热血清型4,至少80或至少110或至少140,

[1129] 在向在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天。

[1130] 36.根据前述条款中任一项所述的方法,其中所述受试者或受试者群体是18至60岁。

[1131] 37.一种针对甲型肝炎和登革热病的药盒,所述药盒包括

[1132] 盒子,所述盒子至少含有:

[1133] (a)容纳甲型肝炎疫苗的第一容器,和

[1134] (b)容纳单位剂量的登革热疫苗组合物的第二容器,其中所述单位剂量包含含四种减毒活登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

[1135] 本发明的第二条款列表

[1136] 1.甲型肝炎疫苗用于制造用于预防受试者或受试者群体中的甲型肝炎的药物的用途和单位剂量的登革热疫苗组合物用于制造用于预防所述受试者或受试者群体中的登革热病的药物的用途,甲型肝炎和登革热病的所述预防包括在同一天同时施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的登革热疫苗组合物,其中所述单位剂量包含含四种减毒活登革热病毒株的四价登革热病毒组合物。

[1137] 2.根据条款1所述的用途,其中所述甲型肝炎疫苗是灭活病毒疫苗。

[1138] 3.根据条款1或2所述的用途,其中所述登革热疫苗组合物在用0.5mL药学上可接受的稀释剂复溶后包含

[1139] (i)浓度为至少3.3log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/1株,

[1140] (ii)浓度为至少2.7log10 pfu/0.5mL的登革热血清型2株,

[1141] (iii)浓度为至少4.0log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/3株,和

[1142] (iv)浓度为至少4.5log10 pfu/0.5mL的嵌合登革热血清型2/4株。

[1143] 4.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述受试者群体或受试者对所有登革热血清型呈血清阴性。

[1144] 5.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述单位剂量的所述登革热疫苗组合

物通过皮下注射施用，并且所述甲型肝炎疫苗通过肌内注射施用，并且其中所述注射优选施用于手臂，更优选施用于所述手臂的三角肌区域。

[1145] 6.根据条款5所述的用途，其中所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物和所述甲型肝炎疫苗施用于不同的解剖部位，如施用于相对的手臂。

[1146] 7.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述登革热疫苗组合物的两个所述单位剂量在12个月或更久内、或6个月内、或3个月内施用。

[1147] 8.根据条款7所述的用途，所述方法包括施用两个所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物和一个剂量的所述甲型肝炎疫苗，特别是根据以下时间表

[1148] -在第0天第一单位剂量的所述登革热疫苗组合物和所述甲型肝炎疫苗的第一同时施用，和

[1149] -在所述第一同时施用之后，如约3个月后，第二单位剂量的所述登革热疫苗组合物的第二施用。

[1150] 9.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述受试者群体或受试者是2至60岁。

[1151] 10.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述受试者群体或受试者来自登革热流行地区。

[1152] 11.根据条款1至9中任一项所述的用途，其中所述受试者群体或受试者来自登革热非流行地区，优选来自登革热非流行地区和甲型肝炎非流行地区。

[1153] 12.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述甲型肝炎疫苗包含源自甲型肝炎病毒株HM-175的甲型肝炎病毒。

[1154] 13.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且所述灭活的甲型肝炎病毒来源于甲型肝炎病毒株HM-175。

[1155] 14.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且其中所述灭活的甲型肝炎病毒吸附在铝上。

[1156] 15.根据条款14所述的用途，其中所述铝是氢氧化铝或硫酸羟基磷酸铝。

[1157] 16.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述甲型肝炎疫苗包含灭活的甲型肝炎病毒，并且其中所述甲型肝炎疫苗包含磷酸盐缓冲盐水溶液以及以氨基酸形式和以聚山梨醇酯形式溶解于其中的赋形剂。

[1158] 17.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述甲型肝炎疫苗包含浓度在500ELISA单位(EL.U.)至2000ELISA单位(EL.U.)范围内的表达病毒抗原的甲型肝炎病毒。

[1159] 18.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述方法不包括在施用所述甲型肝炎疫苗之前和在施用所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物之前确定所述受试者群体中或所述受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者

[1160] 其中在施用所述甲型肝炎疫苗之前和在施用所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物之前，所述受试者群体或所述受试者的甲型肝炎血清状况和/或登革热血清状况是未知的。

[1161] 19.根据条款18所述的用途，其中所述方法不包括在施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的步骤之前、期间和之后的任何时间确定所述受试者群体中或所述受试者中是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染的步骤，或者

[1162] 其中在施用所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的步骤

之前、期间和之后的任何时间，所述受试者群体或所述受试者的所述甲型肝炎血清状况和/或所述登革热血清状况是未知的。

[1163] 20.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

[1164] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用所述单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和所述甲型肝炎疫苗的受试者，而无需确定是否存在先前登革热感染和/或先前甲型肝炎感染，和

[1165] (B)向所述受试者施用第一单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及任选地

[1166] (C)在施用所述第一单位剂量的3至12个月内向所述受试者施用至少一个另外单位剂量的所述四价登革热病毒组合物，以及任选地

[1167] (D)在施用所述第一单位剂量的6至18个月内向所述受试者施用至少一个另外剂量的所述甲型肝炎疫苗。

[1168] 21.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述方法包括由以下步骤组成的初次疫苗接种：

[1169] (A)选择需要预防登革热感染和甲型肝炎感染的用于施用所述单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和所述甲型肝炎疫苗的受试者，和

[1170] (B)向所述受试者施用第一单位剂量的所述四价登革热病毒组合物和甲型肝炎疫苗，以及

[1171] (C)在施用所述第一单位剂量的约6个月和约12个月时向所述受试者施用两个另外单位剂量的所述四价登革热病毒组合物，并在施用所述第一单位剂量的约6个月或约12个月时向所述受试者施用甲型肝炎疫苗。

[1172] 22.根据条款21所述的用途，其中步骤(A)在无需确定是否存在先前甲型肝炎感染的情况下进行。

[1173] 23.根据条款3至22中任一项所述的用途，其中在用药学上可接受的稀释剂复溶所述登革热疫苗组合物后，(i)、(ii)、(iii)和(iv)提供pfu/0.5mL的总浓度，并且基于pfu/0.5ml的所述总浓度，以pfu/0.5mL计的(ii)的浓度小于10％，并且以pfu/0.5mL计的(iv)的浓度是至少50％，并且以pfu/0.5mL计的(i)的浓度是至少1％，并且以pfu/0.5mL计的(iii)的浓度是至少6％、至少8％、或至少10％、或至少12％、或至少14％、或至少16％、或至少18％。

[1174] 24.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述方法提供所述登革热疫苗组合物与所述甲型肝炎疫苗之间的相容性。

[1175] 25.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述方法提供所述登革热疫苗组合物与所述甲型肝炎疫苗之间的协同作用。

[1176] 26.根据前述条款中任一项所述的用途，其中所述方法在包括分为一个受试者群体和一个对照受试者群体的至少60或至少120名健康受试者的非劣效性临床研究中提供非劣效性，其中所述受试者群体在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物，并且所述对照受试者群体在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂施用。

[1177] 27.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95%或至少98%的甲型肝炎血清保护率。

[1178] 28.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异,所述差异在非劣效性临床研究中确定,所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少60或120名健康受试者,

[1179] 所述健康受试者被分为

[1180] c)在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体,和

[1181] d)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体,

[1182] 其中确定在施用(第0/1天)后第30天所述对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在施用(第0/1天)后第30天所述受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异,并且

[1183] 其中所述差异具有在双侧95%置信区间内低于10%的上限。

[1184] 29.根据条款1至26中任一项所述的用途,其中所述甲型肝炎疫苗在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少95%或至少98%或至少99%的甲型肝炎血清保护率,其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者。

[1185] 30.根据条款1至26中任一项所述的用途,其中所述方法提供相对于甲型肝炎单一施用的甲型肝炎血清保护率差异,所述差异在非劣效性临床研究中确定,所述非劣效性临床研究包括在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性的至少60或120名健康受试者,其中所述健康受试者包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的健康受试者一名或多名,

[1186] 所述健康受试者被分为

[1187] c)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体,其中所述受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,和

[1188] d)在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和安慰剂的施用(在第0/1天)的至少30或至少50名健康受试者的对照受试者群体,其中所述对照受试者群体包括在基线时关于至少一种登革热病毒血清型呈血清阳性的一名或多名健康受试者和在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的一名或多名健康受试者,

[1189] 其中确定在施用(第0/1天)后第30天所述对照受试者群体的甲型肝炎血清保护率与在施用(第0/1天)后第30天所述受试者群体的甲型肝炎血清保护率之间的差异,并且

[1190] 其中所述差异具有在双侧95％置信区间内低于10％的上限。

[1191] 31.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述受试者或受试者群体暴露于甲型肝炎病毒爆发和/或登革热病毒爆发。

[1192] 32.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述方法在向在同一天同时接受所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天提供至少70mIU/ml或至少80mIU/ml或至少90mIU/ml的抗甲型肝炎病毒抗体几何平均浓度(GMC)。

[1193] 33.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述甲型肝炎疫苗和所述单位剂量的所述登革热疫苗组合物的所述在同一天同时施用于所述受试者或受试者群体是安全的。

[1194] 34.根据前述条款中任一项所述的用途,其中不存在与所述在同一天同时施用相关的严重不良事件。

[1195] 35.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述方法提供通过MNT50测量的以下中和抗体几何平均效价(GMT):

[1196] -对于登革热血清型1,至少110或至少140或至少150,

[1197] -对于登革热血清型2,至少3000或至少3500或至少3900,

[1198] -对于登革热血清型3,至少100或至少120或至少140,和/或

[1199] -对于登革热血清型4,至少80或至少110或至少140,

[1200] 在向在同一天同时接受甲型肝炎疫苗和单位剂量的登革热疫苗组合物并且在基线时关于甲型肝炎呈血清阴性且在基线时关于所有登革热病毒血清型呈血清阴性的至少30或至少50名健康受试者的受试者群体施用(在第0/1天)后第30天。

[1201] 36.根据前述条款中任一项所述的用途,其中所述受试者或受试者群体是18至60岁。

[1202] 37.一种针对甲型肝炎和登革热病的药盒,所述药盒包括

[1203] 盒子,所述盒子至少含有:

[1204] (a)容纳甲型肝炎疫苗的第一容器,和

[1205] (b)容纳单位剂量的登革热疫苗组合物的第二容器,其中所述单位剂量包含四价登革热病毒组合物,所述四价登革热病毒组合物包含四种减毒活登革热病毒株。

序列表

<110> 武田疫苗股份有限公司

<120> 用于预防登革热和甲型肝炎的方法

<130> T08269WO3/ES

<150> EP19 195 692.9

<151> 2019-09-05

<150> US16/561,953

<151> 2019-09-05

<150> PCT/US2019/049749

<151> 2019-09-05

<150> PID201907241

<151> 2019-08-16

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10723

<212> DNA

<213> 嵌合登革热血清型2/1 (chimeric dengue seroytpe 2/1) (MVS)

<400> 1

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gaccattaaa actgttcatg 240
gccctggtgg cgttccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga 300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt 360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg 420
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acgcgtgggg gagagccgca tatgatagtt 480
agcaagcagg aaagaggaaa gtcacttttg ttcaagacct ctgcaggtgt caacatgtgc 540
accctcattg cgatggattt gggagagttg tgtgaggaca cgatgaccta caaatgcccc 600
cggatcactg aggcggaacc agatgacgtt gactgttggt gcaatgccac ggacacatgg 660
gtgacctatg gaacgtgctc tcaaactggc gaacaccgac gagacaaacg ttccgtcgca 720
ttggccccac acgtggggct tggcctagaa acaagagccg aaacgtggat gtcctctgaa 780
ggtgcttgga aacagataca aaaagtagag acttgggctc tgagacatcc aggattcacg 840
gtgatagccc tttttctagc acatgccata ggaacatcca tcacccagaa agggatcatt 900
ttcattttgc tgatgctggt aacaccatct atggccatgc gatgcgtggg aataggcaac 960
agagacttcg tggaaggact gtcaggagca acatgggtgg atgtggtact ggagcatgga 1020
agttgcgtca ccaccatggc aaaaaacaaa ccaacactgg acattgaact cttgaagacg 1080
gaggtcacaa accctgcagt tctgcgtaaa ttgtgcattg aagctaaaat atcaaacacc 1140

accaccgatt cgagatgtcc aacacaagga gaagccacac tggtggaaga acaagacgcg 1200
aactttgtgt gccgacgaac gttcgtggac agaggctggg gcaatggctg tgggctattc 1260
ggaaaaggta gtctaataac gtgtgccaag tttaagtgtg tgacaaaact agaaggaaag 1320
atagttcaat atgaaaacct aaaatattca gtgatagtca ccgtccacac tggagatcag 1380
caccaggtgg gaaatgagac tacagaacat ggaacaactg caaccataac acctcaagct 1440
cctacgtcgg aaatacagct gaccgactac ggaaccctta cattagattg ttcacctagg 1500
acagggctag attttaacga gatggtgttg ctgacaatga aagaaagatc atggcttgtc 1560
cacaaacaat ggttcctaga cttaccactg ccttggacct ctggggcttc aacatcccaa 1620
gagacttgga acagacaaga tttactggtc acatttaaga cagctcatgc aaagaagcag 1680
gaagtagtcg tactaggatc acaagaagga gcaatgcaca ctgcgctgac tggagcgaca 1740
gaaatccaaa cgtcaggaac gacaacaatt ttcgcaggac acctaaaatg cagactaaaa 1800
atggacaaac taactttaaa agggatgtca tatgtgatgt gcacaggctc attcaagtta 1860
gagaaagaag tggctgagac ccagcatgga actgttctgg tgcaggttaa atatgaagga 1920
acagacgcac catgcaagat tccctttcg acccaagatg agaaaggagc aacccagaat 1980
gggagattaa taacagccaa ccccatagtc actgacaaag aaaaaccagt caatattgag 2040
gcagaaccac cctttggtga gagctacatc gtggtaggag caggtgaaaa agctttgaaa 2100
ctaagctggt tcaagaaagg aagcagcata gggaaaatgt ttgaagcaac tgcccgagga 2160
gcacgaagga tggccattct gggagacacc gcatgggact tcggttctat aggaggagtg 2220
ttcacgtcta tgggaaaact ggtacaccag gtttttggaa ctgcatatgg agttttgttt 2280
agcggagttt cttggaccat gaaaatagga atagggattc tgctgacatg gctaggatta 2340
aattcaagga acacgtccct ttcgatgatg tgcatcgcag ccggcattgt gacactgtat 2400
ttgggagtca tggtgcaggc cgatagtggt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg 2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag 2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac 2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca 2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc 2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga gctgaagtat 2760
tcatggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt 2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg 2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa 2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc 3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag 3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc 3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa 3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacaa ataacaggac catggcatct aggtaagctt 3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat 3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc 3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg 3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggt cacagctgga 3480

catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa 3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg 3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc 3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttatc ttgccctact agcagccttc 3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc caaggaattg 3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcctc tcccagagca ccctaccaga gaccattctt 3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa 3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta 3960
caaaacgcat ggaaagtgag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgtttc cccactgttc 4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc 4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca 4140
ttaaatgagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa 4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tcctcactgt gtgctacgtg 4260
ctcactggac gatcggccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac 4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc 4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagatcaa acactgacca tactcattag aacaggattg 4440
ctggtgatct caggactttt tcctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg 4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg 4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttggatat 4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca 4680
cgtggcgctg ttctaatgca taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag 4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa 4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct 4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga 4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagttg tgggtcttta tggtaatggt 4980
gttgttacaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa 5040
gacaacccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc 5100
cacccaggag cgggaaagac gaagagatac cttccggcca tagtcagaga agctataaaa 5160
cggggtttga gaacattaat cttggccccc actagagttg tggcagctga aatggaggaa 5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag accccagcca tcagagctgt gcacaccggg 5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt 5340
agagtgccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga cccagcaagt 5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt 5460
atgacagcca ctccccgggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata 5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat 5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct 5640
tgcctgagga aaaatggaaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag 5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg 5760
ggtgccaatt tcaaggctga gagggttata gaccccagac gctgcatgaa accagtcata 5820

ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgac ccactctagt 5880
gcagcacaaa gaagagggag aataggaaga aatccaaaaa atgagaatga ccagtacata 5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg 6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt 6060
gaaaaggtgg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt 6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa 6180
ggcatcaact acgcagacag aaggtggtgt tttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta 6240
gaagaaaacg tggaagttga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc 6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggaattt 6360
gcagccggaa gaaagtctct gaccctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctcccaacc 6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgcactg gacaacttag cagtgctgca cacggctgag 6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg 6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca 6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta 6660
tggtacgcac aaatacagcc acactggata gcagcttcaa taatactgga gtttttttctc 6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc 6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtggtg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc 6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caacccagca acccgagagc 6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca 6960
acatttgtta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtgaa tgtgtcccta 7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca 7080
aagatggaca tcggagttcc ccttctcgcc attggatgct actcacaagt caaccccata 7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc 7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaaccca 7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc gaagtttgaa 7320
aagcagttgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg 7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg 7440
gaaggaaatc cagggaggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt 7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac 7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg 7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat 7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgcga 7740
ggctcagcaa aactgagatg gttcgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta 7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta 7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca 7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgcca 7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcat caccaaatcc cacagtggaa 8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa 8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatatatg ccctcagtca tagaaaaaat ggaagcacta 8160

caaaggaaat atggaggagc cttagtgagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag 8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg 8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac 8340
ctcggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt 8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac 8460
cacccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaaacagac tggatcagca 8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtccccatg 8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag 8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca 8700
gcagagtggc tttggaaaga attagggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa 8760
gaattcacaa gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac 8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag 8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa 8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg 9000
tggcttggag cacgcttctt agagtttgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg 9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac 9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga 9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg 9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg 9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatatc gagaagagac 9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcaccaa tatggaagcc 9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc 9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga 9540
atggccatca gtggagatga ttgtgttgtg aaacctttag atgacaggtt cgcaagcgct 9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca 9660
agaggatgga atgattggac acaagtgccc ttctgttcac accatttcca tgagttaatc 9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgttgttcca tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga 9780
gcccgaatct cccaaggagc agggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct 9840
tacgcccaaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgcg acctcaggct ggcggcaaat 9900
gctatttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata 9960
catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg 10020
attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca 10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140
acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200
gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260
gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320
catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380
ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc tgtagctcca cctgagaagg 10440
tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500

ggttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560
agctgtagtc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac ccccccgaaa caaaaaacag 10620
catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680
gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 2
<211> 3391
<212> PRT
<213> 嵌合登革热血清型 2/1 (chimeric dengue serotype 2/1) (MVS)
<400> 2

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

Ala Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Val Ile Ala Leu Phe Leu Ala His
245 250 255
Ala Ile Gly Thr Ser Ile Thr Gln Lys Gly Ile Ile Phe Ile Leu Leu
260 265 270
Met Leu Val Thr Pro Ser Met Ala Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn
275 280 285
Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val
290 295 300
Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
305 310 315 320
Leu Asp Ile Glu Leu Leu Lys Thr Glu Val Thr Asn Pro Ala Val Leu
325 330 335
Arg Lys Leu Cys Ile Glu Ala Lys Ile Ser Asn Thr Thr Thr Asp Ser
340 345 350
Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Thr Leu Val Glu Glu Gln Asp Ala
355 360 365
Asn Phe Val Cys Arg Arg Thr Phe Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
370 375 380
Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Ile Thr Cys Ala Lys Phe Lys
385 390 395 400
Cys Val Thr Lys Leu Glu Gly Lys Ile Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys
405 410 415
Tyr Ser Val Ile Val Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly
420 425 430
Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala
435 440 445
Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Thr Leu Asp
450 455 460
Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Thr
465 470 475 480
Met Lys Glu Arg Ser Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu
485 490 495
Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Thr Ser Gln Glu Thr Trp Asn
500 505 510
Arg Gln Asp Leu Leu Val Thr Phe Lys Thr Ala His Ala Lys Lys Gln
515 520 525
Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu
530 535 540
Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Thr Thr Thr Ile Phe Ala

545 550 555 560
Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Thr Leu Lys Gly
565 570 575
Met Ser Tyr Val Met Cys Thr Gly Ser Phe Lys Leu Glu Lys Glu Val
580 585 590
Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Val Leu Val Gln Val Lys Tyr Glu Gly
595 600 605
Thr Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Gln Asp Glu Lys Gly
610 615 620
Ala Thr Gln Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Ile Val Thr Asp
625 630 635 640
Lys Glu Lys Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser
645 650 655
Tyr Ile Val Val Gly Ala Gly Glu Lys Ala Leu Lys Leu Ser Trp Phe
660 665 670
Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly
675 680 685
Ala Arg Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
690 695 700
Ile Gly Gly Val Phe Thr Ser Met Gly Lys Leu Val His Gln Val Phe
705 710 715 720
Gly Thr Ala Tyr Gly Val Leu Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys
725 730 735
Ile Gly Ile Gly Ile Leu Leu Thr Trp Leu Gly Leu Asn Ser Arg Asn
740 745 750
Thr Ser Leu Ser Met Met Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr
755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys
770 775 780
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val
785 790 795 800
His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
805 810 815
Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile
820 825 830
Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
835 840 845
Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
850 855 860

Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg
865 870 875 880
Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
885 890 895
Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
900 905 910
Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu
915 920 925
Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
930 935 940
Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
945 950 955 960
Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
965 970 975
Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
980 985 990
Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
995 1000 1005
Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala
1010 1015 1020
Gly Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln
1025 1030 1035
Ile Thr Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp
1040 1045 1050
Phe Cys Asp Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn
1055 1060 1065
Arg Gly Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile
1070 1075 1080
Thr Glu Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr
1085 1090 1095
Arg Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu
1100 1105 1110
Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly
1115 1120 1125
His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly Val Leu Gly Met Ala
1130 1135 1140
Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val Gly Thr Lys His
1145 1150 1155
Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu Ile Thr Gly

1160 1165 1170

Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met Val Gly

1175 1180 1185

Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu Ala

1190 1195 1200

Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu

1205 1210 1215

Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr Ile

1220 1225 1230

Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Leu Pro Glu Thr Ile Leu

1235 1240 1245

Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met

1250 1255 1260

Val Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala

1265 1270 1275

Ile Leu Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys

1280 1285 1290

Val Ser Cys Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe

1295 1300 1305

Leu Thr Ser Ser Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu

1310 1315 1320

Thr Ile Lys Gly Leu Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu

1325 1330 1335

Ser Arg Thr Ser Lys Lys Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile

1340 1345 1350

Met Ala Val Gly Met Val Ser Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys

1355 1360 1365

Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu

1370 1375 1380

Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala Asp Leu Glu Leu

1385 1390 1395

Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala Glu Ile Ser

1400 1405 1410

Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp Gly Ser

1415 1420 1425

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

1430 1435 1440

Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser

1445 1450 1455

Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys
1460 1465 1470
Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met
1475 1480 1485
Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys
1490 1495 1500
Gly Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu
1505 1510 1515
Gly Thr Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu
1520 1525 1530
Met His Lys Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys
1535 1540 1545
Lys Asp Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu
1550 1555 1560
Trp Lys Glu Gly Glu Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly
1565 1570 1575
Lys Asn Pro Arg Ala Val Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr
1580 1585 1590
Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly
1595 1600 1605
Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys Gly Lys Val Val Gly
1610 1615 1620
Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly Ala Tyr Val Ser
1625 1630 1635
Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn Pro Glu Ile
1640 1645 1650
Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met Asp Leu
1655 1660 1665
His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile Val
1670 1675 1680
Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro
1685 1690 1695
Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu
1700 1705 1710
Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
1715 1720 1725
Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg
1730 1735 1740
Leu Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met

1745 1750 1755
Asp Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly
1760 1765 1770
Tyr Ile Ser Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe
1775 1780 1785
Met Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser
1790 1795 1800
Asn Ala Pro Ile Ile Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser
1805 1810 1815
Trp Asn Ser Gly His Glu Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr
1820 1825 1830
Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala
1835 1840 1845
Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys
1850 1855 1860
Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr Asn Asp Trp Asp
1865 1870 1875
Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys
1880 1885 1890
Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro Val Ile
1895 1900 1905
Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro
1910 1915 1920
Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg
1925 1930 1935
Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro
1940 1945 1950
Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
1955 1960 1965
Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met
1970 1975 1980
Phe Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr
1985 1990 1995
Arg Leu Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg
2000 2005 2010
Arg Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu
2015 2020 2025
Gly Ile Asn Tyr Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys
2030 2035 2040

Asn Asn Gln Ile Leu Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr
2045 2050 2055
Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala
2060 2065 2070
Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe
2075 2080 2085
Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met
2090 2095 2100
Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Ala Arg Asp Ala Leu
2105 2110 2115
Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu Ala Gly Gly Arg Ala
2120 2125 2130
Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Leu
2135 2140 2145
Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe Leu
2150 2155 2160
Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met
2165 2170 2175
Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile
2180 2185 2190
Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu
2195 2200 2205
Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln
2210 2215 2220
Asp Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val
2225 2230 2235
Ala Ala Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys
2240 2245 2250
Lys Asp Leu Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser
2255 2260 2265
Asn Ile Leu Asp Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu
2270 2275 2280
Tyr Ala Val Ala Thr Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser
2285 2290 2295
Ile Glu Asn Ser Ser Val Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn
2300 2305 2310
Gln Ala Thr Val Leu Met Gly Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser
2315 2320 2325
Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser

2330 2335 2340

Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala Ala Leu Phe Leu Leu Val
2345 2350 2355

Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr
2360 2365 2370

Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro
2375 2380 2385

Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro Ile Pro Tyr
2390 2395 2400

Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val
2405 2410 2415

Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala Leu
2420 2425 2430

Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp
2435 2440 2445

Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser
2450 2455 2460

Met Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu
2465 2470 2475

Leu Phe Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr
2480 2485 2490

Gly Asn Ile Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu
2495 2500 2505

Asn Ala Leu Gly Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly
2510 2515 2520

Ile Gln Glu Val Asp Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg
2525 2530 2535

Gly Glu Thr Asp His His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu
2540 2545 2550

Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val
2555 2560 2565

Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly
2570 2575 2580

Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu Thr Lys Gly Gly
2585 2590 2595

Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr Gly Trp Asn
2600 2605 2610

Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile Pro Pro
2615 2620 2625

Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Pro
2630 2635 2640
Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Asn Leu
2645 2650 2655
Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val
2660 2665 2670
Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
2675 2680 2685
Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg
2690 2695 2700
Asn Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn
2705 2710 2715
Ile Val Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg
2720 2725 2730
Phe Thr Met Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp
2735 2740 2745
Leu Gly Ser Gly Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro
2750 2755 2760
Asn Leu Asp Ile Ile Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu
2765 2770 2775
His Glu Thr Ser Trp His Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr
2780 2785 2790
Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala
2795 2800 2805
Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp
2810 2815 2820
Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met Thr Asp Thr Thr
2825 2830 2835
Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg
2840 2845 2850
Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys Ile Thr
2855 2860 2865
Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro Arg
2870 2875 2880
Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala
2885 2890 2895
Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala
2900 2905 2910
Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys

2915 2920 2925

Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr

2930 2935 2940

Asn Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys

2945 2950 2955

Ala Lys Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg

2960 2965 2970

Phe Leu Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp

2975 2980 2985

Phe Ser Arg Glu Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu

2990 2995 3000

His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly

3005 3010 3015

Gly Ala Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile

3020 3025 3030

Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu Met Val Thr Asn His Met

3035 3040 3045

Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr

3050 3055 3060

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

3065 3070 3075

Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg Gly Ser Gly

3080 3085 3090

Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Ala

3095 3100 3105

Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser Ile

3110 3115 3120

Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu

3125 3130 3135

Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly

3140 3145 3150

Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala

3155 3160 3165

Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln

3170 3175 3180

Gln Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro

3185 3190 3195

Phe Cys Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg

3200 3205 3210

Val Leu Val Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg
3215 3220 3225
Ala Arg Ile Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala
3230 3235 3240
Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe
3245 3250 3255
His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala
3260 3265 3270
Val Pro Ser His Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile
3275 3280 3285
His Ala Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Thr Val
3290 3295 3300
Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp Met Glu Asp Lys
3305 3310 3315
Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg
3320 3325 3330
Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser Arg Ala
3335 3340 3345
Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg Ser
3350 3355 3360
Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys
3365 3370 3375
Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
3380 3385 3390

