



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105358683 A

(43) 申请公布日 2016. 02. 24

(21) 申请号 201480039571. 4

(22) 申请日 2014. 07. 11

(30) 优先权数据

61/845712 2013. 07. 12 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016. 01. 11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2014/069122 2014. 07. 11

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/005500 EN 2015. 01. 15

(71) 申请人 VLP 治疗有限责任公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 赤畑涉 上野隆司

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 黄登高 黄希贵

(51) Int. Cl.

C12N 7/00(2006. 01)

权利要求书2页 说明书19页

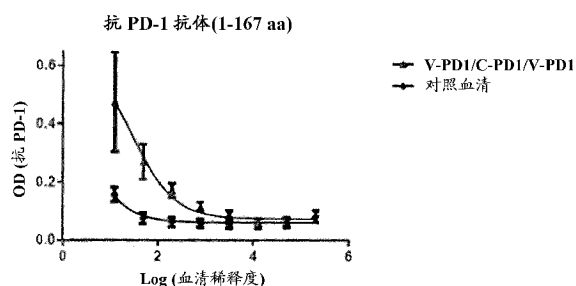
序列表190页 附图1页

(54) 发明名称

包含 PD-1 抗原或 PD-1 配体抗原的病毒样颗粒

(57) 摘要

本发明提供一种包含病毒结构蛋白和衍生自 PD-1 或 PD-1 配体的抗原的病毒样颗粒, 以及包含该颗粒的组合物或药盒、其在免疫应答中的用途等。



1. 一种包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒。

2. 权利要求 1 的颗粒,其中所述病毒结构蛋白包括衣壳和 / 或包膜蛋白 E1 和 E2。

3. 权利要求 2 的颗粒,其中至少一种衍生自 PD-1 的抗原或至少一种衍生自 PD-L1 的抗原插入包膜蛋白的 E2 中。

4. 权利要求 1-3 中任一项的颗粒,其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的基孔肯雅病毒样颗粒,并且其中,所述插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :33-35 所代表的氨基酸序列组成 ;所述包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :37 代表的氨基酸序列组成 ;所述衣壳由 SEQ ID No. :38 代表的氨基酸序列组成。

5. 权利要求 1-3 中任一项的颗粒,其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的委内瑞拉马病毒样颗粒,并且其中所述插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :39-41 所代表的氨基酸序列组成 ;所述包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列组成 ;所述衣壳由 SEQ ID No. :44 代表的氨基酸序列组成。

6. 权利要求 1-3 中任一项的颗粒,其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的基孔肯雅病毒样颗粒,并且其中所述插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :36 代表的氨基酸序列组成 ;所述包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :37 代表的氨基酸序列组成 ;所述衣壳由 SEQ ID No. :38 代表的氨基酸序列组成。

7. 权利要求 1-3 中任一项的颗粒,其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的委内瑞拉马病毒样颗粒,并且其中所述插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :42 代表的氨基酸序列组成 ;所述包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列组成 ;所述衣壳由 SEQ ID No. :44 代表的氨基酸序列组成。

8. 由与权利要求 4-7 中任一项的颗粒的氨基酸序列具有 90% 以上同一性的氨基酸序列组成的颗粒。

9. 一种分离的核酸分子,其包含用于表达权利要求 1-8 中任一项的颗粒的核苷酸序列。

10. 一种分离的核酸分子,其由与 SEQ ID No. :27-32 所代表的核苷酸序列具有 90% 以上同一性的核苷酸序列组成。

11. 包含权利要求 9-10 中任一项的核酸分子的载体,其中所述载体任选包含与所述核酸分子操作性连接的表达控制序列。

12. 一种药物组合物,包含 :

(a) 权利要求 1-8 中任一项的颗粒、权利要求 9-10 中任一项的核酸分子和 / 或权利要求 11 的载体 ;和

(b) 药学上可接受的载体。

13. 权利要求 12 的药物组合物,其中所述药物组合物为疫苗。

14. 权利要求 1-8 中任一项的颗粒、权利要求 9-10 中任一项的核酸分子和 / 或权利要

求 11 的载体用于制造用于治疗或预防癌症或传染病、在哺乳动物中产生抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体、调节免疫应答、免疫刺激、抑制 PD-1 与 PD-1 配体之间的相互作用或抑制 PD-1 活性的药物组合物或药盒的用途。

15. 一种药盒, 包含

(a) 含有权利要求 1-8 中任一项的颗粒的药物组合物 ; 和

(b) 另一种含有权利要求 1-8 中任一项的颗粒的药物组合物,

其中 (a) 中包含的颗粒为与 (b) 中所包含的颗粒不同的病毒样颗粒。

16. 权利要求 15 的药盒, 其中 (a) 中包含的颗粒为基孔肯雅病毒样颗粒并且 (b) 中包含的颗粒为委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒, 或 (a) 中包含的颗粒为委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒并且 (b) 中包含的颗粒为基孔肯雅病毒样颗粒。

包含 PD-1 抗原或 PD-1 配体抗原的病毒样颗粒

[0001] 相关申请的交叉引用

本申请要求于 2013 年 7 月 12 日提交的美国临时专利申请号 61/845,712 的权益,所述临时专利申请的全部内容通过引用结合到本文中。

技术领域

[0002] 本发明涉及包含病毒结构蛋白和衍生自 PD-1 或 PD-1 配体的抗原的病毒样颗粒,以及包含该颗粒的组合物或药盒、其在免疫应答中的用途等。

背景技术

[0003] 程序性细胞死亡 1 或 PD-1 (也称为 PDCD1) 为 CD28 超家族的 50-55 kDa 的 I 型跨膜受体,其通过与特异性配体相互作用负调节 T 细胞抗原受体信号传导,并且提示在自身耐受的维持中发挥作用。

[0004] PD-1 抗原几乎涉及免疫应答的每个方面,包括自身免疫、肿瘤免疫、感染免疫、移植免疫、过敏和免疫赦免。

[0005] PD-1 在活化 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞的表面上表达,(Y. Agata 等人, International Immunology vol.8, No. 5 p765-772, 1996) 提示与同样在免疫系统中发挥重要调节作用的 CTLA-4 相比,PD-1 更广泛地负调节免疫应答。

[0006] 一般而言,存在对提供安全且有效的用于免疫病症例如自身免疫疾病、炎症性病症、过敏、移植排斥、癌症、免疫缺陷和其它免疫系统-相关病症的治疗方法的需求。这些病症中牵涉的免疫应答调节可通过 PD-1 途径的操纵完成。

[0007] PD-1 具有两种配体,PD-L1 (程序性死亡配体 1 或 PDCDL1 或 B7-H1) 和 PD-L2 (程序性死亡配体 2 或 PDCDL2 或 B7-DC),为 B7 家族配体的成员。

[0008] 在一种方法中,阻断 PD-1 及其配体 (PD-L1、PD-L2 或二者) 的相互作用可为肿瘤和病毒免疫疗法提供有效的方式。

[0009] US 5,629,204 和 US 5,698,520 涉及与人 PD-1 有关的膜蛋白和编码所述蛋白的 DNA,并且表明 PD-1 蛋白可用于治疗各种感染、免疫抑制或加速或肿瘤等。

[0010] US 7,595,048 和 US 2011/0081341 涉及以抑制 PD-1、PD-L1 或 PD-L2 诱导的免疫抑制信号为特征的免疫增强、用于癌症或感染治疗的组合物以及使用它们的疗法。

[0011] 几家大型制药公司正在为抢先第一个进入市场而彼此竞争其 PD-1 抗体。此处为 3 种单克隆抗体例如针对 PD-1 起作用的人源化单克隆 IgG4 抗体即 Merck 的 Lambrolizumab (MK-3475)、完全的抗人 PD-1 抗体即 Bristol-Myers Squibb 的 Nivolumab (BMS-936558) 和不阻断 PD-1 而是阻断 PD-L1 的 Roche Genentech 的 MPDL3280A。

[0012] 然而,仍强烈需要靶向 PD-1 的更强有效和安全的化合物。

[0013] 病毒样颗粒 (VLP) 为模仿真正的天然病毒的组织 and 构象但缺乏病毒基因组的多蛋白结构,潜在地产生更安全和更便宜的候选疫苗。当前世界范围内少数预防性的基于 VLP 的疫苗已经商品化:GlaxoSmithKline 的 Engerix® (乙型肝炎病毒) 和 Cervarix® (人乳

头痛病毒)以及 Merck and Co., Inc 的 Recombivax HB® (乙型肝炎病毒)和 Gardasil® (人乳头瘤病毒)为一些实例。其它基于 VLP 的候选疫苗在临床试验中或处于临床前评估中,例如,流感病毒、细小病毒、诺沃克 (Norwalk) 和多种嵌合 VLP。许多其它 VLP 仍局限在小规模基础研究中,尽管其在临床前测试中成功。大规模 VLP 生产的含意在过程控制、监测和优化的背景下讨论。相应地确定和讨论了主要的上游和下游技术挑战。伴随最新的临床试验结果和最近的基于嵌合 VLP 的技术的发展简要介绍了成功的用于治疗或预防接种的基于 VLP 的重磅炸弹疫苗 (vaccine blockbuster) (Expert Rev. Vaccines 9(10), 1149-1176, 2010)。

[0014] 自从基孔肯雅病毒 (Chikungunya virus, CHIKV) 在 2004 年从肯尼亚再度出现,该甲病毒在非洲、欧洲和亚洲已经感染了数百万人。在缺乏疫苗或抗病毒疗法的情况下该疾病的严重性和该流行性病毒的传播呈现了一个严重的公众健康威胁。据报道流行性基孔肯雅病毒的 VLP 疫苗保护非人灵长类免受感染 (Nat Med. 2010 March; 16(3): 334-338)。美国专利出版号 2012/0003266 公开了包含一个或多个基孔肯雅病毒结构蛋白的可用于配制诱导对感染或其至少一种症状的免疫的基孔肯雅疫苗或抗原组合物的病毒样颗粒 (VLP)。W02012/106356 公开了在甲病毒属和黄病毒属-介导的疾病的预防或治疗中使用的修饰的甲病毒属或黄病毒属病毒样颗粒 (VLP) 和用于提高修饰的 VLP 的生产的方法。(这些引用的参考文献通过引用结合到本文中)。

[0015] 发明概述

在第一个方面,本发明提供包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒。

[0016] 在第二个方面,本发明提供包含用于表达包含病毒结构蛋白和抗原的颗粒的核苷酸序列的核酸分子,所述抗原选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原。

[0017] 在第三个方面,本发明提供一种药物组合物和包含药物组合物的药盒,其中所述药物组合物包含含有病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒;或包含用于表达颗粒的核苷酸序列的核酸分子,所述颗粒包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原;和药学上可接受的载体。

[0018] 在第四个方面,本发明提供了包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒,或包含用于表达包含颗粒(其包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原)的核苷酸序列的核酸分子用于制造用于在受试者中调节免疫反应、治疗癌症或治疗传染病的药物组合物或药盒的用途。

[0019] 附图简述

图 1 显示 ELISA 的结果,其中检测了与 N 端 PD-1 (1-167 aa) 结合的抗体。

[0020] 图 2 显示 ELISA 的结果,其中检测了与 PD-1-Fc 结合的抗体。

[0021] 实施方案的描述

(1) 包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒

在第一个方面,本发明提供包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒。

[0022] 本发明还提供可通过调整上述颗粒制备的上述颗粒的衍生物。修饰的实例包括,

但不限于,一个或多个氨基酸残基的添加、缺失或置换。

[0023] 本发明提供的颗粒可为由以下组成或包含以下的颗粒:i) 至少一种病毒结构蛋白和 ii) 至少一种衍生自 PD-1 的抗原或至少一种衍生自 PD-1 配体的抗原。所述至少一种病毒结构蛋白可由一个或多个种类的蛋白或肽组成并自发组装以形成本发明所提供的颗粒。在一个实施方案中,本发明提供的颗粒具有至少 10 nm,例如,至少 20 nm,优选至少 50 nm 的直径。在一个实施方案中,所述颗粒的分子量为 100 kDa - 100,000 kDa,优选 400kDa - 30,000kDa。

[0024] 优选地,用于本发明的病毒结构蛋白可为从甲病毒属或黄病毒属衍生的病毒结构蛋白。因此,本发明提供的颗粒可为病毒样颗粒,包括从甲病毒属或黄病毒属衍生的病毒样颗粒。

[0025] 甲病毒属和黄病毒属的实例包括,但不限于,奥拉病毒 (Aura virus)、巴班肯病毒 (Babanki virus)、巴马森林病毒 (Barmah Forest virus) (BFV)、比巴鲁病毒 (Bebaru virus)、卡巴斯欧病毒 (Cabassou virus)、基孔肯雅病毒 (Chikungunya virus) (CHIKV)、东方马脑炎病毒 (Eastern equine encephalitis virus) (EEEV)、埃拉特病毒 (Eilat virus)、沼泽地病毒 (Everglades virus)、摩根堡病毒 (Fort Morgan virus)、盖塔病毒 (Getah virus)、高地 J 病毒 (Highlands J virus)、孜拉加奇病毒 (Kyzylagach virus)、马亚罗病毒 (Mayaro virus)、Me Tri 病毒、米德尔堡病毒 (Middelburg virus)、莫斯达斯佩德拉斯病毒 (Mosso das Pedras virus)、穆坎布病毒 (Mucambo virus)、恩杜穆病毒 (Ndumu virus)、欧尼恩病毒 (O'nyong-nyong virus)、那皮舒纳病毒 (Pixuna virus)、里奥内格罗病毒 (Rio Negro virus)、罗斯河病毒 (Ross River virus) (RRV)、鲑鱼胰腺疾病病毒 (Salmon pancreas disease virus)、西门利启森林病毒 (Semliki Forest virus)、辛德比斯病毒 (Sindbis virus)、南方象海豹病毒 (Southern elephant seal virus)、图那特病毒 (Tonate virus)、特罗卡拉病毒 (Trocara virus)、乌纳病毒 (Una virus)、委内瑞拉马脑炎病毒 (Venezuelan equine encephalitis virus) (VEEV)、西方马脑炎病毒 (Western equine encephalitis virus) (WEEV)、瓦塔罗阿病毒 (Whataroa virus)、西尼罗河病毒 (West Nile virus)、登革热病毒 (dengue virus)、蜱传脑炎病毒 (tick-borne encephalitis virus) 和黄热病毒 (yellow fever virus)。

[0026] 病毒结构蛋白可为衣壳蛋白、包膜蛋白、其片段或其复合体。因此,用于本发明的病毒结构蛋白可由衣壳蛋白和 / 或包膜蛋白和 / 或其片段组成或包含衣壳蛋白和 / 或包膜蛋白和 / 或其片段。在一个实施方案中,本发明提供的病毒样颗粒由衣壳、E2 和 E1 组成或包含衣壳、E2 和 E1。可将抗原插入 E2 中。例如,本发明提供的病毒样颗粒可通过组装 240 个衣壳、240 个 E1 蛋白和 240 个 E2 蛋白形成,其中 PD-1 抗原插入每个 E2 蛋白中。

[0027] 如本文所使用的,术语“PD-1 抗原”是指从 PD-1 衍生的抗原。优选地,PD-1 为人 PD-1。衍生自 PD-1 的抗原可为 PD-1 的片段或 PD-1 片段的衍生物。

[0028] 如本文所使用的,术语“PD-1 配体抗原”是指从 PD-1 的配体衍生的抗原。PD-1 的配体的实例包括,但不限于,PD-L1 和 PD-L2。优选地,PD-1 的配体为人 PD-L1 或人 PD-L2。衍生自 PD-L1 的抗原可为 PD-L1 或 PD-L2 的片段;或 PD-L1 或 PD-L2 的片段的衍生物。

[0029] 用于在本发明提供的颗粒所包含的抗原中使用的 PD-1、PD-L1 或 PD-L2 的片段可基于 PD-1、PD-L1 或 PD-L2 的氨基酸序列和 / 或其三级结构选择。

[0030] 例如,用于在抗原中使用的片段可由位于PD-1、PD-L1或PD-L2表面的片段组成或包含位于PD-1、PD-L1或PD-L2表面的片段。优选地,抗本发明提供的颗粒所包含的抗原的抗体阻断PD-1与PD-L1或PD-1与PD-L2之间的相互作用。用于在抗原中使用的PD-1、PD-L1或PD-L2的片段可为10-300个氨基酸残基(例如10-120、10-30或15-30个氨基酸残基)长。

[0031] 在一个实施方案中,可选择用于在抗原中使用的片段使得当在该抗原或天然存在的包含该抗原的蛋白或其修饰蛋白的晶体中测定距离时,抗原的N-端残基与C-端残基之间的空间距离为30Å或更小。例如,可使用免费软件包括PyMOL(例如PyMOL v0.99: <http://www.pymol.org>)设计用于本发明所提供的颗粒的抗原。在一个实施方案中,抗原的N-端残基与C-端残基之间的空间距离为30Å(埃)或更小、20Å或更小、或10Å或更小(例如5Å-15Å、5Å-12Å、5Å-11Å、5Å-10Å、5Å-8Å、8Å-15Å、8Å-13Å、8Å-12Å、8Å-11Å、9Å-12Å、9Å-11Å、9Å-10Å或10Å-11Å)。

[0032] 用于在抗原中使用的PD-1片段的实例包括,但不限于,lnwyrmspsnqtdklaaf (SEQ ID No.:4)、mlnwyrmspsnqtdklaafs (SEQ ID No.:5)、vlnwyrmspsnqtdklaafp (SEQ ID No.:6)、gaishpkakiees (SEQ ID No.:7)、cgaislhpkakieec (SEQ ID No.:8)、VLNWYRMSPSNQTDKLAAP (SEQ ID No.:9)、GAISLAPKAQIKES (SEQ ID No.:10)、RNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVT (SEQ ID No.:11)和RNDSGIYLCGAISLHPKAKIEESPGAELVVT (SEQ ID No.:12)。用于在抗原中使用的PD-L1片段的实例包括,但不限于,CIISYGGADYC (SEQ ID No.:13)、CMISYGGADYC (SEQ ID No.:14)、LQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVN (SEQ ID No.:15)、LQDAGVYRAMISYGGADYKRITVKVN (SEQ ID No.:16)、DLAALIVYWEMEDKNIIQFVH (SEQ ID No.:17)、DLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGG (SEQ ID No.:18)、FTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVE (SEQ ID No.:19)、Lqdagvycciisyygadykritlkvn (SEQ ID No.:20)、lqdagvyaaaiisyygadykritlkvn (SEQ ID No.:21)、dllalvvywekedeqviqfva (SEQ ID No.:22)、dllalvvywekedeqviqfvagg (SEQ ID No.:23)和ftitapkdlyvveygsnvtmecrfpve (SEQ ID No.:24)。

[0033] PD-1、PD-L1或PD-L2片段的衍生物可通过PD-1、PD-L1或PD-L2片段中一个或几个氨基酸残基的添加、缺失或置换制备。在一个实施方案中,PD-1、PD-L1或PD-L2片段的衍生物与天然存在的PD-1、PD-L1或PD-L2的相应片段具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%的氨基酸序列同一性。在一个实施方案中,PD-1、PD-L1或PD-L2片段的衍生物为其中基于天然存在的PD-1、PD-L1或PD-L2的相应片段缺失、置换和/或添加至多10%的氨基酸的突变体。

[0034] 在如本发明所提供的颗粒中,病毒结构蛋白和抗原可通过病毒结构蛋白中存在的至少一个第一连接位点和抗原中存在的至少一个第二连接位点连接。

[0035] 如本文所使用的,各个“第一连接位点”和“第二连接位点”是指其中一个以上的物质彼此连接的位点。

[0036] 在一个实施方案中,病毒结构蛋白和抗原直接融合。在一个实施方案中,可在抗原和病毒结构蛋白的N-端残基之间和/或在抗原和病毒结构蛋白的C-端残基之间插入一个或多个接头。

[0037] 抗原或病毒结构蛋白可为截短的并由短接头代替。在一些实施方案中,抗原或病

毒结构蛋白包含一个或多个肽接头。典型地,接头由 2-25 个氨基酸组成。通常,其为 2-15 个氨基酸长,尽管在某些情况下其可为仅一个,例如,单个甘氨酸残基。

[0038] 在一个实施方案中,其中编码病毒结构蛋白的多核苷酸与编码抗原的多核苷酸经基因融合的核酸分子在宿主细胞中表达使得第一连接位点和第二连接位点通过肽键连接。在这种情况下,病毒结构蛋白和抗原通过肽键连接。关于该实施方案,第一连接位点和 / 或第二连接位点可从原始蛋白或抗原经基因修饰。例如,第一连接位点从病毒结构蛋白修饰使得通过包括 SG、GS、SGG、GGG 和 SGSG 在内的连接肽,该蛋白与抗原缀合。

[0039] 当病毒结构蛋白与抗原化学上缀合时,第一连接位点和第二连接位点可通过化学交联剂连接,所述化学交联剂为化合物。

[0040] 交联剂的实例包括,但不限于, SMPH、Sulfo-MBS、Sulfo-EMCS、Sulfo-GMBS、Sulfo-SIAB、Sulfo-SMPB、Sulfo-SMCC、SVSB、SIA 和可从 Pierce Chemical Company 获得的其它交联剂。

[0041] 优选地,抗原可作为通过基因工程方法生产的融合蛋白连接到基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白。

[0042] 本发明中使用的基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白可为基孔肯雅或委内瑞拉马脑炎病毒包膜蛋白或衣壳或一个或多个包膜蛋白和 / 或衣壳蛋白的复合体。

[0043] 基孔肯雅病毒的实例包括,但不限于,37997 和 LR2006 OPY-1 的菌株。

[0044] 委内瑞拉马脑炎病毒的实例包括,但不限于,TC-83。

[0045] 本发明中使用的基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白可为天然存在的病毒结构蛋白或其修饰蛋白。修饰的蛋白可为天然存在的病毒结构蛋白的片段。在一个实施方案中,修饰的蛋白与天然存在的病毒衣壳和 / 或包膜蛋白具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 98% 的氨基酸序列同一性。在一个实施方案中,修饰蛋白为其中在天然存在的病毒衣壳和 / 或包膜蛋白的基础上缺失、置换和 / 或添加至多 10% 的氨基酸的突变体。例如,可在本发明所使用的委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白的衣壳内引入 K64A 或 K64N 突变。

[0046] 基孔肯雅或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白可由衣壳、E2 和 E1 组成或包含衣壳、E2 和 E1。

[0047] 基孔肯雅病毒结构蛋白的实例包括,但不限于,基孔肯雅病毒株 37997 的衣壳 -E2-E1 和基孔肯雅病毒 LR2006 OPY-1 的衣壳 -E2-E1。

[0048] 委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白的实例包括,但不限于,委内瑞拉马脑炎病毒株 TC-83 的衣壳 -E2-E1

一个示例性的基孔肯雅病毒结构蛋白序列在 Genbank 登录号 ABX40006.1 中提供,其描述如下 (SEQ ID No. :1) :

```
nefiptqtgfynrryqgrpwprptiqvirprprprpqgagqlaqlisavnkltaravpqq  
kprrrnrknkkgkqkqgaggnntnqkkqppkqkpaqkqkqkprrrermcnkiendcifevk  
hegkvtgyacivgdkvmkpahvkgtdnadlaklafkraskydlacagipvhmkdsask  
fthekpeggyynwhhgavqysggrrftiptgagkpgdsgrpifdnkgrvvaivlgganega  
rtalsvvtwnkdivtkitpegaseewalaipvmellanttipcsqppetpccyekepeet  
lrmlednvmrpgyyqllgasltcsphrqrrstkdnfvykatrpylahcpdcgegghsch  
spvalerirneatdgtlikivslqigiktdsdshdwtklrymdnhmpadaeraglfvrt  
apctitgtmghfilarcpkgetltvgftdskishacthpfhhdppvigrekfharpqh  
gkelpcstyvgstaattteelevhmpddtpdrtlmqgsgnkvkitvnggtvrykncgggs  
neglitttdkvinnekvdqchaavtnhkkwgyneplvprnaelgdrkkgkihpfplanvt  
crvpkarnptvtygknqvimilypdhptllsyrnmggepnnygeewmhkkevltvpte  
glevtwgnnepkywpgmatngtahghpheililyyyelyptmtvrvvavattillmavg  
maagmcmcarrrcitpyeltpgatvpfllilicciirtakaatygeaailynegqplfw  
lqaliplaalivlcnclrlilpcccktlaflavmsvgahtvsayehvtvipntvgvpykt  
lvnrpgyspewlemlavtletptlsldyitceyktvipspyvkccgtaeckdknlpdy  
ackvftgvypfwmggagycfedaentqlseahveksecktefasayrahtasasaklr  
lyqgnnitvayangdhavtvkdakfivgpmssawtpfdnkivvykgdvymdyppfga  
grpgqfgdigartpeakdvyanatqlvlqrpaagtvhvpysqapagfkywikergaslg  
tapfgegiatnpvrvncavgnpiisidipdaaftvrvdapsvtdmscevpaethsdf  
ggvalikytasxkgkcavhsmtnavtireadvevegnsqigifetalaasaeirvqvcs  
tqvhcaaaechppkdhivnypahttlvgvqdiatamawvqkitggvgglivavaaliliv  
vicvafsrh
```

另一个示例性的基孔肯雅病毒结构蛋白序列在 Genbank 登录号 ABX40011.1 中提供,其描述如下 (SEQ ID No.:2):

```
nefiptqtgfynrryqgrpwprptiqvirprprprpqgagqlaqlisavnkltaravpqq  
kprrrnrknkkgkqkqgaggnntnqkkqppkqkpaqkqkqkprrrermcnkiendcifevk  
hegkvmgyacivgdkvmkpahvkgtdnadlaklafkraskydlacagipvhmkdsask  
fthekpeggyynwhhgavqysggrrftiptgagkpgdsgrpifdnkgrvvaivlgganega  
rtalsvvtwnkdivtkitpegaseewalaipvlclilanttipcsqppetpccyekepeet  
lrmlednvmrpgyyqllgasltcsphrqrrstkdnfvykatrpylahcpdcgegghsch  
spvalerirneatdgtlikivslqigiktdsdshdwtklrymdhptpadaeraglfvrt  
apctitgtmghfilarcpkgetltvgftdskishacthpfhhdppvigrerfharpqh  
gkelpcstyvgstaataaeielevhmpddtpdrtlmqgsgnkvkitvnggtvrykncgggs  
neglitttdkvinnekidqchaavtnhknwgyneplvprnaelgdrkkgkihpfplanvt  
crvpkarnptvtygknqvtmllypdhptllsyrnmggepnnyheewthkkevltvpte  
glevtwgnnepkywpgmatngtahghpheililyyyelyptmtvrvvsvasfvllsmvg  
tavgmecvcarrrcitpyeltpgatvpflliliccvrttkaatygeaasylwneqgplfw  
lqaliplaalivlcnclrlilpcccktlaflavmsigahtvsayehvtvipntvgvpykt  
lvnrpgyspewlemlqsvtletptlsldyitceyktvipspyvkccgtaeckdkslpdy  
ackvftgvypfwmggagycfedaentqlseahveksecktefasayrahtasasaklr  
lyqgnnitvayangdhavtvkdakfivgpmssawtpfdnkivvykgdvymdyppfga  
grpgqfgdigartpeakdvyanatqlvlqrpaagtvhvpysqapagfkywikergaslg  
tapfgegiatnpvrvncavgnpiisidipdaaftvrvdapsvtdmscevpaethsdf  
ggvalikytasxkgkcavhsmtnavtireadvevegnsqigifetalaasaeirvqvcs  
tqvhcaaaechppkdhivnypahttlvgvqdiatamawvqkitggvgglivavaaliliv  
vicvafsrh.
```

一个示例性的委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白在 Genbank 登录号 L01443.1 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/L01443.1>) 中提供,其描述如下 (SEQ ID No.:3):

mfpgqpyrpgpypyrnpfaaprrpwpfprtdpflaqvqeltramanltfkqridappe
gpsaaxpkkeasqkqkqgggqgkknqgkktaktgppnpkaqngnkktknkpkqrqrm
vmkleadktpimlegkingyavcvvggklfrpmhvegkidndvlaaiktkaaskytle
advpgnmradtfkythekpggyyswhhgavvyengrftvpkgvgakgdsgrpildnng
vvaivlggvnegsrtalsvwmnekgtvkvtypenceqwslyttmcillanvtfpcaqgp
icydrkpaetiamlsvndnpgydelleaavkcpgrkrrsteelfneykltrpymarci
rcavgschapialeavksdghdgyvrlqtssqyglasgnikgrtmrydmhgtikeipl
hgvslyterpchi vdghgyfllarcpagdsitmfekksdsvrhacsvpyevkfnpvgrel
ythppegvgacqvayahdaqnrgayvemhlpsssevdsslyslagssvtvtppdgtol
vececgatketinktkgtsgctkkgqrayrlqndkwvynadklpkaagatlkgklh
vpflladgkctvplapepmittfgfravsklhpknpitylitrqladephythelisepa
vrnftvtekqweifwgnhpgkrfwagetapgnphglphevithyhyhrypmstlglsc
aalatvevaastwlfcrsrvacltpyrltpnaripfclavlc cartaraettwesldhl
wnnnggmfwlglliplaalivvtrllrcvccvvpflvmagaagagayehattmpsqagi
syntivnragyaplpisitptkiklptvnleyvtchkyktgmdspaikecgsgectpty
rpdegckvftgvypfswggaycfcdtentqvskayvmksddcladhseaykahtasvqa
flnitvgehsivttvyvngetpvnfngvkitagpiatawtpfdrxlvqyagelynydfp
eygagqpgafgdigertvssedlyantn.vlgrpkagaihvpvtqapsgleqkxdkap
slkftapfgceiytnpiracncavgsiplafidpdaiftrvsetptlisaectlnecvy
sedfggiatvksaasksgkavhpsrtatlkeaveltteqgsatihfetanhpeftri
gictsyvtckgdchppkdhivthpgybaqftaavsktawtwltsilggsavililglv
lativamyritnqkn.