<210> 3
<211> 10723
<212> DNA
<213> 登革热血清型2 (dengue serotype 2) (MVS)
<400> 3

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gaccattaaa actgttcatg 240
gccctggtgg cgttccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga 300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt 360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg 420
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acacgtaacg gagaaccaca catgatcgtc 480
agcagacaag agaaagggaa aagtcttctg tttaaaacag aggttggcgt gaacatgtgt 540
accctcatgg ccatggacct tggtgaattg tgtgaagaca caatcacgta cgagtgtccc 600

cttctcaggc agaatgagcc agaagacata gactgttggt gcaactctac gtccacgtgg 660
gtaacttatg ggacgtgtac caccatggga gaacatagaa gagaaaaaag atcagtggca 720
ctcgttccac atgtgggaat gggactggag acacgaactg aaacatggat gtcatcagaa 780
ggggcctgga aacatgtcca gagaattgaa acttggatct tgagacatcc aggcttcacc 840
atgatggcag caatcctggc atacaccata ggaacgacac atttccaaag agccctgatc 900
ttcatcttac tgacagctgt cactccttca atgacaatgc gttgcatagg aatgtcaaat 960
agagactttg tggaaggggt ttcaggagga agctgggttg acatagtctt agaacatgga 1020
agctgtgtga cgacgatggc aaaaaacaaa ccaacattgg attttgaact gataaaaaca 1080
gaagccaaac agcctgccac cctaaggaag tactgtatag aggcaaagct aaccaacaca 1140
acaacagaat ctcgctgccc aacacaaggg gaacccagcc taaatgaaga gcaggacaaa 1200
aggttcgtct gcaaacactc catggtagac agaggatggg gaaatggatg tggactattt 1260
ggaaagggag gcattgtgac ctgtgctatg ttcagatgca aaaagaacat ggaaggaaaa 1320
gttgtgcaac cagaaaactt ggaatacacc attgtgataa cacctcactc aggggaagag 1380
catgcagtcg gaaatgacac aggaaaacat ggcaaggaaa tcaaaataac accacagagt 1440
tccatcacag aagcagaatt gacaggttat ggcactgtca caatggagtg ctctccaaga 1500
acgggcctcg acttcaatga gatggtgttg ctgcagatgg aaaataaagc ttggctggtg 1560
cacaggcaat ggttcctaga cctgccgtta ccatggttgc ccggagcgga cacacaaggg 1620
tcaaattgga tacagaaaga gacattggtc actttcaaaa atccccatgc gaagaaacag 1680
gatgttgttg ttttaggatc ccaagaaggg gccatgcaca cagcacttac aggggccaca 1740
gaaatccaaa tgtcatcagg aaacttactc ttcacaggac atctcaagtg caggctgaga 1800
atggacaagc tacagctcaa aggaatgtca tactctatgt gcacaggaaa gtttaaagtt 1860
gtgaaggaaa tagcagaaac acaacatgga acaatagtta tcagagtgca atatgaaggg 1920
gacggctctc catgcaagat ccctttgag ataatggatt tggaaaaaag acatgtctta 1980
ggtcgcctga ttacagtcaa cccaattgtg acagaaaaag atagcccagt caacatagaa 2040
gcagaacctc catttggaga cagctacatc atcataggag tagagccggg acaactgaag 2100
ctcaactggt ttaagaaagg aagttctatc ggccaaatgt ttgagacaac aatgaggggg 2160
gcgaagagaa tggccatttt aggtgacaca gcctgggatt ttggatcctt gggaggagtg 2220
tttacatcta taggaaaggc tctccaccaa gtctttggag caatctatgg agctgccttc 2280
agtggggttt catggactat gaaaatcctc ataggagtca ttatcacatg gataggaatg 2340
aattcacgca gcacctcact gtctgtgaca ctagtattgg tgggaattgt gacactgtat 2400
ttgggagtca tggtgcaggc cgatagtggt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg 2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag 2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac 2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca 2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc 2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga gctgaagtat 2760
tcatggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt 2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg 2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa 2940

aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc 3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag 3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc 3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa 3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacaa ataacaggac catggcatct aggtaagctt 3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat 3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc 3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg 3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggt cacagctgga 3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa 3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg 3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc 3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttatc ttgccctact agcagccttc 3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc caaggaattg 3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcctc tcccagagca ccataccaga gaccattctt 3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa 3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta 3960
caaaacgcat ggaaagtgag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgtttc cccactgttc 4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc 4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca 4140
ttaaatgagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa 4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tcctcactgt gtgctacgtg 4260
ctcactggac gatcggccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac 4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc 4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagaacaa acactgacca tactcattag aacaggattg 4440
ctggtgatct caggactttt tcctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg 4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg 4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttggatat 4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca 4680
cgtggcgctg ttctaatgca taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag 4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa 4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct 4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga 4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagttg tgggtcttta tggtaatggt 4980
gttgttacaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa 5040
gacaacccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc 5100
cacccaggag cgggaaagac gaagagatac cttccggcca tagtcagaga agctataaaa 5160
cggggtttga gaacattaat cttggccccc actagagttg tggcagctga aatggaggaa 5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag accccagcca tcagagctgt gcacaccggg 5280

cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt 5340
agagtgccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga cccagcaagt 5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt 5460
atgacagcca ctccccccggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata 5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat 5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct 5640
tgcctgagga aaaatggaaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag 5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg 5760
ggtgccaatt tcaaggctga gagggttata gaccccagac gctgcatgaa accagtcata 5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgac ccactctagt 5880
gcagcacaaa gaagagggag aataggaaga aatccaaaaa atgagaatga ccagtacata 5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg 6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt 6060
gaaaaggtgg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt 6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa 6180
ggcatcaact acgcagacag aaggtggtgt tttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta 6240
gaagaaaacg tggaagttga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc 6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggaattt 6360
gcagccggaa gaaagtctct gaccctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctcccaacc 6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgcactg gacaacttag cagtgctgca cacggctgag 6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg 6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca 6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta 6660
tggtacgcac aaatacagcc acactggata gcagcttcaa taatactgga gtttttctc 6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc 6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtggtg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc 6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caacccagca acccgagagc 6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca 6960
acatttgtta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtgaa tgtgtcccta 7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca 7080
aagatggaca tcggagttcc ccttctcgcc attggatgct actcacaagt caaccccata 7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc 7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaaccca 7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa 7320
aagcagttgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg 7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg 7440
gaaggaaatc cagggaggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt 7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac 7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg 7620

aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat 7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgcga 7740
ggctcagcaa aactgagatg gttcgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta 7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta 7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca 7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgcca 7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcat caccaaatcc cacagtggaa 8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa 8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatatatg ccctcagtca tagaaaaaat ggaagcacta 8160
caaaggaaat atggaggagc cttagtgagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag 8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg 8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac 8340
ctcggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt 8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac 8460
cacccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaaacagac tggatcagca 8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtccccatg 8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag 8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca 8700
gcagagtggc tttggaaaga attagggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa 8760
gaattcacaa gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccgtattcac tgatgagaac 8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag 8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa 8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg 9000
tggcttggag cacgcttctt agagtttgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg 9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac 9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga 9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg 9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg 9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatatc gagaagagac 9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcaccaa tatggaagcc 9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc 9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga 9540
atggccatca gtggagatga ttgtgttgtg aaacctttag atgacaggtt cgcaagcgct 9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca 9660
agaggatgga atgattggac acaagtgccc ttctgttcac accatttcca tgagttaatc 9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgttgttcca tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga 9780
gcccgaatct cccaaggagc agggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct 9840
tacgcccaaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgcg acctcaggct ggcggcaaat 9900
gctatttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata 9960

catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg 10020
attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca 10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140
acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200
gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260
gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320
catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380
ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc tgtagctcca cctgagaagg 10440
tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500
ggttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560
agctgtagtc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac ccccccgaaa caaaaaacag 10620
catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680
gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 4
<211> 3391
<212> PRT
<213> 登革热血清型2 (dengue seroytpe 2) (MVS)
<400> 4

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

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

Met Glu Asn Lys Ala Trp Leu Val His Arg Gln Trp Phe Leu Asp Leu
485 490 495
Pro Leu Pro Trp Leu Pro Gly Ala Asp Thr Gln Gly Ser Asn Trp Ile
500 505 510
Gln Lys Glu Thr Leu Val Thr Phe Lys Asn Pro His Ala Lys Lys Gln
515 520 525
Asp Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu
530 535 540
Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Met Ser Ser Gly Asn Leu Leu Phe Thr
545 550 555 560
Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Arg Met Asp Lys Leu Gln Leu Lys Gly
565 570 575
Met Ser Tyr Ser Met Cys Thr Gly Lys Phe Lys Val Val Lys Glu Ile
580 585 590
Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Ile Val Ile Arg Val Gln Tyr Glu Gly
595 600 605
Asp Gly Ser Pro Cys Lys Ile Pro Phe Glu Ile Met Asp Leu Glu Lys
610 615 620
Arg His Val Leu Gly Arg Leu Ile Thr Val Asn Pro Ile Val Thr Glu
625 630 635 640
Lys Asp Ser Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser
645 650 655
Tyr Ile Ile Ile Gly Val Glu Pro Gly Gln Leu Lys Leu Asn Trp Phe
660 665 670
Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Gln Met Phe Glu Thr Thr Met Arg Gly
675 680 685
Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
690 695 700
Leu Gly Gly Val Phe Thr Ser Ile Gly Lys Ala Leu His Gln Val Phe
705 710 715 720
Gly Ala Ile Tyr Gly Ala Ala Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys
725 730 735
Ile Leu Ile Gly Val Ile Ile Thr Trp Ile Gly Met Asn Ser Arg Ser
740 745 750
Thr Ser Leu Ser Val Thr Leu Val Leu Val Gly Ile Val Thr Leu Tyr
755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys
770 775 780
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val

785 790 795 800
His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
805 810 815
Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile
820 825 830
Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
835 840 845
Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
850 855 860
Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg
865 870 875 880
Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
885 890 895
Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
900 905 910
Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu
915 920 925
Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
930 935 940
Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
945 950 955 960
Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
965 970 975
Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
980 985 990
Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
995 1000 1005
Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala
1010 1015 1020
Gly Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln
1025 1030 1035
Ile Thr Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp
1040 1045 1050
Phe Cys Asp Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn
1055 1060 1065
Arg Gly Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile
1070 1075 1080
Thr Glu Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr
1085 1090 1095

Arg Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu
1100 1105 1110
Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly
1115 1120 1125
His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly Val Leu Gly Met Ala
1130 1135 1140
Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val Gly Thr Lys His
1145 1150 1155
Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu Ile Thr Gly
1160 1165 1170
Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met Val Gly
1175 1180 1185
Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu Ala
1190 1195 1200
Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu
1205 1210 1215
Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr Ile
1220 1225 1230
Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu
1235 1240 1245
Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met
1250 1255 1260
Val Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala
1265 1270 1275
Ile Leu Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys
1280 1285 1290
Val Ser Cys Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe
1295 1300 1305
Leu Thr Ser Ser Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu
1310 1315 1320
Thr Ile Lys Gly Leu Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu
1325 1330 1335
Ser Arg Thr Ser Lys Lys Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile
1340 1345 1350
Met Ala Val Gly Met Val Ser Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys
1355 1360 1365
Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu
1370 1375 1380
Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala Asp Leu Glu Leu

1385 1390 1395

Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala Glu Ile Ser

1400 1405 1410

Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp Gly Ser

1415 1420 1425

Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu Thr Ile Leu

1430 1435 1440

Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser

1445 1450 1455

Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys

1460 1465 1470

Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met

1475 1480 1485

Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys

1490 1495 1500

Gly Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu

1505 1510 1515

Gly Thr Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu

1520 1525 1530

Met His Lys Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys

1535 1540 1545

Lys Asp Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu

1550 1555 1560

Trp Lys Glu Gly Glu Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly

1565 1570 1575

Lys Asn Pro Arg Ala Val Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr

1580 1585 1590

Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly

1595 1600 1605

Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys Gly Lys Val Val Gly

1610 1615 1620

Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly Ala Tyr Val Ser

1625 1630 1635

Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn Pro Glu Ile

1640 1645 1650

Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met Asp Leu

1655 1660 1665

His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile Val

1670 1675 1680

Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro
1685 1690 1695
Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu
1700 1705 1710
Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
1715 1720 1725
Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg
1730 1735 1740
Leu Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met
1745 1750 1755
Asp Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly
1760 1765 1770
Tyr Ile Ser Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe
1775 1780 1785
Met Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser
1790 1795 1800
Asn Ala Pro Ile Ile Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser
1805 1810 1815
Trp Asn Ser Gly His Glu Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr
1820 1825 1830
Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala
1835 1840 1845
Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys
1850 1855 1860
Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr Asn Asp Trp Asp
1865 1870 1875
Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys
1880 1885 1890
Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro Val Ile
1895 1900 1905
Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro
1910 1915 1920
Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg
1925 1930 1935
Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro
1940 1945 1950
Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
1955 1960 1965
Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met

1970 1975 1980

Phe Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr

1985 1990 1995

Arg Leu Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg

2000 2005 2010

Arg Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu

2015 2020 2025

Gly Ile Asn Tyr Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys

2030 2035 2040

Asn Asn Gln Ile Leu Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr

2045 2050 2055

Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala

2060 2065 2070

Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe

2075 2080 2085

Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met

2090 2095 2100

Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Ala Arg Asp Ala Leu

2105 2110 2115

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

2120 2125 2130

Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Leu

2135 2140 2145

Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe Leu

2150 2155 2160

Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met

2165 2170 2175

Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile

2180 2185 2190

Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu

2195 2200 2205

Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln

2210 2215 2220

Asp Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val

2225 2230 2235

Ala Ala Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys

2240 2245 2250

Lys Asp Leu Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser

2255 2260 2265

Asn Ile Leu Asp Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu
2270 2275 2280
Tyr Ala Val Ala Thr Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser
2285 2290 2295
Ile Glu Asn Ser Ser Val Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn
2300 2305 2310
Gln Ala Thr Val Leu Met Gly Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser
2315 2320 2325
Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser
2330 2335 2340
Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala Ala Leu Phe Leu Leu Val
2345 2350 2355
Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr
2360 2365 2370
Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro
2375 2380 2385
Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro Ile Pro Tyr
2390 2395 2400
Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val
2405 2410 2415
Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala Leu
2420 2425 2430
Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp
2435 2440 2445
Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser
2450 2455 2460
Met Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu
2465 2470 2475
Leu Phe Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr
2480 2485 2490
Gly Asn Ile Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu
2495 2500 2505
Asn Ala Leu Gly Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly
2510 2515 2520
Ile Gln Glu Val Asp Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg
2525 2530 2535
Gly Glu Thr Asp His His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu
2540 2545 2550
Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val

2555 2560 2565

Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly
2570 2575 2580

Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu Thr Lys Gly Gly
2585 2590 2595

Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr Gly Trp Asn
2600 2605 2610

Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile Pro Pro
2615 2620 2625

Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Pro
2630 2635 2640

Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Asn Leu
2645 2650 2655

Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val
2660 2665 2670

Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
2675 2680 2685

Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg
2690 2695 2700

Asn Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn
2705 2710 2715

Ile Val Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg
2720 2725 2730

Phe Thr Met Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp
2735 2740 2745

Leu Gly Ser Gly Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro
2750 2755 2760

Asn Leu Asp Ile Ile Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu
2765 2770 2775

His Glu Thr Ser Trp His Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr
2780 2785 2790

Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala
2795 2800 2805

Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp
2810 2815 2820

Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met Thr Asp Thr Thr
2825 2830 2835

Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg
2840 2845 2850

Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys Ile Thr
2855 2860 2865
Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro Arg
2870 2875 2880
Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala
2885 2890 2895
Ala Leu Gly Ala Val Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala
2900 2905 2910
Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
2915 2920 2925
Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr
2930 2935 2940
Asn Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys
2945 2950 2955
Ala Lys Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg
2960 2965 2970
Phe Leu Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp
2975 2980 2985
Phe Ser Arg Glu Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu
2990 2995 3000
His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly
3005 3010 3015
Gly Ala Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile
3020 3025 3030
Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu Met Val Thr Asn His Met
3035 3040 3045
Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr
3050 3055 3060
Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln Arg Pro Thr Pro Arg Gly
3065 3070 3075
Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg Gly Ser Gly
3080 3085 3090
Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Ala
3095 3100 3105
Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser Ile
3110 3115 3120
Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu
3125 3130 3135
Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly

3140 3145 3150
Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
3155 3160 3165
Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln
3170 3175 3180
Gln Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro
3185 3190 3195
Phe Cys Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg
3200 3205 3210
Val Leu Val Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg
3215 3220 3225
Ala Arg Ile Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala
3230 3235 3240
Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe
3245 3250 3255
His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala
3260 3265 3270
Val Pro Ser His Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile
3275 3280 3285
His Ala Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Thr Val
3290 3295 3300
Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp Met Glu Asp Lys
3305 3310 3315
Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg
3320 3325 3330
Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser Arg Ala
3335 3340 3345
Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg Ser
3350 3355 3360
Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys
3365 3370 3375
Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
3380 3385 3390

<210> 5
<211> 10717
<212> DNA
<213> 嵌合登革热血清型2/3 (chimeric dengue serotype 2/3) (MVS)
<400> 5
agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60

gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gaccattaaa actgttcatg 240
gccctggtgg cgttccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga 300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt 360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg 420
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acgcgtgatg gagagccgcg catgattgtg 480
gggaagaatg aaagaggaaa atccctactt ttcaagacag cctctggaat caacatgtgc 540
acactcatag ctatggatct gggagagatg tgtgatgaca cggtcactta caaatgcccc 600
cacattaccg aagtggagcc tgaagacatt gactgctggt gcaaccttac atcgacatgg 660
gtgacttatg gaacatgcaa tcaagctgga gagcatagac gcgataagag atcagtggcg 720
ttagctcccc atgttggcat gggactggac acacgcactc aaacctggat gtcggctgaa 780
ggagcttgga gacaagtcga gaaggtagag acatgggccc ttaggcaccc agggtttacc 840
atactagccc tatttcttgc ccattacata ggcacttcct tgacccagaa agtggttatt 900
tttatactat taatgctggt taccccatcc atgacaatga gatgtgtagg agtaggaaac 960
agagattttg tggaaggcct atcgggagct acgtgggttg acgtggtgct cgagcacggt 1020
gggtgtgtga ctaccatggc taagaacaag cccacgctgg acatagagct tcagaagacc 1080
gaggccaccc aactggcgac cctaaggaag ctatgcattg agggaaaaat taccaacata 1140
acaaccgact caagatgtcc cacccaaggg gaagcgattt tacctgagga gcaggaccag 1200
aactacgtgt gtaagcatac atacgtggac agaggctggg gaaacggttg tggtttgttt 1260
ggcaagggaa gcttggtgac atgcgcgaaa tttcaatgtt tagaatcaat agagggaaaa 1320
gtggtgcaac atgagaacct caaatacacc gtcatcatca cagtgcacac aggagaccaa 1380
caccaggtgg gaaatgaaac gcagggagtc acggctgaga taacacccca ggcatcaacc 1440
gctgaagcca ttttacctga atatggaacc ctcgggctag aatgctcacc acggacaggt 1500
ttggatttca atgaaatgat ctcattgaca atgaagaaca aagcatggat ggtacataga 1560
caatggttct ttgacttacc cctaccatgg acatcaggag cttcagcaga aacaccaact 1620
tggaacagga aagagcttct tgtgacattt aaaaatgcac atgcaaaaaa gcaagaagta 1680
gttgttcttg gatcacaaga gggagcaatg catacagcac tgacaggagc tacagagatc 1740
caaacctcag gaggcacaag tatctttgcg gggcacttaa aatgtagact caagatggac 1800
aaattggaac tcaaggggat gagctatgca atgtgcttga gtagctttgt gttgaagaaa 1860
gaagtctccg aaacgcagca tgggacaata ctcattaagg ttgagtacaa aggggaagat 1920
gcaccctgca agattccttt ctccacggag gatggacaag gaaaagctct caatggcaga 1980
ctgatcacag ccaatccagt ggtgaccaag aaggaggagc ctgtcaacat tgaggctgaa 2040
cctccttttg gagaaagtaa catagtaatt ggaattggag acaaagccct gaaaatcaac 2100
tggtacaaga agggaagctc gattgggaag atgttcgagg ccactgccag aggtgcaagg 2160
cgcatggcca tcttgggaga cacagcctgg gactttggat cagtgggtgg tgttttgaat 2220
tcattaggga aaatggtcca ccaaatattt gggagtgctt acacagccct atttggtgga 2280
gtctcctgga tgatgaaaat tggaataggt gtcctcttaa cctggatagg gttgaactca 2340
aaaaatactt ctatgtcatt ttcatgcatc gcggccggca ttgtgacact gtatttggga 2400

gtcatggtgc aggccgatag tggttgcgtt gtgagctgga aaaacaaaga actgaaatgt 2460
ggcagtggga ttttcatcac agacaacgtg cacacatgga cagaacaata caagttccaa 2520
ccagaatccc cttcaaaact agcttcagct atccagaaag cccatgaaga ggacatttgt 2580
ggaatccgct cagtaacaag actggagaat ctgatgtgga aacaaataac accagaattg 2640
aatcacattc tatcagaaaa tgaggtgaag ttaactatta tgacaggaga catcaaagga 2700
atcatgcagg caggaaaacg atctctgcgg cctcagccca ctgagctgaa gtattcatgg 2760
aaaacatggg gcaaagcaaa aatgctctct acagagtctc ataaccagac ctttctcatt 2820
gatggccccg aaacagcaga atgccccaac acaaatagag cttggaattc gttggaagtt 2880
gaagactatg gctttggagt attcaccacc aatatatggc taaaattgaa agaaaaacag 2940
gatgtattct gcgactcaaa actcatgtca gcggccataa aagacaacag agccgtccat 3000
gccgatatgg gttattggat agaaagtgca ctcaatgaca catggaagat agagaaagcc 3060
tctttcattg aagttaaaaa ctgccactgg ccaaaatcac acaccctctg gagcaatgga 3120
gtgctagaaa gtgagatgat aattccaaag aatctcgctg gaccagtgtc tcaacacaac 3180
tatagaccag gctaccatac acaaataaca ggaccatggc atctaggtaa gcttgagatg 3240
gactttgatt tctgtgatgg aacaacagtg gtagtgactg aggactgcgg aaatagagga 3300
ccctctttga gaacaaccac tgcctctgga aaactcataa cagaatggtg ctgccgatct 3360
tgcacattac caccgctaag atacagaggt gaggatgggt gctggtacgg gatggaaatc 3420
agaccattga aggagaaaga agagaatttg gtcaactcct tggtcacagc tggacatggg 3480
caggtcgaca acttttcact aggagtcttg ggaatggcat tgttcctgga ggaaatgctt 3540
aggacccgag taggaacgaa acatgcaata ctactagttg cagtttcttt tgtgacattg 3600
atcacaggga acatgtcctt tagagacctg ggaagagtga tggttatggt aggcgccact 3660
atgacggatg acataggtat gggcgtgact tatcttgccc tactagcagc cttcaaagtc 3720
agaccaactt ttgcagctgg actactcttg agaaagctga cctccaagga attgatgatg 3780
actactatag gaattgtact cctctcccag agcaccatac cagagaccat tcttgagttg 3840
actgatgcgt tagccttagg catgatggtc ctcaaaatgg tgagaaatat ggaaaagtat 3900
caattggcag tgactatcat ggctatcttg tgcgtcccaa acgcagtgat attacaaaac 3960
gcatggaaag tgagttgcac aatattggca gtggtgtccg tttccccact gttcttaaca 4020
tcctcacagc aaaaaacaga ttggatacca ttagcattga cgatcaaagg tctcaatcca 4080
acagctattt ttctaacaac cctctcaaga accagcaaga aaaggagctg gccattaaat 4140
gaggctatca tggcagtcgg gatggtgagc attttagcca gttctctcct aaaaaatgat 4200
attcccatga caggaccatt agtggctgga gggctcctca ctgtgtgcta cgtgctcact 4260
ggacgatcgg ccgatttgga actggagaga gcagccgatg tcaaatggga agaccaggca 4320
gagatatcag gaagcagtcc aatcctgtca ataacaatat cagaagatgg tagcatgtcg 4380
ataaaaaatg aagaggaaga acaaacactg accatactca ttagaacagg attgctggtg 4440
atctcaggac tttttcctgt atcaatacca atcacggcag cagcatggta cctgtgggaa 4500
gtgaagaaac aacgggccgg agtattgtgg gatgttcctt cacccccacc catgggaaag 4560
gctgaactgg aagatggagc ctatagaatt aagcaaaaag ggattcttgg atattcccag 4620
atcggagccg gagtttacaa agaaggaaca ttccatacaa tgtggcatgt cacacgtggc 4680
gctgttctaa tgcataaagg aaagaggatt gaaccatcat gggcggacgt caagaaagac 4740

ctaatatcat atggaggagg ctggaagtta gaaggagaat ggaaggaagg agaagaagtc 4800
caggtattgg cactggagcc tggaaaaaat ccaagagccg tccaaacgaa acctggtctt 4860
ttcaaaacca acgccggaac aataggtgct gtatctctgg acttttctcc tggaacgtca 4920
ggatctccaa ttatcgacaa aaaaggaaaa gttgtgggtc tttatggtaa tggtgttgtt 4980
acaaggagtg gagcatatgt gagtgctata gcccagactg aaaaaagcat tgaagacaac 5040
ccagagatcg aagatgacat tttccgaaag agaagactga ccatcatgga cctccaccca 5100
ggagcgggaa agacgaagag ataccttccg gccatagtca gagaagctat aaaacggggt 5160
ttgagaacat taatcttggc ccccactaga gttgtggcag ctgaaatgga ggaagccctt 5220
agaggacttc caataagata ccagacccca gccatcagag ctgtgcacac cgggcgggag 5280
attgtggacc taatgtgtca tgccacattt accatgaggc tgctatcacc agttagagtg 5340
ccaaactaca acctgattat catggacgaa gcccatttca cagacccagc aagtatagca 5400
gctagaggat acatctcaac tcgagtggag atgggtgagg cagctgggat ttttatgaca 5460
gccactcccc cgggaagcag agacccattt cctcagagca atgcaccaat catagatgaa 5520
gaaagagaaa tccctgaacg ctcgtggaat tccggacatg aatgggtcac ggattttaaa 5580
gggaagactg tttggttcgt tccaagtata aaagcaggaa atgatatagc agcttgcctg 5640
aggaaaaatg gaaagaaagt gatacaactc agtaggaaga cctttgattc tgagtatgtc 5700
aagactagaa ccaatgattg ggacttcgtg gttacaactg acatttcaga aatgggtgcc 5760
aatttcaagg ctgagagggt tatagacccc agacgctgca tgaaaccagt catactaaca 5820
gatggtgaag agcgggtgat tctggcagga cctatgccag tgacccactc tagtgcagca 5880
caaagaagag ggagaatagg aagaaatcca aaaaatgaga atgaccagta catatacatg 5940
ggggaacctc tggaaaatga tgaagactgt gcacactgga aagaagctaa aatgctccta 6000
gataacatca acacgccaga aggaatcatt cctagcatgt tcgaaccaga gcgtgaaaag 6060
gtggatgcca ttgatggcga ataccgcttg agaggagaag caaggaaaac ctttgtagac 6120
ttaatgagaa gaggagacct accagtctgg ttggcctaca gagtggcagc tgaaggcatc 6180
aactacgcag acagaaggtg gtgttttgat ggagtcaaga acaaccaaat cctagaagaa 6240
aacgtggaag ttgaaatctg gacaaaagaa ggggaaagga agaaattgaa acccagatgg 6300
ttggatgcta ggatctattc tgacccactg gcgctaaaag aatttaagga atttgcagcc 6360
ggaagaaagt ctctgaccct gaacctaatc acagaaatgg gtaggctccc aaccttcatg 6420
actcagaagg caagagacgc actggacaac ttagcagtgc tgcacacggc tgaggcaggt 6480
ggaagggcgt acaaccatgc tctcagtgaa ctgccggaga ccctggagac attgctttta 6540
ctgacacttc tggctacagt cacgggaggg atctttttat tcttgatgag cgcaaggggc 6600
atagggaaga tgaccctggg aatgtgctgc ataatcacgg ctagcatcct cctatggtac 6660
gcacaaatac agccacactg gatagcagct tcaataatac tggagttttt tctcatagtt 6720
ttgcttattc cagaacctga aaaacagaga acaccccaag acaaccaact gacctacgtt 6780
gtcatagcca tcctcacagt ggtggccgca accatggcaa acgagatggg tttcctagaa 6840
aaaacgaaga aagatctcgg attgggaagc attgcaaccc agcaacccga gagcaacatc 6900
ctggacatag atctacgtcc tgcatcagca tggacgctgt atgccgtggc cacaacattt 6960
gttacaccaa tgttgagaca tagcattgaa aattcctcag tgaatgtgtc cctaacagct 7020
atagccaacc aagccacagt gttaatgggt ctcgggaaag gatggccatt gtcaaagatg 7080

gacatcggag ttccccttct cgccattgga tgctactcac aagtcaaccc cataactctc 7140
acagcagctc ttttcttatt ggtagcacat tatgccatca tagggccagg actccaagca 7200
aaagcaacca gagaagctca gaaaagagca gcggcgggca tcatgaaaaa cccaactgtc 7260
gatggaataa cagtgattga cctagatcca ataccttatg atccaaagtt tgaaaagcag 7320
ttgggacaag taatgctcct agtcctctgc gtgactcaag tattgatgat gaggactaca 7380
tgggctctgt gtgaggcttt aaccttagct accgggccca tctccacatt gtgggaagga 7440
aatccaggga ggttttggaa cactaccatt gcggtgtcaa tggctaacat ttttagaggg 7500
agttacttgg ccggagctgg acttctcttt tctattatga agaacacaac caacacaaga 7560
aggggaactg gcaacatagg agagacgctt ggagagaaat ggaaaagccg attgaacgcg 7620
ttgggaaaaa gtgaattcca gatctacaag aaaagtggaa tccaggaagt ggatagaacc 7680
ttagcaaaag aaggcattaa aagaggagaa acggaccatc acgctgtgtc gcgaggctca 7740
gcaaaactga gatggttcgt tgagagaaac atggtcacac cagaagggaa agtagtggac 7800
ctcggttgtg gcagaggagg ctggtcatac tattgtggag gactaaagaa tgtaagagaa 7860
gtcaaaggcc taacaaaagg aggaccagga cacgaagaac ccatccccat gtcaacatat 7920
gggtggaatc tagtgcgtct tcaaagtgga gttgacgttt tcttcatccc gccagaaaag 7980
tgtgacacat tattgtgtga cataggggag tcatcaccaa atcccacagt ggaagcagga 8040
cgaacactca gagtccttaa cttagtagaa aattggttga acaacaacac tcaattttgc 8100
ataaaggttc tcaacccata tatgccctca gtcatagaaa aaatggaagc actacaaagg 8160
aaatatggag gagccttagt gaggaatcca ctctcacgaa actccacaca tgagatgtac 8220
tgggtatcca atgcttccgg gaacatagtg tcatcagtga acatgatttc aaggatgttg 8280
atcaacagat ttacaatgag atacaagaaa gccacttacg agccggatgt tgacctcgga 8340
agcggaaccc gtaacatcgg gattgaaagt gagataccaa acctagatat aattgggaaa 8400
agaatagaaa aaataaagca agagcatgaa acatcatggc actatgacca agaccaccca 8460
tacaaaacgt gggcatacca tggtagctat gaaacaaaac agactggatc agcatcatcc 8520
atggtcaacg gagtggtcag gctgctgaca aaaccttggg acgtcgtccc catggtgaca 8580
cagatggcaa tgacagacac gactccattt ggacaacagc gcgtttttaa agagaaagtg 8640
gacacgagaa cccaagaacc gaaagaaggc acgaagaaac taatgaaaat aacagcagag 8700
tggctttgga aagaattagg gaagaaaaag acacccagga tgtgcaccag agaagaattc 8760
acaagaaagg tgagaagcaa tgcagccttg ggggccatat tcactgatga gaacaagtgg 8820
aagtcggcac gtgaggctgt tgaagatagt aggttttggg agctggttga caaggaaagg 8880
aatctccatc ttgaaggaaa gtgtgaaaca tgtgtgtaca acatgatggg aaaaagagag 8940
aagaagctag gggaattcgg caaggcaaaa ggcagcagag ccatatggta catgtggctt 9000
ggagcacgct tcttagagtt tgaagcccta ggattcttaa atgaagatca ctggttctcc 9060
agagagaact ccctgagtgg agtggaagga gaagggctgc acaagctagg ttacattcta 9120
agagacgtga gcaagaaaga gggaggagca atgtatgccg atgacaccgc aggatgggat 9180
acaagaatca cactagaaga cctaaaaaat gaagaaatgg taacaaacca catggaagga 9240
gaacacaaga aactagccga ggccattttc aaactaacgt accaaaacaa ggtggtgcgt 9300
gtgcaaagac caacaccaag aggcacagta atggacatca tatcgagaag agaccaaaga 9360
ggtagtggac aagttggcac ctatggactc aatactttca ccaatatgga agcccaacta 9420

atcagacaga tggagggaga aggagtcttt aaaagcattc agcacctaac aatcacagaa 9480
gaaatcgctg tgcaaaactg gttagcaaga gtggggcgcg aaaggttatc aagaatggcc 9540
atcagtggag atgattgtgt tgtgaaacct ttagatgaca ggttcgcaag cgctttaaca 9600
gctctaaatg acatgggaaa gattaggaaa gacatacaac aatgggaacc ttcaagagga 9660
tggaatgatt ggacacaagt gcccttctgt tcacaccatt tccatgagtt aatcatgaaa 9720
gacggtcgcg tactcgttgt tccatgtaga aaccaagatg aactgattgg cagagcccga 9780
atctcccaag gagcagggtg gtctttgcgg gagacggcct gtttggggaa gtcttacgcc 9840
caaatgtgga gcttgatgta cttccacaga cgcgacctca ggctggcggc aaatgctatt 9900
tgctcggcag taccatcaca ttgggttcca acaagtcgaa caacctggtc catacatgct 9960
aaacatgaat ggatgacaac ggaagacatg ctgacagtct ggaacagggt gtggattcaa 10020
gaaaacccat ggatggaaga caaaactcca gtggaatcat gggaggaaat cccatacttg 10080
gggaaaagag aagaccaatg gtgcggctca ttgattgggt taacaagcag ggccacctgg 10140
gcaaagaaca tccaagcagc aataaatcaa gttagatccc ttataggcaa tgaagaatac 10200
acagattaca tgccatccat gaaaagattc agaagagaag aggaagaagc aggagttctg 10260
tggtagaaag caaaactaac atgaaacaag gctagaagtc aggtcggatt aagccatagt 10320
acggaaaaaa ctatgctacc tgtgagcccc gtccaaggac gttaaaagaa gtcaggccat 10380
cataaatgcc atagcttgag taaactatgc agcctgtagc tccacctgag aaggtgtaaa 10440
aaatccggga ggccacaaac catggaagct gtacgcatgg cgtagtggac tagcggttag 10500
aggagacccc tcccttacaa atcgcagcaa caatgggggc ccaaggcgag atgaagctgt 10560
agtctcgctg gaaggactag aggttagagg agacccccccc gaaacaaaaa acagcatatt 10620
gacgctggga aagaccagag atcctgctgt ctcctcagca tcattccagg cacagaacgc 10680
cagaaaatgg aatggtgctg ttgaatcaac aggttct 10717

<210> 6
<211> 3389
<212> PRT
<213> 嵌合登革热血清型2/3 (chimeric dengue serotype 2/3) (MVS)
<400> 6

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

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

405 410 415
Tyr Thr Val Ile Ile Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly
420 425 430
Asn Glu Thr Gln Gly Val Thr Ala Glu Ile Thr Pro Gln Ala Ser Thr
435 440 445
Ala Glu Ala Ile Leu Pro Glu Tyr Gly Thr Leu Gly Leu Glu Cys Ser
450 455 460
Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Ile Ser Leu Thr Met Lys
465 470 475 480
Asn Lys Ala Trp Met Val His Arg Gln Trp Phe Phe Asp Leu Pro Leu
485 490 495
Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Ala Glu Thr Pro Thr Trp Asn Arg Lys
500 505 510
Glu Leu Leu Val Thr Phe Lys Asn Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val
515 520 525
Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly
530 535 540
Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Gly Thr Ser Ile Phe Ala Gly His
545 550 555 560
Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Glu Leu Lys Gly Met Ser
565 570 575
Tyr Ala Met Cys Leu Ser Ser Phe Val Leu Lys Lys Glu Val Ser Glu
580 585 590
Thr Gln His Gly Thr Ile Leu Ile Lys Val Glu Tyr Lys Gly Glu Asp
595 600 605
Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Glu Asp Gly Gln Gly Lys Ala
610 615 620
Leu Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Val Thr Lys Lys Glu
625 630 635 640
Glu Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser Asn Ile
645 650 655
Val Ile Gly Ile Gly Asp Lys Ala Leu Lys Ile Asn Trp Tyr Lys Lys
660 665 670
Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly Ala Arg
675 680 685
Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly
690 695 700
Gly Val Leu Asn Ser Leu Gly Lys Met Val His Gln Ile Phe Gly Ser
705 710 715 720

Ala Tyr Thr Ala Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Met Lys Ile Gly
725 730 735
Ile Gly Val Leu Leu Thr Trp Ile Gly Leu Asn Ser Lys Asn Thr Ser
740 745 750
Met Ser Phe Ser Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr Leu Gly
755 760 765
Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys Asn Lys
770 775 780
Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val His Thr
785 790 795 800
Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys Leu Ala
805 810 815
Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile Arg Ser
820 825 830
Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro Glu Leu
835 840 845
Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met Thr Gly
850 855 860
Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg Pro Gln
865 870 875 880
Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala Lys Met
885 890 895
Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly Pro Glu
900 905 910
Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu Glu Val
915 920 925
Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu Lys Leu
930 935 940
Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser Ala Ala
945 950 955 960
Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp Ile Glu
965 970 975
Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe Ile Glu
980 985 990
Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser Asn Gly
995 1000 1005
Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly Pro
1010 1015 1020
Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr

1025 1030 1035

Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys

1040 1045 1050

Asp Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly

1055 1060 1065

Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu

1070 1075 1080

Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly

1085 1090 1095

Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu

1100 1105 1110

Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly

1115 1120 1125

Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe

1130 1135 1140

Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile

1145 1150 1155

Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu Ile Thr Gly Asn Met

1160 1165 1170

Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met Val Gly Ala Thr

1175 1180 1185

Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu Ala Leu Leu

1190 1195 1200

Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu Leu Leu

1205 1210 1215

Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr Ile Gly Ile

1220 1225 1230

Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu Glu Leu

1235 1240 1245

Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val Arg

1250 1255 1260

Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu

1265 1270 1275

Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser

1280 1285 1290

Cys Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr

1295 1300 1305

Ser Ser Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile

1310 1315 1320

Lys Gly Leu Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg
1325 1330 1335
Thr Ser Lys Lys Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala
1340 1345 1350
Val Gly Met Val Ser Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp
1355 1360 1365
Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val
1370 1375 1380
Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala Asp Leu Glu Leu Glu Arg
1385 1390 1395
Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala Glu Ile Ser Gly Ser
1400 1405 1410
Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp Gly Ser Met Ser
1415 1420 1425
Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu Thr Ile Leu Ile Arg
1430 1435 1440
Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser Ile Pro
1445 1450 1455
Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys Gln Arg
1460 1465 1470
Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met Gly Lys
1475 1480 1485
Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly Ile
1490 1495 1500
Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr
1505 1510 1515
Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His
1520 1525 1530
Lys Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp
1535 1540 1545
Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys
1550 1555 1560
Glu Gly Glu Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn
1565 1570 1575
Pro Arg Ala Val Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala
1580 1585 1590
Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser
1595 1600 1605
Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr

1610 1615 1620
Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile
1625 1630 1635
Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp
1640 1645 1650
Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met Asp Leu His Pro
1655 1660 1665
Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile Val Arg Glu
1670 1675 1680
Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro Thr Arg
1685 1690 1695
Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu Pro Ile
1700 1705 1710
Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly Arg Glu
1715 1720 1725
Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu Leu
1730 1735 1740
Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
1745 1750 1755
Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile
1760 1765 1770
Ser Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr
1775 1780 1785
Ala Thr Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala
1790 1795 1800
Pro Ile Ile Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn
1805 1810 1815
Ser Gly His Glu Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp
1820 1825 1830
Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu
1835 1840 1845
Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe
1850 1855 1860
Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val
1865 1870 1875
Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu
1880 1885 1890
Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro Val Ile Leu Thr
1895 1900 1905

Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro Val Thr
1910 1915 1920
His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg Asn Pro
1925 1930 1935
Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro Leu Glu
1940 1945 1950
Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met Leu Leu
1955 1960 1965
Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe Glu
1970 1975 1980
Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu
1985 1990 1995
Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly
2000 2005 2010
Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile
2015 2020 2025
Asn Tyr Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn
2030 2035 2040
Gln Ile Leu Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu
2045 2050 2055
Gly Glu Arg Lys Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile
2060 2065 2070
Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala
2075 2080 2085
Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg
2090 2095 2100
Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Ala Arg Asp Ala Leu Asp Asn
2105 2110 2115
Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu Ala Gly Gly Arg Ala Tyr Asn
2120 2125 2130
His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Leu Leu Leu
2135 2140 2145
Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe Leu Phe Leu
2150 2155 2160
Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met Cys Cys
2165 2170 2175
Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile Gln Pro
2180 2185 2190
His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu Ile Val

2195 2200 2205

Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp Asn
2210 2215 2220

Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala
2225 2230 2235

Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp
2240 2245 2250

Leu Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile
2255 2260 2265

Leu Asp Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala
2270 2275 2280

Val Ala Thr Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu
2285 2290 2295

Asn Ser Ser Val Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala
2300 2305 2310

Thr Val Leu Met Gly Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met
2315 2320 2325

Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val
2330 2335 2340

Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala Ala Leu Phe Leu Leu Val Ala His
2345 2350 2355

Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu
2360 2365 2370

Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro Thr Val
2375 2380 2385

Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro Ile Pro Tyr Asp Pro
2390 2395 2400

Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val Leu Cys
2405 2410 2415

Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala Leu Cys Glu
2420 2425 2430

Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp Glu Gly
2435 2440 2445

Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met Ala
2450 2455 2460

Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe
2465 2470 2475

Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly Asn
2480 2485 2490

Ile Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu Asn Ala
2495 2500 2505
Leu Gly Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Gln
2510 2515 2520
Glu Val Asp Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg Gly Glu
2525 2530 2535
Thr Asp His His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp
2540 2545 2550
Phe Val Glu Arg Asn Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val Val Asp
2555 2560 2565
Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu
2570 2575 2580
Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly
2585 2590 2595
His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val
2600 2605 2610
Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile Pro Pro Glu Lys
2615 2620 2625
Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Pro Asn Pro
2630 2635 2640
Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Asn Leu Val Glu
2645 2650 2655
Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val Leu Asn
2660 2665 2670
Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu Gln Arg
2675 2680 2685
Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn Ser
2690 2695 2700
Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val
2705 2710 2715
Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr
2720 2725 2730
Met Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly
2735 2740 2745
Ser Gly Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu
2750 2755 2760
Asp Ile Ile Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu
2765 2770 2775
Thr Ser Trp His Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala

2780 2785 2790

Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser

2795 2800 2805

Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val

2810 2815 2820

Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe

2825 2830 2835

Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln

2840 2845 2850

Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys Ile Thr Ala Glu

2855 2860 2865

Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro Arg Met Cys

2870 2875 2880

Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala Ala Leu

2885 2890 2895

Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala Arg Glu

2900 2905 2910

Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys Glu Arg

2915 2920 2925

Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn Met

2930 2935 2940

Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys

2945 2950 2955

Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu

2960 2965 2970

Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser

2975 2980 2985

Arg Glu Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys

2990 2995 3000

Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala

3005 3010 3015

Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu

3020 3025 3030

Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly

3035 3040 3045

Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln

3050 3055 3060

Asn Lys Val Val Arg Val Gln Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val

3065 3070 3075

Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val
3080 3085 3090
Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Ala Gln Leu
3095 3100 3105
Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser Ile Gln His
3110 3115 3120
Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu Ala Arg
3125 3130 3135
Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly Asp Asp
3140 3145 3150
Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala Leu Thr
3155 3160 3165
Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln Trp
3170 3175 3180
Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys
3185 3190 3195
Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu
3200 3205 3210
Val Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg
3215 3220 3225
Ile Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu
3230 3235 3240
Gly Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg
3245 3250 3255
Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro
3260 3265 3270
Ser His Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala
3275 3280 3285
Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn
3290 3295 3300
Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro
3305 3310 3315
Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp
3320 3325 3330
Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser Arg Ala Thr Trp
3335 3340 3345
Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg Ser Leu Ile
3350 3355 3360
Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys Arg Phe

3365 3370 3375

Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp

3380 3385

<210> 7

<211> 10723

<212> DNA

<213> 嵌合登革热血清型2/4 (chimeric dengue seroytpe 2/4) (MVS)

<220>

<221> r

<222> (3773)..(3773)

<223> a或g

<400> 7

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gacctttaaa actgttcatg 240
gccctggtgg cgttccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga 300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt 360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagctctg caggcatgat cattatgctg 420
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acgcgtgatg gcgaacccct catgatagtg 480
gcaaaacatg aaagggggag acctctcttg tttaagacaa cagaggggat caacaaatgc 540
actctcattg ccatggactt gggtgaaatg tgtgaggaca ctgtcacgta taaatgcccc 600
ttactggtca ataccgaacc tgaagacatt gattgctggt gcaatctcac gtctacctgg 660
gtcatgtatg ggacatgcac ccagagcgga gaacggagac gagagaagcg ctcagtagct 720
ttaacaccac attcaggaat gggattggaa acaagagctg agacatggat gtcatcggaa 780
ggggcttgga agcatgctca gagagtagag agctggatac tcagaaaccc aggattcgcg 840
ctcttggcag gatttatggc ttatatgatt gggcaaacag gaatccagcg aactgtcttc 900
tttgtcctaa tgatgctggt cgccccatcc tacggaatgc gatgcgtagg agtaggaaac 960
agagactttg tggaaggagt ctcaggtgga gcatgggtcg atctggtgct agaacatgga 1020
ggatgcgtca caaccatggc ccagggaaaa ccaaccttgg attttgaact gactaagaca 1080
acagccaagg aagtggctct gttaagaacc tattgcattg aagcctcaat atcaaacata 1140
accacggcaa caagatgtcc aacgcaagga gagccttatc taaaagagga acaagaccaa 1200
cagtacattt gccggagaga tgtggtagac agagggtggg gcaatggctg tggcttgttt 1260
ggaaaaggag gagttgtgac atgtgcgaag ttttcatgtt cggggaagat aacaggcaat 1320
ttggtccaaa ttgagaacct tgaatacaca gtggttgtaa cagtccacaa tggagacacc 1380
catgcagtag gaaatgacac gtccaatcat ggagttacag ccacgataac tcccaggtca 1440
ccatcggtgg aagtcaaatt gccggactat ggagaactaa cactcgattg tgaacccagg 1500
tctggaattg actttaatga gatgattctg atgaaaatga aaaagaaaac atggcttgtg 1560
cataagcaat ggtttttgga tctacctcta ccatggacag caggagcaga cacatcagag 1620

gttcactgga attacaaaga gagaatggtg acatttaagg ttcctcatgc caagagacag 1680
gatgtgacag tgctgggatc tcaggaagga gccatgcatt ctgccctcgc tggagccaca 1740
gaagtggact ccggtgatgg aaatcacatg tttgcaggac atctcaagtg caaagtccgt 1800
atggagaaat tgagaatcaa gggaatgtca tacacgatgt gttcaggaaa gttctcaatt 1860
gacaaagaga tggcagaaac acagcatggg acaacagtgg tgaaagtcaa gtatgaaggt 1920
gctggagctc cgtgtaaagt ccccatagag ataagagatg tgaacaagga aaaagtggtt 1980
gggcgtatca tctcatccac ccctttggct gagaatacca acagtgtaac caacatagag 2040
ttagaacccc cctttgggga cagctacata gtgataggtg ttggaaacag tgcattaaca 2100
ctccattggt tcaggaaagg gagttccatt ggcaagatgt ttgagtccac atacagaggt 2160
gcaaaacgaa tggccattct aggtgaaaca gcttgggatt ttggttccgt tggtggactg 2220
ttcacatcat tgggaaaggc tgtgcaccag gtttttggaa gtgtgtatac aaccctgttt 2280
ggaggagtct catggatgat tagaatccta attgggttcc tagtgttgtg gattggcacg 2340
aactcaagga acacttcaat ggctatgacg tgcatagctg ccggcattgt gacactgtat 2400
ttgggggtca tggtgcaggc cgatagtggt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg 2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag 2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac 2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca 2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc 2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga gctgaagtat 2760
tcatggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt 2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg 2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa 2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc 3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag 3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc 3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa 3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacaa ataacaggac catggcatct aggtaagctt 3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat 3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc 3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg 3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggt cacagctgga 3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa 3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg 3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc 3660
gccactatga cgggtgacat aggtatgggc gtgacttatc ttgccctact agcagccttc 3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc carggaattg 3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcctc tcccagagca ccataccaga gaccattctt 3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa 3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta 3960

caaaacgcat ggaaagtgag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgtttc cccactgttc 4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc 4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca 4140
ttaaatgagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa 4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tcctcactgt gtgctacgtg 4260
ctcactggac gatcggccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac 4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc 4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagaacaa acactgacca tactcattag aacaggattg 4440
ctggtgatct caggactttt tcctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg 4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg 4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttggatat 4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca 4680
cgtggcgctg ttctaatgca taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag 4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa 4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct 4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga 4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagttg tgggtcttta tggtaatggt 4980
gttgttacaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa 5040
gacaacccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc 5100
cacccaggag cgggaaagac gaagagatac cttccggcca tagtcagaga agctataaaa 5160
cggggtttga gaacattaat cttggccccc actagagttg tggcagctga aatggaggaa 5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag accccagcca tcagagctgt gcacaccggg 5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt 5340
agagtgccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga tccagcaagt 5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt 5460
atgacagcca ctccccgggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata 5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat 5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct 5640
tgcctgagga aaaatggaaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag 5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg 5760
ggtgccaatt tcaaggctga gagggttata gaccccagac gctgcatgaa accagtcata 5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgac ccactctagt 5880
gcagcacaaa gaagagggag aataggaaga aatccaaaaa atgagaatga ccagtacata 5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg 6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt 6060
gaaaaggtgg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt 6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa 6180
ggcatcaact acgcagacag aaggtggtgt tttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta 6240
gaagaaaacg tggaagttga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc 6300

agatggttgg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggaattt 6360
gcagccggaa gaaagtctct gaccctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctcccaacc 6420
ttcatgactc agaaggtaag agacgcactg gacaacttag cagtgctgca cacggctgag 6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg 6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca 6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta 6660
tggtacgcac aaatacagcc acactggata gcagcttcaa taatactgga gtttttctc 6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc 6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtggtg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc 6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caacccagca acccgagagc 6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca 6960
acatttgtta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtgaa tgtgtcccta 7020
acagccatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca 7080
aagatggaca tcggagttcc ccttctcgcc attggatgct actcacaagt caaccccata 7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc 7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaaccca 7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa 7320
aagcagttgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg 7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg 7440
gaaggaaatc cagggaggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt 7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac 7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg 7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat 7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgcga 7740
ggctcagcaa aactgagatg gttcgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta 7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta 7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca 7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgcca 7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcat caccaaatcc cacagtggaa 8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa 8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatatatg ccctcagtca tagaaaaaat ggaagcacta 8160
caaaggaaat atggaggagc cttagtgagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag 8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg 8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac 8340
ctcggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt 8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac 8460
cacccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaaacagac tggatcagca 8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtccccatg 8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag 8640

aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca 8700
gcagagtggc tttggaaaga attagggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa 8760
gaattcacaa gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac 8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag 8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa 8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg 9000
tggcttggag cacgcttctt agagtttgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg 9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac 9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga 9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg 9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg 9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatatc gagaagagac 9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcaccaa tatggaagcc 9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc 9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga 9540
atggccatca gtggagatga ttgtgttgtg aaacctttag atgacaggtt cgcaagcgct 9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca 9660
agaggatgga atgattggac acaagtgccc ttctgttcac accatttcca tgagttaatc 9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgttgttccc tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga 9780
gcccgaatct cccaaggagc agggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct 9840
tacgcccaaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgcg acctcaggct ggcggcaaat 9900
gctatttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata 9960
catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg 10020
attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca 10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140
acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200
gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260
gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320
catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380
ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc tgtagctcca cctgagaagg 10440
tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500
ggttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560
agctgtagtc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac ccccccgaaa caaaaaacag 10620
catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680
gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 8
<211> 3391
<212> PRT
<213> 嵌合登革热血清型2/4 (chimeric dengue serotype 2/4) (MVS)

<220>
<221> Xaa
<222> (1226)..(1226)
<223> Arg或Lys
<400> 8

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

Met Leu Val Ala Pro Ser Tyr Gly Met Arg Cys Val Gly Val Gly Asn
275 280 285
Arg Asp Phe Val Glu Gly Val Ser Gly Gly Ala Trp Val Asp Leu Val
290 295 300
Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Gln Gly Lys Pro Thr
305 310 315 320
Leu Asp Phe Glu Leu Thr Lys Thr Thr Ala Lys Glu Val Ala Leu Leu
325 330 335
Arg Thr Tyr Cys Ile Glu Ala Ser Ile Ser Asn Ile Thr Thr Ala Thr
340 345 350
Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Pro Tyr Leu Lys Glu Glu Gln Asp Gln
355 360 365
Gln Tyr Ile Cys Arg Arg Asp Val Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
370 375 380
Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Gly Val Val Thr Cys Ala Lys Phe Ser
385 390 395 400
Cys Ser Gly Lys Ile Thr Gly Asn Leu Val Gln Ile Glu Asn Leu Glu
405 410 415
Tyr Thr Val Val Val Thr Val His Asn Gly Asp Thr His Ala Val Gly
420 425 430
Asn Asp Thr Ser Asn His Gly Val Thr Ala Thr Ile Thr Pro Arg Ser
435 440 445
Pro Ser Val Glu Val Lys Leu Pro Asp Tyr Gly Glu Leu Thr Leu Asp
450 455 460
Cys Glu Pro Arg Ser Gly Ile Asp Phe Asn Glu Met Ile Leu Met Lys
465 470 475 480
Met Lys Lys Lys Thr Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu
485 490 495
Pro Leu Pro Trp Thr Ala Gly Ala Asp Thr Ser Glu Val His Trp Asn
500 505 510
Tyr Lys Glu Arg Met Val Thr Phe Lys Val Pro His Ala Lys Arg Gln
515 520 525
Asp Val Thr Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Ser Ala Leu
530 535 540
Ala Gly Ala Thr Glu Val Asp Ser Gly Asp Gly Asn His Met Phe Ala
545 550 555 560
Gly His Leu Lys Cys Lys Val Arg Met Glu Lys Leu Arg Ile Lys Gly
565 570 575
Met Ser Tyr Thr Met Cys Ser Gly Lys Phe Ser Ile Asp Lys Glu Met

580 585 590
Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Thr Val Val Lys Val Lys Tyr Glu Gly
595 600 605
Ala Gly Ala Pro Cys Lys Val Pro Ile Glu Ile Arg Asp Val Asn Lys
610 615 620
Glu Lys Val Val Gly Arg Ile Ile Ser Ser Thr Pro Leu Ala Glu Asn
625 630 635 640
Thr Asn Ser Val Thr Asn Ile Glu Leu Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser
645 650 655
Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Asn Ser Ala Leu Thr Leu His Trp Phe
660 665 670
Arg Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ser Thr Tyr Arg Gly
675 680 685
Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Glu Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
690 695 700
Val Gly Gly Leu Phe Thr Ser Leu Gly Lys Ala Val His Gln Val Phe
705 710 715 720
Gly Ser Val Tyr Thr Thr Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Ile Arg
725 730 735
Ile Leu Ile Gly Phe Leu Val Leu Trp Ile Gly Thr Asn Ser Arg Asn
740 745 750
Thr Ser Met Ala Met Thr Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr
755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys
770 775 780
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val
785 790 795 800
His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
805 810 815
Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile
820 825 830
Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
835 840 845
Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
850 855 860
Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg
865 870 875 880
Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
885 890 895

Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
900 905 910
Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu
915 920 925
Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
930 935 940
Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
945 950 955 960
Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
965 970 975
Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
980 985 990
Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
995 1000 1005
Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala
1010 1015 1020
Gly Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln
1025 1030 1035
Ile Thr Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp
1040 1045 1050
Phe Cys Asp Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn
1055 1060 1065
Arg Gly Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile
1070 1075 1080
Thr Glu Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr
1085 1090 1095
Arg Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu
1100 1105 1110
Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly
1115 1120 1125
His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly Val Leu Gly Met Ala
1130 1135 1140
Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val Gly Thr Lys His
1145 1150 1155
Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu Ile Thr Gly
1160 1165 1170
Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met Val Gly
1175 1180 1185
Ala Thr Met Thr Gly Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu Ala

1190 1195 1200

Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu

1205 1210 1215

Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Xaa Glu Leu Met Met Thr Thr Ile

1220 1225 1230

Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu

1235 1240 1245

Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met

1250 1255 1260

Val Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala

1265 1270 1275

Ile Leu Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys

1280 1285 1290

Val Ser Cys Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe

1295 1300 1305

Leu Thr Ser Ser Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu

1310 1315 1320

Thr Ile Lys Gly Leu Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu

1325 1330 1335

Ser Arg Thr Ser Lys Lys Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile

1340 1345 1350

Met Ala Val Gly Met Val Ser Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys

1355 1360 1365

Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu

1370 1375 1380

Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala Asp Leu Glu Leu

1385 1390 1395

Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala Glu Ile Ser

1400 1405 1410

Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp Gly Ser

1415 1420 1425

Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu Thr Ile Leu

1430 1435 1440

Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser

1445 1450 1455

Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys

1460 1465 1470

Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met

1475 1480 1485

Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys
1490 1495 1500
Gly Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu
1505 1510 1515
Gly Thr Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu
1520 1525 1530
Met His Lys Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys
1535 1540 1545
Lys Asp Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu
1550 1555 1560
Trp Lys Glu Gly Glu Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly
1565 1570 1575
Lys Asn Pro Arg Ala Val Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr
1580 1585 1590
Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly
1595 1600 1605
Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys Gly Lys Val Val Gly
1610 1615 1620
Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly Ala Tyr Val Ser
1625 1630 1635
Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn Pro Glu Ile
1640 1645 1650
Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met Asp Leu
1655 1660 1665
His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile Val
1670 1675 1680
Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro
1685 1690 1695
Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu
1700 1705 1710
Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
1715 1720 1725
Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg
1730 1735 1740
Leu Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met
1745 1750 1755
Asp Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly
1760 1765 1770
Tyr Ile Ser Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe

1775 1780 1785
Met Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser
1790 1795 1800
Asn Ala Pro Ile Ile Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser
1805 1810 1815
Trp Asn Ser Gly His Glu Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr
1820 1825 1830
Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala
1835 1840 1845
Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys
1850 1855 1860
Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr Asn Asp Trp Asp
1865 1870 1875
Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys
1880 1885 1890
Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro Val Ile
1895 1900 1905
Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro
1910 1915 1920
Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg
1925 1930 1935
Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro
1940 1945 1950
Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
1955 1960 1965
Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met
1970 1975 1980
Phe Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr
1985 1990 1995
Arg Leu Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg
2000 2005 2010
Arg Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu
2015 2020 2025
Gly Ile Asn Tyr Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys
2030 2035 2040
Asn Asn Gln Ile Leu Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr
2045 2050 2055
Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala
2060 2065 2070

Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe
2075 2080 2085
Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met
2090 2095 2100
Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Val Arg Asp Ala Leu
2105 2110 2115
Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu Ala Gly Gly Arg Ala
2120 2125 2130
Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Leu
2135 2140 2145
Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe Leu
2150 2155 2160
Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met
2165 2170 2175
Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile
2180 2185 2190
Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu
2195 2200 2205
Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln
2210 2215 2220
Asp Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val
2225 2230 2235
Ala Ala Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys
2240 2245 2250
Lys Asp Leu Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser
2255 2260 2265
Asn Ile Leu Asp Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu
2270 2275 2280
Tyr Ala Val Ala Thr Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser
2285 2290 2295
Ile Glu Asn Ser Ser Val Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn
2300 2305 2310
Gln Ala Thr Val Leu Met Gly Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser
2315 2320 2325
Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser
2330 2335 2340
Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala Ala Leu Phe Leu Leu Val
2345 2350 2355
Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr

2360 2365 2370

Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro

2375 2380 2385

Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro Ile Pro Tyr

2390 2395 2400

Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val

2405 2410 2415

Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala Leu

2420 2425 2430

Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp

2435 2440 2445

Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser

2450 2455 2460

Met Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu

2465 2470 2475

Leu Phe Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr

2480 2485 2490

Gly Asn Ile Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu

2495 2500 2505

Asn Ala Leu Gly Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly

2510 2515 2520

Ile Gln Glu Val Asp Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg

2525 2530 2535

Gly Glu Thr Asp His His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu

2540 2545 2550

Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val

2555 2560 2565

Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly

2570 2575 2580

Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu Thr Lys Gly Gly

2585 2590 2595

Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr Gly Trp Asn

2600 2605 2610

Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile Pro Pro

2615 2620 2625

Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Pro

2630 2635 2640

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

2645 2650 2655

Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val
2660 2665 2670
Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
2675 2680 2685
Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg
2690 2695 2700
Asn Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn
2705 2710 2715
Ile Val Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg
2720 2725 2730
Phe Thr Met Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp
2735 2740 2745
Leu Gly Ser Gly Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro
2750 2755 2760
Asn Leu Asp Ile Ile Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu
2765 2770 2775
His Glu Thr Ser Trp His Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr
2780 2785 2790
Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala
2795 2800 2805
Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp
2810 2815 2820
Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met Thr Asp Thr Thr
2825 2830 2835
Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg
2840 2845 2850
Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys Ile Thr
2855 2860 2865
Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro Arg
2870 2875 2880
Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala
2885 2890 2895
Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala
2900 2905 2910
Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
2915 2920 2925
Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr
2930 2935 2940
Asn Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys

2945 2950 2955

Ala Lys Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg

2960 2965 2970

Phe Leu Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp

2975 2980 2985

Phe Ser Arg Glu Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu

2990 2995 3000

His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly

3005 3010 3015

Gly Ala Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile

3020 3025 3030

Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu Met Val Thr Asn His Met

3035 3040 3045

Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr

3050 3055 3060

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

3065 3070 3075

Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg Gly Ser Gly

3080 3085 3090

Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Ala

3095 3100 3105

Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser Ile

3110 3115 3120

Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu

3125 3130 3135

Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly

3140 3145 3150

Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala

3155 3160 3165

Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln

3170 3175 3180

Gln Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro

3185 3190 3195

Phe Cys Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg

3200 3205 3210

Val Leu Val Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg

3215 3220 3225

Ala Arg Ile Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala

3230 3235 3240

Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe
3245 3250 3255
His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala
3260 3265 3270
Val Pro Ser His Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile
3275 3280 3285
His Ala Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Thr Val
3290 3295 3300
Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp Met Glu Asp Lys
3305 3310 3315
Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg
3320 3325 3330
Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser Arg Ala
3335 3340 3345
Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg Ser
3350 3355 3360
Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys
3365 3370 3375
Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
3380 3385 3390