在一个实施方案中,第一连接位点包含氨基,优选地赖氨酸残基的氨基。在一个实施方案中,第二连接位点包含巯基,优选地半胱氨酸的巯基。

[0049] 根据本发明,可提供基孔肯雅病毒样颗粒或委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒,其包含基孔肯雅或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原,其中所述基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白和抗原作为融合蛋白表达。

[0050] 可将选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原与基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白的任何位点融合。例如,可将选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原与基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白的 N- 或 C- 端直接或间接连接,或可将选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原插入基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白内。

[0051] 在一个实施方案中,将至少一种选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原插入基孔肯雅病毒结构蛋白或委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白的 E2 内。例如,关于基孔肯雅病毒结构蛋白,至少一种选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原在 SEQ ID No. :1 或 2 的残基 519 和 520 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 519 位的 G 和 520 位的 Q 之间)、SEQ ID No. :1 或 2 的残基 530 和 531 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 530 位的 G 和 531 位的 S 之间)、SEQ ID No. :1 或 2 的残基 531 和 532 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 531 位的 S 和 532 位的 N 之间)、SEQ ID No. :1 或 2 的残基 529 和 530 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 529 位的 G 和 530 位的 G 之间)、或 SEQ ID No. :1 或 2 的残基 510 和 511 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 510 位的 S 和 511 位的 G 之间)、或 SEQ ID No. :1 或 2 的残基 511 和 512 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 511 位的 G 和 512 位的 N 之间)、或 SEQ ID No. :1 或 2 的残基 509 和 510 之间(即 SEQ ID No. :1 或 2 的 509 位的 Q 和 510 位的 S 之间)插入。VLP_CHI 532 载体(SEQ ID No. : 25)

可用于制备基孔肯雅病毒样颗粒,其中抗原在 SEQ ID No. 1 或 2 的残基 531 和 532 之间插入。

[0052] 例如,关于委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白,至少一种选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原在 SEQ ID No. :3 的残基 517 和 518 之间(即 SEQ ID No. :3 的 517 位的 G 和 518 位的 S 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 518 和 519 之间(即 SEQ ID No. :3 的 518 位的 S 和 519 位的 S 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 519 和 520 之间(即 SEQ ID No. :3 的 519 位的 S 和 520 位的 V 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 515 和 516 之间(即 SEQ ID No. :3 的 515 位的 L 和 516 位的 S 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 516 和 517 之间(即 SEQ ID No. :3 的 516 位的 S 和 517 位的 G 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 536 和 537 之间(即 SEQ ID No. :3 的 536 位的 C 和 537 位的 G 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 537 和 538 之间(即 SEQ ID No. :3 的 537 位的 G 和 538 位的 G 之间)、SEQ ID No. :3 的残基 538 和 539 之间(即 SEQ ID No. :3 的 538 位的 G 和 539 位的 T 之间)。VLP_VEEV VLP 518 载体(SEQ ID No. :26)可用于制备委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒,其中抗原在 SEQ ID No. 3 的残基 517 和 518 之间插入。

[0053] 融合蛋白可使用本领域常规技术表达。可使用多种表达系统表达融合蛋白。例如,融合蛋白可在 293 细胞、Sf9 细胞或大肠杆菌中表达。

[0054] 衍生自基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的蛋白可为天然存在的病毒蛋白或其修饰蛋白。

[0055] 当将衍生自病毒的蛋白与衍生自抗原的蛋白缀合时,可使用连接肽,包括 SG、GS、SGG、GGS、SGSG 和 TRGGS。衍生自病毒的蛋白(下文称为“PFV”)与衍生自抗原的蛋白(下文称为“PFA”)的缀合的实例包括,但不限于:PFV-SG-PFA-GS-PFV、PFV-SG-PFA-GGS-PFV、PFV-SSG-PFA-GS-PFV、PFV-SGG-PFA-GGS-PFV、PFV-SGSG-PFA-GS-PFV 和 PFA-SGG-PFA-TRGGS-PFV。

[0056] 在一个实施方案中,本发明提供包含衍生自基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的蛋白与衍生自 PD-1 或 PD-L1 的蛋白的融合蛋白的病毒样颗粒,其中所述病毒样颗粒通过将包含含有 SEQ ID No. :27-32 所代表的核苷酸序列的核酸分子的表达载体转染入哺乳动物细胞(例如 293F 细胞)制备。关于该实施方案,修饰的融合蛋白也可用于本发明提供的病毒样颗粒,所述修饰的融合蛋白可通过将包含含有与 SEQ ID No. :27-32 具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 98% 的氨基酸序列同一性的核苷酸序列的核酸分子转染入哺乳动物细胞(例如 293 细胞)制备。

[0057] 在一个实施方案中,本发明提供包含以下或由以下组成的病毒样颗粒:

一个或多个基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的衣壳;

一个或多个基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的 E1 ;和

一个或多个基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的 E2,其中选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)的抗原的抗原插入基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的 E2 内。例如,本发明提供包含以下或由以下组成的病毒样颗粒:

240 个基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的衣壳;

240 个基孔肯雅病毒(CHIKV)或委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的 E1 ;和

240 个基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 的 E2, 其中选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体 (例如 PD-L1、PD-L2) 的抗原的抗原插入基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 的每个 E2 内。

[0058] 在该实施方案中, 插入有抗原的 E2 可由 SEQ ID No. :33-36 所代表的氨基酸序列组成; E1 可由 SEQ ID No. :37 代表的氨基酸序列组成; 并且衣壳可由 SEQ ID No. : 38 代表的氨基酸序列组成; 或

插入有抗原的 E2 可由 SEQ ID No. :39-42 所代表的氨基酸序列组成; E1 可由 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列组成; 并且衣壳可由 SEQ ID No. : 44 代表的氨基酸序列组成。

[0059] 此外, 关于该实施方案, 修饰的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 衣壳、修饰的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) E1 和修饰的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) E2 可用于所述病毒样颗粒。例如, 修饰的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 衣壳可与 SEQ ID No. :38 或 SEQ ID No. :44 代表的氨基酸序列具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 98% 的氨基酸序列同一性; 修饰的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) E1 可与 SEQ ID No. :37 或 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 98% 的氨基酸序列同一性; 和 / 或修饰的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) E2 可与 SEQ ID No. :33-36 或 SEQ ID No. :39-42 所代表的氨基酸序列具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 98% 的氨基酸序列同一性。同样, 修饰的衣壳、E1 或 E2 可为其中在由 SEQ ID No. :38 或 SEQ ID No. :44 代表的氨基酸序列组成的衣壳、由 SEQ ID No. :37 或 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列组成的 E1 和 / 或由 SEQ ID No. :33-36 或 SEQ ID No. :39-42 代表的氨基酸序列组成的 E2 的基础上缺失、置换和 / 或添加至多 10% 氨基酸的突变体。

[0060] 病毒样颗粒可通过将包含具有编码所述病毒样颗粒的核苷酸序列的 DNA 分子的表达载体引入细胞 (例如 293 细胞) 内和使用超离心方法从条件培养基回收病毒样颗粒制备。

[0061] (2) 核苷酸、载体、宿主细胞

在第二个方面, 本发明提供包含用于表达所公开的颗粒的核苷酸序列的核酸分子, 所述颗粒包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原。

[0062] 本发明提供的核酸分子可为用于表达基孔肯雅病毒样颗粒或委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒的分离的核酸分子, 所述病毒样颗粒包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原。

[0063] 本领域技术人员可基于 SEQ ID No. :63-64 所代表的编码衣壳和 / 或包膜的示例性核苷酸序列, 制备上文所述的本发明所提供的核酸分子。

[0064] 例如, 本领域技术人员可将编码衍生自 PD-1 或 PD-L1 的抗原的核苷酸序列引入编码基孔肯雅或委内瑞拉马病毒结构蛋白 E2 的核苷酸序列内以制备核酸分子, 将该核酸分子引入载体内以表达包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的基孔肯雅病毒样颗粒或委内瑞拉马病毒样颗粒。其中如上所述将抗原衍生序列引入 E2 内的核苷酸序列的实例包括, 但不限于, SEQ ID No. :27 或 29 所代表的核苷酸序列 (用于表达包含 PD-1 抗原的基孔肯雅病毒样颗粒)、SEQ ID No. :31 所代表的核苷酸序列 (用于表达包含 PD-L1 抗原的基孔肯雅病毒样颗粒)、SEQ ID No. :28 或 30 所代表的核苷

酸序列（用于表达包含 PD-1 抗原的委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒）；和 SEQ ID No. :32 所代表的核苷酸序列（用于表达包含 PD-L1 抗原的委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒）。

[0065] 在一个实施方案中，本发明提供包含如上所述的核酸分子的载体，其中所述载体任选包含与所述核酸分子操作性连接的表达控制序列。

[0066] 表达控制序列的实例包括，但不限于，启动子例如 CMV 启动子、噬菌体 λ PL 启动子、大肠杆菌 lac、phoA 和 tac 启动子、SV40 早期和晚期启动子以及逆转录病毒 LTR 的启动子。

[0067] 在该实施方案中，包含与如上所述的核酸分子操作性连接的表达控制序列的载体可用作用于制备本发明所提供颗粒的表达载体。

[0068] 所述表达载体可由本领域技术人员基于 WO/2012/006180 制备，所述专利的全部内容通过引用结合到本文中。

[0069] 可用于表达包含衍生自基孔肯雅病毒 (CHIKV) 的蛋白和衍生自 PD-1 的抗原的融合蛋白的病毒样颗粒的载体的实例包括 VLP31.11 载体 (SEQ ID No. :45) 和 VLP274.11 载体 (SEQ ID No. :46) 中所示的载体。

[0070] 可用于表达包含衍生自基孔肯雅病毒 (CHIKV) 的蛋白和衍生自 PD-L1 的抗原的融合蛋白的病毒样颗粒的载体的实例包括 VLP299.15 载体 (SEQ ID No. :47) 中所示的载体。

[0071] 可用于表达包含衍生自委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 的蛋白和衍生自 PD-1 的抗原的融合蛋白的病毒样颗粒的载体的实例包括 VLP31.21 载体 (SEQ ID No. :48) 和 VLP274.21 载体 (SEQ ID No. :49) 中所示的载体。

[0072] 可用于表达包含衍生自委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 的蛋白和衍生自 PD-L1 的抗原的融合蛋白的病毒样颗粒的载体的实例包括 VLP299.25 载体 (SEQ ID No. :50) 中所示的载体。

[0073] 本发明还提供与具有 SEQ ID No.:45-50 中任一所代表的核苷酸序列的核酸分子具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 98% 的核苷酸序列同一性的核酸分子和可为突变体的核酸分子，所述突变体在具有 SEQ ID No.:45-50 中任一所代表的核苷酸序列的核酸分子的基础上缺失、置换和 / 或添加至多 10% 氨基酸。

[0074] 另外，本发明提供通过将上述载体引入宿主细胞内制备的重组细胞。例如，CHO 细胞或 293 细胞用作宿主细胞。

[0075] (3) 药物组合物, 药盒

在第三个方面，本发明提供一种药物组合物和包含药物组合物的药盒，其中所述药物组合物包含含有病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒；或包含用于表达颗粒的核苷酸序列的核酸分子，所述颗粒含有病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原；和药学上可接受的载体。

[0076] 在一个实施方案中，本发明提供一种药物组合物或包含药物组合物的药盒，其中所述药物组合物包含如上所述的甲病毒属或黄病毒属病毒样颗粒（例如基孔肯雅病毒样颗粒或委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒）或如上所述的核酸分子；和药学上可接受的载体。甲病毒属或黄病毒属病毒样颗粒的含量和核酸分子的含量可为药物组合物的 0.00001-1 w/w%。

[0077] 本发明所提供颗粒（例如 CHIKV VLP 或 VEEV VLP）的剂量可为 1-500 μ g/天。

[0078] 一种本发明提供的药物组合物可使用一种或多种 PD-1 抗原或 PD-1 配体抗原。

[0079] 所述药物组合物可进一步包含佐剂。佐剂的实例包括,但不限于,Ribi 溶液 (Sigma Adjuvant system, Sigma-Aldrich)。本发明提供的药物组合物可包含缓冲剂例如磷酸氢二钠水合物、磷酸二氢钠和氯化钠;和防腐剂例如硫柳汞。在一个实施方案中,所述药物组合物为包含 0.001-1 w/w% 的含有病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原或衍生自 PD-1 配体的抗原的颗粒 (例如 CHIKV VLP 或 VEEV VLP)、1-10w/w% 缓冲剂、0.01-1w/w% 佐剂和 0.00001-0.001w/w% 防腐剂的水溶液。

[0080] 技术人员可使用常规技术制备所述药物组合物。例如,将包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原或衍生自 PD-1 配体的抗原的颗粒 (例如 CHIKV VLP 或 VEEV VLP) 与具有生理 pH (例如 pH 5-9、pH 7) 的缓冲溶液混合以制备本发明所提供的药物组合物。

[0081] 在一个实施方案中,所述药物组合物为包含颗粒的疫苗或免疫刺激剂,所述颗粒含有病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原。例如,本发明提供的疫苗组合物可用于免疫疗法 (例如治疗癌症)。

[0082] 在一个实施方案中,所述药物组合物为包含含有用于表达颗粒的核苷酸序列的核酸分子的 DNA 疫苗,所述颗粒包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原。在一个实施方案中,本发明提供的 DNA 疫苗包含含有 CpG 的寡核苷酸。

[0083] 本发明第三方面所提供的药物组合物可给予一次或多次。当本发明第三方面所提供的药物组合物给予一次以上时,每次给予可使用不同的本发明第一方面所提供的颗粒 (例如 CHIKV VLP 或 VEEV VLP)。在一个实施方案中,采用使用本发明第一方面所提供的 CHIKV VLP 的免疫与使用本发明第一方面所提供的 VEEV VLP 的免疫的组合。例如,第一次免疫可使用本发明第一方面所提供的 CHIKV VLP,第二次免疫可使用本发明第一方面所提供的 VEEV VLP,或第一次免疫可使用本发明第一方面所提供的 VEEV VLP,第二次免疫可使用本发明第一方面所提供的 CHIKV VLP。

[0084] 技术人员可确定使用本发明所提供组合物或疫苗的免疫的时间选择。例如,第二次免疫在第一次免疫后 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 周进行。

[0085] 在一个实施方案中,本发明提供包含以下的药盒:

- (a) 一种包含本发明第一方面所提供的颗粒的药物组合物;和
- (b) 另一种包含本发明第一方面所提供的颗粒的药物组合物,

其中 (a) 中包含的颗粒为与 (b) 中包含的颗粒不同的病毒样颗粒。在该实施方案中, (a) 中包含的颗粒可为基孔肯雅病毒样颗粒并且 (b) 中包含的颗粒可为委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒。

[0086] 在一个实施方案中,本发明提供包含以下的药盒:

- (a) 一种包含本发明第一方面所提供的颗粒的药物组合物;和
- (b) 另一种包含本发明第一方面所提供的颗粒的药物组合物,
- (c) 一种或多种药物组合物,其各自包含本发明第一方面所提供的颗粒,

其中 (a) 用于起始免疫, (b) 和 (c) 用于加强免疫;并且 (a) 中包含的颗粒为与 (b) 中包含的颗粒不同的病毒样颗粒;并且 (c) 中包含的颗粒与 (a) 和 (b) 中包含的颗粒不同,或与 (a) 或 (b) 中包含的颗粒相同。

[0087] 上述药盒中包含的各个药物组合物可同时、分别或连续给予。

[0088] 本发明第一方面提供的甲病毒属或黄病毒属病毒样颗粒（例如基孔肯雅病毒或委内瑞拉马脑炎病毒）或本发明第二方面提供的核酸分子可用于本发明第三方面所提供的药物组合物。

[0089] 例如，包含以下或由以下组成的基孔肯雅或委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒可用于制备本发明第三方面提供的组合物或疫苗：

一个或多个（例如 240 个）基孔肯雅病毒（CHIKV）或委内瑞拉马脑炎病毒（VEEV）衣壳；

一个或多个（例如 240 个）基孔肯雅病毒（CHIKV）或委内瑞拉马脑炎病毒（VEEV）的 E1；和

一个或多个（例如 240 个）基孔肯雅病毒（CHIKV）或委内瑞拉马脑炎病毒（VEEV）的 E2，其中 PD-1 抗原插入基孔肯雅病毒（CHIKV）或委内瑞拉马脑炎病毒（VEEV）的 E2 内。插入有抗原的 E2 可由 SEQ ID No. :33-36 所代表的氨基酸序列组成；E1 可由 SEQ ID No. :37 代表的氨基酸序列组成；衣壳可由 SEQ ID No. :38 代表的氨基酸序列组成；或

插入有抗原的 E2 可由 SEQ ID No. :39-42 所代表的氨基酸序列组成；E1 可由 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列组成；衣壳可由 SEQ ID No. :44 代表的氨基酸序列组成。

[0090] (4) 所公开颗粒的用途等

在第四个方面，本发明提供包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒；或含有用于表达颗粒（其包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原）的核苷酸序列的核酸分子用于制造用于治疗或预防癌症或传染病、在哺乳动物（例如人）中产生抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体、调节免疫应答、免疫刺激、抑制 PD-1 与 PD-1 配体之间的相互作用或抑制 PD-1 活性的药物组合物或药盒的用途。还提供用于在治疗或预防癌症或传染病、在哺乳动物（例如人）中产生抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体、调节免疫应答、免疫刺激、抑制 PD-1 与 PD-1 配体之间的相互作用或抑制 PD-1 活性的方法中使用的本文所公开的颗粒、药物组合物或药盒。

[0091] 所述药物组合物可肌肉（i. m.）、皮内（i. c.）、皮下（s. c.）、真皮内（i. d.）或腹膜内（i. p.）给予哺乳动物（例如人）。

[0092] 在一个实施方案中，所述药物组合物为疫苗，其可应用于免疫疗法（例如治疗癌症）。

[0093] 可治疗的癌症的实例包括，但不限于，黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌和非小细胞肺癌。癌症的其它实例包括，但不限于，骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区域的癌症、胃癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、包括急性髓样白血病、慢性髓样白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病在内的慢性或急性白血病、儿童期实体瘤、淋巴细胞淋巴瘤、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统（CNS）肿瘤、原发性 CNS 淋巴瘤、肿瘤血管发生、脊柱肿瘤（spinal axis tumor）、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济氏肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T 细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症包括石棉诱导的那些，及其组合。

[0094] 可治疗的传染病的实例包括,但不限于,HIV、流感、疱疹、贾第虫 (*Giardia*)、疟疾、利士曼原虫、(甲型、乙型和丙型)肝炎病毒、疱疹病毒(例如,VZV、HSV-I、HAV-6、HSV-II 和 CMV、EB 病毒)、腺病毒、流感病毒、黄病毒属、埃可病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒(cornovirus)、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、牛痘病毒、HTLV 病毒、登革热病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、JC 病毒和虫媒病毒性脑炎病毒所致的病原性感染,细菌衣原体、立克次氏体细菌、分枝杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属、肺炎球菌、脑膜炎球菌和淋球菌(*gonococci*)、克雷伯菌属、变形杆菌属、沙雷氏菌属、假单胞菌属、军团病杆菌属、白喉、沙门氏菌属、杆菌、霍乱、破伤风、肉毒中毒、炭疽、瘟疫、钩端螺旋体病和莱姆病细菌所致的病原性感染,真菌念珠菌属(白色念珠菌、克柔念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌,等)、新型隐球菌、曲霉属(烟曲霉、黑曲霉,等)、毛霉菌目属(毛霉属、犁头霉属、根霉)、申克孢子丝菌、皮炎芽生菌、巴西副球孢子菌、粗球孢子菌和荚膜组织胞浆菌所致的病原性感染,以及寄生虫溶组织内阿米巴、结肠小袋虫(*Balantidium coli*)、福氏耐格里原虫、棘阿米巴属、蓝氏贾第虫(*Giardia lamblia*)、隐孢子虫属、卡氏肺囊虫、间日疟原虫、果氏巴贝虫、布氏锥虫、克氏锥虫、杜氏利什曼原虫、刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)和巴西日圆线虫所致的病原性感染。

[0095] 当给予哺乳动物(例如人)包含病毒结构蛋白和选自衍生自 PD-1 的抗原或衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的药物组合物时,在哺乳动物的血液中产生抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体。所产生的抗体可调节免疫应答、显示免疫刺激作用、抑制 PD-1 与 PD-1 配体(例如 PD-L1、PD-L2)之间的相互作用或抑制 PD-1 活性。

[0096] 所产生的抗体可使用常规技术人源化。使用本发明第一方面所提供的颗粒,可制备单克隆抗体或多克隆抗体。在一个实施方案中,本发明提供用于生产抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体的方法,包括给予非人哺乳动物本发明第一方面所提供的颗粒,并使非人哺乳动物产生的抗体人源化。

[0097] 如本文所使用的,术语“抗体”指能够结合表位或抗原决定簇的分子。该术语意味着包括整个抗体和其抗原结合片段,包括单链抗体。这样的抗体包括人抗原结合抗体片段并且包括,但不限于,Fab、Fab' 和 F(ab')₂、Fd、单链 Fvs (scFv)、单链抗体、二硫键-连接的 Fvs (sdFv) 和包含 VL 或 VH 结构域的片段。所述抗体可来自包括鸟和哺乳动物在内的任何动物来源。优选地,所述抗体为哺乳动物例如人、鼠、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马等的抗体,或其它合适的动物例如鸡的抗体。如本文所使用的,“人”抗体包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人免疫球蛋白文库或从一种或多种人免疫球蛋白转基因的并且不表达内源性免疫球蛋白的动物分离的抗体,如例如,美国专利号 5,939,598 中所描述的,所述专利的公开内容通过引用以其整体结合到本文中。

[0098] 术语“PD-1 活性”指与 PD-1 相关的一种或多种免疫调节活性。例如,PD-1 为 TcR/CD28-介导的免疫应答的负调节剂。因此,调节免疫应答的实例包括,但不限于,增强 TcR/CD28-介导的免疫应答。

[0099] 在一个实施方案中,本发明提供用于生产本发明第一方面所提供的基孔肯雅或委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒的方法,包括制备设计为用于表达所述颗粒的载体、培养用该载体转染的细胞以表达所述颗粒和回收颗粒。在该实施方案中,转染可使用常规方法进行。用于转染的细胞可为 293 细胞。回收 VLP 可包括在用载体转染细胞后收集条件培养基,并且

可进一步包括使用超离心从条件培养基中纯化 VLP。

[0100] 本发明进一步提供下列示例性实施方案 (1)-(35)：

(1) 包含病毒结构蛋白和至少一种选自衍生自 PD-1 的抗原和衍生自 PD-1 配体的抗原的抗原的颗粒；

(2) 一种颗粒, 其为 (1) 的颗粒的衍生物；

(3) (1) 或 (2) 的颗粒, 其中所述抗原为衍生自 PD-1、PD-L1 或 PD-L2 的抗原；

(4) (1)-(3) 中任一项的颗粒, 其中给予动物该颗粒诱导抗所述抗原的抗体并且该抗体阻断 PD-1 与 PD-L1 的相互作用或 PD-1 与 PD-L2 的相互作用；

(5) (1)-(4) 中任一项的颗粒, 其中所述颗粒为病毒样颗粒；

(6) (1)-(5) 中任一项的颗粒, 其中所述颗粒为衍生自甲病毒属或黄病毒属的病毒样颗粒；

(7) (1)-(6) 中任一项的颗粒, 其中所述颗粒为衍生自基孔肯雅病毒或委内瑞拉马脑炎病毒的病毒样颗粒；

(8) (1)-(7) 中任一项的颗粒, 其中所述病毒结构蛋白包含至少一个第一连接位点, 所述至少一种抗原包含至少一个第二连接位点, 并且其中病毒结构蛋白与抗原通过至少一个第一连接位点和至少一个第二连接位点连接, 并且其中所述颗粒为病毒样颗粒；

(9) (1)-(8) 中任一项的颗粒, 其中所述病毒结构蛋白包括衣壳和 / 或包膜蛋白 E1 和 E2；

(10) (9) 的颗粒, 其中至少一种衍生自 PD-1 的抗原或至少一种衍生自 PD-L1 的抗原插入包膜蛋白的 E2 内；

(11) (1)-(10) 中任一项的颗粒, 其中所述病毒结构蛋白为衍生自基孔肯雅病毒 (CHIKV) 或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 的蛋白；

(12) (1)-(11) 中任一项的颗粒, 其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的基孔肯雅病毒样颗粒, 并且

其中插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :33-35 所代表的氨基酸序列组成 ; 包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :37 代表的氨基酸序列组成 ; 并且衣壳由 SEQ ID No. :38 代表的氨基酸序列组成 ;

(13) (1)-(11) 中任一项的颗粒, 其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的委内瑞拉马病毒样颗粒, 并且

其中插入有衍生自 PD-1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :39-41 所代表的氨基酸序列组成 ; 包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :43 代表的氨基酸序列组成 ; 并且衣壳由 SEQ ID No. :44 代表的氨基酸序列组成 ;

(14) (1)-(11) 中任一项的颗粒, 其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的基孔肯雅病毒样颗粒, 并且

其中插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No. :36 代表的氨基酸序列组成 ; 包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No. :37 代表的氨基酸序列组成 ; 并且衣壳由 SEQ ID No. :38

代表的氨基酸序列组成；

(15) (1)-(11) 中任一项的颗粒,其中所述颗粒为由一个或多个插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2、一个或多个包膜蛋白 E1 和一个或多个衣壳组成的委内瑞拉马病毒样颗粒,并且

其中插入有衍生自 PD-L1 的抗原的包膜蛋白 E2 由 SEQ ID No.:42 代表的氨基酸序列组成;包膜蛋白 E1 由 SEQ ID No.:43 代表的氨基酸序列组成;并且衣壳由 SEQ ID No.:44 代表的氨基酸序列组成;

(16) 由与 (1)-(15) 中任一项的颗粒的氨基酸序列具有 90% 或更高(或 95% 或更高)序列同一性的氨基酸序列组成的颗粒;

(17) 包含用于表达 (1)-(16) 中任一项的颗粒的核苷酸序列的分离的核酸分子;

(18) 由与 SEQ ID No.:27-32 中任一所代表的核苷酸序列具有 90% 或更高序列同一性的核苷酸序列组成的分离的核酸分子;

(19) (18) 的核酸分子,其中所述核酸分子由 SEQ ID No.:27-32 中任一所代表的核苷酸序列组成;

(20) 包含 (17)-(19) 中任一项的核酸分子的载体,其中所述载体任选包含与所述核酸分子操作性连接的表达控制序列(例如由 SEQ ID No. 45、46、47、48、49 或 50 所代表的核苷酸序列组成的载体);

(21) 一种药物组合物,其包含:

(a) (1)-(16) 中任一项的颗粒, (17)-(19) 中任一项的核酸分子和 / 或 (20) 的载体;
和

(b) 药学上可接受的载体;

(22) (16) 的药物组合物(例如疫苗),其中所述药物组合物包含 (1)-(16) 中任一项的颗粒和药学上可接受的载体;

(23) (1)-(16) 中任一项的颗粒、(17)-(19) 中任一项的核酸分子和 / 或 (20) 的载体用于制造用于治疗或预防癌症或传染病、在哺乳动物中产生抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体、调节免疫应答、免疫刺激、抑制 PD-1 与 PD-1 配体之间的相互作用或抑制 PD-1 活性的药物组合物或药盒的用途;

(24) (23) 的用途,其中给予所述药物组合物以抑制 PD-L1 和 / 或 PD-L2 与 PD-1 的结合;

(25) (23) 或 (24) 的用途,其中所述癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌或非小细胞肺癌;

(26) (23) 或 (24) 的用途,其中所述癌症选自骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区域的癌症、胃癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、包括急性髓样白血病、慢性髓样白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病在内的慢性或急性白血病、儿童期实体瘤、淋巴细胞淋巴瘤、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS) 肿瘤、原发性 CNS 淋巴瘤、肿瘤血管发生、脊柱肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济氏肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T 细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症包括石棉诱导的那些,及其组

合；

(27) (23) 或 (24) 的用途,其中所述传染病选自 HIV、流感、疱疹、贾第虫 (*Giardia*)、疟疾、利士曼原虫、(甲型、乙型和丙型)肝炎病毒、疱疹病毒(例如, VZV、HSV-I、HAV-6、HSV-II 和 CMV、EB 病毒)、腺病毒、流感病毒、黄病毒属、埃可病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒 (coronavirus)、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、牛痘病毒、HTLV 病毒、登革热病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、JC 病毒和虫媒病毒性脑炎病毒所致的病原性感染,细菌衣原体、立克次氏体细菌、分枝杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属、肺炎球菌、脑膜炎球菌和淋球菌 (*gonococci*)、克雷伯菌属、变形杆菌属、沙雷氏菌属、假单胞菌属、军团病杆菌属、白喉、沙门氏菌属、杆菌、霍乱、破伤风、肉毒中毒、炭疽、瘟疫、钩端螺旋体病和莱姆病细菌所致的病原性感染,真菌念珠菌属(白色念珠菌、克柔念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌,等)、新型隐球菌、曲霉属(烟曲霉、黑曲霉,等)、毛霉菌目属(毛霉属、犁头霉属、根霉)、申克孢子丝菌、皮炎芽生菌、巴西副球孢子菌、粗球孢子菌和荚膜组织胞浆菌所致的病原性感染,以及寄生虫溶组织内阿米巴、结肠小袋虫 (*Balantidium coli*)、福氏耐格里原虫、棘阿米巴属、蓝氏贾第虫 (*Giardia lamblia*)、隐孢子虫属、卡氏肺囊虫、间日疟原虫、果氏巴贝虫、布氏锥虫、克氏锥虫、杜氏利什曼原虫、刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 和巴西日圆线虫所致的病原性感染；

(28) 一种药盒,其包含：

(a) 一种包含 (1)-(16) 中任一项的颗粒的药物组合物；和

(b) 另一种包含 (1)-(16) 中任一项的颗粒的药物组合物，

其中 (a) 中包含的颗粒为与 (b) 中包含的颗粒不同的病毒样颗粒；

(29) (28) 的药盒,其中 (a) 中包含的颗粒为基孔肯雅病毒样颗粒并且 (b) 中包含的颗粒为委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒,或 (a) 中包含的颗粒为委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒并且 (b) 中包含的颗粒为基孔肯雅病毒样颗粒；

(30) (28) 或 (29) 的药盒,进一步包含 (c) 一种或多种药物组合物,其各自包含 (1)-(16) 中任一项的颗粒,其中 (a) 用于起始免疫, (b) 和 (c) 用于加强免疫,并且 (c) 中包含的颗粒与 (a) 和 (b) 中包含的颗粒不同,或与 (a) 或 (b) 中包含的颗粒相同；

(31) (28)-(30) 中任一项的药盒,其中各个药物组合物同时、分别或连续给予；

(32) 用于在治疗或预防癌症或传染病、在哺乳动物中产生抗 PD-1 或 PD-1 配体的抗体、调节免疫应答、免疫刺激、抑制 PD-1 与 PD-1 配体之间的相互作用或抑制 PD-1 活性的方法中使用的 (1)-(16) 中任一项的颗粒、(17)-(20) 中任一项的核酸分子、(20) 的载体、(21) 或 (22) 的药物组合物或 (28)-(31) 中任一项的药盒；

(33) 用于在治疗或预防癌症的方法中使用的 (1)-(16) 中任一项的颗粒、(17)-(20) 中任一项的核酸分子、(20) 的载体、(21) 或 (22) 的药物组合物或 (28)-(31) 中任一项的药盒,其中所述癌症选自 (25) 或 (26) 中描述的癌症；

(34) 用于在治疗或预防传染病的方法中使用的 (1)-(16) 中任一项的颗粒、(17)-(20) 中任一项的核酸分子、(20) 的载体、(21) 或 (22) 的药物组合物或 (28)-(31) 中任一项的药盒,其中所述传染病选自 (27) 中描述的传染病；

(35) 用于生产基孔肯雅病毒样颗粒或委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒的方法,包括培养用 (20) 的载体转染的细胞以表达颗粒；和使用超离心纯化颗粒。

[0101] 本发明将参考下列实施例详细描述,然而,这些实施例不意在限制本发明的范围。

实施例

[0102] 实施例 1:包含病毒结构蛋白和 PD-1 抗原片段的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 样颗粒的制备

下列 PD-1 多核苷酸用于插入 VLP_CHI 532 载体 (SEQ ID No.:25) 内。N 端接头的氨基酸序列为 SGG (核序列为 TCCGGAGGA) 并且 C 端接头的氨基酸序列为 GGS (核序列为 GGAGGATCC)。

[0103] 1. VLP31 (PD-1 No. 1 序列):用于抗原的连接有接头的 PD-1 片段的序列:

核序列

Tccggaggactaaactggtaccgcatgagccccagcaaccagacggacaagctggccgccttcggaggatcc
(SEQ ID No.:51)

氨基酸序列

sgglnwyrmspsnqtdklaafggs (SEQ ID No.:52)

2. VLP32 (PD-1 No. 2 序列):另一个用于抗原的连接有接头的 PD-1 片段的序列:

核序列

Tccggaggaatgctaaactggtaccgcatgagccccagcaaccagacggacaagctggccgccttctcaggag
gatcc (SEQ ID No.:53)

氨基酸序列

sggmlnwyrmspsnqtdklaafsggs (SEQ ID No.:54)

3. VLP33 (PD-1 No. 3 序列):另一个用于抗原的连接有接头的 PD-1 片段的序列:

核序列

Tccggaggagtgtctaaactggtaccgcatgagccccagcaaccagacggacaagctggccgccttccccggag
gatcc (SEQ ID No.:55)

氨基酸序列

sggvlnwyrmspsnqtdklaafpggs (SEQ ID No.:56)

各个多核苷酸在编码 SEQ ID No. 2 531 位的 Ser 和 532 位的 Asn 的密码子之间插入以构建用于表达基孔肯雅病毒样颗粒的质粒 (下文称作 VLP31_11、VLP32_11 或 VLP33_11), 其中修饰的 PD-1 衍生肽插入基孔肯雅病毒结构蛋白的 E2 内。

[0104] 使用 PEI (GE Healthcare) 或 GeneX (ATCC) 用该质粒转染 293F 细胞 (Lifetechnology)。转染 4 天后,收集条件培养基,3000 rpm 离心 1 分钟以将其与细胞分离。使用 0.45 μ m 滤器过滤上清液以获得病毒样颗粒。使用 TFF 柱浓缩病毒样颗粒并使用 QXL 柱 (GE Healthcare) 纯化以获得纯的病毒样颗粒。

[0105] 使用 CHIKV 特异性抗体 (ATCC: VR-1241AF) 通过蛋白质印迹确认包含与基孔肯雅病毒结构蛋白缀合的 VLP31、32 或 33 的 VLP 的表达。

[0106] 实施例 2:包含病毒结构蛋白和 PD-1 抗原片段的委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 样颗粒的制备

使用实施例 1 中所使用的相同 PD-1 多核苷酸插入 VLP_VEEV VLP 518 载体 (SEQ ID No.:26) 内。N 端接头和 C 端接头与实施例 1 中相同。

[0107] 各个多核苷酸在编码 SEQ ID No. 3 518 位的 Ser 和 519 位的 Ser 的密码子之间插入以构建用于表达委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒的质粒（下文称作 VLP31_21、VLP32_21 或 VLP33_21），其中修饰的 PD-1 衍生肽插入委内瑞拉马脑炎结构蛋白的 E2 内。

[0108] 如实施例 1 用质粒转染 293F 细胞。使用 VEEV 特异性抗体通过蛋白质印迹确认包含与委内瑞拉马脑炎病毒结构蛋白缀合的 VLP31、32 或 33 的 VLP 的表达。

[0109] 实施例 3: 包含病毒结构蛋白和 PD-1 抗原或 PD-L1 抗原的片段的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 样颗粒和委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 样颗粒的制备

下列小鼠 PD-1 和小鼠 PD-L1 的多核苷酸用于插入 VLP_CHI 532 载体 (SEQ ID No. :25) 内或插入 VLP_VEEV VLP 518 载体 (SEQ ID No. :26) 内。N 端接头的氨基酸序列为 SGG（核序列为 TCCGGAGGA），C 端接头的氨基酸序列为 GGS（核序列为 GGAGGATCC）。

[0110] 1. VLP299（小鼠 PD-L1 序列）：用于抗原的连接有接头的小鼠 PD-1 结构域 3S 的片段的序列：

核序列

Tccggaggatgcatcatcagctacggcggagccgactacggaggatcc (SEQ ID No. :57)

氨基酸序列

SGG-ciisyygadyC-GGS (SEQ ID No. :58)

2. VLP274（小鼠 PD-1 序列）：用于抗原的连接有接头的小鼠 PD-1 结构域 2short 的片段的序列：

核序列

Tccggaggaggcgccatcagcctgcaccccaaggccaagatcgaggaatctggaggatcc (SEQ ID No. :59)

氨基酸序列

SGG-gaislhpakiees-GS (SEQ ID No. :60)

3. VLP275（小鼠 PD-1 序列）：用于抗原的连接有接头的小鼠 PD-1 结构域 2short_v2 的片段的序列：

核序列

Tccggaggatgtggcgccatcagcctgcaccccaaggccaagatcgaggaaggaggatcc (SEQ ID No. :61)

氨基酸序列

SGG-cgaislhpakieeC-GGS (SEQ ID No. :62)

各个多核苷酸在编码 SEQ ID No. 2 531 位的 Ser 和 532 位的 Asn 的密码子之间插入以构建用于表达基孔肯雅病毒样颗粒的质粒（对于 VLP299- 插入的载体下文称作 VLP299_15、VLP299_25；对于 VLP274- 插入的载体下文称作 VLP274_11、VLP274_15；对于 VLP275- 插入的载体下文称作 VLP275_11、VLP275_15），其中修饰的 PD-1 衍生肽或修饰的 PD-L1 衍生肽插入基孔肯雅病毒结构蛋白的 E2 内。

[0111] 如实施例 1 用质粒转染 293F 细胞。使用 CHIKV 或 VEEN 特异性抗体通过蛋白质印迹确认包含与基孔肯雅病毒结构蛋白缀合的 VLP299、274 或 275 的 VLP 的表达。

[0112] 实施例 4: PD-1 的免疫源性

下列人 PD-1 多核苷酸，同样存在于小鼠 PD-1 基因中，用于插入 VLP_CHI 532 载体 (SEQ

ID No. :25) 或插入 VLP_VEEV VLP 518 载体 (SEQ ID No. :26) 内。N 端接头的氨基酸序列为 SGG (核序列为 TCCGAGGA), C 端接头的氨基酸序列为 GGS (核序列为 GGAGGATCC)。

[0113] 核序列

Tccgaggactaaactggtaccgcatgagccccagcaaccagacggacaagctggccgccttcggaggatcc
(SEQ ID No. :51)

氨基酸序列

SGGLNWYRMSPSNQTDKLAAFGGS (SEQ ID No. :52)

将多核苷酸插入编码 SEQ ID No. 2 531 位的 Ser 和 532 位的 Asn 的密码子之间以构建用于表达基孔肯雅病毒样颗粒的质粒 (下文称作 pCHIKV-hPD-1), 其中修饰的 PD-1 衍生肽插入基孔肯雅病毒结构蛋白的 E2 内。还将多核苷酸插入编码 SEQ ID No. 3 518 位的 Ser 和 519 位的 Ser 的密码子之间以构建用于表达委内瑞拉马脑炎病毒样颗粒的质粒 (下文称作 pVEEV-hPD-1), 其中修饰的 PD-1 衍生肽插入委内瑞拉马脑炎结构蛋白的 E2 内。

[0114] 使用 PEI (GE Healthcare) 或 GeneX (ATCC) 用质粒转染 293F 细胞 (Lifetechnology)。转染 4 天后, 收集条件培养基, 3000 rpm 离心 15 分钟以将其与细胞分离。使用 0.45 μ m 滤器过滤上清液以获得病毒样颗粒。使用 TFF 柱浓缩该病毒样颗粒并使用 QXL 柱 (GE Healthcare) 纯化以获得纯的病毒样颗粒。使用离心柱 (截留分子量: 100 kDa) 进一步浓缩纯化的病毒样颗粒以制备用于免疫的病毒样颗粒 (CHIKV-hPD-1 和 VEEV-hPD-1)。

[0115] 第 0 和 8 周通过与 Adjuvant Ribi 一起肌肉注射用 VEEV-hPD-1 免疫小鼠 (4 周龄雄性) 2 次 (每只小鼠 20 μ g VLP), 并在第 4 周时通过与 Adjuvant Ribi (Sigma Adjuvant system, Sigma-Aldrich) 一起肌肉注射用 CHIKV-hPD-1 免疫一次 (每只小鼠 20 μ g VLP)。首次免疫后第 10 周取血。

[0116] 用每孔 50 ng 重组 PD-1 N 端片段 (1-167 aa) 或 PD1-Fc 缀合物 /100 μ l PBS 缓冲液包被 96 孔 ELISA 板。2 小时孵育后用包含 0.05% 吐温 -20 的 TBS 缓冲液洗涤板三次并用包含 0.05% 吐温 -20 和 5% 奶粉的 TBS 缓冲液封闭。在封闭缓冲液中加入来自小鼠的热灭活的稀释血清并室温孵育 1 h。洗涤三次后, 加入 1:4000 稀释的过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG 并室温孵育 1 h。洗涤三次后, 加入过氧化物酶底物用于显色, 孵育 10 min, 加入 2 N H₂SO₄ 终止显色。使用 Gen5 (BioTek) 和 GraphPad Prism6 (GraphPad software Inc) 分析数据。

[0117] 免疫原性在图 1 和 2 中显示。如从图 1 和 2 中所见的, 用 CHIKV-PD-1 和 VEEV-PD-1 免疫的小鼠血清中存在抗 PD-1 抗体的诱导。

[0118] 实施例 5: 包含含有病毒结构蛋白和 PD-1 抗原片段的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 样颗粒或委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 样颗粒的药物组合物的制备

根据实施例 4 制备包含病毒结构蛋白和 PD-1 抗原片段的基孔肯雅病毒 (CHIKV) 样颗粒和包含病毒结构蛋白和 PD-1 抗原片段的委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 样颗粒。

[0119] 为了制备为疫苗组合物的药物组合物, 将 80 μ g 的各制备的颗粒与 1 ml 无内毒素 pH 7.2 的蔗糖磷酸盐溶液 (Teknova, SP buffer) 混合。

[0001]

<110> VLP 治疗有限责任公司

<120> 包含 PD-1 抗原或 PD-1 配体抗原的病毒样颗粒

<130> 672050

<150> US 61/845712

<151> 2013-07-12

<160> 64

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 1248

<212> PRT

<213> 基孔肯雅病毒

<400> 1

Met Glu Phe Ile Pro Thr Gln Thr Phe Tyr Asn Arg Arg Tyr Gln Pro
1 5 10 15

Arg Pro Trp Thr Pro Arg Pro Thr Ile Gln Val Ile Arg Pro Arg Pro
20 25 30

Arg Pro Gln Arg Gln Ala Gly Gln Leu Ala Gln Leu Ile Ser Ala Val

[0002]

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

[0003]

Lys Phe Thr His Glu Lys Pro Glu Gly Tyr Tyr Asn Trp His His Gly
180 185 190

Ala Val Gln Tyr Ser Gly Gly Arg Phe Thr Ile Pro Thr Gly Ala Gly
195 200 205

Lys Pro Gly Asp Ser Gly Arg Pro Ile Phe Asp Asn Lys Gly Arg Val
210 215 220

Val Ala Ile Val Leu Gly Gly Ala Asn Glu Gly Ala Arg Thr Ala Leu
225 230 235 240

Ser Val Val Thr Trp Asn Lys Asp Ile Val Thr Lys Ile Thr Pro Glu
245 250 255

Gly Ala Glu Glu Trp Ser Leu Ala Ile Pro Val Met Cys Leu Leu Ala
260 265 270

Asn Thr Thr Phe Pro Cys Ser Gln Pro Pro Cys Thr Pro Cys Cys Tyr
275 280 285

Glu Lys Glu Pro Glu Glu Thr Leu Arg Met Leu Glu Asp Asn Val Met
290 295 300

[0004]

Arg Pro Gly Tyr Tyr Gln Leu Leu Gln Ala Ser Leu Thr Cys Ser Pro
305 310 315 320

His Arg Gln Arg Arg Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala
325 330 335

Thr Arg Pro Tyr Leu Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser
340 345 350

Cys His Ser Pro Val Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp
355 360 365

Gly Thr Leu Lys Ile Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp
370 375 380

Asp Ser His Asp Trp Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Asn His Met Pro
385 390 395 400

Ala Asp Ala Glu Arg Ala Gly Leu Phe Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys
405 410 415

Thr Ile Thr Gly Thr Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys
420 425 430

[0005]

Gly Glu Thr Leu Thr Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His
435 440 445

Ser Cys Thr His Pro Phe His His Asp Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu
450 455 460

Lys Phe His Ser Arg Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr
465 470 475 480

Tyr Val Gln Ser Thr Ala Ala Thr Thr Glu Glu Ile Glu Val His Met
485 490 495

Pro Pro Asp Thr Pro Asp Arg Thr Leu Met Ser Gln Gln Ser Gly Asn
500 505 510

Val Lys Ile Thr Val Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys
515 520 525

Gly Gly Ser Asn Glu Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn
530 535 540

Cys Lys Val Asp Gln Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp
545 550 555 560

Gln Tyr Asn Ser Pro Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg

[0006]

	565	570	575
Lys Gly Lys Ile His Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg			
580	585	590	
Val Pro Lys Ala Arg Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val			
595	600	605	
Ile Met Leu Leu Tyr Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn			
610	615	620	
Met Gly Glu Glu Pro Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Met His Lys Lys			
625	630	635	640
Glu Val Val Leu Thr Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly			
645	650	655	
Asn Asn Glu Pro Tyr Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Thr Asn Gly Thr			
660	665	670	
Ala His Gly His Pro His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr			
675	680	685	
Pro Thr Met Thr Val Val Val Val Ser Val Ala Thr Phe Ile Leu Leu			
690	695	700	

[0007]

Ser Met Val Gly Met Ala Ala Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg			
705	710	715	720
Cys Ile Thr Pro Tyr Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu			
	725	730	735
Leu Ser Leu Ile Cys Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala Ala Thr Tyr Gln			
	740	745	750
Glu Ala Ala Ile Tyr Leu Trp Asn Glu Gln Gln Pro Leu Phe Trp Leu			
	755	760	765
Gln Ala Leu Ile Pro Leu Ala Ala Leu Ile Val Leu Cys Asn Cys Leu			
	770	775	780
Arg Leu Leu Pro Cys Cys Cys Lys Thr Leu Ala Phe Leu Ala Val Met			
	785	790	795
800			
Ser Val Gly Ala His Thr Val Ser Ala Tyr Glu His Val Thr Val Ile			
	805	810	815
Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly			
	820	825	830
[0008]			

Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu Leu Leu Ser Val Thr Leu Glu
835 840 845

Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile
850 855 860

Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys
865 870 875 880

Asn Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe
885 890 895

Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu
900 905 910

Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala
915 920 925

Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val
930 935 940

Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val Thr Ala Tyr Ala Asn Gly Asp
945 950 955 960

[0009]

His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys Phe Ile Val Gly Pro Met Ser
965 970 975

Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp
980 985 990

Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe Gly Ala Gly Arg Pro Gly Gln
995 1000 1005

Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Pro Glu Ser Lys Asp Val Tyr
1010 1015 1020

Ala Asn Thr Gln Leu Val Leu Gln Arg Pro Ala Val Gly Thr Val
1025 1030 1035

His Val Pro Tyr Ser Gln Ala Pro Ser Gly Phe Lys Tyr Trp Leu
1040 1045 1050

Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro Phe Gly Cys
1055 1060 1065

Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Val Asn Cys Ala Val Gly
1070 1075 1080

Asn Met Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Glu Ala Ala Phe Thr Arg

[0010]

1085	1090	1095
Val Val Asp Ala Pro Ser Leu Thr Asp Met Ser Cys Glu Val Pro		
1100	1105	1110
Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys		
1115	1120	1125
Tyr Ala Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr		
1130	1135	1140
Asn Ala Val Thr Ile Arg Glu Ala Glu Ile Glu Val Glu Gly Asn		
1145	1150	1155
Ser Gln Leu Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu		
1160	1165	1170
Phe Arg Val Gln Val Cys Ser Thr Gln Val His Cys Ala Ala Glu		
1175	1180	1185
Cys His Pro Pro Lys Asp His Ile Val Asn Tyr Pro Ala Ser His		
1190	1195	1200
Thr Thr Leu Gly Val Gln Asp Ile Ser Ala Thr Ala Met Ser Trp		
1205	1210	1215

[0011]

Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly Val Gly Leu Val Val Ala Val Ala
1220 1225 1230

Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu Cys Val Ser Phe Ser Arg His
1235 1240 1245

<210> 2

<211> 1248

<212> PRT

<213> 基孔肯雅病毒

<400> 2

Met Glu Phe Ile Pro Thr Gln Thr Phe Tyr Asn Arg Arg Tyr Gln Pro
1 5 10 15

Arg Pro Trp Ala Pro Arg Pro Thr Ile Gln Val Ile Arg Pro Arg Pro
20 25 30

Arg Pro Gln Arg Gln Ala Gly Gln Leu Ala Gln Leu Ile Ser Ala Val
35 40 45

Asn Lys Leu Thr Met Arg Ala Val Pro Gln Gln Lys Pro Arg Arg Asn
50 55 60

[0012]

Arg Lys Asn Lys Lys Gln Arg Gln Lys Lys Gln Ala Pro Gln Asn Asp
65 70 75 80

Pro Lys Gln Lys Lys Gln Pro Pro Gln Lys Lys Pro Ala Gln Lys Lys
85 90 95

Lys Lys Pro Gly Arg Arg Glu Arg Met Cys Met Lys Ile Glu Asn Asp
100 105 110

Cys Ile Phe Glu Val Lys His Glu Gly Lys Val Met Gly Tyr Ala Cys
115 120 125

Leu Val Gly Asp Lys Val Met Lys Pro Ala His Val Lys Gly Thr Ile
130 135 140

Asp Asn Ala Asp Leu Ala Lys Leu Ala Phe Lys Arg Ser Ser Lys Tyr
145 150 155 160

Asp Leu Glu Cys Ala Gln Ile Pro Val His Met Lys Ser Asp Ala Ser
165 170 175

Lys Phe Thr His Glu Lys Pro Glu Gly Tyr Tyr Asn Trp His His Gly
180 185 190

Ala Val Gln Tyr Ser Gly Gly Arg Phe Thr Ile Pro Thr Gly Ala Gly

[0013]

195	200	205
Lys Pro Gly Asp Ser Gly Arg Pro Ile Phe Asp Asn Lys Gly Arg Val		
210	215	220
Val Ala Ile Val Leu Gly Gly Ala Asn Glu Gly Ala Arg Thr Ala Leu		
225	230	235 240
Ser Val Val Thr Trp Asn Lys Asp Ile Val Thr Lys Ile Thr Pro Glu		
245	250	255
Gly Ala Glu Glu Trp Ser Leu Ala Leu Pro Val Leu Cys Leu Leu Ala		
260	265	270
Asn Thr Thr Phe Pro Cys Ser Gln Pro Pro Cys Thr Pro Cys Cys Tyr		
275	280	285
Glu Lys Glu Pro Glu Ser Thr Leu Arg Met Leu Glu Asp Asn Val Met		
290	295	300
Arg Pro Gly Tyr Tyr Gln Leu Leu Lys Ala Ser Leu Thr Cys Ser Pro		
305	310	315 320
His Arg Gln Arg Arg Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala		
325	330	335

[0014]

Thr Arg Pro Tyr Leu Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser
340 345 350

Cys His Ser Pro Ile Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp
355 360 365

Gly Thr Leu Lys Ile Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp
370 375 380

Asp Ser His Asp Trp Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser His Thr Pro
385 390 395 400

Ala Asp Ala Glu Arg Ala Gly Leu Leu Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys
405 410 415

Thr Ile Thr Gly Thr Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys
420 425 430

Gly Glu Thr Leu Thr Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His
435 440 445

Thr Cys Thr His Pro Phe His His Glu Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu
450 455 460

[0015]

Arg Phe His Ser Arg Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr
465 470 475 480

Tyr Val Gln Ser Thr Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met
485 490 495

Pro Pro Asp Thr Pro Asp Arg Thr Leu Met Thr Gln Gln Ser Gly Asn
500 505 510

Val Lys Ile Thr Val Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys
515 520 525

Gly Gly Ser Asn Glu Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn
530 535 540

Cys Lys Ile Asp Gln Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Asn Trp
545 550 555 560

Gln Tyr Asn Ser Pro Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg
565 570 575

Lys Gly Lys Ile His Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg
580 585 590

[0016]

Val Pro Lys Ala Arg Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val
595 600 605

Thr Met Leu Leu Tyr Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn
610 615 620

Met Gly Gln Glu Pro Asn Tyr His Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys
625 630 635 640

Glu Val Thr Leu Thr Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly
645 650 655

Asn Asn Glu Pro Tyr Lys Tyr Trp Pro Gln Met Ser Thr Asn Gly Thr
660 665 670

Ala His Gly His Pro His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr
675 680 685

Pro Thr Met Thr Val Val Ile Val Ser Val Ala Ser Phe Val Leu Leu
690 695 700

Ser Met Val Gly Thr Ala Val Gly Met Cys Val Cys Ala Arg Arg Arg
705 710 715 720

Cys Ile Thr Pro Tyr Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu

[0017]

	725	730	735
Leu Ser Leu Leu Cys Cys Val Arg Thr Thr Lys Ala Ala Thr Tyr Tyr			
740	745	750	
Glu Ala Ala Ala Tyr Leu Trp Asn Glu Gln Gln Pro Leu Phe Trp Leu			
755	760	765	
Gln Ala Leu Ile Pro Leu Ala Ala Leu Ile Val Leu Cys Asn Cys Leu			
770	775	780	
Lys Leu Leu Pro Cys Cys Cys Lys Thr Leu Ala Phe Leu Ala Val Met			
785	790	795	800
Ser Ile Gly Ala His Thr Val Ser Ala Tyr Glu His Val Thr Val Ile			
805	810	815	
Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly			
820	825	830	
Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu Leu Gln Ser Val Thr Leu Glu			
835	840	845	
Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile			
850	855	860	

[0018]

Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys
865 870 875 880

Ser Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe
885 890 895

Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu
900 905 910

Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala
915 920 925

Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val
930 935 940

Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val Ala Ala Tyr Ala Asn Gly Asp
945 950 955 960

His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys Phe Val Val Gly Pro Met Ser
965 970 975

Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp
980 985 990

[0019]

Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe Gly Ala Gly Arg Pro Gly Gln
995 1000 1005

Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Pro Glu Ser Lys Asp Val Tyr
1010 1015 1020

Ala Asn Thr Gln Leu Val Leu Gln Arg Pro Ala Ala Gly Thr Val
1025 1030 1035

His Val Pro Tyr Ser Gln Ala Pro Ser Gly Phe Lys Tyr Trp Leu
1040 1045 1050

Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro Phe Gly Cys
1055 1060 1065

Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Val Asn Cys Ala Val Gly
1070 1075 1080

Asn Ile Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Asp Ala Ala Phe Thr Arg
1085 1090 1095

Val Val Asp Ala Pro Ser Val Thr Asp Met Ser Cys Glu Val Pro
1100 1105 1110

[0020]

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys		
1115	1120	1125
Tyr Thr Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr		
1130	1135	1140
Asn Ala Val Thr Ile Arg Glu Ala Asp Val Glu Val Glu Gly Asn		
1145	1150	1155
Ser Gln Leu Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu		
1160	1165	1170
Phe Arg Val Gln Val Cys Ser Thr Gln Val His Cys Ala Ala Ala		
1175	1180	1185
Cys His Pro Pro Lys Asp His Ile Val Asn Tyr Pro Ala Ser His		
1190	1195	1200
Thr Thr Leu Gly Val Gln Asp Ile Ser Thr Thr Ala Met Ser Trp		
1205	1210	1215
Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly Val Gly Leu Ile Val Ala Val Ala		
1220	1225	1230
Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu Cys Val Ser Phe Ser Arg His		

[0021]

1235

1240

1245

<210> 3

<211> 1255

<212> PRT

<213> 委内瑞拉马脑炎病毒

<400> 3

Met Phe Pro Phe Gln Pro Met Tyr Pro Met Gln Pro Met Pro Tyr Arg

1

5

10

15

Asn Pro Phe Ala Ala Pro Arg Arg Pro Trp Phe Pro Arg Thr Asp Pro

20

25

30

Phe Leu Ala Met Gln Val Gln Glu Leu Thr Arg Ser Met Ala Asn Leu

35

40

45

Thr Phe Lys Gln Arg Arg Asp Ala Pro Pro Glu Gly Pro Ser Ala Ala

50

55

60

Lys Pro Lys Lys Glu Ala Ser Gln Lys Gln Lys Gly Gly Gly Gln Gly

65

70

75

80

Lys Lys Lys Lys Asn Gln Gly Lys Lys Lys Ala Lys Thr Gly Pro Pro

85

90

95

[0022]

Asn Pro Lys Ala Gln Asn Gly Asn Lys Lys Lys Thr Asn Lys Lys Pro
100 105 110

Gly Lys Arg Gln Arg Met Val Met Lys Leu Glu Ser Asp Lys Thr Phe
115 120 125

Pro Ile Met Leu Glu Gly Lys Ile Asn Gly Tyr Ala Cys Val Val Gly
130 135 140

Gly Lys Leu Phe Arg Pro Met His Val Glu Gly Lys Ile Asp Asn Asp
145 150 155 160

Val Leu Ala Ala Leu Lys Thr Lys Lys Ala Ser Lys Tyr Asp Leu Glu
165 170 175

Tyr Ala Asp Val Pro Gln Asn Met Arg Ala Asp Thr Phe Lys Tyr Thr
180 185 190

His Glu Lys Pro Gln Gly Tyr Tyr Ser Trp His His Gly Ala Val Gln
195 200 205

Tyr Glu Asn Gly Arg Phe Thr Val Pro Lys Gly Val Gly Ala Lys Gly
210 215 220

[0023]

Asp Ser Gly Arg Pro Ile Leu Asp Asn Gln Gly Arg Val Val Ala Ile
225 230 235 240

Val Leu Gly Gly Val Asn Glu Gly Ser Arg Thr Ala Leu Ser Val Val
245 250 255

Met Trp Asn Glu Lys Gly Val Thr Val Lys Tyr Thr Pro Glu Asn Cys
260 265 270

Glu Gln Trp Ser Leu Val Thr Thr Met Cys Leu Leu Ala Asn Val Thr
275 280 285

Phe Pro Cys Ala Gln Pro Pro Ile Cys Tyr Asp Arg Lys Pro Ala Glu
290 295 300

Thr Leu Ala Met Leu Ser Val Asn Val Asp Asn Pro Gly Tyr Asp Glu
305 310 315 320

Leu Leu Glu Ala Ala Val Lys Cys Pro Gly Arg Lys Arg Arg Ser Thr
325 330 335

Glu Glu Leu Phe Asn Glu Tyr Lys Leu Thr Arg Pro Tyr Met Ala Arg
340 345 350

Cys Ile Arg Cys Ala Val Gly Ser Cys His Ser Pro Ile Ala Ile Glu

[0024]

355	360	365
Ala Val Lys Ser Asp Gly His Asp Gly Tyr Val Arg Leu Gln Thr Ser		
370	375	380
Ser Gln Tyr Gly Leu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Lys Gly Arg Thr Met		
385	390	395
		400
Arg Tyr Asp Met His Gly Thr Ile Lys Glu Ile Pro Leu His Gln Val		
405	410	415
Ser Leu Tyr Thr Ser Arg Pro Cys His Ile Val Asp Gly His Gly Tyr		
420	425	430
Phe Leu Leu Ala Arg Cys Pro Ala Gly Asp Ser Ile Thr Met Glu Phe		
435	440	445
Lys Lys Asp Ser Val Arg His Ser Cys Ser Val Pro Tyr Glu Val Lys		
450	455	460
Phe Asn Pro Val Gly Arg Glu Leu Tyr Thr His Pro Pro Glu His Gly		
465	470	475
		480
Val Glu Gln Ala Cys Gln Val Tyr Ala His Asp Ala Gln Asn Arg Gly		
485	490	495

[0025]

Ala Tyr Val Glu Met His Leu Pro Gly Ser Glu Val Asp Ser Ser Leu
500 505 510

Val Ser Leu Ser Gly Ser Ser Val Thr Val Thr Pro Pro Asp Gly Thr
515 520 525

Ser Ala Leu Val Glu Cys Glu Cys Gly Gly Thr Lys Ile Ser Glu Thr
530 535 540

Ile Asn Lys Thr Lys Gln Phe Ser Gln Cys Thr Lys Lys Glu Gln Cys
545 550 555 560

Arg Ala Tyr Arg Leu Gln Asn Asp Lys Trp Val Tyr Asn Ser Asp Lys
565 570 575

Leu Pro Lys Ala Ala Gly Ala Thr Leu Lys Gly Lys Leu His Val Pro
580 585 590

Phe Leu Leu Ala Asp Gly Lys Cys Thr Val Pro Leu Ala Pro Glu Pro
595 600 605

Met Ile Thr Phe Gly Phe Arg Ser Val Ser Leu Lys Leu His Pro Lys
610 615 620

[0026]

Asn Pro Thr Tyr Leu Ile Thr Arg Gln Leu Ala Asp Glu Pro His Tyr
625 630 635 640

Thr His Glu Leu Ile Ser Glu Pro Ala Val Arg Asn Phe Thr Val Thr
645 650 655

Glu Lys Gly Trp Glu Phe Val Trp Gly Asn His Pro Pro Lys Arg Phe
660 665 670

Trp Ala Gln Glu Thr Ala Pro Gly Asn Pro His Gly Leu Pro His Glu
675 680 685

Val Ile Thr His Tyr Tyr His Arg Tyr Pro Met Ser Thr Ile Leu Gly
690 695 700

Leu Ser Ile Cys Ala Ala Ile Ala Thr Val Ser Val Ala Ala Ser Thr
705 710 715 720

Trp Leu Phe Cys Arg Ser Arg Val Ala Cys Leu Thr Pro Tyr Arg Leu
725 730 735

Thr Pro Asn Ala Arg Ile Pro Phe Cys Leu Ala Val Leu Cys Cys Ala
740 745 750

[0027]

Arg Thr Ala Arg Ala Glu Thr Thr Trp Glu Ser Leu Asp His Leu Trp
755 760 765

Asn Asn Asn Gln Gln Met Phe Trp Ile Gln Leu Leu Ile Pro Leu Ala
770 775 780

Ala Leu Ile Val Val Thr Arg Leu Leu Arg Cys Val Cys Cys Val Val
785 790 795 800

Pro Phe Leu Val Met Ala Gly Ala Ala Gly Ala Gly Ala Tyr Glu His
805 810 815

Ala Thr Thr Met Pro Ser Gln Ala Gly Ile Ser Tyr Asn Thr Ile Val
820 825 830

Asn Arg Ala Gly Tyr Ala Pro Leu Pro Ile Ser Ile Thr Pro Thr Lys
835 840 845

Ile Lys Leu Ile Pro Thr Val Asn Leu Glu Tyr Val Thr Cys His Tyr
850 855 860

Lys Thr Gly Met Asp Ser Pro Ala Ile Lys Cys Cys Gly Ser Gln Glu
865 870 875 880

Cys Thr Pro Thr Tyr Arg Pro Asp Glu Gln Cys Lys Val Phe Thr Gly

[0028]