<210> 9
<211> 10735
<212> DNA
<213> 登革热病毒(dengue virus)
<400> 9

agttgttagt ctacgtggac cgacaagaac agtttcgaat cggaagcttg cttaacgtag 60
ttctaacagt tttttattag agagcagatc tctgatgatc aaccaacgaa aaaagacggg 120
tcgaccgtct ttcaatatgc tgaaacgcgc gagaaaccgc gtgtcaactg tttcacagtt 180
ggcgaagaga ttctcaaaag gattgctctc aggccaagga cccatgaaat tggtgatggc 240
tttcatagca ttcttaagat ttctagccat acccccaaca gcaggaattt tggctagatg 300
gggctcattc aagaagaatg gagcgattaa agtgttacgg ggtttcaaga gagaaatctc 360
aaacatgcta aacataatga acaggaggaa aagatccgtg accatgctcc ttatgctgct 420
gcccacagcc ctggcgttcc atctgacgac acgaggggga gagccgcata tgatagttag 480
caagcaggaa agaggaaagt cacttttgtt caagacctct gcaggtgtca acatgtgcac 540
cctcattgcg atggatttgg gagagttgtg tgaggacacg atgacctaca aatgcccccg 600
gatcactgag gcggaaccag atgacgttga ctgttggtgc aatgccacgg acacatgggt 660
gacctatgga acgtgctctc aaactggcga acaccgacga gacaaacgtt ccgtcgcatt 720
ggccccacac gtggggcttg gcctagaaac aagagccgaa acgtggatgt cctctgaagg 780
tgcttggaaa cagatacaaa aagtagagac ttgggctctg agacatccag gattcacggt 840

gatagccctt tttctagcac atgccatagg aacatccatc acccagaaag ggatcatttt 900
cattttgctg atgctggtaa caccatctat ggccatgcga tgcgtgggaa taggcaacag 960
agacttcgtg gaaggactgt caggagcaac atgggtggat gtggtactgg agcatggaag 1020
ttgcgtcacc accatggcaa aaaacaaacc aacactggac attgaactct tgaagacgga 1080
ggtcacaaac cctgcagttc tgcgtaaatt gtgcattgaa gctaaaatat caaacaccac 1140
caccgattcg agatgtccaa cacaaggaga agccacactg gtggaagaac aagacgcgaa 1200
ctttgtgtgc cgacgaacgt tcgtggacag aggctggggc aatggctgtg ggctattcgg 1260
aaaaggtagt ctaataacgt gtgccaagtt taagtgtgtg acaaaactag aaggaaagat 1320
agttcaatat gaaaacctaa aatattcagt gatagtcacc gtccacactg gagatcagca 1380
ccaggtggga aatgagacta cagaacatgg aacaactgca accataacac ctcaagctcc 1440
tacgtcggaa atacagctga ccgactacgg aacccttaca ttagattgtt cacctaggac 1500
agggctagat tttaacgaga tggtgttgct gacaatgaaa gaaagatcat ggcttgtcca 1560
caaacaatgg tttctagact taccactgcc ttggacctct ggggcttcaa catcccaaga 1620
gacttggaac agacaagatt tactggtcac atttaagaca gctcatgcaa agaagcagga 1680
agtagtcgta ctaggatcac aagaaggagc aatgcacact gcgctgactg gagcgacaga 1740
aatccaaacg tcaggaacga caacaatttt cgcaggacac ctaaaatgca gactaaaaat 1800
ggacaaacta actttaaaag ggatgtcata tgtgatgtgc acaggctcat tcaagttaga 1860
gaaagaagtg gctgagaccc agcatggaac tgttctggtg caggttaaat atgaaggaac 1920
agacgcacca tgcaagattc ccttttcgac ccaagatgag aaaggagcaa cccagaatgg 1980
gagattaata acagccaacc ccatagtcac tgacaaagaa aaaccagtca atattgaggc 2040
agaaccaccc tttggtgaga gctacatcgt ggtaggagca ggtgaaaaag ctttgaaact 2100
aagctggttc aagaaaggaa gcagcatagg gaaaatgttt gaagcaactg cccgaggagc 2160
acgaaggatg gccattctgg gagacaccgc atgggacttc ggttctatag gaggagtgtt 2220
cacgtctatg ggaaaactgg tacaccaggt ttttggaact gcatatggag ttttgtttag 2280
cggagtttct tggaccatga aaataggaat agggattctg ctgacatggc taggattaaa 2340
ttcaaggaac acgtcccttt cgatgatgtg catcgcagtt ggcatggtca cactgtacct 2400
aggagtcatg gttcaggcag attcgggatg tgtaatcaac tggaaaggca gagaacttaa 2460
atgtggaagc ggcatttttg tcactaatga agttcacact tggacagagc aatacaaatt 2520
ccaggctgac tcccccaaga gactatcagc agccattggg aaggcatggg aggagggtgt 2580
gtgtggaatc cgatcagcca ctcgtctcga gaacatcatg tggaaacaaa tatcaaatga 2640
attgaaccac atcctacttg aaaatgacat gaaatttaca gtggtcgtgg gagatgttag 2700
tggaatcttg gcccaaggga aaaaaatgat taggccacaa cccatggaac acaaatactc 2760
gtggaaaagc tggggaaaag ccaaaatcat aggagcggat gtacagaaca ccaccttcat 2820
catcgacggc ccaaacaccc cagaatgccc tgacaatcaa agagcatgga atatttggga 2880
agtagaggac tatggatttg ggattttcac gacaaacata tggttgaaat tgcgtgactc 2940
ctacacccaa gtatgtgacc accggctgat gtcagctgcc attaaggaca gcaaggcagt 3000
ccatgctgac atggggtact ggatagaaag tgaaaagaac gagacatgga agttggcgag 3060
agcctccttt atagaagtta agacatgcat ctggccaaaa tcccacactc tatggagcaa 3120
tggagttctg gaaagtgaaa tgataattcc aaagatatat ggaggaccaa tatctcagca 3180

caactacaga ccaggatatt tcacacaaac agcagggccg tggcacctag gcaagttgga 3240
actagatttc gatttttgtg aaggtaccac agttgttgtg gatgaacatt gtggaaatcg 3300
aggaccatct ctcagaacca caacagtcac aggaaagata atccatgaat ggtgctgcag 3360
atcttgtacg ctacccccccc tacgtttcaa aggggaagac gggtgttggt acggcatgga 3420
aatcagacca gtgaaggaca aggaagagaa cctggtcaag tcaatggtct ctgcagggtc 3480
aggagaagtg gacagctttt cactaggact gctatgcata tcaataatga ttgaagaagt 3540
gatgagatcc agatggagca aaaaaatgct gatgactgga acactggctg tgttcctcct 3600
tcttataatg ggacaattga catggagtga tctgatcagg ttatgtatta tggttggagc 3660
caacgcttca gacaagatgg ggatgggaac aacgtaccta gctttaatgg ccactttcaa 3720
aatgagacca atgttcgccg tcgggctatt atttcgcaga ctaacatcta gagaagttct 3780
tcttcttaca attggcttga gcctggtggc atccgtggag ctaccaagtt ccctagagga 3840
gctgggggat ggacttgcaa taggcatcat gatgttgaaa ttattgactg attttcagtc 3900
acaccagcta tgggctactc tgctatcctt gacatttatt aaaacaactt tttcattgca 3960
ctatgcatgg aagacaatgg ctatggtact gtcaattgta tctctcttcc ctttatgcct 4020
gtccacgacc tctcaaaaaa caacatggct tccggtgctg ttgggatctc ttggatgcaa 4080
accactaccc atgtttctta taacagaaaa caaaatctgg ggaaggaaga gttggcccct 4140
caatgaagga attatggctg ttggaatagt tagtattcta ctaagttcac ttttaaaaaa 4200
tgatgtgccg ctagccggcc cattaatagc tggaggcatg ctaatagcat gttatgtcat 4260
atccggaagc tcagctgatt tatcactgga gaaagcggct gaggtctcct gggaggaaga 4320
agcagaacac tcaggcgcct cacacaacat actagtagag gttcaagatg atggaaccat 4380
gaagataaaa gatgaagaga gagatgacac gctcaccatt ctccttaaag caactctgct 4440
ggcagtctca ggggtgtacc caatgtcaat accagcgacc ctttttgtgt ggtatttttg 4500
gcagaaaaag aaacagagat caggagtgct atgggacaca cccagccccc cagaagtgga 4560
aagagcagtt cttgatgatg gcatctatag aattttgcaa agaggactgt tgggcaggtc 4620
ccaagtagga gtaggagttt tccaagaagg cgtgttccac acaatgtggc acgtcactag 4680
gggagctgtc ctcatgtatc aaggaaaaag gctggaacca agctgggcca gtgtcaaaaa 4740
agacttgatc tcatatggag gaggttggag gtttcaagga tcctggaaca cgggagaaga 4800
agtacaggtg attgctgttg aaccgggaaa aaaccccaaa aatgtacaaa caacgccggg 4860
taccttcaag acccctgaag gcgaagttgg agccatagcc ttagacttta aacctggcac 4920
atctggatct cccatcgtaa acagagaggg aaaaatagta ggtctttatg gaaatggagt 4980
ggtgacaaca agcggaactt acgttagtgc catagctcaa gctaaggcat cacaagaagg 5040
gcctctacca gagattgagg acgaggtgtt taggaaaaga aacttaacaa taatggacct 5100
acatccagga tcgggaaaaa caagaagata ccttccagcc atagtccgtg aggccataaa 5160
aaggaagctg cgcacgctaa tcctagctcc cacaagagtt gtcgcttctg aaatggcaga 5220
ggcactcaag ggagtgccaa taaggtatca gacaacagca gtgaagagtg aacacacagg 5280
aaaggagata gttgacctta tgtgccacgc cactttcacc atgcgcctcc tgtctcccgt 5340
gagagttccc aattataaca tgattatcat ggatgaagca cacttcaccg atccagccag 5400
catagcagcc agagggtaca tctcaacccg agtgggtatg ggtgaagcag ctgcgatctt 5460
tatgacagcc actcccccag gatcggtgga ggcctttcca cagagcaatg caattatcca 5520

agatgaggaa agagacattc ctgagagatc atggaactca ggctatgact ggatcactga 5580
ttttccaggt aaaacagtct ggtttgttcc aagcatcaaa tcaggaaatg acattgccaa 5640
ctgtttaaga aaaaacggga aacgggtgat ccaattgagc agaaaaacct ttgacactga 5700
gtaccagaaa acaaaaaaca acgactggga ctatgtcgtc acaacagaca tttccgaaat 5760
gggagcaaat ttccgggccg acagggtaat agacccaagg cggtgtctga aaccggtaat 5820
actaaaagat ggtccagagc gcgtcattct agccggaccg atgccagtga ctgtggccag 5880
tgccgcccag aggagaggaa gaattggaag gaaccaaaac aaggaaggtg atcagtatat 5940
ttacatggga cagcctttaa acaatgatga ggaccacgct cattggacag aagcaaagat 6000
gctccttgac aatataaaca caccagaagg gattatccca gccctctatg agccggagag 6060
agaaaagagt gcagctatag acggggaata cagactgcgg ggtgaagcaa ggaaaacgtt 6120
cgtggagctc atgagaagag gggatctacc agtctggcta tcctacaaag ttgcctcaga 6180
aggcttccag tactccgaca gaaggtggtg cttcgatggg gaaaggaaca accaggtgtt 6240
ggaggagaac atggacgtgg agatctggac aaaagaagga gaaagaaaga aactacgacc 6300
tcgctggttg gacgccagaa catactctga cccactggct ctgcgcgagt ttaaagagtt 6360
tgcagcagga agaagaagcg tctcaggtga cctaatatta gaaataggga aacttccaca 6420
acatttgacg caaagggccc agaatgcttt ggacaacttg gtcatgttgc acaattccga 6480
acaaggagga aaagcctata gacatgctat ggaagaactg ccagacacaa tagaaacgtt 6540
gatgctccta gccttgatag ctgtgttgac tggtggagtg acgctgttct tcctatcagg 6600
aagaggtcta ggaaaaacat ctatcggctt actctgcgtg atggcctcaa gcgcactgtt 6660
atggatggcc agtgtggagc cccattggat agcggcctcc atcatactgg agttctttct 6720
gatggtactg cttattccag agccagacag acagcgcact ccacaggaca accagctagc 6780
atatgtggtg ataggtctgt tattcatgat attgacagtg gcagccaatg agatgggatt 6840
attggaaacc acaaagaaag acctggggat tggccatgta gctgctgaaa accaccacca 6900
tgctacaatg ctggacgtag acctacatcc agcttcagcc tggaccctct atgcagtggc 6960
cacaacaatc atcactccta tgatgagaca cacaattgaa aacacaacgg caaatatttc 7020
cctgacagcc atcgcaaacc aagcagctat attgatggga cttgacaagg gatggccaat 7080
atcgaagatg gacataggag ttccacttct cgccttgggg tgctattccc aagtgaatcc 7140
gctgacactg atagcggcag tattgatgct agtagctcat tacgccataa ttggacctgg 7200
actgcaagca aaagctacta gagaagctca aaaaagaaca gcggctggaa taatgaaaaa 7260
tccaactgtc gacgggattg ttgcaataga cttagatccc gtggtttacg atgcaaaatt 7320
tgaaaaacaa ctaggccaaa taatgttgtt gatactttgc acatcacaga ttcttttgat 7380
gcggactaca tgggccttgt gtgaatccat cacattggct actggacctc tgaccactct 7440
ttgggaggga tctccaggaa aattctggaa caccacaata gcggtatcca tggcaaacat 7500
tttcaggggg agttatctag caggagcagg tctggccttc tcattaatga aatctctagg 7560
aggaggtagg agaggcacgg gagcccaagg ggaaacactg ggagaaaaat ggaaaagaca 7620
actaaaccaa ctgagcaagt cagaattcaa tacttacaag aggagtggga ttatggaggt 7680
ggatagatcc gaagccaaag agggactgaa aagaggagaa acaaccaaac acgcagtatc 7740
gagaggaacg gccaaactga ggtggttcgt ggagaggaac cttgtgaaac cagaagggaa 7800
agtcatagac ctcggttgtg gaagaggtgg ctggtcatat tattgcgctg ggctgaagaa 7860

agtcacagaa gtgaaaggat acacaaaagg aggacctgga catgaggaac caatcccaat 7920
ggcgacctat ggatggaacc tagtaaagct gcactccgga aaagatgtat tttttatacc 7980
acctgagaaa tgtgacaccc ttttgtgtga tattggtgag tcctctccga acccaactat 8040
agaggaagga agaacgttac gtgttctgaa aatggtggaa ccatggctca gaggaaacca 8100
attttgcata aaaattctaa atccctatat gccgagcgtg gtagaaactc tggaacaaat 8160
gcaaagaaaa catggaggaa tgctagtgcg aaacccactc tcaagaaatt ccacccatga 8220
aatgtactgg gtttcatgtg gaacaggaaa cattgtgtca gcagtaaaca tgacatctag 8280
aatgttgcta aatcggttca caatggctca caggaagcca acatatgaaa gagacgtgga 8340
cttaggcgct ggaacaagac atgtggcagt agaaccagag gtagccaacc tagatatcat 8400
tggccagagg atagagaata taaaaaatga acataagtca acatggcatt atgatgagga 8460
caatccatac aaaacatggg cctatcatgg atcatatgag gttaagccat caggatcggc 8520
ctcatccatg gtcaatggcg tggtgagatt gctcaccaaa ccatgggatg ttatccccat 8580
ggtcacacaa atagccatga ctgataccac acccttgga caacagaggg tgtttaaaga 8640
gaaagttgac acgcgcacac caaaagcaaa acgtggcaca gcacaaatta tggaagtgac 8700
agccaggtgg ttatggggtt tcctttctag aaacaaaaaa cccagaattt gcacaagaga 8760
ggagtttaca agaaaagtta ggtcaaacgc agctattgga gcagtgttcg ttgatgaaaa 8820
tcaatggaac tcggcaaaag aagcagtgga agacgaacgg ttctgggaac ttgtccacag 8880
agagagggag cttcataaac aggggaaatg tgccacgtgt gtctacaata tgatggggaa 8940
gagagagaaa aaattaggag agttcggaaa ggcaaaagga agtcgtgcaa tatggtacat 9000
gtggttggga gcacgcttcc tagagtttga agcccttggt ttcatgaatg aagatcactg 9060
gttcagtaga gagaattcac tcagtggagt ggaaggagaa ggactccaca aacttggata 9120
catactcaga gacatatcaa ggattccagg ggggaacatg tatgcagatg acacagccgg 9180
atgggacaca agaataacag aggatgatct ccagaatgag gctaaaatca ctgacatcat 9240
ggagcccgaa catgccctgc tggctacgtc aatctttaag ctgacctacc aaaataaggt 9300
ggtaagggtg cagagaccag caaaaaatgg aaccgtgatg gatgttatat ccagacgtga 9360
ccagagaggc agtggacagg ttggaactta tggcttaaac actttcacca acatggaggc 9420
ccaactgata agacaaatgg agtccgaggg aatcttttta cccagcgaat tggaaacccc 9480
aaatctagcc ggaagagttc tcgactggtt ggaaaaatat ggtgtcgaaa ggctgaaaag 9540
aatggcaatc agcggagatg actgtgtggt gaaaccaatt gatgacaggt tcgcaacagc 9600
cttaacagct ttgaatgaca tgggaaaagt aagaaaagac ataccacaat gggaaccttc 9660
aaaaggatgg aatgattggc aacaagtgcc tttctgttca caccacttcc accagctaat 9720
tatgaaggat gggagggaga tagtggtgcc atgccgcaac caagatgaac ttgtggggag 9780
ggccagagta tcacaaggcg ccggatggag cctgagagaa accgcatgcc taggcaagtc 9840
atatgcacaa atgtggcagc tgatgtattt ccacaggaga gacctgagac tggcggctaa 9900
cgctatttgt tcagccgttc cagttgattg ggtcccaacc agccgcacca cctggtcgat 9960
ccatgcccat caccaatgga tgacaacaga agacatgtta tcagtatgga atagggtctg 10020
gatagaggaa aacccatgga tggaggataa gactcatgtg tccagttggg aagaagttcc 10080
atacctagga aagagggaag atcagtggtg tggatccctg ataggcttaa cagcaagggc 10140
cacctgggcc actaatatac aagtggccat aaaccaagtg agaaggctca ttgggaatga 10200

gaattatcta gattacatga catcaatgaa gagattcaag aatgagagtg atcccgaagg 10260
ggcactctgg taagtcaaca cattcacaaa ataaaggaaa ataaaaaatc aaatgaggca 10320
agaagtcagg ccagattaag ccatagtacg gtaagagcta tgctgcctgt gagccccgtc 10380
caaggacgta aaatgaagtc aggccgaaag ccacggtttg agcaagccgt gctgcctgtg 10440
gctccatcgt ggggatgtaa aaacccggga ggctgcaacc catggaagct gtacgcatgg 10500
ggtagcagac tagtggttag aggagacccc tcccaagaca caacgcagca gcggggccca 10560
acaccagggg aagctgtacc ctggtggtaa ggactagagg ttagaggaga ccccccgcgt 10620
aacaataaac agcatattga cgctgggaga gaccagagat cctgctgtct ctacagcatc 10680
attccaggca cagaacgcca gaaaatggaa tggtgctgtt gaatcaacag gttct 10735

<210> 10
<211> 3392
<212> PRT
<213> 登革热病毒(dengue virus)
<400> 10

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

195 200 205

Leu Ala Pro His Val Gly Leu Gly Leu Glu Thr Arg Ala Glu Thr Trp

210 215 220

Met Ser Ser Glu Gly Ala Trp Lys Gln Ile Gln Lys Val Glu Thr Trp

225 230 235 240

Ala Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Val Ile Ala Leu Phe Leu Ala His

245 250 255

Ala Ile Gly Thr Ser Ile Thr Gln Lys Gly Ile Ile Phe Ile Leu Leu

260 265 270

Met Leu Val Thr Pro Ser Met Ala Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn

275 280 285

Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val

290 295 300

Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr

305 310 315 320

Leu Asp Ile Glu Leu Leu Lys Thr Glu Val Thr Asn Pro Ala Val Leu

325 330 335

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

340 345 350

Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Thr Leu Val Glu Glu Gln Asp Ala

355 360 365

Asn Phe Val Cys Arg Arg Thr Phe Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly

370 375 380

Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Ile Thr Cys Ala Lys Phe Lys

385 390 395 400

Cys Val Thr Lys Leu Glu Gly Lys Ile Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys

405 410 415

Tyr Ser Val Ile Val Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly

420 425 430

Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala

435 440 445

Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Thr Leu Asp

450 455 460

Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Thr

465 470 475 480

Met Lys Glu Arg Ser Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu

485 490 495

Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Thr Ser Gln Glu Thr Trp Asn

500 505 510

Arg Gln Asp Leu Leu Val Thr Phe Lys Thr Ala His Ala Lys Lys Gln
515 520 525
Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu
530 535 540
Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Thr Thr Thr Ile Phe Ala
545 550 555 560
Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Thr Leu Lys Gly
565 570 575
Met Ser Tyr Val Met Cys Thr Gly Ser Phe Lys Leu Glu Lys Glu Val
580 585 590
Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Val Leu Val Gln Val Lys Tyr Glu Gly
595 600 605
Thr Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Gln Asp Glu Lys Gly
610 615 620
Ala Thr Gln Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Ile Val Thr Asp
625 630 635 640
Lys Glu Lys Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser
645 650 655
Tyr Ile Val Val Gly Ala Gly Glu Lys Ala Leu Lys Leu Ser Trp Phe
660 665 670
Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly
675 680 685
Ala Arg Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
690 695 700
Ile Gly Gly Val Phe Thr Ser Met Gly Lys Leu Val His Gln Val Phe
705 710 715 720
Gly Thr Ala Tyr Gly Val Leu Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys
725 730 735
Ile Gly Ile Gly Ile Leu Leu Thr Trp Leu Gly Leu Asn Ser Arg Asn
740 745 750
Thr Ser Leu Ser Met Met Cys Ile Ala Val Gly Met Val Thr Leu Tyr
755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Ile Asn Trp Lys
770 775 780
Gly Arg Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Val Thr Asn Glu Val
785 790 795 800
His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Ala Asp Ser Pro Lys Arg
805 810 815
Leu Ser Ala Ala Ile Gly Lys Ala Trp Glu Glu Gly Val Cys Gly Ile

820 825 830

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

835 840 845

Glu Leu Asn His Ile Leu Leu Glu Asn Asp Met Lys Phe Thr Val Val

850 855 860

Val Gly Asp Val Ser Gly Ile Leu Ala Gln Gly Lys Lys Met Ile Arg

865 870 875 880

Pro Gln Pro Met Glu His Lys Tyr Ser Trp Lys Ser Trp Gly Lys Ala

885 890 895

Lys Ile Ile Gly Ala Asp Val Gln Asn Thr Thr Phe Ile Ile Asp Gly

900 905 910

Pro Asn Thr Pro Glu Cys Pro Asp Asn Gln Arg Ala Trp Asn Ile Trp

915 920 925

Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Ile Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu

930 935 940

Lys Leu Arg Asp Ser Tyr Thr Gln Val Cys Asp His Arg Leu Met Ser

945 950 955 960

Ala Ala Ile Lys Asp Ser Lys Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp

965 970 975

Ile Glu Ser Glu Lys Asn Glu Thr Trp Lys Leu Ala Arg Ala Ser Phe

980 985 990

Ile Glu Val Lys Thr Cys Ile Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser

995 1000 1005

Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Ile Tyr Gly

1010 1015 1020

Gly Pro Ile Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr Phe Thr Gln

1025 1030 1035

Thr Ala Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Leu Asp Phe Asp

1040 1045 1050

Phe Cys Glu Gly Thr Thr Val Val Val Asp Glu His Cys Gly Asn

1055 1060 1065

Arg Gly Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Val Thr Gly Lys Ile Ile

1070 1075 1080

His Glu Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Phe

1085 1090 1095

Lys Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Val

1100 1105 1110

Lys Asp Lys Glu Glu Asn Leu Val Lys Ser Met Val Ser Ala Gly

1115 1120 1125

Ser Gly Glu Val Asp Ser Phe Ser Leu Gly Leu Leu Cys Ile Ser
1130 1135 1140
Ile Met Ile Glu Glu Val Met Arg Ser Arg Trp Ser Lys Lys Met
1145 1150 1155
Leu Met Thr Gly Thr Leu Ala Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Gly
1160 1165 1170
Gln Leu Thr Trp Ser Asp Leu Ile Arg Leu Cys Ile Met Val Gly
1175 1180 1185
Ala Asn Ala Ser Asp Lys Met Gly Met Gly Thr Thr Tyr Leu Ala
1190 1195 1200
Leu Met Ala Thr Phe Lys Met Arg Pro Met Phe Ala Val Gly Leu
1205 1210 1215
Leu Phe Arg Arg Leu Thr Ser Arg Glu Val Leu Leu Leu Thr Ile
1220 1225 1230
Gly Leu Ser Leu Val Ala Ser Val Glu Leu Pro Ser Ser Leu Glu
1235 1240 1245
Glu Leu Gly Asp Gly Leu Ala Ile Gly Ile Met Met Leu Lys Leu
1250 1255 1260
Leu Thr Asp Phe Gln Ser His Gln Leu Trp Ala Thr Leu Leu Ser
1265 1270 1275
Leu Thr Phe Ile Lys Thr Thr Phe Ser Leu His Tyr Ala Trp Lys
1280 1285 1290
Thr Met Ala Met Val Leu Ser Ile Val Ser Leu Phe Pro Leu Cys
1295 1300 1305
Leu Ser Thr Thr Ser Gln Lys Thr Thr Trp Leu Pro Val Leu Leu
1310 1315 1320
Gly Ser Leu Gly Cys Lys Pro Leu Pro Met Phe Leu Ile Thr Glu
1325 1330 1335
Asn Lys Ile Trp Gly Arg Lys Ser Trp Pro Leu Asn Glu Gly Ile
1340 1345 1350
Met Ala Val Gly Ile Val Ser Ile Leu Leu Ser Ser Leu Leu Lys
1355 1360 1365
Asn Asp Val Pro Leu Ala Gly Pro Leu Ile Ala Gly Gly Met Leu
1370 1375 1380
Ile Ala Cys Tyr Val Ile Ser Gly Ser Ser Ala Asp Leu Ser Leu
1385 1390 1395
Glu Lys Ala Ala Glu Val Ser Trp Glu Glu Glu Ala Glu His Ser
1400 1405 1410
Gly Ala Ser His Asn Ile Leu Val Glu Val Gln Asp Asp Gly Thr

1415 1420 1425

Met Lys Ile Lys Asp Glu Glu Arg Asp Asp Thr Leu Thr Ile Leu
1430 1435 1440

Leu Lys Ala Thr Leu Leu Ala Val Ser Gly Val Tyr Pro Met Ser
1445 1450 1455

Ile Pro Ala Thr Leu Phe Val Trp Tyr Phe Trp Gln Lys Lys Lys
1460 1465 1470

Gln Arg Ser Gly Val Leu Trp Asp Thr Pro Ser Pro Pro Glu Val
1475 1480 1485

Glu Arg Ala Val Leu Asp Asp Gly Ile Tyr Arg Ile Leu Gln Arg
1490 1495 1500

Gly Leu Leu Gly Arg Ser Gln Val Gly Val Gly Val Phe Gln Glu
1505 1510 1515

Gly Val Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu
1520 1525 1530

Met Tyr Gln Gly Lys Arg Leu Glu Pro Ser Trp Ala Ser Val Lys
1535 1540 1545

Lys Asp Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Arg Phe Gln Gly Ser
1550 1555 1560

Trp Asn Thr Gly Glu Glu Val Gln Val Ile Ala Val Glu Pro Gly
1565 1570 1575

Lys Asn Pro Lys Asn Val Gln Thr Thr Pro Gly Thr Phe Lys Thr
1580 1585 1590

Pro Glu Gly Glu Val Gly Ala Ile Ala Leu Asp Phe Lys Pro Gly
1595 1600 1605

Thr Ser Gly Ser Pro Ile Val Asn Arg Glu Gly Lys Ile Val Gly
1610 1615 1620

Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Thr Ser Gly Thr Tyr Val Ser
1625 1630 1635

Ala Ile Ala Gln Ala Lys Ala Ser Gln Glu Gly Pro Leu Pro Glu
1640 1645 1650

Ile Glu Asp Glu Val Phe Arg Lys Arg Asn Leu Thr Ile Met Asp
1655 1660 1665

Leu His Pro Gly Ser Gly Lys Thr Arg Arg Tyr Leu Pro Ala Ile
1670 1675 1680

Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Lys Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala
1685 1690 1695

Pro Thr Arg Val Val Ala Ser Glu Met Ala Glu Ala Leu Lys Gly
1700 1705 1710

Val Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Thr Ala Val Lys Ser Glu His Thr
1715 1720 1725
Gly Lys Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met
1730 1735 1740
Arg Leu Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Met Ile Ile
1745 1750 1755
Met Asp Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg
1760 1765 1770
Gly Tyr Ile Ser Thr Arg Val Gly Met Gly Glu Ala Ala Ala Ile
1775 1780 1785
Phe Met Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Val Glu Ala Phe Pro Gln
1790 1795 1800
Ser Asn Ala Ile Ile Gln Asp Glu Glu Arg Asp Ile Pro Glu Arg
1805 1810 1815
Ser Trp Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Ile Thr Asp Phe Pro Gly Lys
1820 1825 1830
Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ser Gly Asn Asp Ile Ala
1835 1840 1845
Asn Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Arg Val Ile Gln Leu Ser Arg
1850 1855 1860
Lys Thr Phe Asp Thr Glu Tyr Gln Lys Thr Lys Asn Asn Asp Trp
1865 1870 1875
Asp Tyr Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe
1880 1885 1890
Arg Ala Asp Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Leu Lys Pro Val
1895 1900 1905
Ile Leu Lys Asp Gly Pro Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met
1910 1915 1920
Pro Val Thr Val Ala Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly
1925 1930 1935
Arg Asn Gln Asn Lys Glu Gly Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Gln
1940 1945 1950
Pro Leu Asn Asn Asp Glu Asp His Ala His Trp Thr Glu Ala Lys
1955 1960 1965
Met Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ala
1970 1975 1980
Leu Tyr Glu Pro Glu Arg Glu Lys Ser Ala Ala Ile Asp Gly Glu
1985 1990 1995
Tyr Arg Leu Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Glu Leu Met

2000 2005 2010

Arg Arg Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ser Tyr Lys Val Ala Ser
2015 2020 2025

Glu Gly Phe Gln Tyr Ser Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Glu
2030 2035 2040

Arg Asn Asn Gln Val Leu Glu Glu Asn Met Asp Val Glu Ile Trp
2045 2050 2055

Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu Arg Pro Arg Trp Leu Asp
2060 2065 2070

Ala Arg Thr Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Arg Glu Phe Lys Glu
2075 2080 2085

Phe Ala Ala Gly Arg Arg Ser Val Ser Gly Asp Leu Ile Leu Glu
2090 2095 2100

Ile Gly Lys Leu Pro Gln His Leu Thr Gln Arg Ala Gln Asn Ala
2105 2110 2115

Leu Asp Asn Leu Val Met Leu His Asn Ser Glu Gln Gly Gly Lys
2120 2125 2130

Ala Tyr Arg His Ala Met Glu Glu Leu Pro Asp Thr Ile Glu Thr
2135 2140 2145

Leu Met Leu Leu Ala Leu Ile Ala Val Leu Thr Gly Gly Val Thr
2150 2155 2160

Leu Phe Phe Leu Ser Gly Arg Gly Leu Gly Lys Thr Ser Ile Gly
2165 2170 2175

Leu Leu Cys Val Met Ala Ser Ser Ala Leu Leu Trp Met Ala Ser
2180 2185 2190

Val Glu Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe
2195 2200 2205

Leu Met Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Asp Arg Gln Arg Thr Pro
2210 2215 2220

Gln Asp Asn Gln Leu Ala Tyr Val Val Ile Gly Leu Leu Phe Met
2225 2230 2235

Ile Leu Thr Val Ala Ala Asn Glu Met Gly Leu Leu Glu Thr Thr
2240 2245 2250

Lys Lys Asp Leu Gly Ile Gly His Val Ala Ala Glu Asn His His
2255 2260 2265

His Ala Thr Met Leu Asp Val Asp Leu His Pro Ala Ser Ala Trp
2270 2275 2280

Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr Thr Ile Ile Thr Pro Met Met Arg
2285 2290 2295

His Thr Ile Glu Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser Leu Thr Ala Ile
2300 2305 2310
Ala Asn Gln Ala Ala Ile Leu Met Gly Leu Asp Lys Gly Trp Pro
2315 2320 2325
Ile Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala Leu Gly Cys
2330 2335 2340
Tyr Ser Gln Val Asn Pro Leu Thr Leu Ile Ala Ala Val Leu Met
2345 2350 2355
Leu Val Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys
2360 2365 2370
Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Thr Ala Ala Gly Ile Met Lys
2375 2380 2385
Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Val Ala Ile Asp Leu Asp Pro Val
2390 2395 2400
Val Tyr Asp Ala Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Ile Met Leu
2405 2410 2415
Leu Ile Leu Cys Thr Ser Gln Ile Leu Leu Met Arg Thr Thr Trp
2420 2425 2430
Ala Leu Cys Glu Ser Ile Thr Leu Ala Thr Gly Pro Leu Thr Thr
2435 2440 2445
Leu Trp Glu Gly Ser Pro Gly Lys Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala
2450 2455 2460
Val Ser Met Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala
2465 2470 2475
Gly Leu Ala Phe Ser Leu Met Lys Ser Leu Gly Gly Gly Arg Arg
2480 2485 2490
Gly Thr Gly Ala Gln Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Arg
2495 2500 2505
Gln Leu Asn Gln Leu Ser Lys Ser Glu Phe Asn Thr Tyr Lys Arg
2510 2515 2520
Ser Gly Ile Met Glu Val Asp Arg Ser Glu Ala Lys Glu Gly Leu
2525 2530 2535
Lys Arg Gly Glu Thr Thr Lys His Ala Val Ser Arg Gly Thr Ala
2540 2545 2550
Lys Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn Leu Val Lys Pro Glu Gly
2555 2560 2565
Lys Val Ile Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr
2570 2575 2580
Cys Ala Gly Leu Lys Lys Val Thr Glu Val Lys Gly Tyr Thr Lys

2585 2590 2595

Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ala Thr Tyr Gly
2600 2605 2610

Trp Asn Leu Val Lys Leu His Ser Gly Lys Asp Val Phe Phe Ile
2615 2620 2625

Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser
2630 2635 2640

Ser Pro Asn Pro Thr Ile Glu Glu Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu
2645 2650 2655

Lys Met Val Glu Pro Trp Leu Arg Gly Asn Gln Phe Cys Ile Lys
2660 2665 2670

Ile Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Val Glu Thr Leu Glu Gln
2675 2680 2685

Met Gln Arg Lys His Gly Gly Met Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser
2690 2695 2700

Arg Asn Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Cys Gly Thr Gly
2705 2710 2715

Asn Ile Val Ser Ala Val Asn Met Thr Ser Arg Met Leu Leu Asn
2720 2725 2730

Arg Phe Thr Met Ala His Arg Lys Pro Thr Tyr Glu Arg Asp Val
2735 2740 2745

Asp Leu Gly Ala Gly Thr Arg His Val Ala Val Glu Pro Glu Val
2750 2755 2760

Ala Asn Leu Asp Ile Ile Gly Gln Arg Ile Glu Asn Ile Lys Asn
2765 2770 2775

Glu His Lys Ser Thr Trp His Tyr Asp Glu Asp Asn Pro Tyr Lys
2780 2785 2790

Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Val Lys Pro Ser Gly Ser
2795 2800 2805

Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Thr Lys Pro
2810 2815 2820

Trp Asp Val Ile Pro Met Val Thr Gln Ile Ala Met Thr Asp Thr
2825 2830 2835

Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr
2840 2845 2850

Arg Thr Pro Lys Ala Lys Arg Gly Thr Ala Gln Ile Met Glu Val
2855 2860 2865

Thr Ala Arg Trp Leu Trp Gly Phe Leu Ser Arg Asn Lys Lys Pro
2870 2875 2880

Arg Ile Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn
2885 2890 2895
Ala Ala Ile Gly Ala Val Phe Val Asp Glu Asn Gln Trp Asn Ser
2900 2905 2910
Ala Lys Glu Ala Val Glu Asp Glu Arg Phe Trp Glu Leu Val His
2915 2920 2925
Arg Glu Arg Glu Leu His Lys Gln Gly Lys Cys Ala Thr Cys Val
2930 2935 2940
Tyr Asn Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly
2945 2950 2955
Lys Ala Lys Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala
2960 2965 2970
Arg Phe Leu Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Met Asn Glu Asp His
2975 2980 2985
Trp Phe Ser Arg Glu Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly
2990 2995 3000
Leu His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Ile Ser Arg Ile Pro
3005 3010 3015
Gly Gly Asn Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg
3020 3025 3030
Ile Thr Glu Asp Asp Leu Gln Asn Glu Ala Lys Ile Thr Asp Ile
3035 3040 3045
Met Glu Pro Glu His Ala Leu Leu Ala Thr Ser Ile Phe Lys Leu
3050 3055 3060
Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln Arg Pro Ala Lys Asn
3065 3070 3075
Gly Thr Val Met Asp Val Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg Gly Ser
3080 3085 3090
Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu
3095 3100 3105
Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Ser Glu Gly Ile Phe Leu Pro
3110 3115 3120
Ser Glu Leu Glu Thr Pro Asn Leu Ala Gly Arg Val Leu Asp Trp
3125 3130 3135
Leu Glu Lys Tyr Gly Val Glu Arg Leu Lys Arg Met Ala Ile Ser
3140 3145 3150
Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Ile Asp Asp Arg Phe Ala Thr
3155 3160 3165
Ala Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Val Arg Lys Asp Ile

3170 3175 3180
Pro Gln Trp Glu Pro Ser Lys Gly Trp Asn Asp Trp Gln Gln Val
3185 3190 3195
Pro Phe Cys Ser His His Phe His Gln Leu Ile Met Lys Asp Gly
3200 3205 3210
Arg Glu Ile Val Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Val Gly
3215 3220 3225
Arg Ala Arg Val Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr
3230 3235 3240
Ala Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Gln Leu Met Tyr
3245 3250 3255
Phe His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser
3260 3265 3270
Ala Val Pro Val Asp Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser
3275 3280 3285
Ile His Ala His His Gln Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Ser
3290 3295 3300
Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Glu Glu Asn Pro Trp Met Glu Asp
3305 3310 3315
Lys Thr His Val Ser Ser Trp Glu Glu Val Pro Tyr Leu Gly Lys
3320 3325 3330
Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ala Arg
3335 3340 3345
Ala Thr Trp Ala Thr Asn Ile Gln Val Ala Ile Asn Gln Val Arg
3350 3355 3360
Arg Leu Ile Gly Asn Glu Asn Tyr Leu Asp Tyr Met Thr Ser Met
3365 3370 3375
Lys Arg Phe Lys Asn Glu Ser Asp Pro Glu Gly Ala Leu Trp
3380 3385 3390

<210> 11
<211> 10723
<212> DNA
<213> 登革热病毒(dengue virus)
<400> 11
agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaacgta 60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gaccattaaa actgttcatg 240
gccctggtgg cgttccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga 300

tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt 360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg 420
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acacgtaacg gagaaccaca catgatcgtc 480
agcagacaag agaaagggaa aagtcttctg tttaaaacag aggatggcgt gaacatgtgt 540
accctcatgg ccatggacct tggtgaattg tgtgaagaca caatcacgta caagtgtccc 600
cttctcaggc agaatgagcc agaagacata gactgttggt gcaactctac gtccacgtgg 660
gtaacttatg ggacgtgtac caccatggga gaacatagaa gagaaaaaag atcagtggca 720
ctcgttccac atgtgggaat gggactggag acacgaactg aaacatggat gtcatcagaa 780
ggggcctgga aacatgtcca gagaattgaa acttggatct tgagacatcc aggcttcacc 840
atgatggcag caatcctggc atacaccata ggaacgacac atttccaaag agccctgatt 900
ttcatcttac tgacagctgt cactccttca atgacaatgc gttgcatagg aatgtcaaat 960
agagactttg tggaaggggt ttcaggagga agctgggttg acatagtctt agaacatgga 1020
agctgtgtga cgacgatggc aaaaaacaaa ccaacattgg attttgaact gataaaaaca 1080
gaagccaaac agcctgccac cctaaggaag tactgtatag aggcaaagct aaccaacaca 1140
acaacagaat ctcgctgccc aacacaaggg gaacccagcc taaatgaaga gcaggacaaa 1200
aggttcgtct gcaaacactc catggtagac agaggatggg gaaatggatg tggactattt 1260
ggaaagggag gcattgtgac ctgtgctatg ttcagatgca aaaagaacat ggaaggaaaa 1320
gttgtgcaac cagaaaactt ggaatacacc attgtgataa cacctcactc aggggaagag 1380
catgcagtcg gaaatgacac aggaaaacat ggcaaggaaa tcaaaataac accacagagt 1440
tccatcacag aagcagaatt gacaggttat ggcactgtca caatggagtg ctctccaaga 1500
acgggcctcg acttcaatga gatggtgttg ctgcagatgg aaaataaagc ttggctggtg 1560
cacaggcaat ggttcctaga cctgccgtta ccatggttgc ccggagcgga cacacaaggg 1620
tcaaattgga tacagaaaga gacattggtc actttcaaaa atccccatgc gaagaaacag 1680
gatgttgttg ttttaggatc ccaagaaggg gccatgcaca cagcacttac aggggccaca 1740
gaaatccaaa tgtcatcagg aaacttactc ttcacaggac atctcaagtg caggctgaga 1800
atggacaagc tacagctcaa aggaatgtca tactctatgt gcacaggaaa gtttaaagtt 1860
gtgaaggaaa tagcagaaac acaacatgga acaatagtta tcagagtgca atatgaaggg 1920
gacggctctc catgcaagat ccctttgag ataatggatt tggaaaaaag acatgtctta 1980
ggtcgcctga ttacagtcaa cccaattgtg acagaaaaag atagcccagt caacatagaa 2040
gcagaacctc cattcggaga cagctacatc atcataggag tagagccggg acaactgaag 2100
ctcaactggt ttaagaaagg aagttctatc ggccaaatgt ttgagacaac aatgaggggg 2160
gcgaagagaa tggccatttt aggtgacaca gcctgggatt ttggatcctt gggaggagtg 2220
tttacatcta taggaaaggc tctccaccaa gtctttggag caatctatgg agctgccttc 2280
agtggggttt catggactat gaaaatcctc ataggagtca ttatcacatg gataggaatg 2340
aattcacgca gcacctcact gtctgtgaca ctagtattgg tgggaattgt gacactgtat 2400
ttgggagtca tggtgcaggc cgatagtggt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg 2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag 2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagagggc 2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca 2640

gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc 2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga gctgaagtat 2760
tcatggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt 2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg 2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa 2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc 3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag 3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc 3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa 3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacaa ataacaggac catggcatct aggtaagctt 3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat 3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc 3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg 3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggt cacagctgga 3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa 3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg 3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc 3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttatc ttgccctact agcagccttc 3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc caaggaattg 3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcctc tcccagagca ccataccaga gaccattctt 3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa 3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta 3960
caaaacgcat ggaaagtgag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgtttc cccactgctc 4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc 4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca 4140
ttaaatgagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa 4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tcctcactgt gtgctacgtg 4260
ctcactggac gatcggccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac 4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc 4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagaacaa acactgacca tactcattag aacaggattg 4440
ctggtgatct caggactttt tcctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg 4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg 4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttggatat 4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca 4680
cgtggcgctg ttctaatgca taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag 4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa 4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct 4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga 4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagttg tgggtcttta tggtaatggt 4980

gttgttacaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa 5040
gacaacccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc 5100
cacccaggag cgggaaagac gaagagatac cttccggcca tagtcagaga agctataaaa 5160
cggggtttga gaacattaat cttggccccc actagagttg tggcagctga aatggaggaa 5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag accccagcca tcagagctga gcacaccggg 5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt 5340
agagtgccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga cccagcaagt 5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt 5460
atgacagcca ctcccccggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata 5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgttcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat 5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct 5640
tgcctgagga aaaatggaaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag 5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg 5760
ggtgccaatt tcaaggctga gagggttata gaccccagac gctgcatgaa accagtcata 5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgac ccactctagt 5880
gcagcacaaa gaagagggag aataggaaga aatccaaaaa atgagaatga ccagtacata 5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg 6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt 6060
gaaaaggtgg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt 6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa 6180
ggcatcaact acgcagacag aaggtggtgt tttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta 6240
gaagaaaacg tggaagttga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc 6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggaattt 6360
gcagccggaa gaaagtctct gaccctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctcccaacc 6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgcactg gacaacttag cagtgctgca cacggctgag 6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg 6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgga 6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta 6660
tggtacgcac aaatacagcc acactggata gcagcttcaa taatactgga gtttttctc 6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc 6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtggtg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc 6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caacccagca acccgagagc 6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca 6960
acatttgtta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtgaa tgtgtcccta 7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca 7080
aagatggaca tcggagttcc ccttctcgcc attggatgct actcacaagt caaccccata 7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc 7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaaccca 7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa 7320

aagcagttgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg 7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg 7440
gaaggaaatc cagggaggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt 7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac 7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg 7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat 7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgcga 7740
ggctcagcaa aactgagatg gttcgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta 7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta 7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca 7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgcca 7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcat caccaaatcc cacagtggaa 8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa 8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatatatg ccctcagtca tagaaaaaat ggaagcacta 8160
caaaggaaat atggaggagc cttagtgagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag 8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg 8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac 8340
ctcggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt 8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac 8460
cacccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaaacagac tggatcagca 8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtccccatg 8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag 8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca 8700
gcagagtggc tttggaaaga attagggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa 8760
gaattcacaa gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac 8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag 8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa 8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg 9000
tggcttggag cacgcttctt agagtttgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg 9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac 9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga 9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg 9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg 9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatatc gagaagagac 9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcaccaa tatggaagcc 9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc 9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga 9540
atggccatca gtggagatga ttgtgttgtg aaacctttag atgacaggtt cgcaagcgct 9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca 9660

agaggatgga atgattggac acaagtgccc ttctgttcac accatttcca tgagttaatc 9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgttgttcca tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga 9780
gcccgaatct cccaaggagc agggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct 9840
tacgcccaaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgcg acctcaggct ggcggcaaat 9900
gctatttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata 9960
catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg 10020
attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca 10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140
acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200
gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260
gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320
catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380
ggccatcata aatgccatag ctggagtaaa ctatgcagcc tgtagctcca cctgagaagg 10440
tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500
ggttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560
agctgtagtc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac ccccccgaaa caaaaaacag 10620
catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680
gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 12
<211> 3391
<212> PRT
<213> 登革热病毒(dengue virus)
<400> 12

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

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

435 440 445

Ser Ile Thr Glu Ala Glu Leu Thr Gly Tyr Gly Thr Val Thr Met Glu

450 455 460

Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Gln

465 470 475 480

Met Glu Asn Lys Ala Trp Leu Val His Arg Gln Trp Phe Leu Asp Leu

485 490 495

Pro Leu Pro Trp Leu Pro Gly Ala Asp Thr Gln Gly Ser Asn Trp Ile

500 505 510

Gln Lys Glu Thr Leu Val Thr Phe Lys Asn Pro His Ala Lys Lys Gln

515 520 525

Asp Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu

530 535 540

Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Met Ser Ser Gly Asn Leu Leu Phe Thr

545 550 555 560

Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Arg Met Asp Lys Leu Gln Leu Lys Gly

565 570 575

Met Ser Tyr Ser Met Cys Thr Gly Lys Phe Lys Val Val Lys Glu Ile

580 585 590

Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Ile Val Ile Arg Val Gln Tyr Glu Gly

595 600 605

Asp Gly Ser Pro Cys Lys Ile Pro Phe Glu Ile Met Asp Leu Glu Lys

610 615 620

Arg His Val Leu Gly Arg Leu Ile Thr Val Asn Pro Ile Val Thr Glu

625 630 635 640

Lys Asp Ser Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser

645 650 655

Tyr Ile Ile Ile Gly Val Glu Pro Gly Gln Leu Lys Leu Asn Trp Phe

660 665 670

Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Gln Met Phe Glu Thr Thr Met Arg Gly

675 680 685

Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser

690 695 700

Leu Gly Gly Val Phe Thr Ser Ile Gly Lys Ala Leu His Gln Val Phe

705 710 715 720

Gly Ala Ile Tyr Gly Ala Ala Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys

725 730 735

Ile Leu Ile Gly Val Ile Ile Thr Trp Ile Gly Met Asn Ser Arg Ser

740 745 750

Thr Ser Leu Ser Val Thr Leu Val Leu Val Gly Ile Val Thr Leu Tyr
755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys
770 775 780
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val
785 790 795 800
His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
805 810 815
Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Gly Ile Cys Gly Ile
820 825 830
Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
835 840 845
Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
850 855 860
Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg
865 870 875 880
Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
885 890 895
Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
900 905 910
Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu
915 920 925
Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
930 935 940
Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
945 950 955 960
Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
965 970 975
Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
980 985 990
Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
995 1000 1005
Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala
1010 1015 1020
Gly Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln
1025 1030 1035
Ile Thr Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp
1040 1045 1050
Phe Cys Asp Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn

1055 1060 1065

Arg Gly Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile

1070 1075 1080

Thr Glu Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr

1085 1090 1095

Arg Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu

1100 1105 1110

Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly

1115 1120 1125

His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly Val Leu Gly Met Ala

1130 1135 1140

Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val Gly Thr Lys His

1145 1150 1155

Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu Ile Thr Gly

1160 1165 1170

Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met Val Gly

1175 1180 1185

Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu Ala

1190 1195 1200

Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu

1205 1210 1215

Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr Ile

1220 1225 1230

Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu

1235 1240 1245

Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met

1250 1255 1260

Val Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala

1265 1270 1275

Ile Leu Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys

1280 1285 1290

Val Ser Cys Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Leu

1295 1300 1305

Leu Thr Ser Ser Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu

1310 1315 1320

Thr Ile Lys Gly Leu Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu

1325 1330 1335

Ser Arg Thr Ser Lys Lys Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile

1340 1345 1350

Met Ala Val Gly Met Val Ser Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys
1355 1360 1365
Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu
1370 1375 1380
Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala Asp Leu Glu Leu
1385 1390 1395
Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala Glu Ile Ser
1400 1405 1410
Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp Gly Ser
1415 1420 1425
Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu Thr Ile Leu
1430 1435 1440
Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser
1445 1450 1455
Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys
1460 1465 1470
Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met
1475 1480 1485
Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys
1490 1495 1500
Gly Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu
1505 1510 1515
Gly Thr Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu
1520 1525 1530
Met His Lys Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys
1535 1540 1545
Lys Asp Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu
1550 1555 1560
Trp Lys Glu Gly Glu Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly
1565 1570 1575
Lys Asn Pro Arg Ala Val Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr
1580 1585 1590
Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly
1595 1600 1605
Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys Gly Lys Val Val Gly
1610 1615 1620
Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly Ala Tyr Val Ser
1625 1630 1635
Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn Pro Glu Ile

1640 1645 1650

Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met Asp Leu
1655 1660 1665

His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile Val
1670 1675 1680

Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro
1685 1690 1695

Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu
1700 1705 1710

Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Glu His Thr Gly
1715 1720 1725

Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg
1730 1735 1740

Leu Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met
1745 1750 1755

Asp Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly
1760 1765 1770

Tyr Ile Ser Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe
1775 1780 1785

Met Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser
1790 1795 1800

Asn Ala Pro Ile Ile Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser
1805 1810 1815

Trp Asn Ser Gly His Glu Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr
1820 1825 1830

Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala
1835 1840 1845

Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys
1850 1855 1860

Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr Asn Asp Trp Asp
1865 1870 1875

Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys
1880 1885 1890

Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro Val Ile
1895 1900 1905

Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro
1910 1915 1920

Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg
1925 1930 1935

Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro
1940 1945 1950
Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
1955 1960 1965
Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met
1970 1975 1980
Phe Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr
1985 1990 1995
Arg Leu Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg
2000 2005 2010
Arg Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu
2015 2020 2025
Gly Ile Asn Tyr Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys
2030 2035 2040
Asn Asn Gln Ile Leu Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr
2045 2050 2055
Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala
2060 2065 2070
Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe
2075 2080 2085
Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met
2090 2095 2100
Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Ala Arg Asp Ala Leu
2105 2110 2115
Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu Ala Gly Gly Arg Ala
2120 2125 2130
Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Leu
2135 2140 2145
Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe Leu
2150 2155 2160
Phe Leu Met Ser Gly Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met
2165 2170 2175
Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile
2180 2185 2190
Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu
2195 2200 2205
Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln
2210 2215 2220
Asp Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val

2225 2230 2235

Ala Ala Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys
2240 2245 2250

Lys Asp Leu Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser
2255 2260 2265

Asn Ile Leu Asp Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu
2270 2275 2280

Tyr Ala Val Ala Thr Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser
2285 2290 2295

Ile Glu Asn Ser Ser Val Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn
2300 2305 2310

Gln Ala Thr Val Leu Met Gly Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser
2315 2320 2325

Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser
2330 2335 2340

Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala Ala Leu Phe Leu Leu Val
2345 2350 2355

Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr
2360 2365 2370

Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro
2375 2380 2385

Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro Ile Pro Tyr
2390 2395 2400

Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val
2405 2410 2415

Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala Leu
2420 2425 2430

Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp
2435 2440 2445

Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser
2450 2455 2460

Met Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu
2465 2470 2475

Leu Phe Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr
2480 2485 2490

Gly Asn Ile Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu
2495 2500 2505

Asn Ala Leu Gly Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly
2510 2515 2520

Ile Gln Glu Val Asp Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg
2525 2530 2535
Gly Glu Thr Asp His His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu
2540 2545 2550
Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val
2555 2560 2565
Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly
2570 2575 2580
Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu Thr Lys Gly Gly
2585 2590 2595
Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr Gly Trp Asn
2600 2605 2610
Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile Pro Pro
2615 2620 2625
Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Pro
2630 2635 2640
Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Asn Leu
2645 2650 2655
Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val
2660 2665 2670
Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
2675 2680 2685
Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg
2690 2695 2700
Asn Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn
2705 2710 2715
Ile Val Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg
2720 2725 2730
Phe Thr Met Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp
2735 2740 2745
Leu Gly Ser Gly Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro
2750 2755 2760
Asn Leu Asp Ile Ile Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu
2765 2770 2775
His Glu Thr Ser Trp His Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr
2780 2785 2790
Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala
2795 2800 2805
Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp

2810 2815 2820

Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met Thr Asp Thr Thr

2825 2830 2835

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

2840 2845 2850

Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys Ile Thr

2855 2860 2865

Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro Arg

2870 2875 2880

Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala

2885 2890 2895

Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala

2900 2905 2910

Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys

2915 2920 2925

Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr

2930 2935 2940

Asn Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys

2945 2950 2955

Ala Lys Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg

2960 2965 2970

Phe Leu Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp

2975 2980 2985

Phe Ser Arg Glu Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu

2990 2995 3000

His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly

3005 3010 3015

Gly Ala Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile

3020 3025 3030

Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu Met Val Thr Asn His Met

3035 3040 3045

Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr

3050 3055 3060

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

3065 3070 3075

Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg Gly Ser Gly

3080 3085 3090

Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Ala

3095 3100 3105

Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser Ile
3110 3115 3120
Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu
3125 3130 3135
Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly
3140 3145 3150
Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
3155 3160 3165
Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln
3170 3175 3180
Gln Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro
3185 3190 3195
Phe Cys Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg
3200 3205 3210
Val Leu Val Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg
3215 3220 3225
Ala Arg Ile Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala
3230 3235 3240
Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe
3245 3250 3255
His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala
3260 3265 3270
Val Pro Ser His Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile
3275 3280 3285
His Ala Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Thr Val
3290 3295 3300
Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp Met Glu Asp Lys
3305 3310 3315
Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg
3320 3325 3330
Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser Arg Ala
3335 3340 3345
Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg Ser
3350 3355 3360
Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys
3365 3370 3375
Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
3380 3385 3390

<210> 13

<211> 10696

<212> DNA

<213> 登革热病毒(dengue virus)

<400> 13

agttgttagt ctacgtggac cgacaagaac agtttcgact cggaagcttg cttaacgtag 60
tgctgacagt tttttattag agagcagatc tctgatgaac aaccaacgga aaaagacggg 120
aaaaccgtct atcaatatgc tgaaacgcgt gagaaaccgt gtgtcaactg gatcacagtt 180
ggcgaagaga ttctcaagag gattgctgaa cggccaagga ccaatgaaat tggttatggc 240
atttatagct ttcctcagat ttctagccat tccaccgaca gcaggagtct tggctagatg 300
gggtaccttt aagaagtcgg gggctattaa ggtcttaaaa ggcttcaaga aggagatctc 360
aaacatgctg agcattatca acaaacggaa aaagacatcg ctctgtctca tgatgatgtt 420
accagcaaca cttgctttcc acttaacttc acgagatgga gagccgcgca tgattgtggg 480
gaagaatgaa agaggaaaat ccctactttt caagacagcc tctggaatca acatgtgcac 540
actcatagcc atggatctgg gagagatgtg tgatgacacg gtcacttaca aatgccccca 600
cattaccgaa gtggagcctg aagacattga ctgctggtgc aaccttacat cgacatgggt 660
gacttatgga acatgcaatc aagctggaga gcatagacgc gataagagat cagtggcgtt 720
agctccccat gttggcatgg gactggacac acgcactcaa acctggatgt cggctgaagg 780
agcttggaga caagtcgaga aggtagagac atgggccctt aggcacccag ggtttaccat 840
actagcccta tttcttgccc attacatagg cacttccttg acccagaaag tggttatttt 900
tatactatta atgctggtta ccccatccat gacaatgaga tgtgtaggag taggaaacag 960
agattttgtg gaaggcctat cgggagctac gtgggttgac gtggtgctcg agcacggtgg 1020
gtgtgtgact accatggcta agaacaagcc cacgctggac atagagcttc agaagaccga 1080
ggccacccaa ctggcgaccc taaggaagct atgcattgag ggaaaaatta ccaacataac 1140
aaccgactca agatgtccca cccaagggga agcgatttta cctgaggagc aggaccagaa 1200
ctacgtgtgt aagcatacat acgtggacag aggctgggga aacggttgtg gtttgtttgg 1260
caagggaagc ttggtgacat gcgcgaaatt tcaatgttta gaatcaatag agggaaaagt 1320
ggtgcaacat gagaacctca aatacaccgt catcatcaca gtgcacacag gagaccaaca 1380
ccaggtggga aatgaaacgc agggagtcac ggctgagata acaccccagg catcaaccgc 1440
tgaagtcatt ttacctgaat atggaaccct cgggctagaa tgctcaccac ggacaggttt 1500
ggatttcaat gaaatgatct cattgacaat gaagaacaaa gcatggatgg tacatagaca 1560
atggttcttt gacttacccc taccatggac atcaggagct acagcagaaa caccaacttg 1620
gaacaggaaa gagcttcttg tgacatttaa aaatgcacat gcaaaaaagc aagaagtagt 1680
tgttcttgga tcacaagagg gagcaatgca tacagcactg acaggagcta cagagatcca 1740
aacctcagga ggcacaagta tctttgcggg gcacttaaaa tgtagactca agatggacaa 1800
attggaactc aaggggatga gctatgcaat gtgcttgagt agctttgtgt tgaagaaaga 1860
agtctccgaa acgcagcatg ggacaatact cattaaggtt gagtacaaag gggaagatgc 1920
accctgcaag attcctttct ccacggagga tggacaagga aaagctcaca atggcagact 1980
gatcacagcc aatccagtgg tgaccaagaa ggaggagcct gtcaacattg aggctgaacc 2040
tccttttgga gaaagtaaca tagtaattgg aattggagac aaagccctga aaatcaactg 2100

gtacaagaag ggaagctcga ttgggaagat gttcgaggcc actgccagag gtgcaaggcg 2160
catggccatc ttgggagaca cagcctggga ctttggatca gtgggtggtg ttttgaattc 2220
attagggaaa atggtccacc aaatatttgg gagtgcttac acagccctat ttggtggagt 2280
ctcctggatg atgaaaattg gaataggtgt cctcttaacc tggatagggt tgaactcaaa 2340
aaatacttct atgtcatttt catgcatcgc gataggaatc attacactct atctgggagc 2400
cgtggtgcaa gctgacatgg ggtgtgtcat aaactggaaa ggcaaagaac tcaaatgtgg 2460
aagtggaatt ttcgtcacta atgaggtcca cacctggaca gagcaataca aatttcaagc 2520
agactccccc aagagactgg caacagccat tgcaggcgct tgggaaaatg gagtgtgcgg 2580
aattaggtca acaaccagaa tggagaacct cttgtggaag caaatagcca atgaactgaa 2640
ttacatatta tgggaaaaca acattaaatt aacggtagtt gtaggcgaca taactggggt 2700
cttagagcaa gggaaaagaa cactaacacc acaacccatg gagctaaaat attcttggaa 2760
aacatgggga aaggcaaaaa tagtgacagc tgaaacacaa aattcctctt tcataataga 2820
tgggccaagc acaccggagt gtccaagtgc ctcaagagca tggaatgtgt gggaggtgga 2880
ggattacggg ttcggagttt tcacaaccaa catatggctg aaactccgag aggtgtacac 2940
ccaactatgt gaccataggc taatgtcggc agccgtcaag gatgagaggg ctgtacatgc 3000
cgacatgggc tattggatag aaagccaaaa gaatgggagt tggaagctag aaaaagcatc 3060
cttcatagag gtgaaaacct gcacatggcc aaaatcacac actctctgga gcaatggtgt 3120
gctagagagt gacatgatta tcccaaagag tctagctggt cccatttcgc aacacaacca 3180
caggcccggg taccacaccc aaacggcagg accctggcac ttaggaaaat tggagctgga 3240
cttcaactat tgtgaaggaa caacagttgt catctcagaa aactgtggga caagaggccc 3300
atcattgaga acaacaacgg tgtcagggaa gttgatacac gaatggtgct gccgctcgtg 3360
cacacttcct cccctacgat acatgggaga agacggctgc tggtatggca tggaaatcag 3420
acccattaat gagaaagaag agaatatggt aaagtctcta gcctcagcag ggagtggaaa 3480
ggtggacaac ttcacaatgg gtgtcttgtg tttggcaatc ctctttgaag aggtgatgag 3540
aggaaaattt gggaaaaaac acatgattgc aggggttctc ttcacgtttg tgctcctcct 3600
ctcagggcaa ataacatgga gagacatggc gcacacactc ataatgattg ggtccaacgc 3660
ctctgacaga atggggatgg gcgtcactta cctagctcta attgcaacat ttaaaattca 3720
gccattcctg gctttgggat tcttcctgag gaaactgaca tctagagaaa atttattgct 3780
gggagttggg ttggccatgg cagcaacgtt acgactgcca gaggacattg aacagatggc 3840
gaatggaatt gctttggggc tcatggctct taaactgata acacaatttg aaacatacca 3900
actatggacg gcattagttt ccctaacgtg ttcaaataca attttcacgt tgactgttgc 3960
ctggagaaca gccactctga ttttagccgg aatttcgctt ttgccagtgt gccagtcttc 4020
gagcatgagg aaaacagatt ggctcccaat gactgtggca gctatgggag ctcaacccct 4080
accacttttt attttcagtc tgaaagatac actcaaaagg agaagctggc cactgaatga 4140
gggggtgatg gcagttggac ttgtgagcat tctagctagt tctctcctta ggaatgatgt 4200
gcctatggct ggaccattag tggctggggg cttgctgata gcgtgctacg tcataactgg 4260
cacgtcagca gacctcactg tagaaaaagc agcagatgta acatgggagg aagaggccga 4320
gcaaacagga gtgtcccaca atttaatggt cacagttgat gatgatggaa caatgagaat 4380
aaaagatgac gagactgaga acatcttaac agtgctttta aaaacagcac tactaatagt 4440