	885	890	895
Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys Asp Thr Glu			
900	905	910	
Asn Thr Gln Val Ser Lys Ala Tyr Val Met Lys Ser Asp Asp Cys Leu			
915	920	925	
Ala Asp His Ala Glu Ala Tyr Lys Ala His Thr Ala Ser Val Gln Ala			
930	935	940	
Phe Leu Asn Ile Thr Val Gly Glu His Ser Ile Val Thr Thr Val Tyr			
945	950	955	960
Val Asn Gly Glu Thr Pro Val Asn Phe Asn Gly Val Lys Ile Thr Ala			
965	970	975	
Gly Pro Leu Ser Thr Ala Trp Thr Pro Phe Asp Arg Lys Ile Val Gln			
980	985	990	
Tyr Ala Gly Glu Ile Tyr Asn Tyr Asp Phe Pro Glu Tyr Gly Ala Gly			
995	1000	1005	
Gln Pro Gly Ala Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Val Ser Ser			
1010	1015	1020	

[0029]

Ser Asp Leu Tyr Ala Asn Thr Asn Leu Val Leu Gln Arg Pro Lys
1025 1030 1035

Ala Gly Ala Ile His Val Pro Tyr Thr Gln Ala Pro Ser Gly Phe
1040 1045 1050

Glu Gln Trp Lys Lys Asp Lys Ala Pro Ser Leu Lys Phe Thr Ala
1055 1060 1065

Pro Phe Gly Cys Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Ile Arg Ala Glu Asn
1070 1075 1080

Cys Ala Val Gly Ser Ile Pro Leu Ala Phe Asp Ile Pro Asp Ala
1085 1090 1095

Leu Phe Thr Arg Val Ser Glu Thr Pro Thr Leu Ser Ala Ala Glu
1100 1105 1110

Cys Thr Leu Asn Glu Cys Val Tyr Ser Ser Asp Phe Gly Gly Ile
1115 1120 1125

Ala Thr Val Lys Tyr Ser Ala Ser Lys Ser Gly Lys Cys Ala Val
1130 1135 1140

[0030]

His Val Pro Ser Gly Thr Ala Thr Leu Lys Glu Ala Ala Val Glu
1145 1150 1155

Leu Thr Glu Gln Gly Ser Ala Thr Ile His Phe Ser Thr Ala Asn
1160 1165 1170

Ile His Pro Glu Phe Arg Leu Gln Ile Cys Thr Ser Tyr Val Thr
1175 1180 1185

Cys Lys Gly Asp Cys His Pro Pro Lys Asp His Ile Val Thr His
1190 1195 1200

Pro Gln Tyr His Ala Gln Thr Phe Thr Ala Ala Val Ser Lys Thr
1205 1210 1215

Ala Trp Thr Trp Leu Thr Ser Leu Leu Gly Gly Ser Ala Val Ile
1220 1225 1230

Ile Ile Ile Gly Leu Val Leu Ala Thr Ile Val Ala Met Tyr Val
1235 1240 1245

Leu Thr Asn Gln Lys His Asn
1250 1255

[0031]

<210> 4
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> PD-1 抗原

<400> 4

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
1 5 10 15

Ala Phe

<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> PD-1 抗原

<400> 5

Met Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu
1 5 10 15

Ala Ala Phe Ser

[0032]

20

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> PD-1 抗原

<400> 6

Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu
1 5 10 15

Ala Ala Phe Pro
20

<210> 7
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> PD-1 抗原

<400> 7

Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser
1 5 10

[0033]

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-1 抗原

<400> 8

Cys Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Cys

1 5 10 15

<210> 9

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-1 抗原

<400> 9

Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ala Phe

[0034]

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-1 抗原

<400> 10

Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser

1 5 10

<210> 11

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-1 抗原

<400> 11

Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro

1 5 10 15

Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr

20 25 30

[0035]

<210> 12

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-1 抗原

<400> 12

Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu His Pro

1 5 10 15

Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val Thr

20 25 30

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 13

Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Cys

1 5 10

<210> 14

[0036]

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 14

Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Cys

1 5 10

<210> 15

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 15

Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala

1 5 10 15

Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val Asn

20 25

<210> 16

<211> 26

[0037]

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 16

Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Ala Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala

1

5

10

15

Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val Asn

20

25

<210> 17

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 17

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

1

5

10

15

Ile Gln Phe Val His

20

[0038]

<210> 18

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 18

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

1 5 10 15

Ile Gln Phe Val His Gly Gly

20

<210> 19

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 19

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser

1 5 10 15

[0039]

Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu
20 25

<210> 20

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 20

Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Cys Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala
1 5 10 15

Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu Lys Val Asn
20 25

<210> 21

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 21

Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ala Ala Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala

[0040]

1	5	10	15
---	---	----	----

Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu Lys Val Asn

20 25

<210> 22

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 22

Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val

1 5 10 15

Ile Gln Phe Val Ala

20

<210> 23

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

[0041]

<400> 23

Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val
1 5 10 15

Ile Gln Phe Val Ala Gly Gly
20

<210> 24

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> PD-L1 抗原

<400> 24

Phe Thr Ile Thr Ala Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
1 5 10 15

Asn Val Thr Met Glu Cys Arg Phe Pro Val Glu
20 25

<210> 25

<211> 8410

<212> DNA

<213> 人工

[0042]

<220>

<223> VLP_CHI_532 载体

<400> 25

gaatttcccat tgcatacgtt gtatccatat cataatatgt acatttaiat tggtcatgt	60
ccaacattac cgccatgttg acattgatta ttagctagtt attaatagta atcaattacg	120
gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttcccggtta cataacttac ggtaaatggt	180
cgccttggtt gaccgcccac cgaccccgcc ccattgaagt caataatgac gtatgttccc	240
atagtaacgc caatagggac ttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact	300
gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgccccctat tgacgtcaat	360
gacggtaaat ggcccgcttg gcattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact	420
tggcagtaca tctacgtatt agtcacgctt attaccaagg tgatgggttt ttggcagtac	480
atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac	540
gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac	600
tccgcccctt tgacgcaaat ggccggtagg cgtgtacggt gggagggtct tataagcaga	660
gtctggttag tgaaccgtca gatcgcttgg agacgccatc cagctgtttt tgacctccat	720
agaagacacc gggaccgatc cagcctccgt taacggtgga gggcagtgtg gtctgagcag	780
tactcgttgc tgcgcgcgc gccaccagac ataatagctg acagactaac agactgttcc	840
ttcccatggg tcttttctgc agtcaccgtc gtcgacacgt gtgatcagat atcgcgcccg	900

[0043]

ccaccatgga gttcatcccg acgcaaactt tctataacag aaggtaccaa ccccgaccct	960
gggccccacg cctacaatt caagtaatta gacctagacc acgtccacag aggcaggctg	1020
ggcaactcgc ccagctgac tccgcagtea acaaattgac catgcgcgcg gtacctcaac	1080
agaagcctcg cagaaatcgg aaaaacaaga agcaaaggca gaagaagcag gcgccgcaa	1140
acgacccaaa gcaaaagaag caaccaccac aaaagaagcc ggctcaaaag aagaagaaac	1200
caggccgtag ggagagaatg tgcataaaaa ttgaaaatga ttgcatcttc gaagtcagc	1260
atgaaggcaa agtgaatggc tacgcattgc ttggtggggga taaagtaatg aaaccagcac	1320
atgtgaaggg aactatcgac aatgcagatc ttgctaaact ggcctttaag cggtcgtcta	1380
aatacgatct tgaatgtgca cagataccgg tgcacatgaa gtctgatgcc tcgaagtta	1440
cccacgagaa acccgagggg tactataact ggcatcacgg agcagtcag tattcaggag	1500
gccggttcac tateccgacg ggtgcaggca agccgggaga cagcggcaga ccgatcttcg	1560
acaacaaagg acgggtggcg gccatcgtcc taggaggggc caacgaaggt gcccgcacgg	1620
ccctctccgt ggtgacgtgg aacaaagaca tcgtacaaa aattaccctt gagggagccg	1680
aagagtggag cctcgcctc ccggtcttgt gccgtttgga aaacactaca ttccctgtct	1740
ctcagccgcc ttgcacaccc tgcctctacg aaaaggaacc ggaaagcacc ttgcgcatgc	1800
ttgaggacaa cgtgatgaga cccggatact accagctact aaaagcatcg ctgacttgct	1860

[0044]

ciccccaccg ccaaagacgc agtactaagg acaatttttaa tgtctataaa gccacaagac	1920
catatctagc tcattgtcct gactgcggag aagggcattc gtgccacagc cctatcgcct	1980
tggagcgcct cagaaatgaa gcaacggacg gaacgctgaa aatccaggtc tctttgcaga	2040
tcgggataaa gacagatgac agccacgatt ggaccaagct gcgctatatg gatagccata	2100
cgccagcgga cgcggagcga gccggattgc ttgtaaggac ttcagcaccg tgcacgatca	2160
ccgggaccat gggacacttt attctcgccc gatgcccgaaggagagacg ctgacagtgg	2220
gatttacgga cagcagaaag atcagccaca catgcacaca cccgttccat catgaaccac	2280
ctgtgatagg tagggagagg ttccactctc gaccacaaca tggtaaagag ttaccttgca	2340
gcaggtacgt gcagagcacc gtgccactg ctgaggagat agaggtgcct atgccccag	2400
atactcctga ccgcacgtg atgacgcagc agtctggcaa cgtgaagatc acagttaatg	2460
ggcagacggt gcggtacaag tgcaactgcg gtggctccgg aagtggatcc aacgagggac	2520
tgacaaccac agacaaagtg atcaataact gcaaaattga tcagtgcctat gctgcagtca	2580
ctaatecaaa gaattggcaa tacaactccc cttagtccc gcgcaacgct gaactcgggg	2640
accgtaaagg aaagatccac atcccattcc cattggcaaa cgtgacttgc agagtgcctaa	2700
aagcaagaaa ccctacagta acttacggaa aaaaccaagt caccatgetg ctgtatcctg	2760
accatecgac actcttgtct taccgtaaca tgggacagga accaaattac cagcaggagt	2820
gggtgacaca caagaaggag gttaccttga cegtgcctac tgagggtctg gaggtcactt	2880

[0045]

ggggcaacaa cgaaccatac aagtactggc cgcagatgtc tacgaacggt actgctcatg	2940
gtcaccacaca tgagataatc ttglactatt atgagctgta ccccactatg actgtagtca	3000
ttgtgtcggg ggccctcgtc gtccttctgt cgatggtggg cacagcagtg ggaatgtgtg	3060
tgtgcgcacg gcgcagatgc attacaccat atgaattaac accaggagcc actgttccct	3120
tcctgtcag cctgctatgc tgcgtcagaa cgaccaaggc ggccacatat tacgaggctg	3180
cggcatatct atggaacgaa cagcagcccc tgttctgggt gcaggctcct atccccgtgg	3240
cgccttgat cgtcctgtgc aactgtctga aactcttgc atgtctgtg aagacctgg	3300
cttttttagc cgtaatgagc atcgggtccc aactgtgag cgcgtacgaa cagtaacag	3360
tgatcccgaa caggtggga gtaccgtata agactcttgt caacagaccg ggttacagcc	3420
ccatggtggt ggagatggag ctacaatcag tcaccttga accaacaactg tcacttgact	3480
acatcacgtg cgaglacaaa actgtcatcc cctccccgta cgtgaagtgc tgggtacag	3540
cagagtcaa ggacaagagc ctaccagact acagctcaa ggtctttact ggagtctacc	3600
caittatgtg gggcggcgcc tactgtttt gcgacgccga aaatacgcaa ttgagcgagg	3660
cacatgtaga gaaatctgaa tcttgcaaaa cagagttgc atcgccctac agagcccaca	3720
ccgcatcggc gtccggcgaag ctccgcgtcc ttaccaagg aaacaacatt accgtagctg	3780
cctacgctaa cggtagcat gccgtcacag taaaggacgc caagttgtc gtgggcccna	3840

[0046]

tgccctccgc ctggacacct ttigacaaca aaatcgtggg gtacaaaggc gacgtctaca	3900
acatggacta cccacctttt ggcgcaggaa gaccaggaca atttgggtgac attcaaagtc	3960
gtacaccgga aagtaaagac gttaatgcca acactcagtt ggtactacag aggccagcag	4020
caggcacggg acatgtacca tactctcagg caccatctgg ctccaagtat tggctgaagg	4080
aacgaggagc atcgtacag cacacggcac cgttcggttg ccagattgcg acaaaccggg	4140
taagagctgt aaattgcgct gtggggaaca taccaatttc catcgacata ccgcatgcgg	4200
cttttactag gggtgtcgat gcacctctg taacggacat gtcattcgaa gtaccagcct	4260
gcactcactc ctccgacttt gggggcgctg ccatcatcaa atacacagct agcaagaaag	4320
gtaaaigtgc agtacattcg atgaccaacg ccgttaccat tegagaagcc gacgtagaag	4380
tagaggggaa ctcccagctg caaatatcct tctcaacagc cctggcaagc gccgagtttc	4440
gcgtgcaagt gtgtccaca caagtacact gcgcagccgc atgccaccct ccaaaggacc	4500
acatagtcaa ttaccagca tcacacacca ccttggggg ccaggatata tccacaacgg	4560
caatgtcttg ggtgcagaag attacgggag gagtaggatt aattgittgt gttgtgcct	4620
taattttaat tgtggtgcta tgcgtgtcgt ttagcaggca ctaaggatct agatctgctg	4680
tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgacctgg	4740
aagggtgccac tcccacgtc ctctcctaataaaatgagga aattgcatcg cattgtctga	4800
gtagggtgtca ttctattctg ggggggtggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg	4860

[0047]

aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggtctctat gggtagccag gtgtgaaga	4920
attgacccgg ttcttcctgg gccagaaaga agcaggcaca tccccctctc tgtgacacac	4980
cctgtccacg cccctgggtc ttagttccag ccccaactcat aggacacica tagctcagga	5040
gggtctccgc ttcaatccca cccgtataag tacttggagc ggtctctccc tccctcatca	5100
gccacccaaa ccaaacctag cctccaagag tgggaagaaa ttaaagcaag ataggtatt	5160
aagtgcagag ggagagaaaa tgctccaac atgtgaggaa gtaatgagag aaatcataga	5220
attttaagge catgatataa gcccatcatg gcctaagctt gaaaggagat aggatccaag	5280
cttggcgtaa tcatggcat agctgtttcc tgtgtgaaat tgttatccgc tcacaattcc	5340
acacaacata cgagccggaa gcataaagtg taaagcctgg ggtgcctaata gattgagcta	5400
actcacatta attgcgttgc gctcactgcc cgttttccag tcgggaaacc tgcgtgcca	5460
gctgcattaa tgaatcgccc aacgcgcggg gagaggcgtt ttgcgtattg ggcgtcttc	5520
cgtttctctg ctcactgact cgtgcgctc ggtcgttcgg ctgcggcgag cggatcagc	5580
tcactcaaaag gcgtaatac gtttatccac agaatacagg gataacgcag gaaagaacat	5640
gtgagcaaaa gccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt	5700
ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgtcaagtc agaggtggcg	5760
aaaccgcaca ggaclataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc	5820

[0048]

tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc ttctccctt cgggaagcgt	5880
ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa	5940
gctgggctgt gtgcacgaac ccccggttca gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaaacta	6000
tcgtcttgag tccaaccggg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccactggtaa	6060
caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa	6120
ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt	6180
cggaaaaaga gttggtagct ctgatccgg caaacaaacc accgctggta gcggtggttt	6240
ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat	6300
cttttctacg gggctctgacg ctcagtggaa cgaaaactca cgtaaggga ttttggtcat	6360
gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc	6420
aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttae caatgcctaa tcagtggagc	6480
acctatctca gcgctctgtc tatttcgttc atccatagtt gcctgaetcc ccgtcgtgta	6540
gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt gctgcaatga taccgcgaga	6600
accacgctca ccggtccag atttatcagc aataaaccag ccagccggaa gggccgagcg	6660
cagaagtggg cctgcaactt tatccgcctc catecagctt attaatgttt gccgggaagc	6720
tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacgtt gttgccattg ctacaggcat	6780
cgtgggtgca cgtctgtcgt ttggfatggc ttcatcagc tccggttccc aacgateaag	6840

[0049]

gcgagttaca tgatccccca tgttgtgcaa aaaagcgggt agctccttcg gtcctccgat	6900
cgttgtcaga agtaagttgg ccgcagtgtt atcactcatg gttatggcag cactgcataa	6960
ttctcttact gtcatgccat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt actcaaccaa	7020
gtcattctga gaatagtgtg tgcggcgacc gagttgetct tgcceggcgt caatacggga	7080
taataccgeg ccacatagca gaactttaaa agtgcctcatc attgaaaac gttcttcggg	7140
gcgaaaacte tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tcgatgtaac ccactcgtgc	7200
acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagegtt tctgggtgag caaaaacagg	7260
aaggcaaaat gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa tactcatact	7320
cttccctttt caatattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga gcggatacat	7380
atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc cccgaaaagt	7440
gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa ataggcgtat	7500
cacgaggccc ttctgggtcg cgcgtttcgg tgatgacggt gaaaacctct gacacatgca	7560
gtccccgttg acggtcacag ctgtctgtga agcggatgcc gggagcagac aagccccgta	7620
gggcgcgtea gcgggtgttg gcgggtgtcg gggetggctt aactatgegg catcagagea	7680
gattgtactg agagtgcacc ataaaattgt aaacgttaat attttgttaa aattcgcgtt	7740
aaatttttgt taaatcagct ctttttttaa ccaataggcc gaaatcggca aaatccctta	7800

[0050]

taaatacaaaa gaatagcccg agatagggtt gagtgttggt ccagtttgga acaagagtc	7860
actattaaag aacgtggact ccaacgtcaa agggcgaaaa accgtctatc agggcgatgg	7920
cccactacgt gaaccatcac ccaaatcaag ttttttgggg tcgagggtgc gtaaagcact	7980
aaatcggaac cctaaaggga gccccgatt tagagcttga cggggaaagc cggcgaaagt	8040
ggcgagaaag gaagggaaga aagcgaaagg agcgggcgtc agggcgctgg caagtgtagc	8100
ggtcacgtg cgcgtaacca ccacaccgc cgcgttaat gcgccgtac agggcgctga	8160
ctatggttgc tttagctat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac	8220
cgcacaggc gccattgcc attcaggctg cgcaactgtt ggggaaggcg atcgggtcgg	8280
gectcttgc tattacgcca gtggcgaaa gggggaatgt ctgcaaggcg attaagttgg	8340
gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtga attccatggt	8400
ctcaactttc	8410

<210> 26

<211> 8431

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP_VEEV VLP 518 载体

<400> 26

gaattcccat tgcatacgtt gtatccatat cataataigt acatttatat tggctcatgt	60
---	----

[0051]

ccaacattac cgccatgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg	120
gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaattgc	180
ccgcctggct gaaccgccc aaacccccc ccattgaagt caataatgac gtatgttccc	240
atagtaacgc caataggagc tticcattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact	300
gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgcacctat tgacgtcaat	360
gacggtaaatt ggcccgccctg gcattatgcc cagtacaiga ccttatggga ctttcctact	420
tggcagtaca tctacgtatt agtcacgtct attaccaatg tgatgcgggt ttggcagtac	480
atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagctccca ccccatggac	540
gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac	600
tccgccccat tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggtcta tataagcaga	660
gctcgttttag tgaaccgtca gatgcctgg agacgccatc cagcgtgttt tgacctccat	720
agaagacacc gggaccgatc cagcctccgt taacggtgga gggcagtgtg gtctgagcag	780
tactegtgtg tgcgcgcgc gccaccagac ataatagctg acagactaac agactgttcc	840
tttccatggg tcttttctgc agtcacgtc gtcgacagt gtgatcagat atcgcggccg	900
ccaccatgtt cccgttccag ccaatgtatc cgatgcagcc aatgccctat cgcaaccgt	960
tcgcggcccc gcgcaggccc tggttcccca gaaccgaccc tttctggcg atgcaggtgc	1020

[0052]

aggaattaac cgcctcgatg gctaacctga cgttcaagca acgccgggac gcgccacctg	1080
agggggccatc cgctaataaa ccgaagaagg aggcctcgca aaaacagaaa gggggaggcc	1140
aagggaagaa gaagaagaac caagggaaga agaaggctaa gacagggccg cctaatecga	1200
aggcacagaa tggaaacaag aagaagacca acaagaaacc aggcaagaga cagcgcatgg	1260
tcatgaaatt ggaatctgac aagacgttcc caatcatgtt ggaagggaag ataaacggct	1320
acgcttgtgt ggtcggaggg aagtattcca ggccgatgca tgtggaaggc aagatcgaca	1380
acgacgttct ggccgcgtt aagacgaaga aagcatccaa atacgatctt gagtatgcag	1440
atgtgccaca gaacatgcgg gccgatacat tcaaatacac ccatgagaaa cccaaggct	1500
attacagctg gcacatgga gcagtccaat atgaaaatgg gcgtttcacg gtgccgaaag	1560
gagttggggc caagggagac agcggacgac ccattctgga taaccaggga cgggtgtctg	1620
ctattgtgct gggagggtgtg aatgaaggat ctaggacagc ctttcagtc gtcattgtga	1680
acgagaaggg agttaccgtg aagtatactc cagagaactg cgagcaatgg tcactagtga	1740
ccaccatgtg tctgtcgcgc aatgtgacgt tcccatgtgc teaaccacca atttgctacg	1800
acagaaaacc agcagagaact ttggccatgc tcagcgttaa cgttgacaac ccgggctacg	1860
atgagctgct ggaagcagct gttaagtgcc ccggaaggaa aaggagatec accgaggagc	1920
tgtttaatga gtataagcta acgcgccctt acatggccag atgcatcaga tgtgcagttg	1980
ggagctgcc a tagtccaata gcaatcgagg cagtaaagag cgacgggcac gacggttatg	2040

[0053]

ttagacttca gacttctctg cagtatggcc tggattccctc cggcaactta aagggcagga	2100
ccatgcggta tgacatgcac gggaccatta aagagatacc actacatcaa gtgtcactct	2160
atacatctcg ccegtgtcac attgtggatg ggcacggita ttctctgctt gccaggtgcc	2220
cggcagggga ctccatcacc atggaattta agaaagattc cgtcagacac tcttgctcgg	2280
tgccgtatga agtgaaattt aatcctgtag gcagagaact ctatactcat cccccagaac	2340
acggagtaga gcaagegtgc caagtctacg cacatgatgc acagaacaga ggagcttatg	2400
tcgagatgca cctcccgggc tcagaagtgg acagcagitt ggtttccttg agcggctccg	2460
gaggatccag ttcagtcacc gtgacacctc ctgatgggac tagcgccctg gtggaatgcg	2520
agtgtggcgg cacaagatc tccgagacca tcaacaagac aaaacagttc agccagtgc	2580
caaagaagga gcagtgcaga gcatatcggc tgcagaacga taagtgggtg tataattctg	2640
acaaactgcc caaagcagcg ggagccacct taaaaggaaa actgcatgtc ccattcttgc	2700
tggcagacgg caaatgcacc gtgcctctag caccagaacc tatgataacc ttcggtttca	2760
gatcagtgtc actgaaaactg caccctaaga atcccacata tctaateacc cgccaacttg	2820
ctgatgagcc tcaactaacg cacgagctca tatetgaacc agctgttagg aattttaccg	2880
tcaccgaaaa aggtgtgggag ttigtatggg gaaaccaccc gccgaaaagg ttttgggcac	2940
aggaaacagc acccgaaaat ccacatgggc taccgcacga ggtgataact cattattacc	3000

[0054]

acagataccc tatgtccacc atcctgggtt tgtcaatttg tgccgccatt gcaaccgttt	3060
ccgttgcage gtctacctgg ctgttttgcg gatcaagagt tgcgtgccta actccttacc	3120
ggctaacacc taacgctagg ataccatttt gtctggctgt gctttgctgc gcccgcactg	3180
cccgggccga gaccacctgg gagtccttgg atcacctaig gaacaataac caacagatgt	3240
tctggattca attgctgate cctctggccg ccttgatcgt agtgactcgc ctgctcaggt	3300
gcgtgtgctg tgtcgtgcct tttttagtcg tggccggcgc cgcaggcgcc ggcgcctaag	3360
agcacgcgac cagcatgccg agccaagcgg gaatctcgta taacactata gtcaacagag	3420
caggctacgc accactccct atcagcataa caccaacaaa gateaagctg atacctacag	3480
tgaacttggg gtacgtcacc tgccactaca aaacaggaat ggattacca gccatcaaat	3540
gtgcgggate tcaggaatgc actccaactt acaggcctga tgaacagtgc aaagtcttca	3600
caggggttta cccgttcattg tggggtgggt catattgctt ttgcgacact gagaacaccc	3660
aagtcagcaa ggcctacgta atgaaatctg acgactgcct tgeggatcat gctgaagcat	3720
ataaagcgca cacagcctca gtgcaggcgt tectcaacat cacagtgga gaacactcta	3780
ttgtgactac cgtgtaigtg aatggagaaa ctctgtgaa ttccaatggg gtcaaaataa	3840
ctgcaggtec gctttccaca gcttggacac cctttgatcg caaaatcgtg cagtatgccg	3900
gggagatcta taattaigat ttctctgagt atggggcagg acaaccagga gcatttggag	3960
atatacaatc cagaacagtc tcaagctctg atctgtaigc caataccaac ctagtgtgc	4020

[0055]

agagacccaa agcaggagcg atccacgtgc catacactca ggcaccttcg ggttttgagc	4080
aatggaagaa agataaagct ccatcattga aatttaccgc ccctttcgga tgcgaaatat	4140
atacaaacce cattcgcgcc gaaaactgtg ctgtagggtc aattccattt gcctttgaca	4200
ttcccgacgc cttgttcacc aggggtgtcag aaacaccgac actttcagcg gccgaatgca	4260
ctcttaacga gtgcgtgtat tcttccgact ttgggtgggat cgccacggtc aagtactcgg	4320
ccagcaagtc aggcaagtgc gcagtcctat tgccatcagg gactgctacc ctaaaagaag	4380
cagcagtcga gctaaccgag caagggtcgg cgactatcca ttctctgacc gcaaatatcc	4440
acccgaggtt caggctccaa atatgcacat catatgttac gtgcaaaggt gattgtcacc	4500
ccccgaaaga ccatattgtg acacaccctc agtatcacgc ccaaacattt acagcccgcg	4560
tgtcaaaaac cgcgtggacg tggttaacat ccttctgtgg aggatcagcc gtaattatta	4620
taattggctt ggtgctggct actattgtgg ccatgtacgt gctgaccaac cagaaacata	4680
attaaggatc tagatctgct gtgccttcta gtggccagcc atctgttgtt tgccccctcc	4740
ccgtgccttc cttgaccttg gaagggtcca ctcccactgt cctttcctaa taaaatgagg	4800
aaattgcate gcattgtctg agtaggtgtc attctattct ggggggtggg gtggggcagg	4860
acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc tggggatgcg gtgggctcta	4920
tgggtaccca ggtgtcgaag aattgacctg gtctctctg ggccagaaag aagcaggcac	4980

[0056]

atcccccttct ctgtgacaca cctgttcac gccctgggtt cttagtteca gcccactca	5040
taggacactc atagctcagg agggtccgc ctccaatccc acccetaaaa gtacttggag	5100
cggctctctc ctccctcacc agcccaccaa accaaacctc gcctccaaga gtgggaagaa	5160
attaaagcaa gataggetat taagtgcaga gggagagaaa atgcctccaa catgtgagga	5220
agtaatgaga gaaatcatag aattttaagg ccatgattta aggccatcat ggcetaagct	5280
tgaagaggaga taggatcaaa gcttggcgta atcatgttca tagctgtttc ctgtgtgaaa	5340
ttgttatccg ctccacaattc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg	5400
gggtgcctaa tgagtgcgtt aactcacatt aattgcgttg cgtcactgc ccgcttcca	5460
gtcgggaaac ctgtctgtcc agctgcatta atgaatcggc caacgcggg ggagagcgcg	5520
tttgcgtatt gggcgcctt ccgttcttc gctcactgac tctgtcgtt cggctgttcg	5580
gttgcggcga gcggtatcag ctcaactcaaa ggcggtaata cgttatcca cagaatcagg	5640
ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa	5700
ggccgcgttg ctggcggttt tccataggtt cgcgcctt gacgagcatc acaaaaatcg	5760
acgtcaagt cagagggtgc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc	5820
tggaagctcc ctctgtcgtt ctctgttcc gacctgccc cttaaccgat acctgtccgc	5880
ctttctccct tcgggaagcg tggcgtttc tcatagctca cgtctaggt atctcagttc	5940
ggtgtaggtc gtctgtcca agctgggctg tgtgcagaa cccctcgttc agcccagccg	6000

[0057]

ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaacccg gtaagacacg acttategcc	6060
actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga	6120
gttcttgaag tggtagccta actacggcta cactagaaga acagtatttg gtatctgcgc	6180
tctgtgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaaac	6240
caccgtggt agcggtaggt tttttgtttg caagcagcag attacgcgc gaaaaaagg	6300
atctcaagaa gatcccttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtga acgaaaactc	6360
acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa	6420
ttaaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggt ctgacagtta	6480
ccaatgctta atcagtggag cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt	6540
tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggettaccat ctgccccag	6600
tgttgcaatg ataccgcgag aaccacgctc accggctcca gattatcag caataaacca	6660
gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcttgcaact ttatccgect ccatccagtc	6720
tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt	6780
tgttgccatt gctacagcea tcgtggtgtc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag	6840
ctccggttcc caacgateaa ggcgagttac atgatceccc atgttgtgca aaaaagcgtt	6900
tagctecttc ggtectccga tcgttgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tateactcat	6960

[0058]

ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcc a tccgtaagat gcttttctgt	7020
gaactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgeggegac cgagttgctc	7080
ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat	7140
catttgaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgtgtg tgagatccag	7200
ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt	7260
ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg	7320
gaaatgttga atactcatac tcttctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta	7380
ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatntagaaa aataaacaaa taggggttcc	7440
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt	7500
aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgggtc gcgcgtttcg gtgatgacgg	7560
tgaaaacctc tgacacatgc agtccccgtt gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc	7620
cgggagcaga caagcccgtc agggcgctc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct	7680
taactatgcg gcatcagagc agatigtact gagagtgcac cataaaattg taaacgttaa	7740
tattttgtta aaattcgcgt taaatttttg ttaaatacagc tcatttttta accaataggc	7800
cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt	7860
tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa	7920
aaccgtctat cagggcgatg gccactacg tgaaccaica cccaaatcaa gttttttggg	7980

[0059]

```

gtcgaggatgc cgtaaagcac taaatcgga ccctaaagg agccccgat ttagagcttg      8040

acgggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggagc      8100

tagggcgctg gcaagtgtag cggtcacgct gcgcgtaacc accacacccg ccgcgcttaa      8160

tgcgcgcta cagggcgctg actatggtt ctttgacgta tgcggtgtga aataccgcac      8220

agatgcgtaa ggagaaaata ccgcacagg cgccattcgc cattcaggct gcgeaactgt      8280

tgggaagggc gatcgggtcg gccctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt      8340

gctgcaaggc gattaaagtg gtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg      8400

acggccagtg aattccatgg tctcaacttt c      8431

```

<210> 27

<211> 3813

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP31_11 (CHI_VLP_532 PD-1-1)核苷酸序列 (VLP 区域)

<400> 27

```

atggagttca tcccgacgca aactttctat aacagaaggt accaaccceg accctgggac      60

ccacgcctca caattcaagt aattagacct agaccacgtc cacagaggca ggctgggcaa      120

ctcgccecagc tgatctccgc agtcaacaaa ttgacctgc gcgcggtaac tcaacagaag      180

```

[0060]

cctcgcagaa atcggaaaa caagaagcaa aggcagaaga agcaggcgcc gcaaaacgac	240
ccaaagcaaa agaagcaacc accacaaaag aagccggctc aaaagaagaa gaaaccagge	300
cgtagggaga gaatgtgcat gaaaattgaa aatgattgca tcttcgaagt caagcatgaa	360
ggcaaagtga tgggctacgc atgcctgggtg ggggataaag taatgaaacc agcacatgtg	420
aagggaacta tcgacaatgc cgatctggct aaactggcct ttaagcggtc gtctaaatac	480
gatcttgaat gtgcacagat accggtgcac atgaagtctg atgcctcgaa gtttaccac	540
gagaaacceg aggggtacta taactggcat cacggagcag tgcagtattc aggaggccgg	600
ttcactatcc cgacgggtgc aggcaagccg ggagacagcg gcagaccgat cttcgacaac	660
aaaggacggg tgggtggccat cgtcctagga ggggccaaac aaggtgcccg caeggccctc	720
tccgtggtga cgtggaacaa agacatcgtc acaaaaattt cccctgaggg agccgaagag	780
tggagcctcg cccctccggc ctigtgcctg ttggcaaaac ctacattccc ctgctctcag	840
ccgccttgca caccctgctg ctacgaaaag gaaccggaaa gcaccttgcg catgettgag	900
gacaacgtga tgagaccgg atactaccag ctactaaaag catcgtgac ttgctctccc	960
caccgcaaaa gacgcagtac taaggacaat tttaatgtct ataaagccac aagaccatat	1020
ctagetcatl gtctgactg cggagaaggg cattcgtgcc acagccctat cgcattggag	1080
cgcacagaa atgaagcaac ggacggaacg ctgaaaaacc aggtctcttt gcagatcggg	1140
ataaagacag atgacagcca cgattggacc aagctgcgct atatggatag ccatacgcca	1200

[0061]

gcggacgcgg agcgagccgg attgcttgta aggacttcag caccgtgcac gatcaccggg	1260
accatgggac actttattct cgcccgatgc ccgaaaggag agacgctgac agtgggattt	1320
acggacagca gaaagatcag ccacacatgc acacacccgt tccatcatga accacctgtg	1380
ataggtaggg agaggttcca ctctcgacca caacatggta aagagttacc ttgcagcacg	1440
tacgtgcaga gcaccgctgc cactgctgag gagatagagg tgcataatgcc cccagatact	1500
cctgaccgca cgctgatgac gcagcagtct ggcaacgtga agatcacagt taatgggcag	1560
acggtgcggt acaagtgcaa ctgcggtggc tccggaggac taaactggta ccgcatgagc	1620
cccagcaacc agacggacaa gtggccgccc ttccgaggat ccaacgaggg actgacaacc	1680
acagacaaag tgatcaataa ctgcaaaatt gatcagtgcc atgctgcagt cactaatcac	1740
aagaattggc aatacaactc ccccttagtc ccgcgcaacg ctgaactegg ggaccgtaaa	1800
ggaaagatcc acatcccatt cccattggca aacgtgactt gcagagtgcc aaaagcaaga	1860
aaccctacag taacttacgg aaaaaaccaa gtcaccatgc tgctgtatcc tgaccatccg	1920
acactcttgt cttaccgtaa catgggacag gaaccaaatt accacgagga gtgggtgaca	1980
cacaagaagg aggttacctt gaccgtgcct actgagggtc tggaggtcac ttggggcaac	2040
aacgaaccat acaagtaetg gccgcagatg tctacgaacg gtactgtctc tggtcacca	2100
catgagataa tcttgtacta ttatgagctg taccccaata tgactgtagt cattgtgtcg	2160

[0062]

gtggcctcgt tcgtgcttct gtcgatggtg ggcacagcag tgggaatgtg tgtgtgcgca	2220
cggcgcagat gcattacacc atatgaatta acaccaggag ccactgttcc cttectgtct	2280
agcctgctat gctgcgtcag aacgaccaag ggggccacat attacgaggc tgcggcatat	2340
ctatggaacg aacagcagcc cctgtttctgg ttgcaggctc ttatcccgtt ggccgccttg	2400
atcgctctgt gcaactgtct gaaactcttg ceatgtctct gtaagacctt ggctttttta	2460
gccgtaatga gcacgggtgc ccacacgtg agcgcgtacg aacacgtaac agtgatcccg	2520
aacacggtgg gagtaccgta taagactctt gtcaacagac cgggttacag ccccatggtg	2580
ttggagatgg agctacaatc agtcaccttg gaaccaaac tgteacttga ctacatcacg	2640
tgcgagtaca aaactgtcat cccctccccg tacgtgaagt gctgtggtac agcagagtgc	2700
aaggacaaga gcctaccaga ctacagctgc aaggctttta ctggagteta cccatttatg	2760
tggggcgggc cctactgctt ttgcgacgcc gaaaatacgc aattgagcga ggcacatgta	2820
gagaaatctg aatcttgcaa aacagagttt gcacggcct acagagccca caccgcctcg	2880
gggtcggcga agctccgctt cctttaccaa ggaacaaca ttaccgtagc tgcctacgt	2940
aacggtgacc atgccgtcac agtaaaaggac gccaaagttt tcgtgggccc aatgtctctc	3000
gcttgacac cttttgacaa caaaatcgtg gtgtacaaag gcgacgtcta caacatggac	3060
taccacactt ttggcgcagg aagaccagga caatttggtg acattcaaag tcgtacaccg	3120
gaaagtaaag acgtttatgc caacactcag ttggtactac agaggccagc agcaggcacg	3180

[0063]

gtacatgtac catactctca ggcaccatct ggcttcaagt attggctgaa ggaacgagga 3240

gcacgctac agcacacggc accgttcggt tgccagattg cgacaaaccc ggtaagagct 3300

gtaaattgcg ctgtggggaa cataccaatt tccatcgaca taccggatgc ggcctttact 3360

agggttgteg atgcaccctc tgtaacggac atgtcatgcg aagtaccagc ctgcactcac 3420

tcctccgaact ttgggggcgt cgccatcadc aaatacacag ctagcaagaa aggtaaatgt 3480

gcagtacatt cgatgaccaa cgccgttacc attcgagaag ccgacgtaga agtagagggg 3540

aactcccagc tgcaaatatc ctctcaca gccctggcaa gcgccgagtt tcgcgtgcaa 3600

gtgtgtcca cacaagtaca ctgcgcagcc gcatgccacc ctccaaagga ccacatagtc 3660

aattaccag catcacacac cacccttggg gtccaggata tatccacaac ggcaatgtct 3720

tgggtgcaga agattacggg aggagtagga ttaattgttg ctgttctgc cttaatttta 3780

attgtggtgc tatgcgtgtc gtttagcagg cac 3813

<210> 28

<211> 3837

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP31_21 (VEEV 519 载体 PD-1-1) 核苷酸序列 (VLP 区域)

<400> 28

[0064]

atgttcccggt tccagccaat gtatccgatg cagccaatgc cctatcgcaa cccgttcgcg	60
gccccgcgca ggccctgggt cccagaaacc gacccttttc tggegatgca ggtgcaggaa	120
ttaaccgcgt cgatggctaa cctgacgttc aagcaacgcc gggacgcgcc acctgagggg	180
ccatccgcta ataaaccgaa gaaggaggcc tcgcaaaaac agaaaggggg aggccaaagg	240
aagaagaaga agaaccaagg gaagaagaag gctaagacag ggccgcctaa tccgaaggca	300
cagaatggaa acaagaagaa gaccaacaag aaaccaggca agagacagcg catggtcatg	360
aaattggaa ctgacaagac gtcccaatc atgttggaag ggaagataaa cggtacgct	420
tgtgtggtcg gaggaagtt attcaggccg atgcatgttg aaggcaagat cgacaacgac	480
gtctggccg cgettaagac gaagaaagca tccaaatacg atcttgagta tgcagatgtg	540
ccacagaaca tgcgggccga tacattcaaa tacacccatg agaaacccca aggctattac	600
agctggcacc atggagcagt ccaatatgaa aatgggcgtt tcacgggtgcc gaaaggagtt	660
ggggccaagg gagacagcgg acgaccatt ctggataacc agggacgggt ggtcgtatt	720
gtgctgggag gtgtgaatga aggatctagg acagcccttt cagtcgtcat gtggaacgag	780
aaggagatta ccgtgaagta tactccagag aactgcgagc aatggtcact agtgaccacc	840
atgtgtctgc tcgccaatgt gacgttccca tgtgtctaac caccaatttg ctacgacaga	900
aaaccagcag agactttggc catgctcagc gttaacgttg acaaccggg ctacgatgag	960
ctgctggaag cagctgttaa gtgccccgga aggaaaagga gateraccga ggagctgttt	1020

[0065]

aatgagtata agctaacgcg cccttacatg gccagatgca tcagatgtgc agttgggagc	1080
tgccatagtc caatagcaat cgaggcagta aagagcgacg ggcacgacgg ttaigttaga	1140
cttcagactt cctcgcagta tggcctggat tcctccggca acttaaaggg caggaccatg	1200
cggtatgaca tgcacgggac cattaaagag ataccactac atcaagtgtc actctataca	1260
tctcgeccgt gtcacattgt ggatgggcac gggtatttcc tgcctgccag gtgcccgga	1320
ggggactcca tcacatgga atttaagaaa gattccgtca gacactcctg ctcggtgccg	1380
tatgaagtga aatttaatcc tgtaggcaga gaactctata ctcatccccc agaacacgga	1440
gtagagcaag cgtgcccaagt ctacgcacat gatgcacaga acagaggagc ttatgtcgag	1500
atgcacctcc cgggctcaga agtggacagc agtttggttt ccttgagcgg cagttccgga	1560
ggactaaact ggtaccgcat gagecccccagc aaccagacgg acaagctggc cgccttcgga	1620
ggatcctcag tcaccgtgac acctcctgat gggactagcg ccctgggtgga atgcgagtgt	1680
ggcggcacaa agatctccga gaccatcaac aagacaaaac agttcagcca gtgcacaaag	1740
aaggagcagt gcagagcata tcggctgcag aacgataagt ggggtgtataa ttctgacaaa	1800
ctgccccaaag cagcgggagc caccttaaaa ggaaaactgc atgtcccatt ctgtctgca	1860
gacggcaaat gcaccgtgcc tctagcacca gaacctatga taaccttcgg tticagatca	1920
gtgtcaciga aactgcaccc taagaatccc acatatctaa tcacccgcca acttgetgat	1980

[0066]

gagcctcact acacgcacga gctcatatct gaaccagctg ttaggaattt taccgtcacc	2040
gaaaaagggt gggagtttgt atggggaaac caccgcoga aaaggttttg ggcacaggaa	2100
acagcaccgg gaaatccaca tgggctaccg cagcaggtga taactcatta ttaccacaga	2160
tacctatgt ccaccatcct gggtttgtca atttgtccg ccattgcaac cgtttccgtt	2220
gcagcgtcta cctggctgtt ttgcagatca agagttgcgt gcttaactcc ttaccggcta	2280
acacctaacg ctaggatacc attttgtctg gctgtgcttt gctgcgccg cactgccgg	2340
gccgagacca cctgggagtc ctggatcac ctatggaaca ataaccaaca gatgtctgg	2400
attcaattgc tgatccctct ggccgccttg atcgtagtga ctgccttgt caggtgcgtg	2460
tgtgtgtctg tgcctttttt agtcattgcc ggccgcgcag gcgcgggcgc ctacgagcac	2520
ggcaccacga tgccgagcca agcgggaatc tcgtataaca ctatagtcac cagagcaggc	2580
tacgcaccac tccctatcag cataacacca acaaagatca agctgatacc tacagtgaac	2640
ttggagtacg tcacctgcca ctacaaaaca ggaatggatt caccagccat caaatgtgc	2700
ggatctcagg aatgcactcc aacttacagg cctgatgaac agtgcaaagt cttcacagg	2760
gtttaccctg tcatgtgggg tgggtcatat tgcctttgcg aactgagaa caccgaagtc	2820
agcaaggcct acgtaatgaa atctgacgac tgccttgccg atcatgtga agcatataaa	2880
ggcgcacag ccicagtgca ggcgtctctc aacatcacag tgggagaaca ctctatigtg	2940
actaccgtgt atgtgaatgg agaaactcct gtgaatttca atgggggtcaa aataactgca	3000

[0067]

ggtccgcttt ccacagcttg gacacccttt gatcgcaaaa tcgtgcagta tgccggggag 3060

atctataatt atgatitctc tgagtatggg gcaggacaac caggagcatt tggagatata 3120

caatccagaa cagctcgaag ctctgatctg tatgccata ccaacctagt gctgcagaga 3180

cccaaagcag gagegateca cgtgccatac actcaggcac ctccgggttt tgagcaatgg 3240

aagaaagata aagctccatc attgaaattt accgcccctt tcggaigcga aatatataca 3300

aaccccatte gcgcgaaaa ctgtgctgta gggtaattc cattagcctt tgacattccc 3360

gacgccttgt tcaccagggt gtcagaaaca ccgacattt cagcggccga atgcactctt 3420

aacgagtgcg tgtattcttc cgactttggt gggatcgcca cggtaagta ctgggccagc 3480

aagtcaggca agtgcgcagt ccatgtgcca tcagggactg ctaccctaaa agaagcagca 3540

gtcgagctaa ccgagcaagg gtcggcgact atccatttct cgaccgcaaa tatccaccg 3600

gagttcaggc tccaaatatg cacatcatat gttacgtgca aagtgattg tcacccccg 3660

aaagaccata ttgtgacaca cctcagtat cagcggcaaa catttacagc cgcggtgtca 3720

aaaaccgcgt ggacgtggtt aacatccctg ctgggaggat cagccgtaat tattataatt 3780

ggcttggtgc tggtactat tgtgacctg tacgtgtga ccaaccagaa acataat 3837

<210> 29

<211> 3798

<212> DNA

[0068]

<213> 人工

<220>

<223> VLP274_11 (CHI_VLP_532 PD-1-1) 核苷酸序列 (VLP 区域)

<400> 29

atggagttca tcccgacgca aacittctat aacagaaggt accaaccecg accctgggce	60
ccacgcccta caattcaagt aattagacct agaccaegtc cacagaggca ggctgggcaa	120
ctcgeccage tgatctccge agtcaacaaa ttgacctgc gcgcggtaac tcaacagaag	180
cctcgcagaa atcggaaaaa caagaagcaa aggcagaaga agcaggegcc gcaaacgac	240
ccaaagcaaa agaagcaacc accacaaaag aagccggctc aaaagaagaa gaaaccaggc	300
cgtagggaga gaatgtgcat gaaaattgaa aatgattgca tcttcgaagt caagcatgaa	360
ggcaaagtga tgggctacgc atgcctggtg ggggataaag taatgaaacc agcacaigtg	420
aagggaacta tcgacaatgc cgatctggct aaactggcct ttaagcggtc gtctaaatac	480
gactttgaat gtgcacagat accgggtgcac atgaagtctg atgcctcgaa gttaaccac	540
gagaaacccg aggggtacta taactggcat cacggagcag tgcagtattc aggagccgg	600
ttcactatcc cgacgggtgc aggcaagccg ggagacagcg gcagaccgat cttcgacaac	660
aaaggacggg tgggtggccat cgtcctagga ggggccaacg aaggcgcccg cacggccctc	720
tccgtggtga cgtggaacaa agacategtc acaaaaatta cccctgaggg agccgaagag	780
tggagcctcg cctcaccggc ctgtgcctg ttggcaacaa ctacattccc ctgctctcag	840

[0069]

ccgcccttgca caccctgctg ctacgaaaag gaaccggaaa gcaccttgcg catgcttgag	900
gacaacgtga tgagaccggg atactaccag ctactaaaag catcgctgac ttgtctctccc	960
caccgceaaa gacgcagtac taaggacaat tttaatgtct ataaagccac aagaccatat	1020
ctagctcatt gtccctgactg cggagaaggg cattcgtgcc acagccctat cgcattggag	1080
cgcatcagaa atgaagcaac ggacggaacg ctgaaaatcc aggtctcttt gcagatcggg	1140
ataaagacag atgacagcca cgattggacc aagctgcgt atattggatag ccatacgcca	1200
gcggacggg agcgagccgg attgcttgta aggacttcag caccgtgcac gatcaccggg	1260
accatgggac actttattct cgcctgatgc ccgaaaggag agacgctgac agtgggattt	1320
acggacagca gaaagatcag ccacacatgc acacaccgt tccatcatga accacctgtg	1380
ataggtaggg agaggttcca ctctcgacca caacatgta aagagttacc ttgcagcacg	1440
tacgtgcaga gcaccgtgc cactgctgag gagatagagg tgcatatgcc cccagatact	1500
cctgaccgca cgtgatgac gcagcagtct ggcaacgtga agatcacagt taatgggcag	1560
acggtgcggt acaagtgcaa ctgcggtggc tccggaggcg gcgccatcag cctgcacccc	1620
aaggccaaga tcgaggaatc tggatccaac gagggactga caaccacaga caaagtgatc	1680
aataactgca aaattgatca gtgccatgct gcagtcacta atcacaagaa ttggcaatac	1740
aactccccct tagtcccgcg caacgctgaa ctcggggacc gttaaaggaaa gatccacatc	1800

[0070]

ccattcccat tggcaaacgt gacttgcaga gtgccaaaag caagaaaccc tacagtaact	1860
tacggaaaaa accaagtcac catgctgctg tatcctgacc atccgacact cttgtcttac	1920
cgtaacatgg gacaggaacc aaattaccac gaggagtggg tgacacacaa gaaggaggtt	1980
accttgaccg tgcctactga gggctctggag gtcacttggg gcaacaacga accatacaag	2040
tactggccgc agatgtctac gaacggtact gctcatggtc acccacatga gataatcttg	2100
tactattatg agctgtaccc cactatgact gtatgcattg tgcggtggc ctcttctgtg	2160
cttctgtcga tgggtggcac agcagtggga atgtgtgtgt gcgcacggcg cagatgcatt	2220
acaccatatg aattaacacc aggagccact gttcccttcc tgcctagcct gctatgctgc	2280
gtcagaacga ccaaggcggc cacatattac gaggtgcgg catatctatg gaacgaacag	2340
cagccctgt tctggttgea ggccttata cgcctggccg ccttgatcgt cctgtgcaac	2400
tgtctgaaac tcttgccatg ctgctgtaag accctggctt ttttagccgt aatgagcacc	2460
ggtgcccaca ctgtgagcgc gtacgaacac gtaacagtga tcccgaaac ggtgggagta	2520
ccgtataaga ctcttgtaaa cagaccgggt tacagcccca tgggtgttga gatggagcta	2580
caatcagtca ccttggaaac aacactgtca ctgactaca tcacgtgcga gtacaaaact	2640
gtcatccct cccgtacgt gaagtgtgt ggtacagcag agtgcaagga caagagccta	2700
ccagactaca gctgcaaggc ctttactgga gtctacccat ttatgtgggg cggcgcctac	2760
tgtttttgcg acgccgaaaa tacgcaattg agcagggcac atgtagagaa atctgaatct	2820

[0071]

tgcaaaacag agtttgcac gccctacaga gccacacccg catcggcgtc ggccaagctc	2880
cgcgtccctt accaaggaaa caacattacc gtagctgcct acgctaacgg tgaccatgcc	2940
gtcacagtaa aggacgceaa gtttgcgtg ggcctaatgt cctccgctg gacacctttt	3000
gacaacaaaa tcgtggtgta caaaggcgac gtctacaaca tggactaccc accttttggc	3060
gcaggaagac caggacaatt tggtagacatt caaagtcgtt caccggaaag taaagacgtt	3120
tatgccaaca ctcagttggt actacagagg ccagcagcag gcacggtaaa tgtaccatac	3180
tctcaggcae catctggtt caagtattgg ctgaaggaa caggagcctc gctacagcac	3240
acggcacctg tcggttgcca gattgcgaca aaccggtaa gagctgtaa ttgcgtctg	3300
gggaacatac caatttcac cgcataccg gatgcggcct ttactagggt tgcgatgca	3360
ccctctgtaa cggacatgtc atgcgaagta ccagcctgca ctcactcctc cgactttggg	3420
ggcgtcgcca tcatcaata cacagctagc aagaaaggta aatgtgcagt acattcgatg	3480
accaacgccg ttaccattcg agaagccgac gtagaagtag aggggaactc ccagctgcaa	3540
atatcctct caacagcct ggcaagcgc gagtttcgc tgcaagtgtg ctccacacaa	3600
gtacactgcg cagccgatg ccacctcca aaggaccaca tagtcaatta cccagcatca	3660
cacaccaccc ttgggggtcca ggatatatcc acaacggcaa tgtcttgggt gcagaagatt	3720
acgggaggag taggattaat tgttctgtt gctgccttaa ttttaattgt ggtgctatgc	3780

[0072]

gtgtcgttta gcaggcac	3798
<210> 30	
<211> 3822	
<212> DNA	
<213> 人工	
<220>	
<223> VLP274_21 (VEEV 519 载体 PD-1-1) 核苷酸序列 (VLP 区域)	
<400> 30	
atgttcccg tccagccaat gtatccgatg cagccaatgc cctatcgcaa cccgttcgcg	60
gccccgcgca ggccctgggt cccagaaacc gacccttttc tggcgatgca ggtgcaggaa	120
ttaacccgct cgatggctaa cctgacgttc aagcaacgcc gggacgcgcc acctgagggg	180
ccatccgcta ataaaccgaa gaaggaggcc tcgcaaaaac agaaaggggg aggccaaggg	240
aagaagaaga agaaccaagg gaagaagaag gctaagacag ggccgcctaa tccgaaggca	300
cagaatggaa acaagaagaa gaccaacaag aaaccaggca agagacagcg catggtcatg	360
aaattggaat ctgacaagac gtccccaatc atggttgaag ggaagataaa cggctacgt	420
tgtgtggtcg gaggaagtt attcaggccg atgcatgtgg aaggcaagat cgacaacgac	480
gttcctggccg cgcttaagac gaagaaagca tccaaatacg atcttgagta tgcagatgtg	540
ccacagaaca tgcgggccga tacattcaaa tacacccatg agaaacecca aggctattac	600
agctggcatc atggagcagt ccaafatgaa aatgggcgtt tcacggtgcc gaaaggagtt	660

[0073]

ggggccaagg gagacagcgg acgacccatt ctggataacc agggacgggt ggtcgtatt	720
gtgctgggag gtgtgaatga aggatctagg acagcccttt cagtcgtcat gtggaacgag	780
aaggagatta ccgtgaagta tactccagag aactgcgagc aatggcact agtgaccacc	840
atgtgtctgc tcgccaatgt gacgttccca tgtgtcaac caccaatttg ctacgacaga	900
aaaccagcag agactttggc catgctcagc gttaacgttg acaaccggg ctacgatgag	960
ctgctggaag cagctgttaa gtccccgga aggaaaagga gatccaccga ggagctgttt	1020
aatgagtata agctaacgcg cccttacatg gccagatgca tcagatgtgc agttgggagc	1080
tgccatagtc caatagcaat cgaggcagta aagagcgacg ggcacgacgg ttatgttaga	1140
cttcagactt cctcgcagta tggcctggat tcttcggca acttaaaggg caggaccatg	1200
cggtatgaca tgcacgggac cattaaagag ataccactac atcaagtgc actctataca	1260
tctgccectg gtcacattgt ggatgggcac gggtatttcc tcttgccag gtgcccggca	1320
ggggactcca tcaccatgga atttaagaaa gattccgtca gacactcctg ctcggtgccg	1380
tatgaagtga aatttaatcc tgtaggcaga gaactctata ctcatcccc agaacacgga	1440
gtagagcaag cgtgccaaagt ctacgcacat gatgcacaga acagaggagc ttatgtcgag	1500
atgcacctcc cgggctcaga agtgacagc agtttggttt ccttgagcgg cagttccgga	1560
ggcggcgcca tcagcctgca cccaaggcc aagatcgagg aatctggatc ctacgtcacc	1620

[0074]

gtgacacctc ctgatgggac tagcgccctg gtggaatgcg agtgtggcgg cacaaagatc	1680
tccgagacca tcaacaagac aaaacagttc agccagtgc caaagaagga gcagtgcaga	1740
gcatatcggc tgcagaacga taagtgggtg tataattctg acaaactgcc caaagcagcg	1800
ggagccacct taaaaggaaa actgcatgtc ccattcttgc tggcagacgg caaatgcacc	1860
gtgcctctag caccagaacc tatgataacc ttcggtttca gatcagtgtc actgaaactg	1920
caccetaaga atcccacata tctaataacc cgccaacttg ctgatgagcc tcactacacg	1980
cacgagctca tatctgaacc agctgttagg aattttaccg tcaccgaaaa aggggtgggag	2040
tttgtatggg gaaaccaccc gccgaaaagg ttttgggcac aggaaacagc acccggaat	2100
ccacatgggc taccgcacga ggtgataact cattattacc acagataccc tatgtccacc	2160
atcctgggtt tgtcaatttg tgccgccatt gcaaccgttt ccgittgcagc gtctaactgg	2220
ctgttttgca gatcaagagt tgcgtgccta actccttacc ggctaacacc taacgctagg	2280
ataccatttt gtctggetgt gctttgetgc gccgcactg cccgggcga gaccacctgg	2340
gagtccttgg atcacctatg gaacaataac caacagatgt tetggattca attgctgac	2400
ccctctggccg ccttgatcgt agtgactcgc ctgctcaggt gctgtgtctg tctcgtgcct	2460
tttttagtca tggecggcgc cgcaggcgcc ggccctacg agcacgcgac cacgatgccg	2520
agccaagcgg gaatctcgta taacactata gtcaacagag caggctacgc accactccct	2580
atcagcataa caccaacaaa gatcaagctg atacctacag tgaacttga gtacgtcacc	2640

[0075]

tgccactaca aaacaggaat ggattcacca gccatcaaat gctgcggatc tcaggaatgc	2700
atcccaactt acaggcctga tgaacagtgc aaagtcttca caggggttta cccgttcattg	2760
tggggtgggtg catattgett ttgcgacact gagaacaccc aagtcagcaa ggcctacgta	2820
atgaaatctg acgactgcct tgcggatcat gctgaagcat ataaagcgca cacagcctca	2880
gtgcaggcgt tctcaacat cacagtggga gaacactcta ttgtgactac cgtgtatgtg	2940
aatggagaaa ctctgtgaa ttccaatggg gtcaaaaataa ctgcaggccc gctttccaca	3000
gcttgacac cctttgatcg caaaatcgtg cagtatgccg gggagatcta taattatgat	3060
tttctgagt atggggcagg acaaccagga gcatttggag atatacaatc cagaacagtc	3120
tcaagctctg atctgtatgc caataccaac ctagtgtctg agagacccaa agcaggagcg	3180
atccaagtgc catacactca ggcaccttcg ggttttgagc aatggaagaa agataaagct	3240
ccatcattga aatttaccgc ccccttcgga tgcgaaatat atacaaaccc cattcgcgcc	3300
gaaaactgtg ctgtagggtc aattccatta gcctttgaca ttcccgacgc ctgtttcacc	3360
agggtgtcag aaacaccgac actttcagcg gccgaatgca ctcttaacga gtgcgtgtat	3420
tcttccgact ttgttgggat cggcacgtc aagtactcgg ccagcaagtc aggcaagtgc	3480
gcagtccatg tgccatcagg gactgctacc ctaaaagaag cagcagtcga gctaacggag	3540
caagggtcgg cgaatatcca ttctcgaac gcaaataacc acccgagtt caggctccaa	3600

[0076]

atatgcacat catatgttac gtgcaaaggt gattgtcacc ccccgaaaga ccatattgtg	3660
acacaccctc agtatcacgc ccaaacattt acagccggcg tgtaaaaaac cgcgtggacg	3720
tggttaacat cctgtctggg aggatcagcc gtaattatta taattggett ggigtgget	3780
actattgtgg ccatgtacgt gctgaccaac cagaaacata at	3822

<210> 31

<211> 3792

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP299_15 (CHI_VLP_532 PD-L1-1)核苷酸序列(VLP 区域)

<400> 31

atggagttca tcccgacgca aactttctat aacagaaggt accaaccccg accctgggcc	60
ccacgcccta caattcaagt aattagacct agaccacgtc cacagaggca ggctgggcaa	120
ctcgeccagc tgatctccgc agtcaacaaa ttgaccatgc gcgcggtacc tcaacagaag	180
cctcgcagaa atcggaaaaa caagaagcaa aggcagaaga agcagcgccc gcaaacgac	240
ccaaagcaaa agaagcaacc accacaaaag aagccggctc aaaagaagaa gaaaccaggc	300
cgtagggaga gaatgtgcat gaaaattgaa aatgattgca tcttcgaagt caagcatgaa	360
ggcaaagtga tgggctacgc atgcctggtg ggggataaag taatgaaacc agcacaigtg	420
aagggaacta tcgacaatgc cgatctggct aaactggcct ttaagcggtc gtctaaatac	480

[0077]

gatcttgaat gtgcacagat accggtgcac atgaagtctg atgcctcgaa gtttaccac	540
gagaaacccg aggggtacta taactggcat cacggagcag tgcagtattc aggaggccgg	600
ttcactatcc cgacgggtgc aggcaagccg ggagacagcg gcagaccgat ctctgacaac	660
aaaggacggg tggfggccat cgtcctagga ggggccaacg aaggtgcccg cacggccctc	720
tccgtggtga cgtggaacaa agacatcgtc acaaaaatta cccctgaggg agccgaagag	780
tggagcctcg cctcccgggt ctgtgcctg ttggcaaaca ctacattccc ctgtctcag	840
ccgccttgcg caccctgctg ctacgaaaag gaaccggaaa gcaccttgcg catgcttgag	900
gacaacgtga tgagaccggg atactaccag ctactaaaag catectgac ttgtctccc	960
caccgccaaa gacgcagtac taaggacaat tttaatgtct ataaagccac aagaccatat	1020
ctagctcatt gtctgactg cggagaaggg cattcgtgcc acagccctat cgcattggag	1080
cgcacagaa atgaagcaac ggacggaacg ctgaaaatcc aggtctcttt gcagatcggg	1140
ataaagacag atgacagcca cgattggacc aagctgcgtc atatggatag ccatacgcca	1200
gcggacgcgg agcgagccgg attgcttga aggacttcag caccgtgcac gatcaccggg	1260
accatgggac acttatctct cgcccgatgc ccgaaaggag agacgtgac agtgggattt	1320
acggacagca gaaagatcag ccacacatgc acacaccgt tccatcatga accacctgtg	1380
ataggtaggg agaggttcca ctctcgacca caacatggtg aagagttacc ttgcagcacg	1440