atcaggcatc tttccatact ccatacccgc aacactgttg gtctggcata cttggcaaaa 4500
gcaaacccaa agatccggcg tcctatggga cgtacccagc cccccagaga cacagaaagc 4560
ggaactggaa gaaggggtct ataggatcaa acagcaagga atttttggga aaacccaagt 4620
gggggttgga gtacagaaag aaggagtttt ccacaccatg tggcatgtca caagaggggc 4680
agtgttgaca cacaatggga aaagactgga accaaactgg gctagcgtga aaaaagatct 4740
gatttcatac ggaggaggat ggagattgag tgcacaatgg caaaaggggg aggaggtgca 4800
ggttattgcc gtagagcctg ggaagaaccc aaagaacttt caaaccatgc caggcatttt 4860
tcagacaaca acaggggaaa taggagcaat tgcactggat ttcaagcctg gaacttcagg 4920
atctcccatc ataaacagag agggaaaggt agtgggactg tatggcaatg gagtggttac 4980
aaagaatgga ggctatgtca gtggaatagc gcaaacaaat gcagaaccag atggaccgac 5040
accagagttg gaagaagaga tgttcaaaaa gcgaaatcta accataatgg atctccatcc 5100
tgggtcagga aagacgcgga aatatcttcc agctattgtt agagaggcaa tcaagagacg 5160
cttaaggact ctaattttgg caccaacaag ggtagttgca gctgagatgg aagaagcatt 5220
gaaagggctc ccaataaggt atcaaacaac tgcaacaaaa tctgaacaca caggaagaga 5280
gattgttgat ctaatgtgtc acgcaacgtt cacaatgcgc ttgctgtcac cagtcagggt 5340
tccaaactac aacttgataa taatggatga ggcccatttc acagacccag ccagtatagc 5400
ggctagaggg tacatatcaa ctcgtgtagg aatgggagag gcagccgcaa ttttcatgac 5460
agcaacaccc cctggaacag ctgatgcctt tcctcagagc aacgctccaa ttcaagatga 5520
agagagagac ataccggaac gctcatggaa ttcaggcaat gaatggatta ctgactttgt 5580
tgggaagaca gtgtggtttg tccctagcat caaagccgga aatgacatag caaactgctt 5640
gcggaaaaat ggaaaaaagg ttattcaact cagcaggaag acctttgaca cagaatatca 5700
aaagaccaaa ctgaatgatt gggactttgt ggtgacaaca gacatttcag aaatgggagc 5760
caatttcaaa gcagatagag tgatcgaccc aagaagatgt ctcaagccgg tgattttgac 5820
agatggaccc gagcgggtga tcctggctgg accaatgcca gtcaccgtag cgagcgctgc 5880
gcaaaggaga gggagagttg gcaggaaccc acaaaaagaa aatgaccagt acatattcat 5940
gggccagcct ctcaacaatg atgaagacca tgctcactgg acagaagcaa aaatgctgct 6000
ggacaacatc aacacaccag aagggattat accagctctc tttgaaccag aaagggagaa 6060
gtcagccgcc atagacggcg aataccgcct gaagggtgag tccaggaaga ctttcgtgga 6120
actcatgagg aggggtgacc tcccagtttg gctagcccat aaagtagcat cagaagggat 6180
caaatataca gatagaaaat ggtgctttga tggagaacgt aataatcaaa ttttagagga 6240
gaatatggat gtggaaatct ggacaaagga aggagaaaag aaaaaactga gacctaggtg 6300
gcttgatgcc cgcacttatt cagatccttt agcactcaaa gaattcaagg attttgcagc 6360
tggcagaaag tcaatcgccc ttgatcttgt gacagaaata ggaagagtgc cttcacactt 6420
agcccacaga acgagaaacg ccctggataa tttggtgatg ctgcacacgt cagaacatgg 6480
cggtagggcc tacaggcatg cagtggagga actaccagaa acgatggaaa cactcttact 6540
cctgggactg atgatcttgt taacaggtgg agcaatgctc ttcttgatat caggtaaagg 6600
gattggaaag acttcaatag gactcatttg tgtaattgct tccagcggca tgttatggat 6660
ggctgatgtc ccactccaat ggatcgcatc ggctatagtc ctggagtttt ttatgatggt 6720
gttgctcata ccagaaccag aaaagcagag aactccccaa gacaaccaac tcgcatatgt 6780

cgtgataggc atacttacat tggctgcaat agtagcggcc aatgaaatgg gactgttgga 6840
aactacaaag agagatttag gaatgtctaa agaaccaggt gttgtttctc caaccagcta 6900
tttggatgtg gacttgcacc cagcatcagc ctggacattg tacgccgtgg ccacaacagt 6960
aataacacca atgttgagac acaccataga gaattccaca gcaaatgtgt ctctggcagc 7020
catagctaac caggcagtgg tcctgatggg tttagacaaa ggatggccga tatcgaaaat 7080
ggacttgggc gtaccactat tggcactggg ttgctattca caagtgaacc cactaactct 7140
tgcagcggca gtacttttgc tagtcacaca ttatgcaatt ataggtccag gattgcaggc 7200
aaaagccacc cgtgaagctc agaaaaggac agctgctgga ataatgaaga atccaacggt 7260
ggatggaata atgacaatag acctagatcc tgtaatatat gattcaaaat ttgaaaagca 7320
actaggacag gtcatgctcc tggttctgtg tgcagtccaa cttttattga tgagaacatc 7380
atgggccttg tgtgaagttc taaccctagc cacaggacca ataacaacac tctgggaagg 7440
atcacctggg aagttctgga acaccacgat agctgtttcc atggcgaaca tctttagagg 7500
gagctattta gcaggagctg ggcttgcttt ttctatcatg aaatcagttg gaacaggaaa 7560
gagaggaaca gggtcacaag gtgaaacctt aggagaaaag tggaaaaaga aattaaatca 7620
gttatcccgg aaagagtttg acctttacaa gaaatccgga atcaccgaag tggatagaac 7680
agaagccaaa gaagggttaa aaagaggaga aataacacac catgccgtgt ccagaggcag 7740
cgcaaaactt caatggttcg tggagagaaa catggtcatt cctgaaggaa gagtcataga 7800
cctaggctgt ggaagaggag gctggtcata ttactgtgca ggactgaaaa aagttacaga 7860
agtgcgagga tacacaaaag gcggcccagg acacgaagaa ccagtaccta tgtctacata 7920
cggatggaac atagtcaagt taatgagtgg aaaggatgtt ttttatctgc cacctgaaaa 7980
gtgtgatacc ctattgtgtg acattggaga atcttcacca agcccaacag tggaagaaag 8040
cagaaccata agagttttga agatggttga accatggcta aagaacaacc agttttgcat 8100
taaagtattg aacccataca tgccaactgt gattgagcac ttagaaagac tacaaaggaa 8160
acatggagga atgcttgtga gaaatccact ctcacgaaac tccacgcacg aaatgtattg 8220
gatatccaat ggtacaggca atatcgtctc ttcagtcaac atggtatcca gattgctact 8280
gaacagattc acaatgacac acaggagacc caccatagag aaagatgtgg atctaggagc 8340
aggaacccga catgtcaatg cggaaccaga aacacccaac atggatgtca ttggggaaag 8400
aataaaaagg atcaaagagg agcatagttc aacatggcac tatgatgatg aaaatcctta 8460
caaaacgtgg gcttaccatg gatcctatga agtaaaagcc acaggctcag cctcctccat 8520
gataaatgga gtcgtgaaac tcctcacaaa accatgggat gtggtgccca tggtgacaca 8580
gatggcaatg acagatacaa ctccattcgg ccagcaaaga gtttttaaag agaaagtgga 8640
caccaggaca cctaggccca tgccaggaac aagaaaggtt atggagatca cagcggagtg 8700
gctttggagg accctgggaa ggaacaaaag acccagatta tgcacaaggg aggaattcac 8760
aaagaaggtc agaaccaacg cagctatggg cgctgtcttc acagaagaga accaatggga 8820
cagtgcgaga gctgctgttg aggacgaaga attttggaaa cttgtggaca gagaacgtga 8880
actccacaaa ctgggcaagt gtggaagctg cgtttacaac atgatgggca agagagagaa 8940
aaaacttgga gagtttggta aagcaaaagg cagtagggct atatggtaca tgtggttggg 9000
agccaggtac cttgagttcg aggcgctcgg attcctcaat gaagaccact ggttctcgcg 9060
tgaaaactct tacagtggag tagaaggaga aggactgcac aagctgggat acatcttgag 9120

agatatttcc aagatacccg gaggagccat gtatgctgat gacacagccg gttgggacac 9180
aagaataaca gaagatgacc tgcacaatga ggaaaaaatc acacagcaga tggaccctga 9240
acacaggcag ctagcgaacg ctatattcaa gctcacatac caaaacaaag tggtcaaagt 9300
ccaacgacca actccaaagg gcacggtaat ggacatcata tctaggaaag accaaagagg 9360
cagtggacag gtgggaactt atggtctgaa cacattcacc aacatggaag cccagctaat 9420
cagacaaatg gaaggagaag gcgtgttgtc aaaggcagac ctcgagaacc cccatccgct 9480
agagaagaaa attacacaat ggttggaaac taaaggagtg gaaaggttaa aaagaatggc 9540
catcagcggg gatgattgcg ttgtgaaacc aatcgacgac agattcgcca atgccctgct 9600
tgccctgaac gatatgggaa aggttagaaa ggacatacct caatggcagc catcaaaggg 9660
atggcatgat tggcaacagg tccccttctg ctcccaccac tttcatgaat tgatcatgaa 9720
agatggaaga aagttggtag ttccctgcag accccaggac gaactaatag gaagagcgag 9780
aatctcccaa ggagcaggat ggagccttag agaaactgca tgtctaggga aagcctacgc 9840
tcaaatgtgg gctctcatgt attttcacag aagagatctt agactagcat ccaacgccat 9900
atgttcagca gtaccagtcc actgggtccc cacgagcaga acgacatggt ctattcatgc 9960
tcaccatcag tggatgacta cagaagacat gcttactgtc tggaacaggg tgtggataga 10020
ggacaatcca tggatggaag acaaaactcc agtcacaacg tgggaagatg ttccatatct 10080
agggaagaga gaagaccaat ggtgcggatc actcataggt ctcacttcca gagcaacctg 10140
ggcccagaac atactcacag caatccaaca ggtgagaagc ctcataggca atgaagagtt 10200
tctggactac atgccttcga tgaagagatt caggaaggag gaggagtcag agggagccat 10260
ttggtaaaag caggaggtaa actgtcaggc cacattaagc cacagtacgg aagaagctgt 10320
gcagcctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagaag tcaggcccaa aagccacggt 10380
ttgagcaaac cgtgctgcct gtagctccgt cgtggggacg taaagcctgg gaggctgcaa 10440
accgtggaag ctgtacgcac ggtgtagcag actagtggtt agaggagacc cctcccatga 10500
cacaacgcag cagcggggcc cgagcactga gggaagctgt acctccttgc aaaggactag 10560
aggttagagg agacccccccg caaacaaaaa cagcatattg acgctgggag agaccagaga 10620
tcctgctgtc tcctcagcat cattccaggc acagaacgcc agaaaatgga atggtgctgt 10680
tgaatcaaca ggttct 10696

<210> 14
<211> 3390
<212> PRT
<213> 登革热病毒(dengue virus)
<400> 14

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

50 55 60

Val Leu Ala Arg Trp Gly Thr Phe Lys Lys Ser Gly Ala Ile Lys Val
65 70 75 80

Leu Lys Gly Phe Lys Lys Glu Ile Ser Asn Met Leu Ser Ile Ile Asn
85 90 95

Lys Arg Lys Lys Thr Ser Leu Cys Leu Met Met Met Leu Pro Ala Thr
100 105 110

Leu Ala Phe His Leu Thr Ser Arg Asp Gly Glu Pro Arg Met Ile Val
115 120 125

Gly Lys Asn Glu Arg Gly Lys Ser Leu Leu Phe Lys Thr Ala Ser Gly
130 135 140

Ile Asn Met Cys Thr Leu Ile Ala Met Asp Leu Gly Glu Met Cys Asp
145 150 155 160

Asp Thr Val Thr Tyr Lys Cys Pro His Ile Thr Glu Val Glu Pro Glu
165 170 175

Asp Ile Asp Cys Trp Cys Asn Leu Thr Ser Thr Trp Val Thr Tyr Gly
180 185 190

Thr Cys Asn Gln Ala Gly Glu His Arg Arg Asp Lys Arg Ser Val Ala
195 200 205

Leu Ala Pro His Val Gly Met Gly Leu Asp Thr Arg Thr Gln Thr Trp
210 215 220

Met Ser Ala Glu Gly Ala Trp Arg Gln Val Glu Lys Val Glu Thr Trp
225 230 235 240

Ala Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Ile Leu Ala Leu Phe Leu Ala His
245 250 255

Tyr Ile Gly Thr Ser Leu Thr Gln Lys Val Val Ile Phe Ile Leu Leu
260 265 270

Met Leu Val Thr Pro Ser Met Thr Met Arg Cys Val Gly Val Gly Asn
275 280 285

Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val
290 295 300

Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
305 310 315 320

Leu Asp Ile Glu Leu Gln Lys Thr Glu Ala Thr Gln Leu Ala Thr Leu
325 330 335

Arg Lys Leu Cys Ile Glu Gly Lys Ile Thr Asn Ile Thr Thr Asp Ser
340 345 350

Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Ile Leu Pro Glu Glu Gln Asp Gln
355 360 365

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

675 680 685

Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly

690 695 700

Gly Val Leu Asn Ser Leu Gly Lys Met Val His Gln Ile Phe Gly Ser

705 710 715 720

Ala Tyr Thr Ala Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Met Lys Ile Gly

725 730 735

Ile Gly Val Leu Leu Thr Trp Ile Gly Leu Asn Ser Lys Asn Thr Ser

740 745 750

Met Ser Phe Ser Cys Ile Ala Ile Gly Ile Ile Thr Leu Tyr Leu Gly

755 760 765

Ala Val Val Gln Ala Asp Met Gly Cys Val Ile Asn Trp Lys Gly Lys

770 775 780

Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Val Thr Asn Glu Val His Thr

785 790 795 800

Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Ala Asp Ser Pro Lys Arg Leu Ala

805 810 815

Thr Ala Ile Ala Gly Ala Trp Glu Asn Gly Val Cys Gly Ile Arg Ser

820 825 830

Thr Thr Arg Met Glu Asn Leu Leu Trp Lys Gln Ile Ala Asn Glu Leu

835 840 845

Asn Tyr Ile Leu Trp Glu Asn Asn Ile Lys Leu Thr Val Val Val Gly

850 855 860

Asp Ile Thr Gly Val Leu Glu Gln Gly Lys Arg Thr Leu Thr Pro Gln

865 870 875 880

Pro Met Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala Lys Ile

885 890 895

Val Thr Ala Glu Thr Gln Asn Ser Ser Phe Ile Ile Asp Gly Pro Ser

900 905 910

Thr Pro Glu Cys Pro Ser Ala Ser Arg Ala Trp Asn Val Trp Glu Val

915 920 925

Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu Lys Leu

930 935 940

Arg Glu Val Tyr Thr Gln Leu Cys Asp His Arg Leu Met Ser Ala Ala

945 950 955 960

Val Lys Asp Glu Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp Ile Glu

965 970 975

Ser Gln Lys Asn Gly Ser Trp Lys Leu Glu Lys Ala Ser Phe Ile Glu

980 985 990

Val Lys Thr Cys Thr Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser Asn Gly
995 1000 1005
Val Leu Glu Ser Asp Met Ile Ile Pro Lys Ser Leu Ala Gly Pro
1010 1015 1020
Ile Ser Gln His Asn His Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Thr Ala
1025 1030 1035
Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Leu Asp Phe Asn Tyr Cys
1040 1045 1050
Glu Gly Thr Thr Val Val Ile Ser Glu Asn Cys Gly Thr Arg Gly
1055 1060 1065
Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Val Ser Gly Lys Leu Ile His Glu
1070 1075 1080
Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Met Gly
1085 1090 1095
Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Ile Asn Glu
1100 1105 1110
Lys Glu Glu Asn Met Val Lys Ser Leu Ala Ser Ala Gly Ser Gly
1115 1120 1125
Lys Val Asp Asn Phe Thr Met Gly Val Leu Cys Leu Ala Ile Leu
1130 1135 1140
Phe Glu Glu Val Met Arg Gly Lys Phe Gly Lys Lys His Met Ile
1145 1150 1155
Ala Gly Val Leu Phe Thr Phe Val Leu Leu Leu Ser Gly Gln Ile
1160 1165 1170
Thr Trp Arg Asp Met Ala His Thr Leu Ile Met Ile Gly Ser Asn
1175 1180 1185
Ala Ser Asp Arg Met Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu Ala Leu Ile
1190 1195 1200
Ala Thr Phe Lys Ile Gln Pro Phe Leu Ala Leu Gly Phe Phe Leu
1205 1210 1215
Arg Lys Leu Thr Ser Arg Glu Asn Leu Leu Leu Gly Val Gly Leu
1220 1225 1230
Ala Met Ala Ala Thr Leu Arg Leu Pro Glu Asp Ile Glu Gln Met
1235 1240 1245
Ala Asn Gly Ile Ala Leu Gly Leu Met Ala Leu Lys Leu Ile Thr
1250 1255 1260
Gln Phe Glu Thr Tyr Gln Leu Trp Thr Ala Leu Val Ser Leu Thr
1265 1270 1275
Cys Ser Asn Thr Ile Phe Thr Leu Thr Val Ala Trp Arg Thr Ala

1280 1285 1290
Thr Leu Ile Leu Ala Gly Ile Ser Leu Leu Pro Val Cys Gln Ser
1295 1300 1305
Ser Ser Met Arg Lys Thr Asp Trp Leu Pro Met Thr Val Ala Ala
1310 1315 1320
Met Gly Ala Gln Pro Leu Pro Leu Phe Ile Phe Ser Leu Lys Asp
1325 1330 1335
Thr Leu Lys Arg Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Gly Val Met Ala
1340 1345 1350
Val Gly Leu Val Ser Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Arg Asn Asp
1355 1360 1365
Val Pro Met Ala Gly Pro Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Ile Ala
1370 1375 1380
Cys Tyr Val Ile Thr Gly Thr Ser Ala Asp Leu Thr Val Glu Lys
1385 1390 1395
Ala Ala Asp Val Thr Trp Glu Glu Glu Ala Glu Gln Thr Gly Val
1400 1405 1410
Ser His Asn Leu Met Val Thr Val Asp Asp Asp Gly Thr Met Arg
1415 1420 1425
Ile Lys Asp Asp Glu Thr Glu Asn Ile Leu Thr Val Leu Leu Lys
1430 1435 1440
Thr Ala Leu Leu Ile Val Ser Gly Ile Phe Pro Tyr Ser Ile Pro
1445 1450 1455
Ala Thr Leu Leu Val Trp His Thr Trp Gln Lys Gln Thr Gln Arg
1460 1465 1470
Ser Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Glu Thr Gln Lys
1475 1480 1485
Ala Glu Leu Glu Glu Gly Val Tyr Arg Ile Lys Gln Gln Gly Ile
1490 1495 1500
Phe Gly Lys Thr Gln Val Gly Val Gly Val Gln Lys Glu Gly Val
1505 1510 1515
Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Thr His
1520 1525 1530
Asn Gly Lys Arg Leu Glu Pro Asn Trp Ala Ser Val Lys Lys Asp
1535 1540 1545
Leu Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Arg Leu Ser Ala Gln Trp Gln
1550 1555 1560
Lys Gly Glu Glu Val Gln Val Ile Ala Val Glu Pro Gly Lys Asn
1565 1570 1575

Pro Lys Asn Phe Gln Thr Met Pro Gly Ile Phe Gln Thr Thr Thr
1580 1585 1590
Gly Glu Ile Gly Ala Ile Ala Leu Asp Phe Lys Pro Gly Thr Ser
1595 1600 1605
Gly Ser Pro Ile Ile Asn Arg Glu Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr
1610 1615 1620
Gly Asn Gly Val Val Thr Lys Asn Gly Gly Tyr Val Ser Gly Ile
1625 1630 1635
Ala Gln Thr Asn Ala Glu Pro Asp Gly Pro Thr Pro Glu Leu Glu
1640 1645 1650
Glu Glu Met Phe Lys Lys Arg Asn Leu Thr Ile Met Asp Leu His
1655 1660 1665
Pro Gly Ser Gly Lys Thr Arg Lys Tyr Leu Pro Ala Ile Val Arg
1670 1675 1680
Glu Ala Ile Lys Arg Arg Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro Thr
1685 1690 1695
Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Lys Gly Leu Pro
1700 1705 1710
Ile Arg Tyr Gln Thr Thr Ala Thr Lys Ser Glu His Thr Gly Arg
1715 1720 1725
Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu
1730 1735 1740
Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp
1745 1750 1755
Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr
1760 1765 1770
Ile Ser Thr Arg Val Gly Met Gly Glu Ala Ala Ala Ile Phe Met
1775 1780 1785
Thr Ala Thr Pro Pro Gly Thr Ala Asp Ala Phe Pro Gln Ser Asn
1790 1795 1800
Ala Pro Ile Gln Asp Glu Glu Arg Asp Ile Pro Glu Arg Ser Trp
1805 1810 1815
Asn Ser Gly Asn Glu Trp Ile Thr Asp Phe Val Gly Lys Thr Val
1820 1825 1830
Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Asn Cys
1835 1840 1845
Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr
1850 1855 1860
Phe Asp Thr Glu Tyr Gln Lys Thr Lys Leu Asn Asp Trp Asp Phe

1865 1870 1875
Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys Ala
1880 1885 1890
Asp Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Leu Lys Pro Val Ile Leu
1895 1900 1905
Thr Asp Gly Pro Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro Val
1910 1915 1920
Thr Val Ala Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Asn
1925 1930 1935
Pro Gln Lys Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Phe Met Gly Gln Pro Leu
1940 1945 1950
Asn Asn Asp Glu Asp His Ala His Trp Thr Glu Ala Lys Met Leu
1955 1960 1965
Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ala Leu Phe
1970 1975 1980
Glu Pro Glu Arg Glu Lys Ser Ala Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg
1985 1990 1995
Leu Lys Gly Glu Ser Arg Lys Thr Phe Val Glu Leu Met Arg Arg
2000 2005 2010
Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala His Lys Val Ala Ser Glu Gly
2015 2020 2025
Ile Lys Tyr Thr Asp Arg Lys Trp Cys Phe Asp Gly Glu Arg Asn
2030 2035 2040
Asn Gln Ile Leu Glu Glu Asn Met Asp Val Glu Ile Trp Thr Lys
2045 2050 2055
Glu Gly Glu Lys Lys Lys Leu Arg Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg
2060 2065 2070
Thr Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu Lys Glu Phe Lys Asp Phe Ala
2075 2080 2085
Ala Gly Arg Lys Ser Ile Ala Leu Asp Leu Val Thr Glu Ile Gly
2090 2095 2100
Arg Val Pro Ser His Leu Ala His Arg Thr Arg Asn Ala Leu Asp
2105 2110 2115
Asn Leu Val Met Leu His Thr Ser Glu His Gly Gly Arg Ala Tyr
2120 2125 2130
Arg His Ala Val Glu Glu Leu Pro Glu Thr Met Glu Thr Leu Leu
2135 2140 2145
Leu Leu Gly Leu Met Ile Leu Leu Thr Gly Gly Ala Met Leu Phe
2150 2155 2160

Leu Ile Ser Gly Lys Gly Ile Gly Lys Thr Ser Ile Gly Leu Ile
2165 2170 2175
Cys Val Ile Ala Ser Ser Gly Met Leu Trp Met Ala Asp Val Pro
2180 2185 2190
Leu Gln Trp Ile Ala Ser Ala Ile Val Leu Glu Phe Phe Met Met
2195 2200 2205
Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp
2210 2215 2220
Asn Gln Leu Ala Tyr Val Val Ile Gly Ile Leu Thr Leu Ala Ala
2225 2230 2235
Ile Val Ala Ala Asn Glu Met Gly Leu Leu Glu Thr Thr Lys Arg
2240 2245 2250
Asp Leu Gly Met Ser Lys Glu Pro Gly Val Val Ser Pro Thr Ser
2255 2260 2265
Tyr Leu Asp Val Asp Leu His Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr
2270 2275 2280
Ala Val Ala Thr Thr Val Ile Thr Pro Met Leu Arg His Thr Ile
2285 2290 2295
Glu Asn Ser Thr Ala Asn Val Ser Leu Ala Ala Ile Ala Asn Gln
2300 2305 2310
Ala Val Val Leu Met Gly Leu Asp Lys Gly Trp Pro Ile Ser Lys
2315 2320 2325
Met Asp Leu Gly Val Pro Leu Leu Ala Leu Gly Cys Tyr Ser Gln
2330 2335 2340
Val Asn Pro Leu Thr Leu Ala Ala Ala Val Leu Leu Leu Val Thr
2345 2350 2355
His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr Arg
2360 2365 2370
Glu Ala Gln Lys Arg Thr Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro Thr
2375 2380 2385
Val Asp Gly Ile Met Thr Ile Asp Leu Asp Pro Val Ile Tyr Asp
2390 2395 2400
Ser Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val Leu
2405 2410 2415
Cys Ala Val Gln Leu Leu Leu Met Arg Thr Ser Trp Ala Leu Cys
2420 2425 2430
Glu Val Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Thr Thr Leu Trp Glu
2435 2440 2445
Gly Ser Pro Gly Lys Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met

2450 2455 2460

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

2465 2470 2475

Phe Ser Ile Met Lys Ser Val Gly Thr Gly Lys Arg Gly Thr Gly

2480 2485 2490

Ser Gln Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Lys Lys Leu Asn

2495 2500 2505

Gln Leu Ser Arg Lys Glu Phe Asp Leu Tyr Lys Lys Ser Gly Ile

2510 2515 2520

Thr Glu Val Asp Arg Thr Glu Ala Lys Glu Gly Leu Lys Arg Gly

2525 2530 2535

Glu Ile Thr His His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Gln

2540 2545 2550

Trp Phe Val Glu Arg Asn Met Val Ile Pro Glu Gly Arg Val Ile

2555 2560 2565

Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Ala Gly

2570 2575 2580

Leu Lys Lys Val Thr Glu Val Arg Gly Tyr Thr Lys Gly Gly Pro

2585 2590 2595

Gly His Glu Glu Pro Val Pro Met Ser Thr Tyr Gly Trp Asn Ile

2600 2605 2610

Val Lys Leu Met Ser Gly Lys Asp Val Phe Tyr Leu Pro Pro Glu

2615 2620 2625

Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Pro Ser

2630 2635 2640

Pro Thr Val Glu Glu Ser Arg Thr Ile Arg Val Leu Lys Met Val

2645 2650 2655

Glu Pro Trp Leu Lys Asn Asn Gln Phe Cys Ile Lys Val Leu Asn

2660 2665 2670

Pro Tyr Met Pro Thr Val Ile Glu His Leu Glu Arg Leu Gln Arg

2675 2680 2685

Lys His Gly Gly Met Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn Ser

2690 2695 2700

Thr His Glu Met Tyr Trp Ile Ser Asn Gly Thr Gly Asn Ile Val

2705 2710 2715

Ser Ser Val Asn Met Val Ser Arg Leu Leu Leu Asn Arg Phe Thr

2720 2725 2730

Met Thr His Arg Arg Pro Thr Ile Glu Lys Asp Val Asp Leu Gly

2735 2740 2745

Ala Gly Thr Arg His Val Asn Ala Glu Pro Glu Thr Pro Asn Met
2750 2755 2760
Asp Val Ile Gly Glu Arg Ile Lys Arg Ile Lys Glu Glu His Ser
2765 2770 2775
Ser Thr Trp His Tyr Asp Asp Glu Asn Pro Tyr Lys Thr Trp Ala
2780 2785 2790
Tyr His Gly Ser Tyr Glu Val Lys Ala Thr Gly Ser Ala Ser Ser
2795 2800 2805
Met Ile Asn Gly Val Val Lys Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val
2810 2815 2820
Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe
2825 2830 2835
Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg Thr Pro
2840 2845 2850
Arg Pro Met Pro Gly Thr Arg Lys Val Met Glu Ile Thr Ala Glu
2855 2860 2865
Trp Leu Trp Arg Thr Leu Gly Arg Asn Lys Arg Pro Arg Leu Cys
2870 2875 2880
Thr Arg Glu Glu Phe Thr Lys Lys Val Arg Thr Asn Ala Ala Met
2885 2890 2895
Gly Ala Val Phe Thr Glu Glu Asn Gln Trp Asp Ser Ala Arg Ala
2900 2905 2910
Ala Val Glu Asp Glu Glu Phe Trp Lys Leu Val Asp Arg Glu Arg
2915 2920 2925
Glu Leu His Lys Leu Gly Lys Cys Gly Ser Cys Val Tyr Asn Met
2930 2935 2940
Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys
2945 2950 2955
Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Tyr Leu
2960 2965 2970
Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser
2975 2980 2985
Arg Glu Asn Ser Tyr Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys
2990 2995 3000
Leu Gly Tyr Ile Leu Arg Asp Ile Ser Lys Ile Pro Gly Gly Ala
3005 3010 3015
Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Glu
3020 3025 3030
Asp Asp Leu His Asn Glu Glu Lys Ile Thr Gln Gln Met Asp Pro

3035 3040 3045

Glu His Arg Gln Leu Ala Asn Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln
3050 3055 3060

Asn Lys Val Val Lys Val Gln Arg Pro Thr Pro Lys Gly Thr Val
3065 3070 3075

Met Asp Ile Ile Ser Arg Lys Asp Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val
3080 3085 3090

Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Ala Gln Leu
3095 3100 3105

Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Leu Ser Lys Ala Asp Leu
3110 3115 3120

Glu Asn Pro His Pro Leu Glu Lys Lys Ile Thr Gln Trp Leu Glu
3125 3130 3135

Thr Lys Gly Val Glu Arg Leu Lys Arg Met Ala Ile Ser Gly Asp
3140 3145 3150

Asp Cys Val Val Lys Pro Ile Asp Asp Arg Phe Ala Asn Ala Leu
3155 3160 3165

Leu Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Val Arg Lys Asp Ile Pro Gln
3170 3175 3180

Trp Gln Pro Ser Lys Gly Trp His Asp Trp Gln Gln Val Pro Phe
3185 3190 3195

Cys Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Lys
3200 3205 3210

Leu Val Val Pro Cys Arg Pro Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala
3215 3220 3225

Arg Ile Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys
3230 3235 3240

Leu Gly Lys Ala Tyr Ala Gln Met Trp Ala Leu Met Tyr Phe His
3245 3250 3255

Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala Ser Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val
3260 3265 3270

Pro Val His Trp Val Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His
3275 3280 3285

Ala His His Gln Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp
3290 3295 3300

Asn Arg Val Trp Ile Glu Asp Asn Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr
3305 3310 3315

Pro Val Thr Thr Trp Glu Asp Val Pro Tyr Leu Gly Lys Arg Glu
3320 3325 3330

Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser Arg Ala Thr
3335 3340 3345
Trp Ala Gln Asn Ile Leu Thr Ala Ile Gln Gln Val Arg Ser Leu
3350 3355 3360
Ile Gly Asn Glu Glu Phe Leu Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys Arg
3365 3370 3375
Phe Arg Lys Glu Glu Glu Ser Glu Gly Ala Ile Trp
3380 3385 3390