[0078]

tacgtgcaga gcaccgctgc cactgctgag gagatagagg tgcataatgcc cccagataact	1500
cctgaccgca cgctgatgac gcagcagtct ggcaacgtga agatcacagt taatgggcag	1560
acggtgcggt acaagtgcaa ctgcggtggc tccggaggct geatcatcag ctacggcgga	1620
gcegactact gcggcggatc caacgaggga ctgacaacca cagacaaagt gatcaataac	1680
tgcaaaattg atcagtgcc a t gctgcagtc actaatcaca agaattggca atacaactcc	1740
cctttagtcc cgcgcaacgc tgaactcggg gaccgtaaag gaaagateca cateccattc	1800
ccattggcaa acgtgacttg cagagtgcc a aagcaagaa accctacagt aacttacgga	1860
aaaaaccaag tcaccatgct gctgtatcct gaccatccga cactcttgtc ttaccgtaac	1920
atgggacagg aaccnaatta ccacgaggag tgggtgacac acaagaagga ggttaccttg	1980
accgtgcta ctgagggtct ggaggtcact tggggcaaca acgaaccata caagtactgg	2040
ccgcagatgt ctacgaacgg tactgtcat ggtcaccac atgagataat ctgtactat	2100
tatgagctgt accccactat gaetgtagtc aatgtgtcgg tggcctcgtt cgtgctctg	2160
tcatggtgg gcacagcagt gggaatgtgt gtgtgcgcac ggccgagatg cattacacca	2220
tatgaattaa caccaggagc cactgtccc ttcctgtca gcttctatg ctgcgtcaga	2280
acgaccaagg cgccacata ttacgaggct gcggcatatc tatggaacga acagagccc	2340
ctgttctggt tgcaggctct tatcccgtg gccgcctga tctcctgtg caactgtctg	2400
aaactcttgc catgtctgtg taagaccctg gcttttttag ccgtaatgag categggtcc	2460

[0079]

cacactgtga ggcgtacga acacgtaaca gtgatcccga acacggtggg agtaccgtat	2520
aagactcttg tcaacagacc gggttacagc cccatggtgt tggagatgga gctacaatca	2580
gtcacccttg aaccaacact gtcacttgac tacatcaegt gcgagtacaa aactgtcatt	2640
ccctccccgt acgtgaagtg ctgtggtaca gcagagtgcg aggacaagag cctaccagac	2700
tacagctgca aggtctttac tggagtctac ccatttaigt ggggcggcgc ctactgcttt	2760
tgcgacgccg aaaatacgca attgagcgag gcacatgtag agaaatctga atcttgcaaa	2820
acagagtttg catcgcccta cagagcccaac accgcacggc cgtcgccgaa gctcccgctc	2880
ctttaccaag gaaacaacat taccgtagct gctacgcta acgtgacca tgcctgcaca	2940
gtaaaggacg ccaagtttgt cgtgggcca atgtctctcg cctggacacc ttgtgacaac	3000
aaaategtgg tgtacaaagg cgacgtctac aacatggact acccaccctt tggcgcagga	3060
agaccaggac aatttggta cattcaaagt cgtacaccgg aaagtaaaga cgtttatgcc	3120
aacactcagt tggctactaca gaggccagca gcaggcacgg tacatgtacc atactctcag	3180
gcaccatctg gcttcaagta ttggctgaag gaacgaggag catcgtaca gcacacggca	3240
cgttctggtt gccagattgc gacaaaccg gtaagagctg taaattgcgc tgtggggaac	3300
ataccaattt ccatcgacat accggatgcg gcctttacta gggttgtcga tgcaccctct	3360
gtaacggaca tgtcatgca agtaccagcc tgcactcaat cctccgactt tgggggcgtc	3420

[0080]

gccatcatca aatacacagc tagcaagaaa ggtaaatgig cagtacattc gatgaccaac	3480
gccgttacca ttcgagaagc cgacgtagaa gtagagggga actcccagct gcaaatatcc	3540
ttctcaacag ccttggaag cgccgagttt cgcgtgcaag tgtgtccac acaagtacac	3600
tgcgcagcgc catgccaccc tccaaaggac cacatagtca attaccagc atcacacacc	3660
acctttgggg tccaggatat atccacaacg gcaatgtctt ggtgcagaa gattacggga	3720
ggagtaggat taattgtgc tgttgcigcc ttaattttaa ttgtgtgtct atgcgtgtcg	3780
ttagcagge ac	3792

<210> 32

<211> 3816

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP299_25 (VEEV 519 载体 PD-L1-1) 核苷酸序列 (VLP 区域)

<400> 32

atgttcccg tccagccaat gtatccgatg cagccaatgc cctatcgcaa cccgttcgcg	60
gccccgcgca ggccctggtt cccagaacc gaccttttc tggcgatgca ggtgcaggaa	120
ttaaccgcgt cgatggctaa cctgacgttc aagcaacgcc gggacgcgcc acctgagggg	180
ccatccgcta ataaaccgaa gaaggaggcc tcgcaaaaac agaaaggggg aggccaaggg	240
aagaagaaga agaaccaagg gaagaagaag gctaagacag ggccgcctaa tccgaaggca	300

[0081]

cagaatggaa acaagaagaa gaccaacaag aaaccaggca agagacagcg catggtcatg	360
aaattggaat ctgacaagac gtcccaatc atgttggaag ggaagataaa cggtacgct	420
tgtgtggtcg gagggaagtt attcaggccg atgcatgtgg aaggcaagat cgacaacgac	480
gttctggccg cgcttaagac gaagaaagca tccaaatacg atcttgagta tgcagatgtg	540
ccacagaaca tgcgggccga tacattcaaa tacacccatg agaaacccca agctattac	600
agctggcatc atggagcagt ccaatatgaa aatgggcgtt tcacggtgcc gaaaggagtt	660
ggggccaagg gagacagcgg acgaccatt ctggataacc agggacgggt ggtcgctatt	720
gtgctgggag gtgtgaatga aggatctagg acageccttt cagtcgtcat gtggaacgag	780
aagggagtta ccgtgaagta tactccagag aactgcgagc aatggcact agtgaccacc	840
atgtgtctgc tcgccaatgt gacgttccca tgtgtctaac caccaatttg ctacgacaga	900
aaaccagcag agactttggc catgctcagc gttaacgttg acaaccggg ctacgatgag	960
ctgctggaag cagctgttaa gtgccccgga aggaaaagga gatccaccga ggagctgttt	1020
aatgagtata agctaacgcg cccttacatg gccagatgca tcagatgtgc agttgggagc	1080
tgccatagtc caatagcaat cgaggcagta aagagcgacg ggcacgacgg ttatgttaga	1140
cttcagactt cctcgcagta tgccctggat tcctcggca acttaaaggg caggaccatg	1200
cggtatgaca tgcacgggac caftaaagag ataccactac atcaagtgtc actctataca	1260

[0082]

tctcgcccg	gtcacattgt	ggatgggcac	ggttatitcc	tgcttgccag	gtgcccggca	1320
ggggactcca	tcaccatgga	atttaagaaa	gattccgtca	gacactcctg	ctcggtgccg	1380
tatgaagtga	aatttaatec	tgtaggcaga	gaactctata	ctcatcccc	agaacacgga	1440
gtagagcaag	cgtgcccaagt	ctacgcacat	gatgcacaga	acagaggagc	ttatgtcgag	1500
atgcacctcc	cgggctcaga	agtggacagc	agtttggttt	ccttgagcgg	cagttccgga	1560
ggctgcatca	tcagctacgg	cggagccgac	tactgcggcg	gatcctcagt	caccgtgaca	1620
cctcctgatg	ggactagcgc	cctgggtgaa	tgcgagtgtg	gcggcacaaa	gatctccgag	1680
accatcaaca	agacaaaaca	gttcagccag	tgacaaaaga	aggagcagtg	cagagcatat	1740
cggctgcaga	acgataagtg	gggtataaat	tetgacaaac	tgcctaaage	agcgggagcc	1800
accttaaaag	gaaaactgca	tgtcccatte	ttgctggcag	acggcaaatg	caccgtgcct	1860
ctagcaccag	aacctatgat	aaccttcggt	ttcagatcag	tgctactgaa	actgcaccct	1920
aagaatecca	catatctaat	caccgcgcaa	citgctgatg	agcctcaeta	cacgcacgag	1980
ctcatatctg	aaccagctgt	taggaatttt	accgtcaccc	aaaaagggtg	ggagtttgta	2040
tggggaaacc	accgcgcgaa	aaggtttttg	gcacaggaaa	cagcacccgg	aaatccacat	2100
gggctaacgc	acgaggigat	aactcattat	taccacagat	accctatgtc	caccatcctg	2160
ggtttgtcaa	tttgtgccgc	cattgcaacc	gtttccgttg	cagcgtctac	ctggctgttt	2220
tgcagatcaa	gagttgcgtg	cctaactcct	taccggetaa	cacctaacgc	taggatacca	2280

[0083]

ttttgtctgg ctgtgctttg ctgcgcccgc actgcccggg ccgagaccac ctgggagtec	2340
ttggatcacc tatggaacaa taaccaacag atgttctgga ttcaattgct gatccctctg	2400
gccgccttga tctagtgac tcgectgctc aggtgcgtgt gctgtgtctg gcctttttta	2460
gtcatggccg gcgcccgcagg cgccggcgcc tacgagcacg cgaccacgat gccgagccaa	2520
gcgggaatct cgtataacac tatagtcaac agagcaggct acgcaccact cccatcagc	2580
ataacaccaa caaagatcaa gctgatacct acagtgaact tggagtacgt cacctgccac	2640
tacaaaacag gaatggattc accagccatc aaatgctgcg gatctcagga atgcactcca	2700
acttacaggc ctgatgaaca gtgcaaagtc ttcacagggg ttaccctgtt catgtggggt	2760
ggtgcatatt gcttttgca cactgagaac acccaagtca gcaaggccta cgtaatgaaa	2820
tctgaegact gccttgcgga tcatgctgaa gcatataaag cgcacacagc ctcagtgcag	2880
gcgttctcca acatcacagt gggagaacac tctatttga ctaccgtgta tgtgaatgga	2940
gaaactccctg tgaatttcaa tggggtcaaa ataactgcag gtccgctttc cacagcttgg	3000
acacctttg atcgcaaaat cgtgcagtat gccggggaga tatataattt tgattttctc	3060
gagtatgggg caggacaacc aggagcattt ggagataaac aatccagaac agtetcaagc	3120
tctgatctgt atgccaatac caacctagtg ctgcagagac ccaaagcagg agcgatccac	3180
gtgccataca ctcaggcacc ttccgggtttt gagcaatgga agaaagataa agtcccatca	3240

[0084]

ttgaaattta ccgccccctt cggatgcgaa atatatacaa accccattcg cgccgaaaac 3300

tgtgctgtag ggicaattcc attagccttt gacattcccg acgccttggt caccagggtg 3360

tcagaaacac cgacacttcc agcggccgaa tgcactctta acgagtgcgt gtattcttcc 3420

gactttggtg ggatcgccac ggtaagtac tcggccagca agtcaggcaa gtgcgcagtc 3480

catgtgccat cagggactgc taccetaaaa gaagcagcag tcgagctaac cgagcaaggg 3540

tcggcgacta tccatttctc gaccgcaaat atccaccggg agttcaggct ccaaataatgc 3600

acatcatatg ttacgtgcaa aggtgattgt cccccccga aagaccatat tgtgacacac 3660

ccfcagtaic acgccc aaac atttacagcc gcggtgic aaaccgcgtg gacgtggta 3720

acatccctgc tgggaggatc agccgtaatt attataattg gcttgggtgt ggetactatt 3780

gtggccatgt acgtgetgac caaccagaaa cataat 3816

<210> 33

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 31-11 插入人 PD-1 的 E2 CHIKV 氨基酸

<400> 33

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

1

5

10

15

[0085]

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Ile
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser His Thr Pro Ala Asp Ala Glu Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Leu Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Thr Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Glu Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Arg Phe His Ser Arg
130 135 140

[0086]

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Met Thr Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val
180 185 190

Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Gly Gly
195 200 205

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
210 215 220

Ala Phe Gly Gly Ser Asn Glu Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile
225 230 235 240

Asn Asn Cys Lys Ile Asp Gln Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys
245 250 255

Asn Trp Gln Tyr Asn Ser Pro Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly
260 265 270

[0087]

Asp Arg Lys Gly Lys Ile His Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr
275 280 285

Cys Arg Val Pro Lys Ala Arg Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn
290 295 300

Gln Val Thr Met Leu Leu Tyr Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr
305 310 315 320

Arg Asn Met Gly Gln Glu Pro Asn Tyr His Glu Glu Trp Val Thr His
325 330 335

Lys Lys Glu Val Thr Leu Thr Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr
340 345 350

Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr Lys Tyr Trp Pro Gln Met Ser Thr Asn
355 360 365

Gly Thr Ala His Gly His Pro His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu
370 375 380

Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val Val Ile Val Ser Val Ala Ser Phe Val
385 390 395 400

Leu Leu Ser Met Val Gly Thr Ala Val Gly Met Cys Val Cys Ala Arg

[0088]

405

410

415

Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro

420

425

430

Phe Leu Leu Ser Leu Leu Cys Cys Val Arg Thr Thr Lys Ala

435

440

445

<210> 34

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 274_11 插入小鼠 PD-1 的 E2 CHIKV 氨基酸

<400> 34

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

1

5

10

15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Ile

20

25

30

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

35

40

45

[0089]

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser His Thr Pro Ala Asp Ala Glu Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Leu Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Thr Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Glu Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Arg Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Met Thr Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val

[0090]

	180	185	190
Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Gly Gly			
195	200	205	
Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Gly Ser			
210	215	220	
Asn Glu Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn Cys Lys Ile			
225	230	235	240
Asp Gln Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Asn Trp Gln Tyr Asn			
245	250	255	
Ser Pro Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg Lys Gly Lys			
260	265	270	
Ile His Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val Pro Lys			
275	280	285	
Ala Arg Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Thr Met Leu			
290	295	300	
Leu Tyr Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met Gly Gln			
305	310	315	320

[0091]

Glu Pro Asn Tyr His Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Val Thr
325 330 335

Leu Thr Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu
340 345 350

Pro Tyr Lys Tyr Trp Pro Gln Met Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly
355 360 365

His Pro His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met
370 375 380

Thr Val Val Ile Val Ser Val Ala Ser Phe Val Leu Leu Ser Met Val
385 390 395 400

Gly Thr Ala Val Gly Met Cys Val Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr
405 410 415

Pro Tyr Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu
420 425 430

Leu Cys Cys Val Arg Thr Thr Lys
435 440

[0092]

<210> 35

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 275_11 插入人 PD-1 的 E2 CHIKV 氨基酸

<400> 35

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

1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Ile

20 25 30

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

35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp

50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser His Thr Pro Ala Asp Ala Glu Arg

65 70 75 80

Ala Gly Leu Leu Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr

85 90 95

[0093]

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Thr Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Glu Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Arg Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Met Thr Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val
180 185 190

Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Gly Gly
195 200 205

Cys Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Cys Gly
210 215 220

[0094]

Gly Ser Asn Glu Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn Cys
225 230 235 240

Lys Ile Asp Gln Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Asn Trp Gln
245 250 255

Tyr Asn Ser Pro Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg Lys
260 265 270

Gly Lys Ile His Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val
275 280 285

Pro Lys Ala Arg Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Thr
290 295 300

Met Leu Leu Tyr Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met
305 310 315 320

Gly Gln Glu Pro Asn Tyr His Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu
325 330 335

Val Thr Leu Thr Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn
340 345 350

[0095]

Asn Glu Pro Tyr Lys Tyr Trp Pro Gln Met Ser Thr Asn Gly Thr Ala
355 360 365

His Gly His Pro His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro
370 375 380

Thr Met Thr Val Val Ile Val Ser Val Ala Ser Phe Val Leu Leu Ser
385 390 395 400

Met Val Gly Thr Ala Val Gly Met Cys Val Cys Ala Arg Arg Arg Cys
405 410 415

Ile Thr Pro Tyr Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu
420 425 430

Ser Leu Leu Cys Cys Val Arg Thr Thr Lys Ala
435 440

<210> 36

<211> 439

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 299_15 插入人 PD-L1 的 E2 CHIKV 氨基酸

<400> 36

[0096]

Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Ile
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser His Thr Pro Ala Asp Ala Glu Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Leu Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Thr Cys Thr His Pro
115 120 125

[0097]

Phe His His Glu Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Arg Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Met Thr Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val
180 185 190

Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Gly Gly
195 200 205

Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Cys Gly Gly Ser Asn Glu
210 215 220

Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn Cys Lys Ile Asp Gln
225 230 235 240

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Asn Trp Gln Tyr Asn Ser Pro
245 250 255

Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg Lys Gly Lys Ile His

[0098]

	260	265	270
Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val Pro Lys Ala Arg			
275	280	285	
Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Thr Met Leu Leu Tyr			
290	295	300	
Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met Gly Gln Glu Pro			
305	310	315	320
Asn Tyr His Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Val Thr Leu Thr			
325	330	335	
Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr			
340	345	350	
Lys Tyr Trp Pro Gln Met Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro			
355	360	365	
His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val			
370	375	380	
Val Ile Val Ser Val Ala Ser Phe Val Leu Leu Ser Met Val Gly Thr			
385	390	395	400

[0099]

Ala Val Gly Met Cys Val Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr
405 410 415

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Leu Cys
420 425 430

Cys Val Arg Thr Thr Lys Ala
435

<210> 37

<211> 439

<212> PRT

<213> 基孔肯雅病毒

<400> 37

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu
20 25 30

Leu Gln Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr
35 40 45

[0100]

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly
50 55 60

Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys Ser Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val
65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys
85 90 95

Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu
100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser
115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val
130 135 140

Ala Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys
145 150 155 160

Phe Val Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys
165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe

[0101]

	180	185	190
Gly Ala Gly Arg Pro Gly Gln Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Pro			
195	200	205	
Glu Ser Lys Asp Val Tyr Ala Asn Thr Gln Leu Val Leu Gln Arg Pro			
210	215	220	
Ala Ala Gly Thr Val His Val Pro Tyr Ser Gln Ala Pro Ser Gly Phe			
225	230	235	240
Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro			
245	250	255	
Phe Gly Cys Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Val Asn Cys Ala			
260	265	270	
Val Gly Asn Ile Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Asp Ala Ala Phe Thr			
275	280	285	
Arg Val Val Asp Ala Pro Ser Val Thr Asp Met Ser Cys Glu Val Pro			
290	295	300	
Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr			
305	310	315	320

[0102]

Thr Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala
325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Asp Val Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu
340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln
355 360 365

Val Cys Ser Thr Gln Val His Cys Ala Ala Ala Cys His Pro Pro Lys
370 375 380

Asp His Ile Val Asn Tyr Pro Ala Ser His Thr Thr Leu Gly Val Gln
385 390 395 400

Asp Ile Ser Thr Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly
405 410 415

Val Gly Leu Ile Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu
420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His
435

[0103]

<210> 38
<211> 261
<212> PRT
<213> 基孔肯雅病毒

<400> 38

Met Glu Phe Ile Pro Thr Gln Thr Phe Tyr Asn Arg Arg Tyr Gln Pro
1 5 10 15

Arg Pro Trp Ala Pro Arg Pro Thr Ile Gln Val Ile Arg Pro Arg Pro
20 25 30

Arg Pro Gln Arg Gln Ala Gly Gln Leu Ala Gln Leu Ile Ser Ala Val
35 40 45

Asn Lys Leu Thr Met Arg Ala Val Pro Gln Gln Lys Pro Arg Arg Asn
50 55 60

Arg Lys Asn Lys Lys Gln Arg Gln Lys Lys Gln Ala Pro Gln Asn Asp
65 70 75 80

Pro Lys Gln Lys Lys Gln Pro Pro Gln Lys Lys Pro Ala Gln Lys Lys
85 90 95

Lys Lys Pro Gly Arg Arg Glu Arg Met Cys Met Lys Ile Glu Asn Asp

[0104]

100	105	110	
Cys Ile Phe Glu Val Lys His Glu Gly Lys Val Met Gly Tyr Ala Cys			
115	120	125	
Leu Val Gly Asp Lys Val Met Lys Pro Ala His Val Lys Gly Thr Ile			
130	135	140	
Asp Asn Ala Asp Leu Ala Lys Leu Ala Phe Lys Arg Ser Ser Lys Tyr			
145	150	155	160
Asp Leu Glu Cys Ala Gln Ile Pro Val His Met Lys Ser Asp Ala Ser			
165	170	175	
Lys Phe Thr His Glu Lys Pro Glu Gly Tyr Tyr Asn Trp His His Gly			
180	185	190	
Ala Val Gln Tyr Ser Gly Gly Arg Phe Thr Ile Pro Thr Gly Ala Gly			
195	200	205	
Lys Pro Gly Asp Ser Gly Arg Pro Ile Phe Asp Asn Lys Gly Arg Val			
210	215	220	
Val Ala Ile Val Leu Gly Gly Ala Asn Glu Gly Ala Arg Thr Ala Leu			
225	230	235	240

[0105]

Ser Val Val Thr Trp Asn Lys Asp Ile Val Thr Lys Ile Thr Pro Glu
245 250 255

Gly Ala Glu Glu Trp
260

<210> 39

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 31_21 插入人 PD-1 的 E2 VEEV 氨基酸

<400> 39

Ser Thr Glu Glu Leu Phe Asn Glu Tyr Lys Leu Thr Arg Pro Tyr Met
1 5 10 15

Ala Arg Cys Ile Arg Cys Ala Val Gly Ser Cys His Ser Pro Ile Ala
20 25 30

Ile Glu Ala Val Lys Ser Asp Gly His Asp Gly Tyr Val Arg Leu Gln
35 40 45

Thr Ser Ser Gln Tyr Gly Leu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Lys Gly Arg

[0106]

50	55	60	
Thr Met Arg Tyr Asp Met His Gly Thr Ile Lys Glu Ile Pro Leu His			
65	70	75	80
Gln Val Ser Leu Tyr Thr Ser Arg Pro Cys His Ile Val Asp Gly His			
	85	90	95
Gly Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Cys Pro Ala Gly Asp Ser Ile Thr Met			
	100	105	110
Glu Phe Lys Lys Asp Ser Val Arg His Ser Cys Ser Val Pro Tyr Glu			
	115	120	125
Val Lys Phe Asn Pro Val Gly Arg Glu Leu Tyr Thr His Pro Pro Glu			
	130	135	140
His Gly Val Glu Gln Ala Cys Gln Val Tyr Ala His Asp Ala Gln Asn			
145	150	155	160
Arg Gly Ala Tyr Val Glu Met His Leu Pro Gly Ser Glu Val Asp Ser			
	165	170	175
Ser Leu Val Ser Leu Ser Gly Ser Ser Gly Gly Leu Asn Trp Tyr Arg			
	180	185	190

[0107]

Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr	Asp	Lys	Leu	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Ser
	195					200						205			
Ser	Val	Thr	Val	Thr	Pro	Pro	Asp	Gly	Thr	Ser	Ala	Leu	Val	Glu	Cys
	210					215						220			
Glu	Cys	Gly	Gly	Thr	Lys	Ile	Ser	Glu	Thr	Ile	Asn	Lys	Thr	Lys	Gln
225					230						235				240
Phe	Ser	Gln	Cys	Thr	Lys	Lys	Glu	Gln	Cys	Arg	Ala	Tyr	Arg	Leu	Gln
				245						250				255	
Asn	Asp	Lys	Trp	Val	Tyr	Asn	Ser	Asp	Lys	Leu	Pro	Lys	Ala	Ala	Gly
			260							265				270	
Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Lys	Leu	His	Val	Pro	Phe	Leu	Leu	Ala	Asp	Gly
	275						280							285	
Lys	Cys	Thr	Val	Pro	Leu	Ala	Pro	Glu	Pro	Met	Ile	Thr	Phe	Gly	Phe
	290						295					300			
Arg	Ser	Val	Ser	Leu	Lys	Leu	His	Pro	Lys	Asn	Pro	Thr	Tyr	Leu	Ile
305					310						315				320

[0108]

Thr Arg Gln Leu Ala Asp Glu Pro His Tyr Thr His Glu Leu Ile Ser
325 330 335

Glu Pro Ala Val Arg Asn Phe Thr Val Thr Glu Lys Gly Trp Glu Phe
340 345 350

Val Trp Gly Asn His Pro Pro Lys Arg Phe Trp Ala Gln Glu Thr Ala
355 360 365

Pro Gly Asn Pro His Gly Leu Pro His Glu Val Ile Thr His Tyr Tyr
370 375 380

His Arg Tyr Pro Met Ser Thr Ile Leu Gly Leu Ser Ile Cys Ala Ala
385 390 395 400

Ile Ala Thr Val Ser Val Ala Ala Ser Thr Trp Leu Phe Cys Arg Ser
405 410 415

Arg Val Ala Cys Leu Thr Pro Tyr Arg Leu Thr Pro Asn Ala Arg Ile
420 425 430

Pro Phe Cys Leu Ala Val Leu Cys Cys Ala Arg Thr Ala Arg Ala
435 440 445

[0109]

<210> 40

<211> 442

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 274_21 插入人 PD-1 的 E2 VEEV 氨基酸

<400> 40

Ser	Thr	Glu	Glu	Leu	Phe	Asn	Glu	Tyr	Lys	Leu	Thr	Arg	Pro	Tyr	Met
1				5					10					15	

Ala	Arg	Cys	Ile	Arg	Cys	Ala	Val	Gly	Ser	Cys	His	Ser	Pro	Ile	Ala
				20				25						30	

Ile	Glu	Ala	Val	Lys	Ser	Asp	Gly	His	Asp	Gly	Tyr	Val	Arg	Leu	Gln
				35				40						45	

Thr	Ser	Ser	Gln	Tyr	Gly	Leu	Asp	Ser	Ser	Gly	Asn	Leu	Lys	Gly	Arg
				50				55						60	

Thr	Met	Arg	Tyr	Asp	Met	His	Gly	Thr	Ile	Lys	Glu	Ile	Pro	Leu	His
				65				70						75	

Gln	Val	Ser	Leu	Tyr	Thr	Ser	Arg	Pro	Cys	His	Ile	Val	Asp	Gly	His
								85						90	

[0110]

Gly Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Cys Pro Ala Gly Asp Ser Ile Thr Met
100 105 110

Glu Phe Lys Lys Asp Ser Val Arg His Ser Cys Ser Val Pro Tyr Glu
115 120 125

Val Lys Phe Asn Pro Val Gly Arg Glu Leu Tyr Thr His Pro Pro Glu
130 135 140

His Gly Val Glu Gln Ala Cys Gln Val Tyr Ala His Asp Ala Gln Asn
145 150 155 160

Arg Gly Ala Tyr Val Glu Met His Leu Pro Gly Ser Glu Val Asp Ser
165 170 175

Ser Leu Val Ser Leu Ser Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ala Ile Ser Leu
180 185 190

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Gly Ser Ser Val Thr Val Thr
195 200 205

Pro Pro Asp Gly Thr Ser Ala Leu Val Glu Cys Glu Cys Gly Gly Thr
210 215 220

[0111]

Lys Ile Ser Glu Thr Ile Asn Lys Thr Lys Gln Phe Ser Gln Cys Thr
225 230 235 240

Lys Lys Glu Gln Cys Arg Ala Tyr Arg Leu Gln Asn Asp Lys Trp Val
245 250 255

Tyr Asn Ser Asp Lys Leu Pro Lys Ala Ala Gly Ala Thr Leu Lys Gly
260 265 270

Lys Leu His Val Pro Phe Leu Leu Ala Asp Gly Lys Cys Thr Val Pro
275 280 285

Leu Ala Pro Glu Pro Met Ile Thr Phe Gly Phe Arg Ser Val Ser Leu
290 295 300

Lys Leu His Pro Lys Asn Pro Thr Tyr Leu Ile Thr Arg Gln Leu Ala
305 310 315 320

Asp Glu Pro His Tyr Thr His Glu Leu Ile Ser Glu Pro Ala Val Arg
325 330 335

Asn Phe Thr Val Thr Glu Lys Gly Trp Glu Phe Val Trp Gly Asn His
340 345 350

Pro Pro Lys Arg Phe Trp Ala Gln Glu Thr Ala Pro Gly Asn Pro His

[0112]

355 360 365

Gly Leu Pro His Glu Val Ile Thr His Tyr Tyr His Arg Tyr Pro Met
370 375 380

Ser Thr Ile Leu Gly Leu Ser Ile Cys Ala Ala Ile Ala Thr Val Ser
385 390 395 400

Val Ala Ala Ser Thr Trp Leu Phe Cys Arg Ser Arg Val Ala Cys Leu
405 410 415

Thr Pro Tyr Arg Leu Thr Pro Asn Ala Arg Ile Pro Phe Cys Leu Ala
420 425 430

Val Leu Cys Cys Ala Arg Thr Ala Arg Ala
435 440

<210> 41
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 275_21 插入人 PD-1 的 E2 VEEV 氨基酸

<400> 41

[0113]

Ser Thr Glu Glu Leu Phe Asn Glu Tyr Lys Leu Thr Arg Pro Tyr Met

1 5 10 15

Ala Arg Cys Ile Arg Cys Ala Val Gly Ser Cys His Ser Pro Ile Ala

20 25 30

Ile Glu Ala Val Lys Ser Asp Gly His Asp Gly Tyr Val Arg Leu Gln

35 40 45

Thr Ser Ser Gln Tyr Gly Leu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Lys Gly Arg

50 55 60

Thr Met Arg Tyr Asp Met His Gly Thr Ile Lys Glu Ile Pro Leu His

65 70 75 80

Gln Val Ser Leu Tyr Thr Ser Arg Pro Cys His Ile Val Asp Gly His

85 90 95

Gly Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Cys Pro Ala Gly Asp Ser Ile Thr Met

100 105 110

Glu Phe Lys Lys Asp Ser Val Arg His Ser Cys Ser Val Pro Tyr Glu

115 120 125

Val Lys Phe Asn Pro Val Gly Arg Glu Leu Tyr Thr His Pro Pro Glu

[0114]

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

[0115]

Lys Gly Lys Leu His Val Pro Phe Leu Leu Ala Asp Gly Lys Cys Thr
275 280 285

Val Pro Leu Ala Pro Glu Pro Met Ile Thr Phe Gly Phe Arg Ser Val
290 295 300

Ser Leu Lys Leu His Pro Lys Asn Pro Thr Tyr Leu Ile Thr Arg Gln
305 310 315 320

Leu Ala Asp Glu Pro His Tyr Thr His Glu Leu Ile Ser Glu Pro Ala
325 330 335

Val Arg Asn Phe Thr Val Thr Glu Lys Gly Trp Glu Phe Val Trp Gly
340 345 350

Asn His Pro Pro Lys Arg Phe Trp Ala Gln Glu Thr Ala Pro Gly Asn
355 360 365

Pro His Gly Leu Pro His Glu Val Ile Thr His Tyr Tyr His Arg Tyr
370 375 380

Pro Met Ser Thr Ile Leu Gly Leu Ser Ile Cys Ala Ala Ile Ala Thr
385 390 395 400

[0116]

Val Ser Val Ala Ala Ser Thr Trp Leu Phe Cys Arg Ser Arg Val Ala
405 410 415

Cys Leu Thr Pro Tyr Arg Leu Thr Pro Asn Ala Arg Ile Pro Phe Cys
420 425 430

Leu Ala Val Leu Cys Cys Ala Arg Thr Ala Arg Ala
435 440

<210> 42

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 299_25 插入人 PD-L1 的 E2 VEEV 氨基酸

<400> 42

Ser Thr Glu Glu Leu Phe Asn Glu Tyr Lys Leu Thr Arg Pro Tyr Met
1 5 10 15

Ala Arg Cys Ile Arg Cys Ala Val Gly Ser Cys His Ser Pro Ile Ala
20 25 30

Ile Glu Ala Val Lys Ser Asp Gly His Asp Gly Tyr Val Arg Leu Gln
35 40 45

[0117]

Thr Ser Ser Gln Tyr Gly Leu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Lys Gly Arg
50 55 60

Thr Met Arg Tyr Asp Met His Gly Thr Ile Lys Glu Ile Pro Leu His
65 70 75 80

Gln Val Ser Leu Tyr Thr Ser Arg Pro Cys His Ile Val Asp Gly His
85 90 95

Gly Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Cys Pro Ala Gly Asp Ser Ile Thr Met
100 105 110

Glu Phe Lys Lys Asp Ser Val Arg His Ser Cys Ser Val Pro Tyr Glu
115 120 125

Val Lys Phe Asn Pro Val Gly Arg Glu Leu Tyr Thr His Pro Pro Glu
130 135 140

His Gly Val Glu Gln Ala Cys Gln Val Tyr Ala His Asp Ala Gln Asn
145 150 155 160

Arg Gly Ala Tyr Val Glu Met His Leu Pro Gly Ser Glu Val Asp Ser
165 170 175

[0118]

Ser Leu Val Ser Leu Ser Gly Ser Ser Gly Gly Cys Ile Ile Ser Tyr
180 185 190

Gly Gly Ala Asp Tyr Cys Gly Gly Ser Ser Val Thr Val Thr Pro Pro
195 200 205

Asp Gly Thr Ser Ala Leu Val Glu Cys Glu Cys Gly Gly Thr Lys Ile
210 215 220

Ser Glu Thr Ile Asn Lys Thr Lys Gln Phe Ser Gln Cys Thr Lys Lys
225 230 235 240

Glu Gln Cys Arg Ala Tyr Arg Leu Gln Asn Asp Lys Trp Val Tyr Asn
245 250 255

Ser Asp Lys Leu Pro Lys Ala Ala Gly Ala Thr Leu Lys Gly Lys Leu
260 265 270

His Val Pro Phe Leu Leu Ala Asp Gly Lys Cys Thr Val Pro Leu Ala
275 280 285

Pro Glu Pro Met Ile Thr Phe Gly Phe Arg Ser Val Ser Leu Lys Leu
290 295 300

[0119]

His Pro Lys Asn Pro Thr Tyr Leu Ile Thr Arg Gln Leu Ala Asp Glu
305 310 315 320

Pro His Tyr Thr His Glu Leu Ile Ser Glu Pro Ala Val Arg Asn Phe
325 330 335

Thr Val Thr Glu Lys Gly Trp Glu Phe Val Trp Gly Asn His Pro Pro
340 345 350

Lys Arg Phe Trp Ala Gln Glu Thr Ala Pro Gly Asn Pro His Gly Leu
355 360 365

Pro His Glu Val Ile Thr His Tyr Tyr His Arg Tyr Pro Met Ser Thr
370 375 380

Ile Leu Gly Leu Ser Ile Cys Ala Ala Ile Ala Thr Val Ser Val Ala
385 390 395 400

Ala Ser Thr Trp Leu Phe Cys Arg Ser Arg Val Ala Cys Leu Thr Pro
405 410 415

Tyr Arg Leu Thr Pro Asn Ala Arg Ile Pro Phe Cys Leu Ala Val Leu
420 425 430

Cys Cys Ala Arg Thr Ala Arg Ala

[0120]

435

440

<210> 43

<211> 442

<212> PRT

<213> 委内瑞拉马脑炎病毒

<400> 43

Tyr Glu His Ala Thr Thr Met Pro Ser Gln Ala Gly Ile Ser Tyr Asn
1 5 10 15

Thr Ile Val Asn Arg Ala Gly Tyr Ala Pro Leu Pro Ile Ser Ile Thr
 20 25 30

Pro Thr Lys Ile Lys Leu Ile Pro Thr Val Asn Leu Glu Tyr Val Thr
 35 40 45

Cys His Tyr Lys Thr Gly Met Asp Ser Pro Ala Ile Lys Cys Cys Gly
 50 55 60

Ser Gln Glu Cys Thr Pro Thr Tyr Arg Pro Asp Glu Gln Cys Lys Val
65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys
 85 90 95

[0121]

Asp Thr Glu Asn Thr Gln Val Ser Lys Ala Tyr Val Met Lys Ser Asp
100 105 110

Asp Cys Leu Ala Asp His Ala Glu Ala Tyr Lys Ala His Thr Ala Ser
115 120 125

Val Gln Ala Phe Leu Asn Ile Thr Val Gly Glu His Ser Ile Val Thr
130 135 140

Thr Val Tyr Val Asn Gly Glu Thr Pro Val Asn Phe Asn Gly Val Lys
145 150 155 160

Ile Thr Ala Gly Pro Leu Ser Thr Ala Trp Thr Pro Phe Asp Arg Lys
165 170 175

Ile Val Gln Tyr Ala Gly Glu Ile Tyr Asn Tyr Asp Phe Pro Glu Tyr
180 185 190

Gly Ala Gly Gln Pro Gly Ala Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Val
195 200 205

Ser Ser Ser Asp Leu Tyr Ala Asn Thr Asn Leu Val Leu Gln Arg Pro
210 215 220

[0122]

Lys Ala Gly Ala Ile His Val Pro Tyr Thr Gln Ala Pro Ser Gly Phe
225 230 235 240

Glu Gln Trp Lys Lys Asp Lys Ala Pro Ser Leu Lys Phe Thr Ala Pro
245 250 255

Phe Gly Cys Glu Ile Tyr Thr Asn Pro Ile Arg Ala Glu Asn Cys Ala
260 265 270

Val Gly Ser Ile Pro Leu Ala Phe Asp Ile Pro Asp Ala Leu Phe Thr
275 280 285

Arg Val Ser Glu Thr Pro Thr Leu Ser Ala Ala Glu Cys Thr Leu Asn
290 295 300

Glu Cys Val Tyr Ser Ser Asp Phe Gly Gly Ile Ala Thr Val Lys Tyr
305 310 315 320

Ser Ala Ser Lys Ser Gly Lys Cys Ala Val His Val Pro Ser Gly Thr
325 330 335

Ala Thr Leu Lys Glu Ala Ala Val Glu Leu Thr Glu Gln Gly Ser Ala
340 345 350

Thr Ile His Phe Ser Thr Ala Asn Ile His Pro Glu Phe Arg Leu Gln

[0123]

355	360	365
Ile Cys Thr Ser Tyr Val Thr Cys Lys Gly Asp Cys His Pro Pro Lys		
370	375	380
Asp His Ile Val Thr His Pro Gln Tyr His Ala Gln Thr Phe Thr Ala		
385	390	395 400
Ala Val Ser Lys Thr Ala Trp Thr Trp Leu Thr Ser Leu Leu Gly Gly		
405	410	415
Ser Ala Val Ile Ile Ile Ile Gly Leu Val Leu Ala Thr Ile Val Ala		
420	425	430
Met Tyr Val Leu Thr Asn Gln Lys His Asn		
435	440	
<210> 44		
<211> 275		
<212> PRT		
<213> 委内瑞拉马脑炎病毒		
<400> 44		
Met Phe Pro Phe Gln Pro Met Tyr Pro Met Gln Pro Met Pro Tyr Arg		
1	5	10 15

[0124]

Asn Pro Phe Ala Ala Pro Arg Arg Pro Trp Phe Pro Arg Thr Asp Pro
20 25 30

Phe Leu Ala Met Gln Val Gln Glu Leu Thr Arg Ser Met Ala Asn Leu
35 40 45

Thr Phe Lys Gln Arg Arg Asp Ala Pro Pro Glu Gly Pro Ser Ala Asn
50 55 60

Lys Pro Lys Lys Glu Ala Ser Gln Lys Gln Lys Gly Gly Gly Gln Gly
65 70 75 80

Lys Lys Lys Lys Asn Gln Gly Lys Lys Lys Ala Lys Thr Gly Pro Pro
85 90 95

Asn Pro Lys Ala Gln Asn Gly Asn Lys Lys Lys Thr Asn Lys Lys Pro
100 105 110

Gly Lys Arg Gln Arg Met Val Met Lys Leu Glu Ser Asp Lys Thr Phe
115 120 125

Pro Ile Met Leu Glu Gly Lys Ile Asn Gly Tyr Ala Cys Val Val Gly
130 135 140

[0125]

Gly Lys Leu Phe Arg Pro Met His Val Glu Gly Lys Ile Asp Asn Asp
145 150 155 160

Val Leu Ala Ala Leu Lys Thr Lys Lys Ala Ser Lys Tyr Asp Leu Glu
165 170 175

Tyr Ala Asp Val Pro Gln Asn Met Arg Ala Asp Thr Phe Lys Tyr Thr
180 185 190

His Glu Lys Pro Gln Gly Tyr Tyr Ser Trp His His Gly Ala Val Gln
195 200 205

Tyr Glu Asn Gly Arg Phe Thr Val Pro Lys Gly Val Gly Ala Lys Gly
210 215 220

Asp Ser Gly Arg Pro Ile Leu Asp Asn Gln Gly Arg Val Val Ala Ile
225 230 235 240

Val Leu Gly Gly Val Asn Glu Gly Ser Arg Thr Ala Leu Ser Val Val
245 250 255

Met Trp Asn Glu Lys Gly Val Thr Val Lys Tyr Thr Pro Glu Asn Cys
260 265 270

Glu Gln Trp

[0126]

275

<210> 45

<211> 8467

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP31.11 载体

<400> 45

gaattcccat tgcatacggt gtatccatat cataatatgt acatttatat tggetcatgt 60

ccaacattac cgccatgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg 120

gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttcccggtta cataacttac ggtaaattgc 180

ccgcctggct gaccgcccac cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc 240

atagtaacgc caataggagc ttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaac 300

gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgeccctat tgacgtcaat 360

gacggtaaat ggcccgcctg gcattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact 420

tggcagtaca tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac 480

atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac 540

gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaat caacgggact tcccacaaat tcgtaacaac 600

tccgcccacat tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtcta tataagcaga 660

[0127]

gctcgtttag tgaaccgtca gatcgccctgg agacgccatc cacgcigtgt tgacctecat	720
agaagacacc gggaccgata cagcctccgt taacggtgga gggcagtgtg gtcigagcag	780
tactcgttgc tgccgcgcgc gccaccagac ataatagctg acagactaac agactgttcc	840
tttceatggg tctttctgc agtcaccgtc gtgcacacgt gtgatcagat atcgcgcccg	900
ccaccatgga gttcateccg acgcaaactt tctataacag aaggtaccaa ccccgaccct	960
gggccccacg ccttacaatt caagtaatta gacctagacc acgtccacag aggcaggctg	1020
ggcaactcgc ccagctgata tccgcagtea acaaattgac catgcgcgcg gtacctcaac	1080
agaagcctcg cagaaatcgg aaaaacaaga agcaaaggca gaagaagcag gcgccgcaaa	1140
acgacccaaa gcaaaagaag caaccaccac aaaagaagcc ggctcaaaag aagaagaaac	1200
caggccgtag ggagagaatg tgcataaaaa ttgaaaatga ttgcatcttc gaagtcaagc	1260
atgaaggcaa agtgatgggc tacgcatgcc tgggtggggga taaagtaatg aaaccagcac	1320
atgtgaaggg aactatcgac aatgccgata tggctaaact ggcttttaag cggtcgtcta	1380
aatacgatct tgaatgtgca cagataccgg tgcacatgaa gtctgatgcc tcgaagtta	1440
cccacgagaa acccgagggg tactataact ggcatcacgg agcagtgcag tattcaggag	1500
gccggttcac tateccgacg ggtgcaggca agccgggaga cagcggcaga ccgatcttcg	1560
acaacaaaag acgggtgggt gccatcgtcc taggaggggc caacgaaggt gccgcacgg	1620

[0128]

ccctctccgt ggtgacgtgg aacaaagaca tcgtcacaaa aattaccctt gagggagccg	1680
aagagtggag cctegccctc ceggtcttgt gcctgttggc aaacactaca ttcccctgct	1740
ctcagecgcc ttgcacaccc tgetgtacg aaaaggaacc ggaaagcacc ttgcgcattg	1800
ttgaggacaa cgtgatgaga cccgatact accagctact aaaagcatcg ctgacttgct	1860
ctccccaccg ccaaagacgc agtactaagg acaattttaa tgtctataaa gccacaagac	1920
catatctage tcattgtcct gactgaggag aagggcattc gtgccacagc cctatcgcat	1980
tggagcgcat cagaaatgaa gcaacggacg gaacgctgaa aatccaggtc tctttgcaga	2040
tggggataaa gacagatgac agccacgatt ggaccaagct gcgctatatg gatagccata	2100
cgccagcgga cgggagcga gccgattgc ttgtaaggac ttcagcacgc tgcacgatca	2160
cggggaccat gggacaattt attctcgccc gatgcccgaa aggagagaag ctgacagtgg	2220
gatttacgga cagcagaaag atcagccaca catgcacaca cccgttccat catgaaccac	2280
ctgtgatagg tagggagagg ttccactctc gaccacaaca tggtaaagag ttaccttgca	2340
gcacgtacgt gcagagcacc gctgccactg ctgaggagat agaggtgcat atgccccag	2400
atactctga cgcacgctg atgacgcagc agtctggcaa cgtgaagatc acagttaatg	2460
ggcagacggt ggggtacaag tgcaactgcg gtggctccgg aggactaac tggtaaccga	2520
tgagccccag caaccagacg gacaagetgg ccgccttcgg aggatccaac gagggactga	2580
caaccacaga caaagtgate aataactgca aaattgatca gtgccatgct gcagtcacta	2640

[0129]

atcacaagaa ttggcaatac aactccccctt tagtccccgcg caacgctgaa ctcggggacc	2700
gtaaaggaaa gatccacatc ccattcccat tggcaaacgt gacttgcaga gtgccaaaag	2760
caagaaaccc tacagtaact tacggaaaaa accaagtcac catgctgetg tatectgacc	2820
atccgacact cttgtcttac cgtaacatgg gacaggaacc aaattaccac gaggagtggg	2880
tgacacacaa gaaggaggtt accttgaccg tgcctactga gggctcggag gtcacttggg	2940
gcaacaacga accatacaag tactggccgc agatgtctac gaacggfact gtcctatggc	3000
accacatga gataatcttg tactattaig agctgtaccc cactatgact gtagtcattg	3060
tgtcggtggc ctcttctgtg cttctgtcga tgggtgggcac agcagtggga atgtgtgtgt	3120
gcgcacggcg cagatgcatt acaccatatg aattaacacc aggagccact gtcccttcc	3180
tgtcagcct gctatgetgc gtcagaacga ccaaggcgcc cacaattac gaggetcggg	3240
catatctatg gaacgaacag cagccccgtg tctggttgca ggctcttata ccgctggccg	3300
ccttgatcgt cctgtgcaac tgtctgaaac tcttgccatg ctgctgtaag accctggctt	3360
ttttagccgt aatgagcatc ggtgcccaca ctgtgagcgc gtacgaacac gtaacagtga	3420
tccgaacac ggtgggagta ccgtataaga ctcttgtaa cagaccgggt tacagcccca	3480
tgggtgtgga gatggagcta caatcagtca ccttggaacc aacactgtca ctigactaca	3540
tcacgtcga gtacaaaact gtcacccct ccccgtagt gaagtgtgt ggtacagcag	3600

[0130]

agtgaagga caagagccta ccagactaca gctgcaaggt ctttactgga gcttaccat	3660
ttatgtgggg cggegcctac tgcctttgag acgcgaaaa tacgcaattg agcgaggcac	3720
atgtagagaa atctgaatct tgcaaacag agtttgcac gccctacaga gccacaccg	3780
categgcgtc ggcaagctc cgcgtccttt accaaggaaa caacattacc gtagetgct	3840
acgctaacgg tgaccatgcc gtcacagtaa aggaagccaa gtttgcgtg ggcccaatgt	3900
cctccgctg gacacctttt gacaacaaaa tegtgtgta caaaggcgac gtctacaaca	3960
tggactacce accttttggc gcaggaagac caggacaatt tggtagacatt caaagtcgta	4020
caccggaag taaagacgtt tatgccaaca ctacattgg actacagagg ccagcagcag	4080
gaacgttaca tgtaaccatac tctcaggcac catctggctt caagtattgg ctgaaggaa	4140
gaggagcate gctacagcac acggcacctt tgggttgcca gattgcgaca aacccggtaa	4200
gagctgtaaa ttgcgctgtg gggaacatac caatttccat cgacataccg gatcgggct	4260
ttactagggt tgtegatgca cctctgtta cggacatgct atgcgaagta ccagcctgca	4320
ctcactctc cgactttggg ggcgtcgcca tcatcaata cacagctagc aagaaaggta	4380
aatgtgcagt acattcgatg accaacgccc ttaccattcg agaagccgac gtagaagtag	4440
aggggaactc ccagctgcaa atatccttct caacagccct ggcaagegcc gagtttcgag	4500
tgcaagtgtg ctccacacaa gtacactgag cagcgcgatg ccacctcca aaggaccaca	4560
tagtcaatta cccagcatca cacaccaccc ttgggggtcca ggaatattcc acaacggcaa	4620

[0131]

tgtcttgggt gcagaagatt acgggaggag taggattaat tgttgctgtt gctgccttaa	4680
ttttaattgt ggtgctatgc gtgtcgttta gcaggcacta aggatctaga tctgctgtgc	4740
cttctagtig ccagccatct gtgttttggc cctccccctg gccctccctg accctggaag	4800
gtgceactec cactgtcctt tcctaataaa atgaggaaat tgcctcgcct tgtctgagta	4860
ggtgtcattc tattctgggg ggtggggtgg ggcaggacag caagggggag gattgggaag	4920
acaatagcag gcctgctggg gatgcggtgg gctctatggg taccaggtg ctgaagaatt	4980
gaccegttc ctctgggcc agaaagaagc aggcacatcc cttctctgt gacacacct	5040
gtccacgcc ctggttctta gtccagccc cactcatagg acatcatag ctccaggagg	5100
ctccgcttc aatcccaccc gctaaagtac ttggagcgtt ctctccctcc ctccatagcc	5160
caccaaacca aacctagcct ccaagagtgg gaagaaatta aagcaagata ggctattaag	5220
tgcagaggga gagaaaatgc ctccaacatg tgaggaagta atgagagaaa tcatagaatt	5280
ttaaggccat gatttaaggc catcatggcc taagcttgaa aggagatagg atcaaagctt	5340
ggcgtaatca tggctatagc tgtttctgt gtgaaattgt tatccgtca caattccaca	5400
caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaataag tgagetaact	5460
cacattaatt gcttgcgct cactgcccc ttccagtcg ggaacctgt cgtgccagct	5520
gcattaatga atcgccaac gcgcggggag aggcggttg cgtattgggc gctcttcgc	5580

[0132]

ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg taccagctca	5640
ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacaatgtg	5700
agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca	5760
taggtcctgc cccctgacg agcatcaca aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa	5820
cccgacagga ctataaagat accaggcggt tccccctgga agctccctcg tgcgtctccc	5880
tgttccgacc ctgcccttta ccggataact gtcgccttt ctcctctcgg gaagcgtggc	5940
gctttctcat agctcacgt gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gcaccaagct	6000
ggcctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttaccg gtaactatcg	6060
tcttgagtc aacccggtaa gacacgaatt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag	6120
gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta	6180
cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttacctcgg	6240
aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt	6300
tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc cttgatctt	6360
ttctacgggg tctgacgctc agtggaaacga aaactcacgt taagggattt tggatcatgag	6420
attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat	6480
ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttacca tgcttaatca gtgaggcacc	6540
tatctcagcg atctgtctat ttcttctatc catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat	6600

[0133]

aactacgata cgggagggtt taccatctgg ccccagtgt gcaatgatac cgcgagaacc	6660
acgctcaccg gctccagatt taccagcaat aaaccagcca gccggaagg cgcagcgcag	6720
aagtggicct gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag	6780
agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacgttggt gccattgcta caggcatcgt	6840
ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggttc attcagctcc ggttcccaac gateaaggcg	6900
agttacatga tccccatgt tctgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt	6960
tgtcagaagt aagttggccg cagtgttacc actcatggtt atggcagcac tgcataattc	7020
tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc	7080
attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtaa tacgggataa	7140
taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt ctccggggcg	7200
aaaactctca aggatcttac cgtgttgag atccagttcg atgtaacca ctctgtcacc	7260
caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtagcaa aaacaggaag	7320
gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt	7380
ctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt	7440
tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg ggttcgcgc acatttccc gaaaagtgcc	7500
acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaac tataaaaata ggcgtatcac	7560

[0134]

gaggcccttt cgggtcgcgc gtttcggtga tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct	7620
cccgttgacg gtcacagctt gtcgtgaagc ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg	7680
cgcgtcagcg ggtgttgccg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat	7740
tgtactgaga gtgcaccata aaattgtaaa cgtaataatt ttgttaaaat tcgcgttaaa	7800
tttttgtaa atcagctcat ttttiaacca ataggccgaa atcggcaaaa tcccttataa	7860
atcaaaagaa tagcccgaga tagggttgag tgttgttcca gtttggaca agagtcact	7920
attaaagaac gtggactcca acgtcaaagg gcgaaaaacc gtctatcagg gcgatgccc	7980
actacgtgaa ccatcaccca aatcaagitt ttgggggtcg aggtgccgta aagcactaaa	8040
tcggaacctt aaaggagacc cccgatttag agcttgacgg ggaaagccgg cgaacgtggc	8100
gagaaaggaa gggaagaaag cgaaaggagc gggcgctagg gcgtggcaa gtgtagcgg	8160
cacgtcgcgc gtaaccacca caccgcgcgc gcttaatgcg ccgtacagg gcgcgtacta	8220
tggttgcttt gacgtatgcg gtgigaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc	8280
atcaggcgcc attcgccatt caggtcgcgc aactgttggg aaggcgatc ggtcggggcc	8340
tcttcgtat tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta	8400
acgccagggt tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt ccatggtctc	8460
aactttc	8467

[0135]

<210> 46

<211> 8452

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP274.11 载体

<400> 46

gaattcccat tgcatacgtt gfatccatat cataatatgt acatttatat tggetcatgt 60

ccaacattac cgccatgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg 120

gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttccgcgita cataacttac ggtaaatggc 180

ccgcctggct gaccgcccac cgaccccgcc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc 240

atagtaacgc caataggagc ttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact 300

gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgccccctat tgacgtcaat 360

gaecgtaaat ggcccgctg gcattatgcc cagtacatga ccttatggga ctctcctact 420

tggcagtaca tctacgtatt agtcacgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac 480

atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac 540

gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac 600

tccgccccat tgaacgcaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtcta tataagcaga 660

getcgtttag tgaaccgtca gatcgctgg agacgccatc cacgtgttt tgacctccat 720

[0136]

agaagacacc gggaccgata cagcctccgt taacggtaga gggcagtgta gtctgagcag	780
tactcgttgc tgcgcgcgc gccaccagac ataatacgtg acagactaac agactgttcc	840
tttccatggg tcttttctgc agtcaccgtc gtcgacacgt gtgatcagat atcgcggccg	900
ccaccatgga gttcatcccg acgcaaacctt tctatnacag aaggtaacca ccccgaccct	960
gggccccacg cctacaatt caagtaatta gaactagacc acgtccacag aggcaggctg	1020
ggcaactcgc ccagctgata tccgcagtca acaaattgac catgcgcgcg gtacctcaac	1080
agaagcctcg cagaaatcgg aaaaacaaga agcaaaggca gaagaagcag gcgccgcaaa	1140
acgacccaaa gcaaaagaag caaccaccac aaaagaagcc ggctcaaaag aagaagaaac	1200
caggccgtag ggagagaatg tgcataaaaa ttgaaaatga ttgcatcttc gaagtcaagc	1260
atgaaggcaa agtgatgggc tacgcatgcc tgggtgggga taaagtaatg aaaccagcac	1320
atgtgaaggg aactatcgac aatgccgata tggtctaaact ggcctttaag cggtcgtcta	1380
aatacgatct tgaatgtgca cagataccgg tgcacatgaa gtctgatgcc tcgaagtta	1440
ccaacgagaa acccgagggg tactataact ggcatcacgg agcagtcag tattcaggag	1500
gccggttcac tatcccgacg ggtagcaggca agccgggaga cagcggcaga ccgatcttcg	1560
acaacaaagg acgggtgggt gccatcgctc taggaggggc caacgaaggt gccgcacgg	1620
ccctctccgt ggtgacgtgg aacaaagaca tegtcaaaa aattaccctt gagggagccg	1680
aagagtggag cctcgccctc ccggtcttgt gcctgttggc aaacactaca ttcccttgc	1740

[0137]

ctcagccgcc ttgcacaccc tgtgtctacg aaaaggaacc ggaaagcacc ttgcgcacgc	1800
ttgaggacaa cgtgatgaga cccggatact accagctact aaaagcatcg ctgacttgct	1860
ctccccaccg ccaaagacgc agtactaagg acaattttaa tgtctataaa gccacaagac	1920
catatctagc tcattgtect gactgeggag aagggcattc gtgccacagc cctatcgcat	1980
tggagcgcac cagaaatgaa gcaacggacg gaacgctgaa aatccaggtc tctttgcaga	2040
tcgggataaa gacagatgac agccacgatt ggaccaagct gcgctatatg gatagccata	2100
cgccagcggg cgcggagcga gccggattgc ttgtaaggac ttcagcaccg tgcacgatca	2160
ccgggaccat gggacacttt attctcgcgc gatgccecgaa aggagagacg ctgacagtgg	2220
gatttacgga cagcagaaaag atcagccaca catgcacaca cccgttccat catgaaccac	2280
ctgtgatagg tagggagagg ttccactctc gaccacaaca tggtaaagag ttacettgca	2340
gcacgtacgt gcagagcacc gctgccactg ctgaggagat agaggatcat atgccccag	2400
atactcctga ccgcacgcig atgacgcagc agtctggcaa cgtgaagatc acagttaatg	2460
ggcagacggt gcggtacaag tgcaactgcg gtggctccgg aggcggcgcc atcagcctgc	2520
accccaaggc caagatcgag gaatctggat ccaacgaggg actgacaacc acagacaaag	2580
tgatcaataa ctgcaaaatt gatcagtgcc atgctgcagt cactaatcac aagaattggc	2640
aatacaactc ccctttagtc ccgcgcaacg ctgaactcgg ggaccgtaaa ggaaagatcc	2700

[0138]

acatccatt cccattggca aacgtgactt gcagagtgcc aaaagcaaga aaccctacag	2760
taacttacgg aaaaaaccaa gtcaccatgc tgcigtatcc tgaccatecg acactcttgt	2820
cttaccgtaa catgggacag gaaccaaatt accacgagga gtgggtgaca cacaagaagg	2880
aggttacett gaccgtgcct actgagggtc tggaggtcac ttggggcnac aacgaacct	2940
acaagtactg gccgcagatg tctacgaacg gtactgtcca tggtcacca catgagataa	3000
tcttgtacta ttatgagctg tacccacta tgactgtagt cattgtgtcg gtgacctcg	3060
tctgtcttct gtcgatgtg ggcacagcag tgggaatgtg tgtgtgcga cggcgcagat	3120
gcattacacc atatgaattt acaccaggag ccactgttcc ctctctgtc agcctgetat	3180
gtgcgtcag aacgaccaag gggccacat attacgagge tgcggcatat ctatggaacg	3240
aacagcagcc cctgttctgg ttgcaggtc ttatcccgct ggccgccttg atcgtcctgt	3300
gcaactgtct gaaactcttg ccattgtct gtaagacct ggctttttta gccgtaatga	3360
gcacgggtgc ccacactgtg agegcgtacg aacacgtaac agtgatcccg aacacggtgg	3420
gagtaccgta taagactctt gtcaacagac cgggttacag ccccatggtg ttggagatgg	3480
agctacaatc agtcaccttg gaaccaacac tgtcacttga ctacatcacg tgcgagtaca	3540
aaactgtcat cccctcccgc tacgtgaagt gctgtggtac agcagagtgc aaggacaaga	3600
gctaccaga ctacagctgc aaggctttta ctggagtcta cccatttatg tggggcggcg	3660
cctactgctt ttgcgacgcc gaaaatacgc aattgagcga ggcacatgta gagaaatctg	3720

[0139]

aatcttgcaa aacagagttt gcatcggcct acagagccca caccgcatcg gcgtcggcga	3780
agctccgcgt cctttaccaa ggaaacaaca ttaccgtagc tgcctacgct aacggtgacc	3840
atgccgtcac agtaaaggac gccaaagtttgc tegtgggccc aatgtccctc gcttgacac	3900
cttttgacaa caaaatcgtg gtgtacaaag gcgacgtcta caacatggac taccacctt	3960
ttggcgcagg aagaccagga caatttggtg acattcaaag tcgtacaccg gaaagtaaag	4020
acgtttatgc caacactcag ttggtactac agaggccagc agcaggcacg gtacatgtac	4080
catactctca ggcaccatct ggcctcaagt attggctgaa ggaacgagga gcacgctac	4140
agcacacggc accgttcggt tgccagattg cgacaaaccc ggtaagagct gtaaattgcg	4200
ctgtggggaa cataccaatt tccatcgaca taccggatgc ggcctttact agggttgtcg	4260
atgcaccctc tgtaacggac atgtcatgcg aagtaccagc ctgcactcac tcttcgact	4320
ttggggggcgt cgccatcacc aaatacacag ctagcaagaa aggtaaatgt gcagtacatt	4380
cgatgaccaa cgccgttacc attcgagaag ccgacgtaga agtagagggg aactcccagc	4440
tgcaaataac cttctcaaca gccctggcaa gcgcgagtt tcgcgtgcaa gtgtgtccca	4500
cacaagtaca ctgcgcagcc gcattgccacc ctccaaagga ccacatagtc aattacceag	4560
catcacacac cacccttggg gtccaggata tatccacaac ggcaatgtct tgggtgcaga	4620
agattacggg aggagtagga ttaattgttg ctgttgctgc cttaatttta attgtggtgc	4680

[0140]

tatgcgtgtc gtttagcagg cactaaggat ctagatctgc tgtgccttct agttgccagc	4740
catctgttgt ttgccctccc cccgtgccct ccttgacctt ggaagggtgc actcccactg	4800
tcctttccta ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc	4860
tggggggtgg ggtggggcag gacagcaagg gggaggatig ggaagacaa agcaggcatg	4920
ctggggatgc ggtgggctct atgggtaccc aggtgctgaa gaattgacct ggttctctct	4980
gggccagaaa gaagcaggca catccccttc tctgtgacac acctgtcca cgcctctgtt	5040
tcttagttcc agccccactc ataggacact catagctcag gagggctccg ccttcaatcc	5100
caccgcgtaa agtacttggg ggggtctctc cctcccctat cagcccacca aaccaaacct	5160
agcctccaag agtgggaaga aattaaagca agataggcta ttaagtgcag agggagagaa	5220
aatgcctcca acatgtgagg aagtaatgag agaaatcata gaattttaag gccatgattt	5280
aaggccatca tggcctaagc ttgaaaggag ataggatcaa agcttggcgt aatcatggtc	5340
atagctgttt cctgttgtaa attgttatec gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg	5400
aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt	5460
gcgtcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg	5520
ccaacgcgcg gggagaggeg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttctt cgtcactga	5580
ctcgetgcgc tcggtcgttc ggcgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat	5640
acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaagaac atgtgagcaa aaggccagca	5700