<210> 15
<211> 10648
<212> DNA
<213> 登革热病毒(dengue virus)
<400> 15

agttgttagt ctgtgtggac cgacaaggac agttccaaat cggaagcttg cttaacacag 60
ttctaacagt ttgtttgaat agagagcaga tctctggaaa aatgaaccaa cgaaaaaagg 120
tggttagacc acctttcaat atgctgaaac gcgagagaaa ccgcgtatca acccctcaag 180
ggttggtgaa gagattctca accggacttt tttctgggaa aggaccctta cggatggtgc 240
tagcattcat cacgtttttg cgagtccttt ccatcccacc aacagcaggg attctgaaaa 300
gatggggaca gttgaagaaa aataaggcca tcaggatact gattggattc aggaaggaga 360
taggccgcat gctgaacatc ttgaacggga gaaaaaggtc aacgataaca ttgctgtgct 420
tgattcccac cgtaatggcg tttcacttgt caacaagaga tggcgaaccc ctcatgatag 480
tggcaaaaca tgaaaggggg agacctctct tgtttaagac aacagagggg atcaacaaat 540
gcactctcat tgccatggac ttgggtgaaa tgtgtgagga cactgtcacg tataaatgcc 600
ccttactggt caataccgaa cctgaagaca ttgattgctg gtgcaatctc acgtctacct 660
gggtcatgta tgggacatgc acccagagcg gagaacggag acgagagaag cgctcagtag 720
ctttaacacc acattcagga atgggattgg aaacaagagc tgagacatgg atgtcatcgg 780
aaggggcttg gaagcatgct cagagagtag agagctggat actcagaaac ccaggattcg 840
cgctcttggc aggatttatg gcttatatga ttgggcaaac aggaatccag cgaactgtct 900
tctttgtcct aatgatgctg gtcgccccat cctacggaat gcgatgcgta ggagtaggaa 960
acagagactt tgtggaagga gtctcaggtg gagcatgggt cgatctggtg ctagaacatg 1020
gaggatgcgt cacaaccatg gcccagggaa aaccaacctt ggattttgaa ctgactaaga 1080
caacagccaa ggaagtggct ctgttaagaa cctattgcat tgaagcctca atatcaaaca 1140
taaccacggc aacaagatgt ccaacgcaag gagagcctta tctaaaagag gaacaagacc 1200
aacagtacat ttgccggaga gatgtggtag acagagggtg gggcaatggc tgtggcttgt 1260
ttggaaaagg aggagttgtg acatgtgcga agttttcatg ttcggggaag ataacaggca 1320
atttggtcca aattgagaac cttgaataca cagtggttgt aacagtccac aatggagaca 1380
cccatgcagt aggaaatgac acatccaatc atggagttac agccacgata actcccaggt 1440
caccatcggt ggaagtcaaa ttgccggact atggagaact aacactcgat tgtgaaccca 1500
ggtctggaat tgactttaat gagatgattc tgatgaaaat gaaaaagaaa acatggcttg 1560

tgcataagca atggtttttg gatctacctc taccatggac agcaggagca gacacatcag 1620
aggttcactg gaattacaaa gagagaatgg tgacatttaa ggttcctcat gccaagagac 1680
aggatgtgac agtgctggga tctcaggaag gagccatgca ttctgccctc gctggagcca 1740
cagaagtgga ctccggtgat ggaaatcaca tgtttgcagg acatctcaag tgcaaagtcc 1800
gtatggagaa attgagaatc aagggaatgt catacacgat gtgttcagga aagttctcaa 1860
ttgacaaaga gatggcagaa acacagcatg ggacaacagt ggtgaaagtc aagtatgaag 1920
gtgctggagc tccgtgtaaa gtccccatag agataagaga tgtgaacaag gaaaaagtgg 1980
ttgggcgtat catctcatcc acccctttgg ctgagaatac caacagtgca accaacatag 2040
agttagaacc ccctttgggg gacagctaca tagtgatagg tgttggaaac agtgcattaa 2100
cactccattg gttcaggaaa gggagttcca ttggcaagat gtttgagtcc acatacagag 2160
gtgcaaaacg aatggccatt ctaggtgaaa cagcttggga ttttggttcc gttggtggac 2220
tgttcacatc attgggaaag gctgtgcacc aggtttttgg aagtgtgtat acaaccatgt 2280
ttggaggagt ctcatggatg attagaatcc taattgggtt cctagtgttg tggattggca 2340
cgaactcaag gaacacttca atggctatga cgtgcatagc tgttggagga atcactctgt 2400
ttctgggctt cacagttcaa gcagacatgg gttgtgtggt gtcatggagt gggaaagaat 2460
tgaagtgtgg aagcggaatt tttgtggttg acaacgtgca cacttggaca gaacagtaca 2520
aatttcaacc ggagtcccca gcgagactag cgtctgcaat attgaatgcc cacaaagatg 2580
gggtctgtgg aattagatca accacgaggc tggaaaatgt catgtggaag caaataacca 2640
acgagctaaa ttatgttctc tgggaaggag gacatgacct cactgtagtg gctggggatg 2700
tgaaggggt gttgaccaaa ggcaagagag cactcacacc cccagtgaat gatctgaaat 2760
attcatggaa gacatgggga aaagcaaaaa tcttcacccc agaagcaaga aatagcacat 2820
ttttaataga cggaccagac acctccgaat gccccaatga acgaagagca tggaactttc 2880
ttgaggtgga agactatgga tttggcatgt tcacgaccaa catatggatg aaattccgag 2940
aaggaagttc agaagtgtgt gaccacaggt taatgtcagc ggcaattaaa gatcagaaag 3000
ctgtgcatgc tgacatgggt tattggatag agagctcaaa aaaccagacc tggcagatag 3060
agaaagcatc tcttattgaa gtgaaaacat gtctgtggcc caagacccac acattgtgga 3120
gcaatggagt gctggaaagc cagatgctca ttccaaaatc atatgcgggc ccttttcac 3180
agcacaatta ccgccagggc tatgccacgc aaaccgtggg cccatggcac ttaggcaaat 3240
tagagataga ctttggagaa tgccccggaa caacagtcgc aattcaggag gattgtgacc 3300
atagaggccc atctttgagg accaccactg catctggaaa actagtcacg caatggtgct 3360
gccgctcctg cacgatgcct cccttaaggt tcttgggaga agatgggtgc tggtatggga 3420
tggagattag gcccttgagt gaaaaagaag agaacatggt caaatcacag gtaacggccg 3480
gacagggcac atcagaaact ttttctatgg gtctgttgtg cctgaccttg tttgtggaag 3540
aatgcttgag gagaagagtc actaggaaac acatgatatt ggttgtggtg atcactcttt 3600
gtgccatcat cctaggaggc ctcacatgga tggacttact acgagccctc atcatgttgg 3660
gggacactat gtctggtaga ataggaggac agatccacct agccatcatg gcagtgttca 3720
agatgtcacc aggatacgtg ctgggtgtgt ttttaaggaa actcacttca agagagacag 3780
cactaatggt aataggaatg gccatgacaa cggtgctttc aattccacat gaccttatgg 3840
aactcattga tggaatatca ctggggctaa ttttgctaaa aatagtgaca cattttgaca 3900

acacccaagt gggaacctta gccctttcct tgaccttcat aagatcaaca atgccattgg 3960
tcatggcttg gaggaccatt atggctgtgt tgtttgtggt cacactcatt cctttgtgca 4020
ggacaagctg tcttcaaaaa cagtctcatt gggtagaaat aacagcactc atcctaggag 4080
cccaagctct gccagtgtac ctaatgactc ttatgaaagg agcctcaaga agatcttggc 4140
ctcttaacga gggcataatg gctgtgggtt tggttagtct cttaggaagc gctcttttaa 4200
agaatgatgt ccctttagct ggcccaatgg tggcaggagg cttacttctg gcggcttacg 4260
tgatgagtgg tagctcagca gatctgtcac tagagaaggc cgccaatgtg cagtgggatg 4320
aaatggcaga cataacaggc tcaagcccaa tcatagaagt gaagcaggat gaagatggct 4380
ctttctccat acgggacgtc gaggaaacca atatgataac ccttttggtg aaactggcac 4440
tgataacagt gtcaggtctc taccccttgg caattccagt cacaatgacc ttatggtaca 4500
tgtggcaagt gaaaacacaa agatcaggag ccctgtggga cgtcccctca cccgctgcca 4560
ctcaaaaagc cgcactgtct gaaggagtgt acaggatcat gcaaagaggg ttatttggga 4620
aaactcaggt tggagtaggg atacacatgg aaggtgtatt tcacacaatg tggcatgtaa 4680
caagaggatc agtgatctgc catgagactg ggagattgga gccatcttgg gctgacgtca 4740
ggaatgacat gatatcatac ggtgggggat ggagacttgg agacaaatgg gacaaagaag 4800
aagatgttca ggtcctcgcc atagaaccag gaaaaaatcc taaacatgtc caaacgaaac 4860
ccggcctttt caagacccta actggagaaa ttggagcagt aacattagat ttcaaacccg 4920
gaacgtctgg ttctcccatc atcaacagga aaggaaaagt catcggactc tatggaaatg 4980
gagtagttac caaatcaggt gattacgtca gtgccataac gcaagccgaa agaattggag 5040
agccagatta tgaagtggat gaggacattt ttcgaaagaa aagattaact ataatggact 5100
tacaccccgg agctggaaag acaaaaagaa ttcttccatc aatagtgaga gaagccttaa 5160
aaaggaggct gcgaaccttg attttggctc ccacgagagt ggtggcggcc gagatggaag 5220
aggccctacg tggactgcca atccgttatc agaccccagc tgtgaaatca gaacacacag 5280
gaagagagat tgtagacctc atgtgtcatg caaccttcac aacaagactt ttgtcatcaa 5340
ccagagttcc aaattacaac ctcatagtga tggatgaagc acatttcacc gatccttcta 5400
gtgtcgcggc tagaggatac atctcgacca gggtggaaat gggagaggca gcagccatct 5460
tcatgaccgc aacccctccc ggagcgacag atccctttcc ccagagcaac agcccaatag 5520
aagacatcga gagggaaatt ccggaaaggt catggaacac agggttcgac tggataacag 5580
actaccaagg gaaaactgtg tggtttgttc ccagcataaa agctggaaat gacattgcaa 5640
attgtttgag aaagtcggga aagaaagtta tccagttgag taggaaaacc tttgatacag 5700
agtatccaaa aacgaaactc acggactggg attttgtggt cactacagac atatctgaaa 5760
tgggggccaa ttttagagct gggagagtga tagaccctag gagatgcctc aagccagtta 5820
tcctaacaga tgggccagag agagtcattt tagcaggtcc tattccagtg actccagcaa 5880
gcgctgctca gagaagaggg cgaataggaa ggaacccagc acaagaagac gaccaatacg 5940
ttttctccgg agacccacta aaaaatgatg aagatcatgc ccactggaca gaagcaaaga 6000
tgctgcttga caatatctac accccagaag ggatcattcc aacattgttt ggtccggaaa 6060
gggaaaaaac ccaagccatt gatggagagt ttcgcctcag aggggaacaa aggaagactt 6120
ttgtggaatt aatgaggaga ggagaccttc cggtgtggct gagctataag gtagcttctg 6180
ctggcatttc ttacaaagat cgggaatggt gcttcacagg ggaaaggaat aaccaaattt 6240

tagaagaaaa catggaggtt gaaatttgga ctagagaggg agaaaagaaa aagctaaggc 6300
caagatggtt agatgcacgt gtatacgctg accccatggc tttgaaggat tttaaggagt 6360
ttgctagtgg aaggaagagc ataactctcg acatcctaac agagattgcc agtttgccaa 6420
cttacctttc ctctagggcc aagctcgccc ttgataacat agtcatgctc cacacaacag 6480
aaagaggagg gagggcctac caacacgccc tgaacgaact cccggagtca ctggaaacac 6540
ttatgcttgt agctttacta ggtgctatga cagcaggtat cttcctgttt ttcatgcaag 6600
ggaaaggaat agggaaattg tcaatgggtt tgataaccat tgcggtggct agtggcttgc 6660
tctgggtagc agaaattcaa ccccagtgga tagcggcctc aatcatacta gagtttttc 6720
tcatggtact gttgataccg gaaccagaaa aacaaaggac cccacaagac aatcaattga 6780
tctacgtcat attgaccatt ctcaccatta ttggtctcat agcagccaac gagatggggc 6840
tgattgaaaa aacaaaaacg gattttgggt tttaccaggt aaaaacagaa accaccatcc 6900
tcgatgtgga cttgagacca gcttcagcat ggacgctcta tgcagtagcc accacaattc 6960
tgactcccat gctgagacac accatagaaa acacgtcggc caacctatct ctagcagcca 7020
ttgccaacca ggcggccgtc ctaatggggc ttggaaaagg atggccgctc cacagaatgg 7080
acctcggtgt gccgctgtta gcaatgggat gctattctca agtgaaccca acaactttga 7140
cagcatcctt agtcatgctt ttagtccatt atgcaataat aggtccagga ttgcaggcaa 7200
aagccacaag agaggcccag aaaaggacag ctgctgggat catgaaaaac cccacggtgg 7260
acgggataac agtaatagat ctagaaccaa tatcctatga cccaaaattt gaaaagcaat 7320
tagggcaggt catgctactc gtcttgtgtg ctggacaact actcttgatg agaacaacat 7380
gggctttctg tgaagtcttg actttggcca caggaccaat cttgaccttg tgggagggca 7440
acccgggaag gttttggaac acgaccatag ccgtatccac cgccaacatt ttcaggggaa 7500
gttacctggc gggagctgga ctggcttttt cactcataaa gaatgtacaa acccctagga 7560
ggggaactgg gaccacagga gagacactgg gagagaagtg gaagagacag ctaaactcat 7620
tagacagaaa agagtttgaa gagtataaaa gaagtggaat actagaagtg gacaggactg 7680
aagccaagtc tgccctgaaa gatgggtcta aaatcaagca tgcagtatct agagggtcca 7740
gtaagattag atggattgtt gagagaggga tggtaaagcc aaaagggaaa gttgtagatc 7800
ttggctgtgg gagaggagga tggtcttatt acatggcgac gctcaagaac gtgactgaag 7860
tgaaagggta tacaaaagga ggtccaggac atgaagaacc gattcccatg gctacttatg 7920
gctggaattt ggtcaaactc cattcagggg ttgacgtgtt ctacaaaccc acagagcaag 7980
tggacaccct gctctgtgat attggggagt catcttctaa tccaacaata gaggaaggaa 8040
gaacattaag agttttgaag atggtggagc catggctctc ttcaaaacct gaattctgca 8100
tcaaagtcct taacccctac atgccaacag tcatagaaga gctggagaaa ctgcagagaa 8160
aacatggtgg gaaccttgtc agatgcccgc tgtccaggaa ctccacccat gagatgtatt 8220
gggtgtcagg agcgtcggga aacattgtga gctctgtgaa cacaacatca aagatgttgt 8280
tgaacaggtt cacaacaagg cataggaaac ccacttatga gaaggacgta gatcttgggg 8340
caggaacgag aagtgtctcc actgaaacag aaaaaccaga catgacaatt attgggagaa 8400
ggcttcagcg attgcaagag gagcacaaag aaacctggca ttatgatcag gaaaacccat 8460
acagaacctg ggcgtatcat ggaagctatg aagctccttc gacaggctct gcatcctcca 8520
tggtgaacgg ggtagtaaaa ctgctaacaa aaccttggga tgtggttcca atggtgaccc 8580

agttagccat gacagacaca acccctttg ggcaacaaag agtgttcaaa gagaaggtgg 8640
ataccagaac accacaacca aaacccggta cacgaatggt tatgaccacg acagccaatt 8700
ggctgtgggc cctccttggg aagaagaaaa atcccagact gtgcacaagg gaagagttca 8760
tctcaaaagt tagatcaaac gcagccatag gcgcagtctt tcaggaagaa cagggatgga 8820
catcagccag tgaagctgtg aatgacagcc ggttttggga actggttgac aaagaaaggg 8880
ccctacacca ggaagggaaa tgtgaatcgt gtgtctacaa catgatggga aaacgtgaga 8940
aaaagttagg agagtttggc agagccaagg gaagccgagc aatctggtac atgtggctgg 9000
gagcgcggtt tctggaattt gaagccctgg gttttttgaa tgaagatcac tggtttggca 9060
gagaaaattc atggagtgga gtggaagggg aaggtctgca cagattggga tatatcctgg 9120
aggagataga caagaaggat ggagacctaa tgtatgctga tgacacagca ggctgggaca 9180
caagaatcac tgaggatgac cttcaaaatg aagaactgat cacggaacag atggcccccc 9240
accacaagat cctagccaaa gccattttca aactaaccta tcaaaacaaa gtggtgaaag 9300
tcctcagacc cacaccgaga ggagcggtga tggatatcat atccaggaaa gaccaaagag 9360
gtagtggaca agttggaaca tatggtttga acacattcac caacatggaa gttcaactca 9420
tccgccaaat ggaagctgaa ggagtcatca cacaagatga catgcagaac ccaaaagggt 9480
tgaaagaaag agttgagaaa tggctgaaag agtgtggtgt cgacaggtta aagaggatgg 9540
caatcagtgg agacgattgc gtggtgaagc ccctggatga gaggtttggc acttccctcc 9600
tcttcttgaa cgacatggga aaggtgagga aagacattcc gcagtgggaa ccatctaagg 9660
gatggaaaaa ctggcaagag gttccttttt gctcccacca ctttcacaag atcttcatga 9720
aggatggccg ctcactagtt gttccatgta gaaaccagga tgaactgata gggagagcca 9780
gaatctcgca gggggctgga tggagcttaa gagaaacagc ctgcctgggc aaagcttacg 9840
cccagatgtg gtcgctcatg tacttccaca gaagggatct gcgtttagcc tccatggcca 9900
tatgctcagc agttccaacg gaatggtttc caacaagcag aacaacatgg tcaatccacg 9960
ctcatcatca gtggatgacc actgaagata tgctcaaagt gtggaacaga gtgtggatag 10020
aagacaaccc taatatgact gacaagactc cagtccattc gtgggaagat ataccttacc 10080
tagggaaaag agaggatttg tggtgtggat ccctgattgg actttcttcc agagccacct 10140
gggcgaagaa cattcacacg gccataaccc aggtcagaaa cctgatcgga aaagaggaat 10200
acgtggatta catgccagta atgaaaagat acagcgctcc ttcagagagt gaaggagttc 10260
tgtaattacc aacaacaaac accaaaggct attgaagtca ggccacttgt gccacggctt 10320
gagcaaaccg tgctgcctgt agctccgcca ataatgggag gcgtgaaatc cctagggagg 10380
ccatgcgcca cggaagctgt acgcgtggca tattggacta gcggttagag gagacccctc 10440
ccatcactga caaaacgcag caaaaggggg cccgaagcca ggaggaagct gtactcctgg 10500
tggaaggact agaggttaga ggagaccccc ccaacacaaa aacagcatat tgacgctggg 10560
aaagaccaga gatcctgctg tctctgcaac atcaatccag gcacagagcg ccgcaagatg 10620
gattggtgtt gttgatccaa caggttct 10648

<210> 16
<211> 3387
<212> PRT
<213> 登革热病毒(dengue virus)

<400> 16

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

Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Gln Gly Lys Pro Thr Leu
305 310 315 320
Asp Phe Glu Leu Thr Lys Thr Thr Ala Lys Glu Val Ala Leu Leu Arg
325 330 335
Thr Tyr Cys Ile Glu Ala Ser Ile Ser Asn Ile Thr Thr Ala Thr Arg
340 345 350
Cys Pro Thr Gln Gly Glu Pro Tyr Leu Lys Glu Glu Gln Asp Gln Gln
355 360 365
Tyr Ile Cys Arg Arg Asp Val Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys
370 375 380
Gly Leu Phe Gly Lys Gly Gly Val Val Thr Cys Ala Lys Phe Ser Cys
385 390 395 400
Ser Gly Lys Ile Thr Gly Asn Leu Val Gln Ile Glu Asn Leu Glu Tyr
405 410 415
Thr Val Val Val Thr Val His Asn Gly Asp Thr His Ala Val Gly Asn
420 425 430
Asp Thr Ser Asn His Gly Val Thr Ala Thr Ile Thr Pro Arg Ser Pro
435 440 445
Ser Val Glu Val Lys Leu Pro Asp Tyr Gly Glu Leu Thr Leu Asp Cys
450 455 460
Glu Pro Arg Ser Gly Ile Asp Phe Asn Glu Met Ile Leu Met Lys Met
465 470 475 480
Lys Lys Lys Thr Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu Pro
485 490 495
Leu Pro Trp Thr Ala Gly Ala Asp Thr Ser Glu Val His Trp Asn Tyr
500 505 510
Lys Glu Arg Met Val Thr Phe Lys Val Pro His Ala Lys Arg Gln Asp
515 520 525
Val Thr Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Ser Ala Leu Ala
530 535 540
Gly Ala Thr Glu Val Asp Ser Gly Asp Gly Asn His Met Phe Ala Gly
545 550 555 560
His Leu Lys Cys Lys Val Arg Met Glu Lys Leu Arg Ile Lys Gly Met
565 570 575
Ser Tyr Thr Met Cys Ser Gly Lys Phe Ser Ile Asp Lys Glu Met Ala
580 585 590
Glu Thr Gln His Gly Thr Thr Val Val Lys Val Lys Tyr Glu Gly Ala
595 600 605
Gly Ala Pro Cys Lys Val Pro Ile Glu Ile Arg Asp Val Asn Lys Glu

610 615 620
Lys Val Val Gly Arg Ile Ile Ser Ser Thr Pro Leu Ala Glu Asn Thr
625 630 635 640
Asn Ser Ala Thr Asn Ile Glu Leu Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr
645 650 655
Ile Val Ile Gly Val Gly Asn Ser Ala Leu Thr Leu His Trp Phe Arg
660 665 670
Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ser Thr Tyr Arg Gly Ala
675 680 685
Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Glu Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val
690 695 700
Gly Gly Leu Phe Thr Ser Leu Gly Lys Ala Val His Gln Val Phe Gly
705 710 715 720
Ser Val Tyr Thr Thr Met Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Ile Arg Ile
725 730 735
Leu Ile Gly Phe Leu Val Leu Trp Ile Gly Thr Asn Ser Arg Asn Thr
740 745 750
Ser Met Ala Met Thr Cys Ile Ala Val Gly Gly Ile Thr Leu Phe Leu
755 760 765
Gly Phe Thr Val Gln Ala Asp Met Gly Cys Val Val Ser Trp Ser Gly
770 775 780
Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Val Val Asp Asn Val His
785 790 795 800
Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ala Arg Leu
805 810 815
Ala Ser Ala Ile Leu Asn Ala His Lys Asp Gly Val Cys Gly Ile Arg
820 825 830
Ser Thr Thr Arg Leu Glu Asn Val Met Trp Lys Gln Ile Thr Asn Glu
835 840 845
Leu Asn Tyr Val Leu Trp Glu Gly Gly His Asp Leu Thr Val Val Ala
850 855 860
Gly Asp Val Lys Gly Val Leu Thr Lys Gly Lys Arg Ala Leu Thr Pro
865 870 875 880
Pro Val Asn Asp Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala Lys
885 890 895
Ile Phe Thr Pro Glu Ala Arg Asn Ser Thr Phe Leu Ile Asp Gly Pro
900 905 910
Asp Thr Ser Glu Cys Pro Asn Glu Arg Arg Ala Trp Asn Phe Leu Glu
915 920 925

Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Met Phe Thr Thr Asn Ile Trp Met Lys
930 935 940
Phe Arg Glu Gly Ser Ser Glu Val Cys Asp His Arg Leu Met Ser Ala
945 950 955 960
Ala Ile Lys Asp Gln Lys Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp Ile
965 970 975
Glu Ser Ser Lys Asn Gln Thr Trp Gln Ile Glu Lys Ala Ser Leu Ile
980 985 990
Glu Val Lys Thr Cys Leu Trp Pro Lys Thr His Thr Leu Trp Ser Asn
995 1000 1005
Gly Val Leu Glu Ser Gln Met Leu Ile Pro Lys Ser Tyr Ala Gly
1010 1015 1020
Pro Phe Ser Gln His Asn Tyr Arg Gln Gly Tyr Ala Thr Gln Thr
1025 1030 1035
Val Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Ile Asp Phe Gly Glu
1040 1045 1050
Cys Pro Gly Thr Thr Val Ala Ile Gln Glu Asp Cys Asp His Arg
1055 1060 1065
Gly Pro Ser Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Val Thr
1070 1075 1080
Gln Trp Cys Cys Arg Ser Cys Thr Met Pro Pro Leu Arg Phe Leu
1085 1090 1095
Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Ser
1100 1105 1110
Glu Lys Glu Glu Asn Met Val Lys Ser Gln Val Thr Ala Gly Gln
1115 1120 1125
Gly Thr Ser Glu Thr Phe Ser Met Gly Leu Leu Cys Leu Thr Leu
1130 1135 1140
Phe Val Glu Glu Cys Leu Arg Arg Arg Val Thr Arg Lys His Met
1145 1150 1155
Ile Leu Val Val Val Ile Thr Leu Cys Ala Ile Ile Leu Gly Gly
1160 1165 1170
Leu Thr Trp Met Asp Leu Leu Arg Ala Leu Ile Met Leu Gly Asp
1175 1180 1185
Thr Met Ser Gly Arg Ile Gly Gly Gln Ile His Leu Ala Ile Met
1190 1195 1200
Ala Val Phe Lys Met Ser Pro Gly Tyr Val Leu Gly Val Phe Leu
1205 1210 1215
Arg Lys Leu Thr Ser Arg Glu Thr Ala Leu Met Val Ile Gly Met

1220 1225 1230

Ala Met Thr Thr Val Leu Ser Ile Pro His Asp Leu Met Glu Leu
1235 1240 1245

Ile Asp Gly Ile Ser Leu Gly Leu Ile Leu Leu Lys Ile Val Thr
1250 1255 1260

His Phe Asp Asn Thr Gln Val Gly Thr Leu Ala Leu Ser Leu Thr
1265 1270 1275

Phe Ile Arg Ser Thr Met Pro Leu Val Met Ala Trp Arg Thr Ile
1280 1285 1290

Met Ala Val Leu Phe Val Val Thr Leu Ile Pro Leu Cys Arg Thr
1295 1300 1305

Ser Cys Leu Gln Lys Gln Ser His Trp Val Glu Ile Thr Ala Leu
1310 1315 1320

Ile Leu Gly Ala Gln Ala Leu Pro Val Tyr Leu Met Thr Leu Met
1325 1330 1335

Lys Gly Ala Ser Arg Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Gly Ile Met
1340 1345 1350

Ala Val Gly Leu Val Ser Leu Leu Gly Ser Ala Leu Leu Lys Asn
1355 1360 1365

Asp Val Pro Leu Ala Gly Pro Met Val Ala Gly Gly Leu Leu Leu
1370 1375 1380

Ala Ala Tyr Val Met Ser Gly Ser Ser Ala Asp Leu Ser Leu Glu
1385 1390 1395

Lys Ala Ala Asn Val Gln Trp Asp Glu Met Ala Asp Ile Thr Gly
1400 1405 1410

Ser Ser Pro Ile Ile Glu Val Lys Gln Asp Glu Asp Gly Ser Phe
1415 1420 1425

Ser Ile Arg Asp Val Glu Glu Thr Asn Met Ile Thr Leu Leu Val
1430 1435 1440

Lys Leu Ala Leu Ile Thr Val Ser Gly Leu Tyr Pro Leu Ala Ile
1445 1450 1455

Pro Val Thr Met Thr Leu Trp Tyr Met Trp Gln Val Lys Thr Gln
1460 1465 1470

Arg Ser Gly Ala Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Ala Ala Thr Gln
1475 1480 1485

Lys Ala Ala Leu Ser Glu Gly Val Tyr Arg Ile Met Gln Arg Gly
1490 1495 1500

Leu Phe Gly Lys Thr Gln Val Gly Val Gly Ile His Met Glu Gly
1505 1510 1515

Val Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ser Val Ile Cys
1520 1525 1530
His Glu Thr Gly Arg Leu Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Arg Asn
1535 1540 1545
Asp Met Ile Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Arg Leu Gly Asp Lys Trp
1550 1555 1560
Asp Lys Glu Glu Asp Val Gln Val Leu Ala Ile Glu Pro Gly Lys
1565 1570 1575
Asn Pro Lys His Val Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Leu
1580 1585 1590
Thr Gly Glu Ile Gly Ala Val Thr Leu Asp Phe Lys Pro Gly Thr
1595 1600 1605
Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asn Arg Lys Gly Lys Val Ile Gly Leu
1610 1615 1620
Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Lys Ser Gly Asp Tyr Val Ser Ala
1625 1630 1635
Ile Thr Gln Ala Glu Arg Ile Gly Glu Pro Asp Tyr Glu Val Asp
1640 1645 1650
Glu Asp Ile Phe Arg Lys Lys Arg Leu Thr Ile Met Asp Leu His
1655 1660 1665
Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Ile Leu Pro Ser Ile Val Arg
1670 1675 1680
Glu Ala Leu Lys Arg Arg Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro Thr
1685 1690 1695
Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu Pro
1700 1705 1710
Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Val Lys Ser Glu His Thr Gly Arg
1715 1720 1725
Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Thr Arg Leu
1730 1735 1740
Leu Ser Ser Thr Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Val Met Asp
1745 1750 1755
Glu Ala His Phe Thr Asp Pro Ser Ser Val Ala Ala Arg Gly Tyr
1760 1765 1770
Ile Ser Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Ala Ile Phe Met
1775 1780 1785
Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ala Thr Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn
1790 1795 1800
Ser Pro Ile Glu Asp Ile Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp

1805 1810 1815

Asn Thr Gly Phe Asp Trp Ile Thr Asp Tyr Gln Gly Lys Thr Val

1820 1825 1830

Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Asn Cys

1835 1840 1845

Leu Arg Lys Ser Gly Lys Lys Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr

1850 1855 1860

Phe Asp Thr Glu Tyr Pro Lys Thr Lys Leu Thr Asp Trp Asp Phe

1865 1870 1875

Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Arg Ala

1880 1885 1890

Gly Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Leu Lys Pro Val Ile Leu

1895 1900 1905

Thr Asp Gly Pro Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Ile Pro Val

1910 1915 1920

Thr Pro Ala Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg Asn

1925 1930 1935

Pro Ala Gln Glu Asp Asp Gln Tyr Val Phe Ser Gly Asp Pro Leu

1940 1945 1950

Lys Asn Asp Glu Asp His Ala His Trp Thr Glu Ala Lys Met Leu

1955 1960 1965

Leu Asp Asn Ile Tyr Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Thr Leu Phe

1970 1975 1980

Gly Pro Glu Arg Glu Lys Thr Gln Ala Ile Asp Gly Glu Phe Arg

1985 1990 1995

Leu Arg Gly Glu Gln Arg Lys Thr Phe Val Glu Leu Met Arg Arg

2000 2005 2010

Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ser Tyr Lys Val Ala Ser Ala Gly

2015 2020 2025

Ile Ser Tyr Lys Asp Arg Glu Trp Cys Phe Thr Gly Glu Arg Asn

2030 2035 2040

Asn Gln Ile Leu Glu Glu Asn Met Glu Val Glu Ile Trp Thr Arg

2045 2050 2055

Glu Gly Glu Lys Lys Lys Leu Arg Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg

2060 2065 2070

Val Tyr Ala Asp Pro Met Ala Leu Lys Asp Phe Lys Glu Phe Ala

2075 2080 2085

Ser Gly Arg Lys Ser Ile Thr Leu Asp Ile Leu Thr Glu Ile Ala

2090 2095 2100

Ser Leu Pro Thr Tyr Leu Ser Ser Arg Ala Lys Leu Ala Leu Asp
2105 2110 2115
Asn Ile Val Met Leu His Thr Thr Glu Arg Gly Gly Arg Ala Tyr
2120 2125 2130
Gln His Ala Leu Asn Glu Leu Pro Glu Ser Leu Glu Thr Leu Met
2135 2140 2145
Leu Val Ala Leu Leu Gly Ala Met Thr Ala Gly Ile Phe Leu Phe
2150 2155 2160
Phe Met Gln Gly Lys Gly Ile Gly Lys Leu Ser Met Gly Leu Ile
2165 2170 2175
Thr Ile Ala Val Ala Ser Gly Leu Leu Trp Val Ala Glu Ile Gln
2180 2185 2190
Pro Gln Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu Met
2195 2200 2205
Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp
2210 2215 2220
Asn Gln Leu Ile Tyr Val Ile Leu Thr Ile Leu Thr Ile Ile Gly
2225 2230 2235
Leu Ile Ala Ala Asn Glu Met Gly Leu Ile Glu Lys Thr Lys Thr
2240 2245 2250
Asp Phe Gly Phe Tyr Gln Val Lys Thr Glu Thr Thr Ile Leu Asp
2255 2260 2265
Val Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala
2270 2275 2280
Thr Thr Ile Leu Thr Pro Met Leu Arg His Thr Ile Glu Asn Thr
2285 2290 2295
Ser Ala Asn Leu Ser Leu Ala Ala Ile Ala Asn Gln Ala Ala Val
2300 2305 2310
Leu Met Gly Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu His Arg Met Asp Leu
2315 2320 2325
Gly Val Pro Leu Leu Ala Met Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro
2330 2335 2340
Thr Thr Leu Thr Ala Ser Leu Val Met Leu Leu Val His Tyr Ala
2345 2350 2355
Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln
2360 2365 2370
Lys Arg Thr Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro Thr Val Asp Gly
2375 2380 2385
Ile Thr Val Ile Asp Leu Glu Pro Ile Ser Tyr Asp Pro Lys Phe

2390 2395 2400

Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val Leu Cys Ala Gly
2405 2410 2415

Gln Leu Leu Leu Met Arg Thr Thr Trp Ala Phe Cys Glu Val Leu
2420 2425 2430

Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Leu Thr Leu Trp Glu Gly Asn Pro
2435 2440 2445

Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Thr Ala Asn Ile
2450 2455 2460

Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Ala Phe Ser Leu
2465 2470 2475

Ile Lys Asn Val Gln Thr Pro Arg Arg Gly Thr Gly Thr Thr Gly
2480 2485 2490

Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Arg Gln Leu Asn Ser Leu Asp
2495 2500 2505

Arg Lys Glu Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Ser Gly Ile Leu Glu Val
2510 2515 2520

Asp Arg Thr Glu Ala Lys Ser Ala Leu Lys Asp Gly Ser Lys Ile
2525 2530 2535

Lys His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ser Lys Ile Arg Trp Ile Val
2540 2545 2550

Glu Arg Gly Met Val Lys Pro Lys Gly Lys Val Val Asp Leu Gly
2555 2560 2565

Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Met Ala Thr Leu Lys Asn
2570 2575 2580

Val Thr Glu Val Lys Gly Tyr Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu
2585 2590 2595

Glu Pro Ile Pro Met Ala Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Lys Leu
2600 2605 2610

His Ser Gly Val Asp Val Phe Tyr Lys Pro Thr Glu Gln Val Asp
2615 2620 2625

Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Ser Asn Pro Thr Ile
2630 2635 2640

Glu Glu Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Lys Met Val Glu Pro Trp
2645 2650 2655

Leu Ser Ser Lys Pro Glu Phe Cys Ile Lys Val Leu Asn Pro Tyr
2660 2665 2670

Met Pro Thr Val Ile Glu Glu Leu Glu Lys Leu Gln Arg Lys His
2675 2680 2685

Gly Gly Asn Leu Val Arg Cys Pro Leu Ser Arg Asn Ser Thr His
2690 2695 2700
Glu Met Tyr Trp Val Ser Gly Ala Ser Gly Asn Ile Val Ser Ser
2705 2710 2715
Val Asn Thr Thr Ser Lys Met Leu Leu Asn Arg Phe Thr Thr Arg
2720 2725 2730
His Arg Lys Pro Thr Tyr Glu Lys Asp Val Asp Leu Gly Ala Gly
2735 2740 2745
Thr Arg Ser Val Ser Thr Glu Thr Glu Lys Pro Asp Met Thr Ile
2750 2755 2760
Ile Gly Arg Arg Leu Gln Arg Leu Gln Glu Glu His Lys Glu Thr
2765 2770 2775
Trp His Tyr Asp Gln Glu Asn Pro Tyr Arg Thr Trp Ala Tyr His
2780 2785 2790
Gly Ser Tyr Glu Ala Pro Ser Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val
2795 2800 2805
Asn Gly Val Val Lys Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro
2810 2815 2820
Met Val Thr Gln Leu Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln
2825 2830 2835
Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg Thr Pro Gln Pro
2840 2845 2850
Lys Pro Gly Thr Arg Met Val Met Thr Thr Thr Ala Asn Trp Leu
2855 2860 2865
Trp Ala Leu Leu Gly Lys Lys Lys Asn Pro Arg Leu Cys Thr Arg
2870 2875 2880
Glu Glu Phe Ile Ser Lys Val Arg Ser Asn Ala Ala Ile Gly Ala
2885 2890 2895
Val Phe Gln Glu Glu Gln Gly Trp Thr Ser Ala Ser Glu Ala Val
2900 2905 2910
Asn Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys Glu Arg Ala Leu
2915 2920 2925
His Gln Glu Gly Lys Cys Glu Ser Cys Val Tyr Asn Met Met Gly
2930 2935 2940
Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Arg Ala Lys Gly Ser
2945 2950 2955
Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu Phe
2960 2965 2970
Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Gly Arg Glu

2975 2980 2985

Asn Ser Trp Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Arg Leu Gly

2990 2995 3000

Tyr Ile Leu Glu Glu Ile Asp Lys Lys Asp Gly Asp Leu Met Tyr

3005 3010 3015

Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Glu Asp Asp

3020 3025 3030

Leu Gln Asn Glu Glu Leu Ile Thr Glu Gln Met Ala Pro His His

3035 3040 3045

Lys Ile Leu Ala Lys Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys

3050 3055 3060

Val Val Lys Val Leu Arg Pro Thr Pro Arg Gly Ala Val Met Asp

3065 3070 3075

Ile Ile Ser Arg Lys Asp Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr

3080 3085 3090

Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met Glu Val Gln Leu Ile Arg

3095 3100 3105

Gln Met Glu Ala Glu Gly Val Ile Thr Gln Asp Asp Met Gln Asn

3110 3115 3120

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

3125 3130 3135

Gly Val Asp Arg Leu Lys Arg Met Ala Ile Ser Gly Asp Asp Cys

3140 3145 3150

Val Val Lys Pro Leu Asp Glu Arg Phe Gly Thr Ser Leu Leu Phe

3155 3160 3165

Leu Asn Asp Met Gly Lys Val Arg Lys Asp Ile Pro Gln Trp Glu

3170 3175 3180

Pro Ser Lys Gly Trp Lys Asn Trp Gln Glu Val Pro Phe Cys Ser

3185 3190 3195

His His Phe His Lys Ile Phe Met Lys Asp Gly Arg Ser Leu Val

3200 3205 3210

Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile

3215 3220 3225

Ser Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly

3230 3235 3240

Lys Ala Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg

3245 3250 3255

Asp Leu Arg Leu Ala Ser Met Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Thr

3260 3265 3270

Glu Trp Phe Pro Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala His
3275 3280 3285
His Gln Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Lys Val Trp Asn Arg
3290 3295 3300
Val Trp Ile Glu Asp Asn Pro Asn Met Thr Asp Lys Thr Pro Val
3305 3310 3315
His Ser Trp Glu Asp Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Leu
3320 3325 3330
Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Ser Ser Arg Ala Thr Trp Ala
3335 3340 3345
Lys Asn Ile His Thr Ala Ile Thr Gln Val Arg Asn Leu Ile Gly
3350 3355 3360
Lys Glu Glu Tyr Val Asp Tyr Met Pro Val Met Lys Arg Tyr Ser
3365 3370 3375
Ala Pro Ser Glu Ser Glu Gly Val Leu
3380 3385

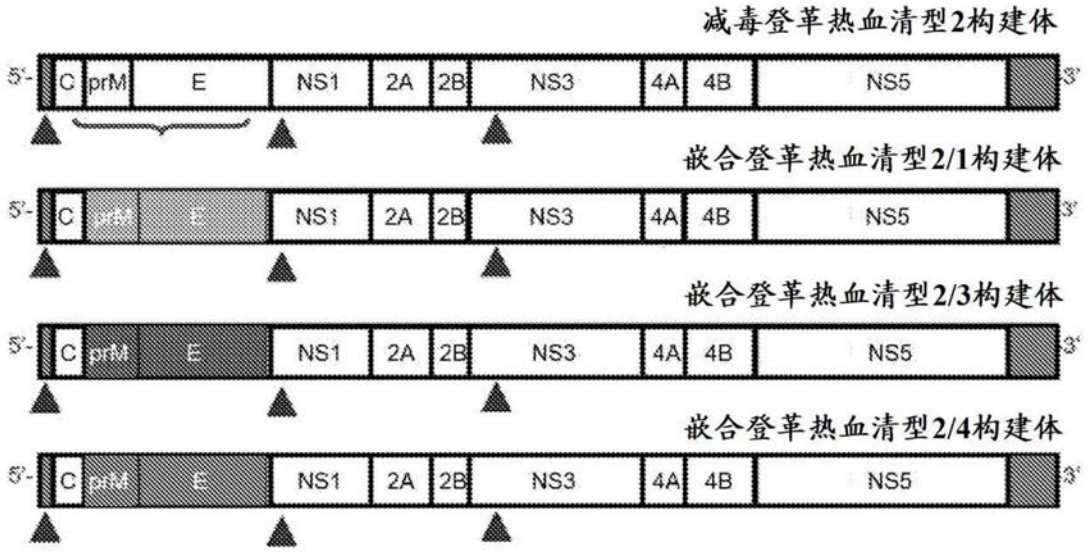

减毒登革热血清型2构建体
5'
C
prM
E
NS1
2A
2B
NS3
4A
4B
NS5
3'
嵌合登革热血清型2/1构建体
嵌合登革热血清型2/3构建体
嵌合登革热血清型2/4构建体

图1

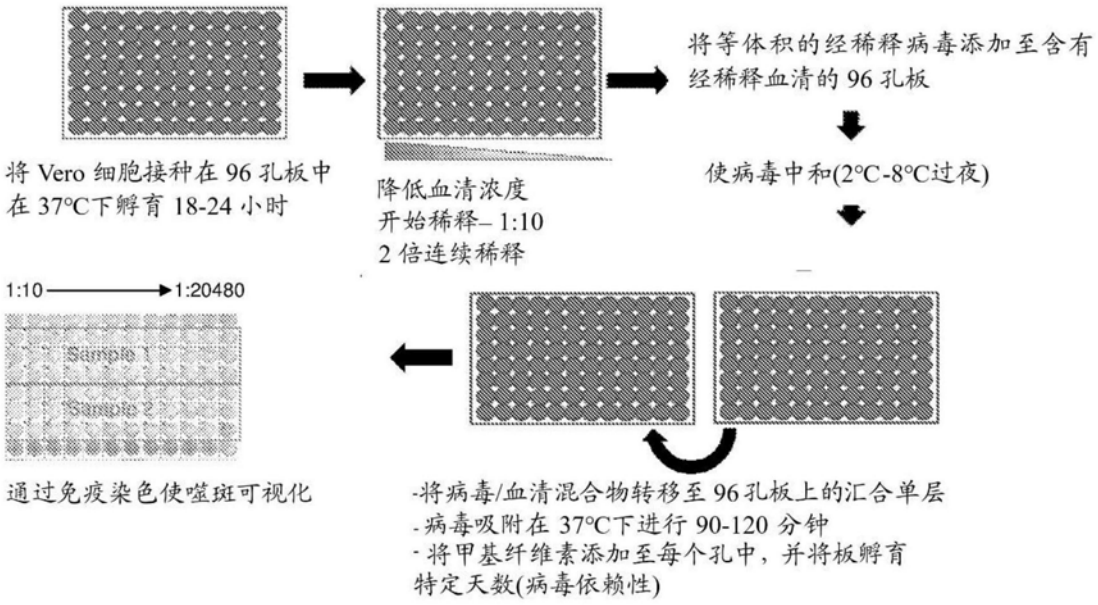

将 Vero 细胞接种在 96 孔板中
在 37℃下孵育 18-24 小时
降低血清浓度
开始稀释– 1:10
2 倍连续稀释
将等体积的经稀释病毒添加至含有
经稀释血清的 96 孔板
使病毒中和(2℃-8℃过夜)
1:10
1:20480
Sample 1
Sample 2
通过免疫染色使噬斑可视化
-将病毒/血清混合物转移至 96 孔板上的汇合单层
-病毒吸附在 37℃下进行 90-120 分钟
-将甲基纤维素添加至每个孔中，并将板孵育
特定天数(病毒依赖性)

图2

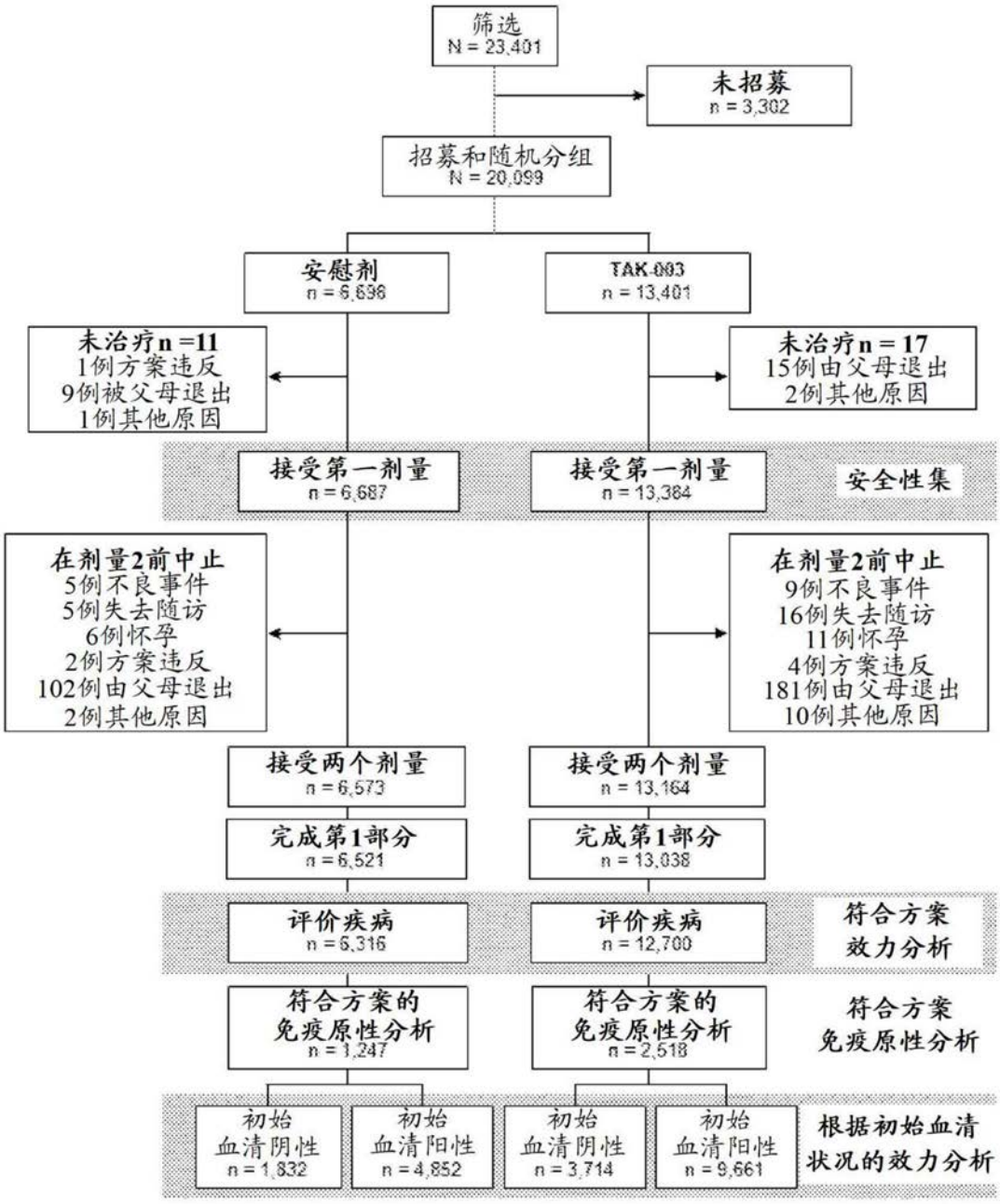
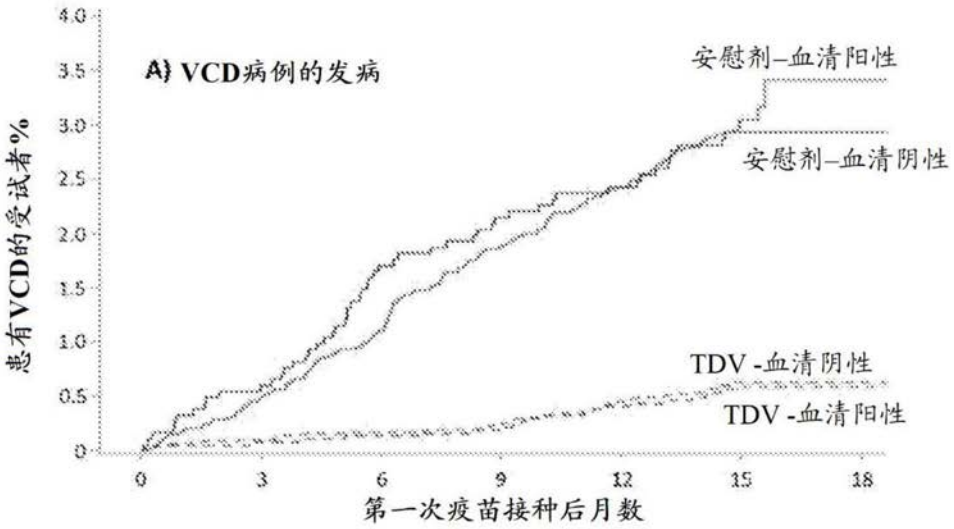
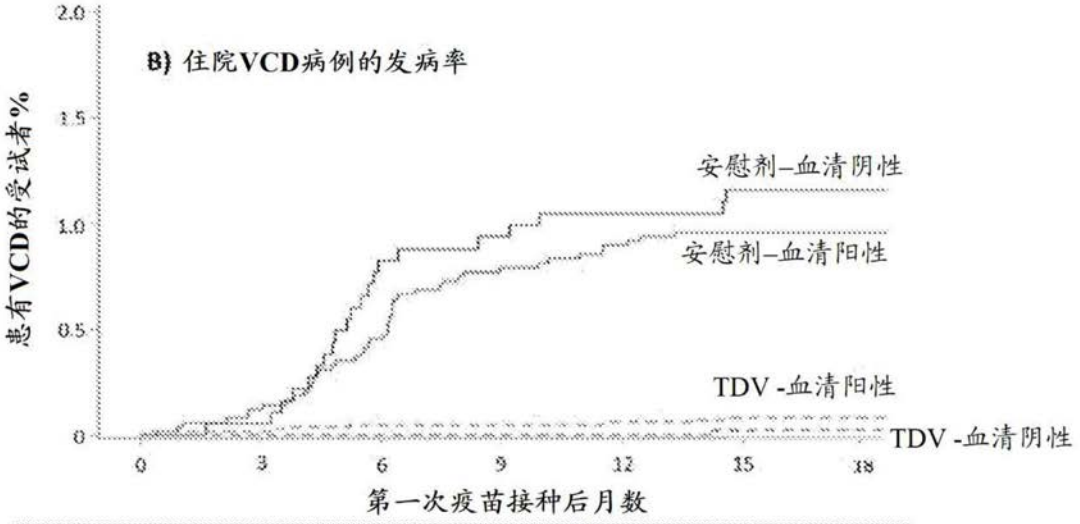

筛选
N = 23,401
未招募
n = 3,302
招募和随机分组
N = 20,099
安慰剂
n = 6,696
TAK-003
n = 13,401
未治疗n =11
1例方案违反
9例被父母退出
1例其他原因
未治疗n = 17
15例由父母退出
2例其他原因
接受第一剂量
n = 6,687
接受第一剂量
n = 13,384
安全性集
在剂量2前中止
5例不良事件
5例失去随访
6例怀孕
2例方案违反
102例由父母退出
2例其他原因
在剂量2前中止
9例不良事件
16例失去随访
11例怀孕
4例方案违反
181例由父母退出
10例其他原因
接受两个剂量
n = 6,573
接受两个剂量
n = 13,164
完成第1部分
n = 6,521
完成第1部分
n = 13,038
评价疾病
n = 6,316
评价疾病
n = 12,700
符合方案
效力分析
符合方案的
免疫原性分析
n = 1,247
符合方案的
免疫原性分析
n = 2,518
符合方案
免疫原性分析
初始
血清阴性
n = 1,832
初始
血清阳性
n = 4,852
初始
血清阴性
n = 3,714
初始
血清阳性
n = 9,661
根据初始血清
状况的效力分析

图3



	第0个月	第3.0个月	第14.5个月	第15.9个月	第18.0个月
安慰剂–血清阴性	n=1,832	n=1,817	n=1,744	n=94	n=7
安慰剂–血清阳性	n=4,852	n=4,805	n=4,607	n=218	n=6
TDV -血清阴性	n=3,714	n=3,680	n=3,615	n=157	n=10
TDV -血清阳性	n=9,661	n=9,591	n=9,391	n=417	n=10



	第0个月	第3.0个月	第14.5个月	第15.9个月	第18.0个月
安慰剂–血清阴性	n=1,832	n=1,827	n=1,776	n=94	n=7
安慰剂–血清阳性	n=4,852	n=4,823	n=4,700	n=220	n=6
TDV -血清阴性	n=3,714	n=3,693	n=3,635	n=157	n=10
TDV -血清阳性	n=9,661	n=9,599	n=9,435	n=417	n=10

图4

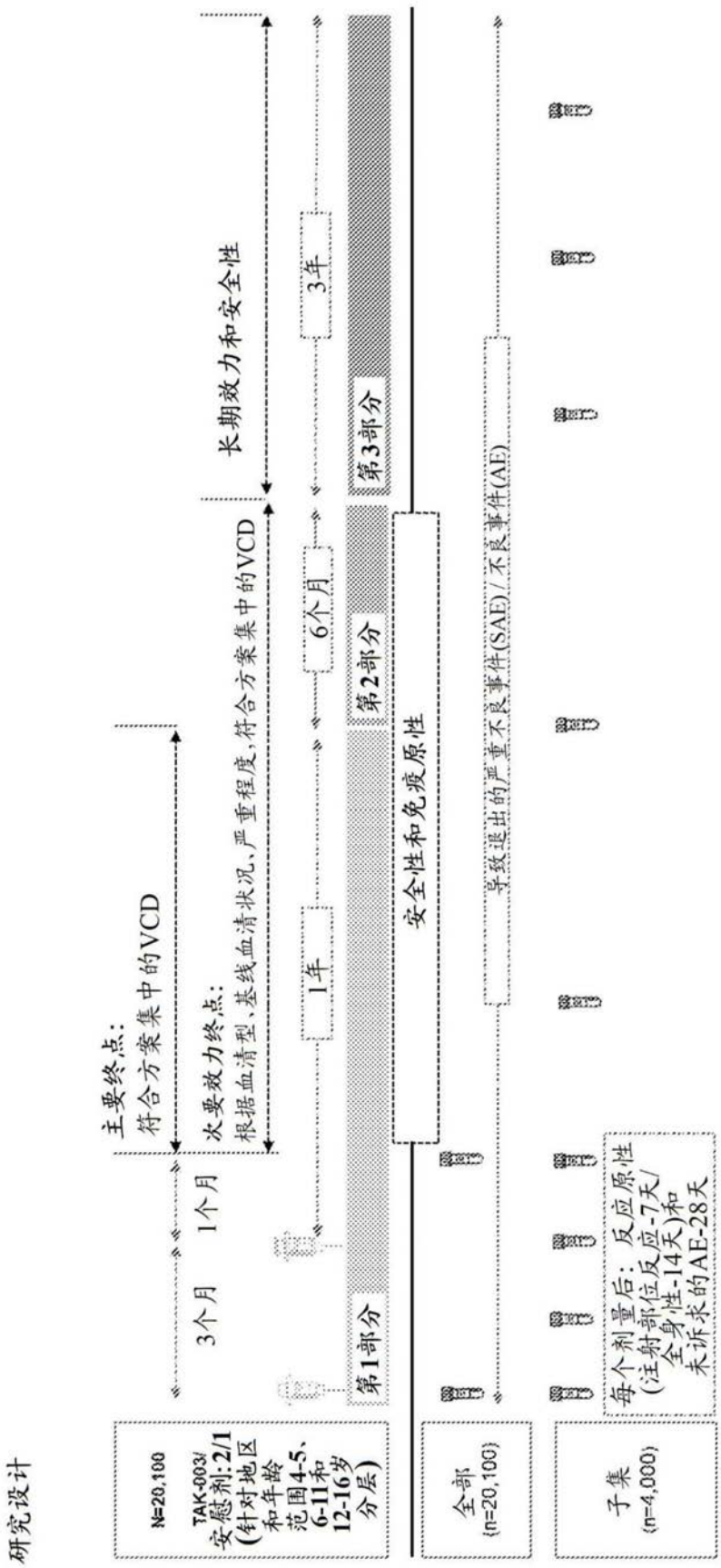

研究设计
N=20,100
TAK-003/安慰剂:2/1(针对地区和年龄范围4-5、6-11和12-16岁分层)
全部(n=20,100)
子集(n=4,000)
主要终点:符合方案集中的VCD
次要效力终点:根据血清型、基线血清状况、严重程度,符合方案集中的VCD
长期效力和安全性
3个月
1个月
1年
6个月
3年
第1部分
第2部分
第3部分
安全性和免疫原性
导致退出的严重不良事件(SAE)/不良事件(AE)
每个剂量后:反应原性(注射部位反应-7天/全身性-14天)和未诉求的AE-28天

图5

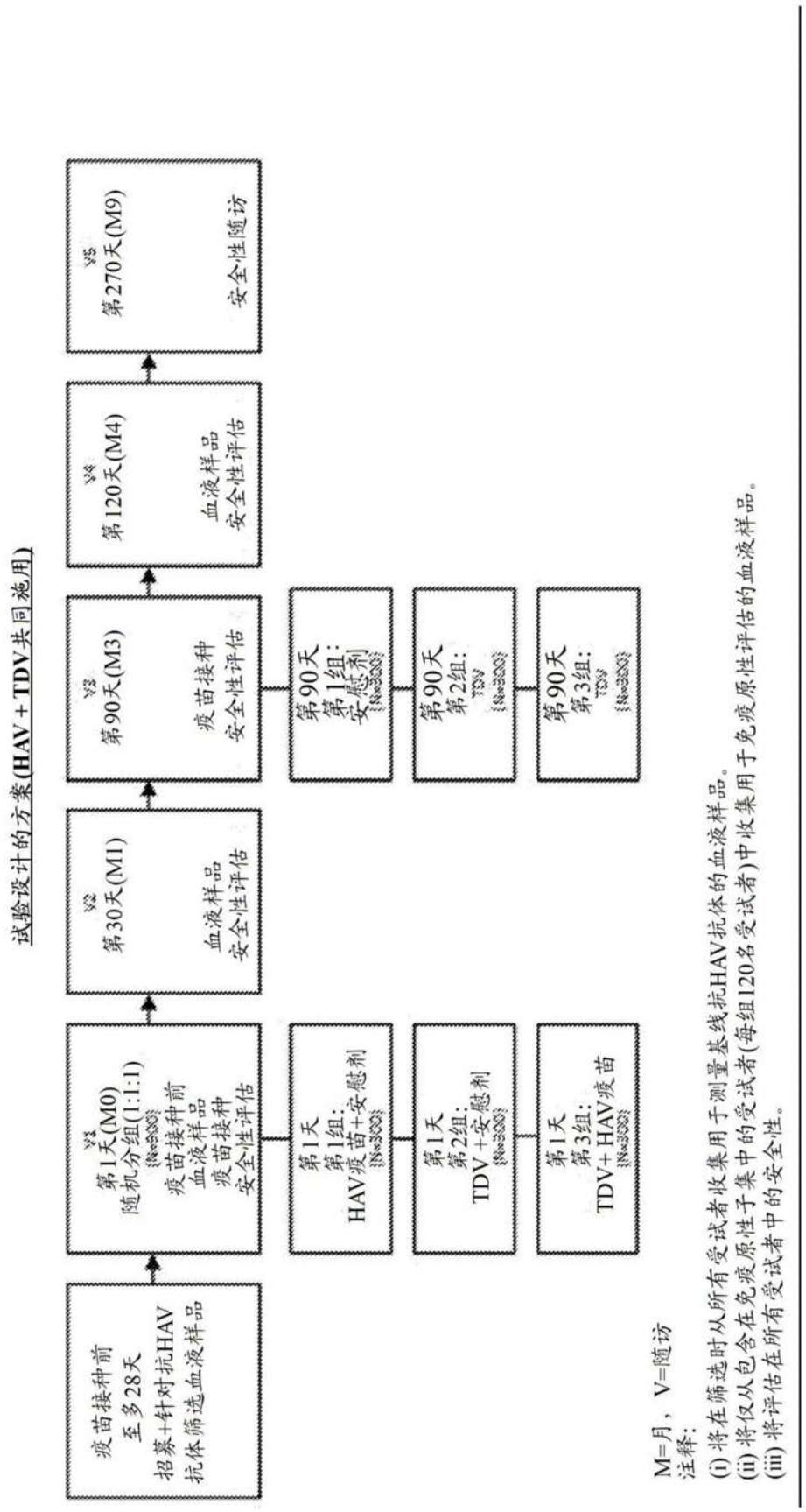

试验设计的方案(HAV + TDV共同施用)
疫苗接种前
至多28天
招募+针对抗HAV
抗体筛选血液样品
第1天(M0)
随机分组(1:1:1)
{N≈900}
疫苗接种前
血液样品
疫苗接种
安全性评估
第30天(M1)
血液样品
安全性评估
第90天(M3)
疫苗接种
安全性评估
第120天(M4)
血液样品
安全性评估
第270天(M9)
安全性随访
第1天
第1组:
HAV疫苗+安慰剂
{N≈300}
第90天
第1组:
安慰剂
{N≈300}
第1天
第2组:
TDV+安慰剂
{N≈300}
第90天
第2组:
TDV
{N≈300}
第1天
第3组:
TDV+ HAV疫苗
{N≈300}
第90天
第3组:
TDV
{N≈300}
M=月，V=随访
注释:
(i) 将在筛选时从所有受试者收集用于测量基线抗HAV抗体的血液样品。
(ii) 将仅从包含在免疫原性子集中的受试者(每组120名受试者)中收集用于免疫原性评估的血液样品。
(iii) 将评估在所有受试者中的安全性。

图6