[0141]

aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc	5760
tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtag cgaaaccgga caggactata	5820
aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgacctgccc	5880
gcttaccgga taccgtgccc cctttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc	5940
acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga	6000
acccccggtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc	6060
ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag	6120
gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtaggct aactacggtt aactagaag	6180
aacagtatit ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttccgaaaaa gatttggtag	6240
ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtagt tttttgttt gcaagcagca	6300
gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga agatccttg atcttttcta cggggtctga	6360
cgctcagtag aacgaaaact cactgtaagg gattttggc atgagattat caaaaaggat	6420
cttcacctag atctttttaa attaaaaatg aagtttttaa tcaatctaaa gtatatatga	6480
gtaaaacttg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg	6540
tctatttcgt tcatccatag ttgctgact ccccgctgtg tagataacta cgatacggga	6600
gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcca gaaccacgct caccgctccc	6660

[0142]

agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac	6720
tttatecgec tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc	6780
agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacagge atcgtgggtg cacgctcgtc	6840
gittggtatg gcttcatica gctccggttc ccaacgatica aggcgagtta catgatcccc	6900
catgtttgtc aaaaaagcgg ttagctcctt cggctectccg atcgttgtca gaagtaagtt	6960
ggccgcagtg ttaatactca tggttatgga agcaactgcat aattctctta ctgtcatgcc	7020
atccgtaaga tgctttttctg tgactgggtg gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg	7080
tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataatacgg cgccacatag	7140
cagaacttta aaagtgtca tcaattgaaa acgtttcttcg gggcgaaaaac tctcaaggat	7200
cttaccgctg ttgagatcca gttagatgta acccactcgt gcacccaact gatcttcagc	7260
atcttttact ttaccagcgg ttcttgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgcgcgaaa	7320
aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta	7380
ttgaagcatt tatcagggtt atgtctcat ggcggatag atattigaat gtatttagaa	7440
aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga	7500
aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgagge cctttcgggt	7560
cgcgcgttgc ggigatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgt tgacggcac	7620
agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt	7680

[0143]

tggcgggtgt cggggtggc ttaactatgc ggcatcagag cagattgtac tgagagtga	7740
ccataaaatt gtaaacgtta atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt gttaaatcag	7800
ctcatttttt aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa aagaatagcc	7860
cgagataggg ttgagtgttg ttccagtttg gaacaagagt ccactattaa agaacgtgga	7920
ctccaacgtc aaaggcgcaa aaaccgtcta tcaggcgcat ggcccactac gtgaaccatc	7980
acccaaatca agtttttttg gtcgaggtg ccgtaaagca ctaaategga accetaaagg	8040
gagccccga tttagagctt gacggggaaa gccggcgaac gtggcgagaa aggaaggga	8100
gaaagcga aaaggcggtg ctaggcgct ggcaagtga gcggtcacgc tgcgcgtaac	8160
caccacaccc gccgcgtta atgcgccgt acaggcgcg tactatggtt gctttgacgt	8220
atgcggtgtg aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat accgcatcag gcgccattcg	8280
ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaaggc cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc	8340
cagctggcga aagggggatg tgcctgaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc	8400
cagtcacgac gttgtaaaac gacggccagt gaattccatg gctcgaactt tc	8452

<210> 47

<211> 7290

<212> DNA

<213> 人工

[0144]

<220>

<223> VLP299.15 载体

<400> 47

tcgcgcgttt cggatgatgac ggtagaaaacc teigacacat gcagctcccg gagacggta	60
cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg	120
ttagcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcacaga gcagattgta ctgagagtgc	180
accatatgag gtagaaata ccgcacagat ggtagaggag aaaataccgc atcaggcgcc	240
attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aagggcgac ggtgcgggcc tcttcgtat	300
tacgccagct ggcgaaagg gtagtgctg caaggcgatt aagtgggta acgccagggt	360
tttcccagtc acgacgttg aaaacgacgg ccagtgaatt gacgcgtgtt ggcattgatt	420
attgactagt taataatag aatcaattac ggggtcatta gtccatagcc catataigga	480
gttccgcgtt acataactta cgttaaattg cccgcctggc tgaccgccc acgaccccg	540
ccatttgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctitccattg	600
acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaac tgcacctg gcagtacac aagtgtatca	660
tatgccaaat acgcccccta ttacgtcaa tgacgtaaa tgcccgccct ggcattatgc	720
ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagta atctacgtat tagtcacgc	780
tattaccaat gtgatcggt tttggcagta caacaatgg cgtggatagc ggtttgactc	840
acggggattt ccaagtcct accccattga cgtcaatggg agtttgtttt ggcacaaaa	900

[0145]

tcaacgggac ttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcecca ttgacgcaa tgggcggtag	960
gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgttta gtgaaccgtc agataactgc	1020
aggtcgacga tatcgcggcc gccaccatgt tcccgttcca gccaatgtat ccgatgcagc	1080
caatgcccta tcgcaaccgc ttcgcggecc cgcgcaggcc ctggttcccc agaaccgacc	1140
cttttctggc gatgcaggtg caggaattaa cccgctcgat ggctaacctg acgttcaagc	1200
aacgccggga cgcgccacct gaggggccat ccgctaataa accgaagaag gaggcctcgc	1260
aaaaacagaa agggggaggc caagggaaga agaagaagaa ccaagggaag aagaaggcta	1320
agacagggcc gcctaatecg aaggcacaga atggaaacaa gaagaagacc aacaagaaac	1380
caggcaagag acagcgcatt gtcattgaaat tggaattctga caagacgttc ccaatcatgt	1440
tggaaggga gataaacggc tacgcttgtg tggtcggagg gaagttattc aggcctatgc	1500
atgtggaagg caagatcgac aacgacgttc tggcgcgct taagacgaag aaagcatcca	1560
aatacgatct tgagtatgca gatgtgccac agaacatgcg ggccgataca ttcaaataca	1620
cccatgagaa accccaaggc tattacagct ggcatcatgg agcagtccaa tatgaaaatg	1680
ggcgtttcac ggtgccgaaa ggagttgggg ccaagggaga cagcggacga cccattctgg	1740
ataaccaggg acgggtggtc gctattgtgc tgggaggtgt gaatgaagga tctaggacag	1800
ccctttcagt cgtcatgtgg aacgagaagg gagttaccgt gaagtatact ccagagaact	1860

[0146]

gcgagcaatg gtcactagtg accaccatgt gtctgtctgc caatgtgacg tteccatgtg	1920
ctcaaccacc aatttgetac gacagaaaac cagcagagac tttggccatg ctcagcgta	1980
acgttgacaa cccgggtac gatgagctgc tggaagcagc tgtaagtgc cccggaagga	2040
aaaggagatc caccgaggag ctgtttaatg agtataagct aacgcgcctt tacatggcca	2100
gatgcatcag atgtgcagtt gggagctgcc atagtccaat agcaatcgag gcagtaagaa	2160
gcgacgggca cgacggitat gttagacttc agacttcctc gcagtatggc ctggattcct	2220
ccggcaactt aaagggcagg accatgcggt atgacatgca cgggaccatt aaagagatac	2280
cactacatca agtgtcactc tatacatctc gccctgtica cattgtggat gggcacggtt	2340
atttccctgt tgcaggtgc ccggcagggg actccatcac catggaattt aagaaagatt	2400
ccgtcagaca ctctgtctcg gtgcctatg aagtgaattt taatcctgta ggcagagaac	2460
tctatactca tccccagaa cacggagtag agcaagcgtg ccaagtctac gcacatgatg	2520
cacagaacag aggagcttat gtcgagatgc acctcccggg ctcagaagtg gacagcagtt	2580
tggtttcctt gagcggcagt tccggaggct gcatcatcag ctacggcgga gccgactact	2640
gcggcggatc ctcagtcacc gtgacacctc ctgatgggac tagcgcctg gtggaatgcg	2700
agtgtggcgg cacaaagatc tccgagaacca tcaacaagac aaaacagttc agccagtga	2760
caaagaagga gcagtgcaga gcatatcggc tgcagaacga taagtgggtg tataattctg	2820
acaaactgcc caaagcagcg ggagccacct taaaaggaaa actgcatgtc ccattcttgc	2880

[0147]

tgccagacgg caaatgcacc gtgcctctag caccagaacc tatgataacc ttccggtttca	2940
gatacagtgct actgaaactg caccctaaga atcccacata tctaatacacc cgccaacttg	3000
ctgatgagcc tcaatacagc caagagctca tatctgaacc agctgttagg aatttttaaccg	3060
tcaccgaaaa aggggtgggag ttgttatggg gaaaccaccc gccgaaaagg ttgtgggcac	3120
aggaaacagc acccggaat ccacatgggc taccgcacga ggtgataact caattattacc	3180
acagataccc tatgtccacc atcctgggtt tgcataattg tgccgccatt gcaaccgttt	3240
ccgttgccgc gtctacctgg ctgttttgcg gatcaagagt tgcgtgccta actccttacc	3300
ggctaacacc taacgctagg ataccatttt gtctggctgt gctttgctgc gccgcactg	3360
cccgggccga gaccacctgg gagtccttgg atcacctaig gaacaataac caacagatgt	3420
tctggattca attgctgac cctctggcgg ccttgatagt agtgactcgc ctgctcaggt	3480
gcgtgtgctg tgcgtgcct tttttagtcg tggccggcgc cgcaggcgcc ggcgcctacg	3540
agcacgcgac cagatgcgg agccaagcgg gaatctcgta taacactata gtcaacagag	3600
caggctacgc accactccct atcagcataa caccaacaaa gateaagctg atacctacag	3660
tgaacttggg gtacgtcacc tgccactaca aaacaggaat ggattcacca gccatcaaat	3720
gctgcggatc tcaggaatgc actccaactt acaggcctga tgaacagtgc aaagtcttca	3780
caggggttta cccgttcatg tggggtgggt catattgctt ttgcgacct gagaacaccc	3840

[0148]

aagtcagcaa ggcctacgta atgaaatctg acgactgcct tgcggatcat gctgaagcat	3900
ataaagcgca cacagccfca gtgcaggcgt tccfcaacat cacagtggga gaacactcta	3960
ttgtgactac cgtgtatgtg aatggagaaa ctectgtgaa ttccaatggg gtcaaaataa	4020
ctgcaggtec gctttceaca gcttggacac cctttgatcg caaaatcgtg cagtatgccg	4080
gggagatata taattatgat tticctgagt atggggcagg acaaccagga gcatttggag	4140
atatacaatc cagaacagtc tcaagctctg atctgtatgc caataccaac ctagtctgc	4200
agagacccaa agcaggagcg atccacgtgc catacactca ggcaccttcg ggitttgagc	4260
aatggaagaa agataaagct ccatcattga aatttaccgc ccttttcgga tgcgaaatat	4320
atacaaaccc cattecgccc gaaaacigtg ctgtagggtc aattccatta gcctttgaca	4380
ttcccagcgc cttgttcacc aggggtgcag aaacaccgac actttcagcg gccgaatgca	4440
ctcttaacga gtgcgtgtat tcttccgact ttgggtgggat cgccacggtc aagtactcgg	4500
ccageaagtc aggcaagtgc gcagtcctat tgccatcagg gactgctacc ctaaaagaag	4560
cagcagtcga gctaaccgag caagggtcgg cgactatcca ttctcagacc gcaaataacc	4620
acccggagtt caggctccaa atatgcacat catatgttac gtgcaaaggt gattgtcacc	4680
ccccgaaaga ccatattgtg acacaccctc agtatcacgc ccaaacattt acagccgcgg	4740
tgcaaaaaac cgcgtggacg tggtaacat ccctgctggg aggatecagcc glaattatta	4800
taattggctt ggtgctggct actattgtgg ccattgtacgt gctgaccaac cagaaacata	4860

[0149]

attaaggatc tagatctgct gtgccttcta gtigccagcc atctgttgtt tgccctccc	4920
ccgtgccttc cttgaccttg gaaggtagca ctccactgt cctttcctaa taaaatgagg	4980
aaattgcate gcattgtctg agtaggtgtc attctattct ggggggtggg gtggggcagg	5040
acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc tggggatgeg gtgggctcta	5100
tggctcgagc atggcatag ctgtttcttg tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac	5160
acaacatacg agccggaagc ataaagtgtg aagcctgggg tgcctaatga gtgagctaac	5220
tcacattaat tgcgttgcgc tcactgcccg ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc	5280
tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga gagcggttt gcgtattggg cgtctttccg	5340
cttctcgcct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc	5400
actcaaagcg ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt	5460
gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaagcg cgcgttgcct gcgtttttcc	5520
ataggtcccg cccccctgac gacatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa	5580
accgcacagg actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc gtgcgctctc	5640
ctgttccgac cctgcgcctt accggatacc tgtegcctt tctcccttcg ggaagcgtag	5700
cgttttctca tagctcaegc ttaggtatc tcagttcggg ttaggtcgtt cgtccaagc	5760
tgggctgigt gcacgaacc cccgttcagc ccgaccgtg cgccttatcc ggtactatc	5820

[0150]

gtcttgagtc caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca	5880
ggattagcag agcgaggat gtaggggtg ctacagagtt ctggaagtg tggcctaact	5940
acggctacac tagaagaaca gtatttggtg tctgcgtct gctgaagcca gttacctcg	6000
gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgtggtagc ggtggtttt	6060
ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct	6120
ttctacggg gtctgacgt cagtggacg aaaactcac ttaagggtt ttggtcatga	6180
gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatia aaaatgaagt ttiaaatcaa	6240
tctaaagtat atatgagtaa acttggcttg acagttagaa aaatcatcg agcatcaaat	6300
gaaactgcaa ttatttcata tcaggattat caataccata ttttgaaaa agccgtttct	6360
gtaatgaagg agaaaactca ccgaggcagt tccataggat ggcaagatec tggtatcggt	6420
ctgcgattcc gactcgicca acatcaatac aacctattaa ttccccctcg tcaaaaataa	6480
ggttatcaag tgagaaatca ccatgagtga cgactgaatc cgtgagaat ggcaaaagtt	6540
tatgcatttc ttccagact tgitcaacag gccagccatt acgtctgtca tcaaaatcac	6600
tcgcatcaac caaacgtta ttcattcttg attgcgcctg agcgagacga aatacgcgat	6660
cgtgtttaa aggacaatta caaacaggaa tcgaatgcaa ccggcgcagg aacactgcc	6720
gcgcataac aatattttca ctgaatcag gatattcttc taatacctgg aatgctgtt	6780
tcccagggat cgcagtgggt agtaaccatg catcatcagg agtacggata aaatgcttga	6840

[0151]

tggtcggaag aggcataaat tccgtcagcc agtttagtct gaccatctca tctgtaacat	6900
cattggcaac gctacccttg ccatgtttca gaaacaactc tggcgcacgc ggttcccat	6960
acaatcgata gattgtcgca cctgattgcc cgacattatc gcgagcccat ttatacccat	7020
ataaatcagc atccatgttg gaatttaatc gcggcctaga gcaagacgtt tcccgttgaa	7080
tatggtcat actcttctt ttccaatatt attgaageat ttatcagggt tattgtctca	7140
tgagcggata cataattgaa tgtatttaga aaaataaaca aataggggtt ccgcgcacat	7200
ttccccgaaa agtgccacct gacgtctaag aaaccattat tatcatgaca ttaacctata	7260
aaaataggcg tatcagagg ccctttcgtc	7290

<210> 48

<211> 8491

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP31.21 载体

<400> 48

gaattcccat tgcatacgtt gtatccatat cataatatgt acatttatat tggtcatgt	60
ccaacattac cgccatgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg	120
gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttccgcgta cataacttac ggtaaatggc	180

[0152]

ccgcctggct gaccgcccac cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gfatgttccc	240
atagtaacgc caatagggac ttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact	300
gcccaattgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgcacctat fgacgtcaat	360
gacggtaaat ggcccgcctg gcattatgcc cagtacaiga ccttatggga ctttctact	420
tggcagtaca tctacgtatt agtcacgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac	480
atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccatggac	540
gtcaatggga gtttgttttg gcaccaaact caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac	600
tccgccccat tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacgtt gggaggctca tataagcaga	660
gtctgtttag tgaaccgtca gategcctgg agacgccatc cacgtgttt tgacctecat	720
agaagacacc gggaccgatc cagcctccgt taacggtgga gggcagtgtg gtctgagcag	780
tactcgttgc tgccgcgcgc gccaccagac ataatagctg acagactaac agactgttcc	840
tttccatggg tcttttctgc agtcaccgtc gtgcacacgt gtgatcagat atcgcgcccg	900
ccaccatgtt cccgttccag ccaatgtatc cgatgcagcc aatgccctat cgcaaccctg	960
tcgcggcccc gcgcaggccc tggttcccca gaaccgaccc ttttctggcg atgcaggtgc	1020
aggaattaac ccgtctgatg gctaacctga cgttcaagca acgccgggac gcgccacctg	1080
aggggccatc cgctaataaa ccgaagaagg aggcctcgca aaaacagaaa gggggaggcc	1140
aagggaagaa gaagaagaac caagggaaga agaaggctaa gacagggccg cctaatecga	1200

[0153]

aggcacagaa tggaacaag aagaagacca acaagaaacc aggcaagaga cagegcatgg	1260
tcattgaaatt ggaatctgac aagacgttcc caatcatgtt ggaagggaag ataaacggct	1320
acgtttgtgt ggtcggaggg aagttattca ggccgatgca tgtggaaggc aagatcgaca	1380
acgacgttct ggccgcgtt aagacgaaga aagcatecaa atacgatctt gagtatgcag	1440
atgtgccaca gaacatgcgg gccgatacat tcaaatacac ccatgagaaa cccaaggct	1500
attacagctg gcatcatgga gcagtcgaat atgaaaatgg gcgtttcacg gtgccgaaag	1560
gagttggggc caaggagagac agcggacgac ccattctgga taaccaggga cgggtggtcg	1620
ctattgtgct gggagggttg aatgaaggat ctaggacagc ctttcagtc gtcatgtgga	1680
acgagaaggg agttaccgtg aagtatactc cagagaactg cgagcaatgg tcactagtga	1740
ccaccatgtg tetgctegcc aatgtgacgt tcccatgtgc tcaaccacca atttgctacg	1800
acagaaaacc agcagagact ttggccatgc tcagegttaa cgttgacaac ccgggctacg	1860
atgagctgct ggaagcagct gtaagtgcc ccggaaggaa aaggagatcc accgaggagc	1920
tgtttaatga gtataagcta acgcgccctt acatggccag atgcatcaga tgtgcagttg	1980
ggagctgcc aagtccaata gcaatcgagg cagttaaagag cgacgggcac gacggttatg	2040
ttagacttca gacttctctg cagtatggcc tggattcttc cggcaactta aagggcagga	2100
ccatgcggta tgacatgcac gggaccatta aagagatacc actacatcaa gtgtcactct	2160

[0154]

atacatctcg cccgtgtcac attgtggatg ggcacggtta ttctctgctt gccaggigcc	2220
cggcagggga ctccatcacc atggaattta agaaagattc cgtcagacac tctgtctcgg	2280
tgccttatga agtgaaattt aatcctgtag gcagagaact ctatactcat cccccagaac	2340
acggagtaga gcaagcgtgc caagtctacg cacatgatgc acagaacaga ggagettatg	2400
tcgagatgea cctcccgggc tcagaagtgg acagcagttt ggtttcttig agcggcagtt	2460
ccggaggact aaactggtac cgcattgagc ccagcaacca gacggacaag ctgcccgcct	2520
tgggaggatc ctcatgcacc gtgacacctc ctgatgggac tagcgcctg gtggaatgcg	2580
agtgtggcgg cacaaagatc tccgagacca tcaacaagac aaaacagttc agccagtgc	2640
caaagaagga gcagtgcaga gcattatcgc tgcagaacga taagtgggtg tataattctg	2700
acaaactgcc caaagcagcg ggagccacct taaaaggaaa actgcattgc ccattcttgc	2760
tggcagacgg caaatgcacc gtgcctctag caccagaacc tatgataacc ttcggtttca	2820
gatcagtgtc actgaaactg caccctaaga atcccacata tctaateacc cgccaacttg	2880
ctgatgagcc tcactacacg cagagctca tatctgaacc agctgtagg aattttaccg	2940
tcaccgaaaa aggggtggag ttigtatggg gaaaccaccc gccgaaaagg ttttgggcac	3000
aggaaacagc acccggaat ccacatgggc taccgcacga ggtgataact cattattacc	3060
acagatacce tatgtccacc atcctgggtt tgtcaatttg tgccgccatt gcaaccgttt	3120
ccgttgcagc gtctacctgg ctgttttgca gatcaagagt tgcgtgccta actccttacc	3180

[0155]

ggctaacacc taacgctagg ataccatttt gtctggctgt gctttgctgc gccgcactg	3240
cccgggccga gaccacctgg gaggccttgg atcacctatg gaacaataac caacagatgt	3300
tctggattca attgctgac cctctggccg ccttgatcgt agtgactcgc ctgctcaggt	3360
gcgtgtgctg tgctgtgect tttttagtcg tggccggcgc cgcaggcgcc ggcgcctacg	3420
agcacgcgac cagcatgccg agccaagcgg gaatctcgta taacactata gtcaacagag	3480
caggctacgc accactccct atcagcataa caccaacaaa gatcaagctg atacctacag	3540
tgaactigga gtacgtcacc tgccactaca aaacaggaat ggattcacca gccatcaaatt	3600
gtgcgggacg tcaggaatgc actccaactt acaggcctga tgaacagtgc aaagtcttca	3660
caggggttta cccgttcatt tggggtggtg catattgctt ttgcgacact gagaacaccc	3720
aagtcageaa ggcctacgta atgaaatctg acgactgcct tgcggatcat gctgaagcat	3780
ataaagcgca cacagcctca gtgcaggcgt tcctcaacat cacagtggga gaacactcta	3840
ttgtgactac cgtgtatgtg aatggagaaa ctctgtgaa tttcaatggg gtcaaaataa	3900
ctgcaggtec gctttccaca gcttggacac cctttgatcg caaaatcgtg cagtatgccg	3960
gggagatcta taattatgat ttctctgagt atggggcagg acaaccagga gcatttgag	4020
atatacaatc cagaacagtc tcaagctctg atctgtatgc caataccaac ctagtgtgc	4080
agagacccaa agcaggagcg atccacgtgc catacactca ggcaccttcg ggttttgagc	4140

[0156]

aatggaagaa agataaaagct ccatcattga aatttaccgc ccttttcgga tgcgaaatat	4200
atacaaacec cattcgcgcc gaaaactgtg ctgtagggtc aattccatta gcctttigaca	4260
ttcccgacgc cttgttcacc aggggtgtcag aaacaccgac actttcagcg gccgaatgca	4320
ctcttaacga gtgcgtglat tcttcgcact ttgggtgggat cgccacggtc aagtactcgg	4380
ccagcaagtc aggcaagtgc gcagtccatg tgccatcagg gactgctacc ctaaaagaag	4440
cagcagtcga gctaaccgag caagggtcgg cgactatcca ttcttcgacc gcaaataacc	4500
acccggagtt caggtccaa atatgcacat catatgttac gtgcaaaggt gattgtcacc	4560
ccccgaaaga ccatattgtg acacaccctc agtatcacgc ccaaacattt acagccgcgg	4620
tgtaaaaaac cgcgtggacg tggtaacat cctgtctggg aggatcagcc gtaattatta	4680
taattggctt ggtgctggct actattgtgg ccatgtacgt gctgaccaac cagaaacata	4740
attaaggatc tagatctgct gtgccttcta gttgccagcc atctgttggt tgccectccc	4800
ccgtgccttc cttagacctg gaagggtcca ctcccactgt cctttcctaa taaatgagg	4860
aaattgcate gcattgtctg agtaggtgtc attctattct ggggggtggg gtggggcagg	4920
acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc tggggatgcg gtgggctcta	4980
tgggtaccca ggtgctgaag aattgacctg gtctctctg gccagaaaag aagcaggcac	5040
atccccctct ctgtgacaca cctgtccac gccctgggt cttagttcca gcccactca	5100
taggacactc atagctcagg agggctccgc ctccaatccc acccgctaaa gtacttggag	5160

[0157]

cggtctctccc ctccctcctc agcccaccaa accaaacctc gcctccaaga gtgggaagaa	5220
attaaagcaa gataggetat taagtgcaga gggagagaaa atgcttccaa catgtgagga	5280
agtaatgaga gaaatcatag aattttaagg ccatgattta aggccatcat ggcctaagct	5340
tgaaaggaga taggatcaaa gcttggcgta atcatggta tagctgtttc ctgtgtgaaa	5400
ttgttatceg ctacacaattc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg	5460
gggtgcctaa tgagttagct aactcacatt aattgcgttg cgtcactgc ccgttttcca	5520
gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg	5580
tttgcgtatt gggcgctctt ccgttctctc gctcactgac tgcctgcgtt cggctgttgc	5640
gtcgcggcga gcggtatcag ctactcaaaa ggcggtataa cgtttatcca cagaatcagg	5700
ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa	5760
ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct gacgagcctc acaaaaatcg	5820
acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc	5880
tggaagctcc ctctgtcgtt ctctgttcc gacctgcgcg ctaccggat acctgtcgcg	5940
ctttctccct tcgggaagcg tggegtttc tcatagetca cgtgttaggt atctcagttc	6000
ggtgtaggtc gtctgcctca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg	6060
ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaaccog gtaagacacg acttatcgcc	6120

[0158]

actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga	6180
gttcttgaag tggtaggccta actacggcta cactagaaga acagtatttg gtatctgcgc	6240
tctgtgaag ccagttacct tcggaaaaag agtttgtagc tcttgatccg gcaaacaac	6300
caccgctggt agcggtaggt tttttgttg caagcagcag attacgcgc gaaaaaagg	6360
atctcaagaa gatctttga tctttctac ggggtctgac gctcagtga acgaaaactc	6420
acgttaaggg attttgtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tcttttaaa	6480
ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggc ctgacagta	6540
ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agegatctgt ctatttcgtt catccatagt	6600
tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggttaccat ctgccccag	6660
tgctgcaatg ataccgcgag aaccaegctc accggetcca gatttatcag caataaacca	6720
gccagccgga agggecgagc gcagaagtgg tcttgcact tttccgcct ccatccagtc	6780
tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt	6840
tgttgccatt gctacaggca tctgggtgtc acgtcgtcg ttgggtatgg cttcattcag	6900
ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatecccc atgttgtgca aaaaagcgt	6960
tagctcttc ggctctccga tcttgtagc aagtaagttg gccgcagigt tatcactcat	7020
ggttatggca gcactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gctttctgt	7080
gactggtag tactcaacca agtcattctg agaatagigt atgcggcgac cgagttgctc	7140

[0159]

ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttta aagtgtcat	7200
cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgtgt tgagatccag	7260
ttcgaigtta cccactegtg caccacaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagegt	7320
ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa ggcgacacg	7380
gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta	7440
ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc	7500
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt	7560
aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctctcgggtc gcgcgtttcg gtgatgacgg	7620
tgaaaaccctc tgacacatgc agctcccggt gacggtcaca gcttgctgt aagcggatgc	7680
cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcggtgtc ggggtggt	7740
taactatgcg gcacagagc agattgtact gagagtgcac cataaaattg taaacgttaa	7800
tattttgtta aaattcgcgt taaatttttg ttaaatacgc tcatttttta accaataggc	7860
cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa agaatagcc gagatagggt tgagtgttgt	7920
tccagtittg aacaagagtc cactattaaa gaacgtggac tccaacgtca aaggcgaaa	7980
aaccgtctat cagggcgatg gccactacg tgaacctca cccaaatcaa gtttttggg	8040
gtcgaggigc cgtaaagcac taaatcgga ccctaaagg agccccgat ttagagcttg	8100

[0160]

acgggggaaag ccggcgaaacg tggcgagaaa ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc	8160
tagggcgctg gcaagtgtag cggtcacgct gcgcgtaacc accacacccg ccgcgcttaa	8220
tgcgcgcta cagggcgctg actatggttg cttigacgta tgcggtgtga aataccgcac	8280
agatgcgtaa ggagaaaata ccgcacgag cgccattgc cattcaggct gcgcaactgt	8340
tgggaagggc gatcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt	8400
gtgcgaagc gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgac ttgtaaaacg	8460
acggccagtg aattccatgg tctcaacttt c	8491

<210> 49

<211> 8476

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP274.21 载体

<400> 49

gaattcccat tgcatacgtt gtaaccatat cataatatgt acatttatat tggctcatgt	60
ccaacattac cgccatgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg	120
gggtcattag ttcatagcgc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaattgc	180
ccgcctggct gaccgcccac cgaccccgcc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc	240
atagtaacgc caatagggac ttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaaact	300

[0161]

gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgccccctat tgacgtcaat	360
gacggtaaat ggeccgectg gcattatgcc cagtacaiga ccttatggga ctttcctact	420
tggcagtaca tctacgtatt agtcateget attaccaatgg tgatgcggtt ttggcagtac	480
atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccatggac	540
gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac	600
tccgccccat tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggctca tataagcaga	660
gctcgtttag tgaaccgtca gatgcctgg agaagccate cacgtgttt tgacctccat	720
agaagacacc gggaccgate cagcctccgt taacggtgga gggcagtga gtctgagcag	780
tactcgttgc tgccgcgcgc gccaccagac ataatagctg acagactaac agactgttcc	840
tttccatggg tcttttctgc agtcaccgtc gtgcacacgt gtgacagat atcgcggccg	900
ccaccatgtt cccgttccag ccaatgtatc cgatgcagcc aatgccctat cgcaaccctg	960
tgcgggcccc ggcagggccc tggttcccca gaaccgaccc tttctggcg atgcaggtgc	1020
aggaattaac ccgtctgatg gctaacctga cgttcaagca acgccgggac gcgccacctg	1080
aggggccatc cgctaataaa ccgaagaagg aggcctcgca aaaacagaaa gggggaggcc	1140
aagggaagaa gaagaagaac caagggaaga agaaggctaa gacagggccg cctaatecga	1200
aggcacagaa tggaaacaag aagaagacca acaagaaacc aggcaagaga cagcgcattg	1260

[0162]

tcatgaaatt ggaatctgac aagacgttcc caatcatggt ggaagggaag ataaacggct	1320
acgcttgtgt ggtcggaggg aagttattca ggccgatgca tgtggaagge aagatcgaca	1380
acgaegtctt ggccgcgtt aagacgaaga aagcatccaa atacgatctt gagtatgcag	1440
atgtgccaca gaacatgcgg gccgatacat tcaaatacac ccatgagaaa cccaaggct	1500
attacagctg gcatcatgga gcagtccaat atgaaaatgg gcgtttcacg gtgccgaaag	1560
gagttggggc caaggagagc agcggacgac ccattctgga taaccaggga cgggtggtcg	1620
ctattgtgct gggagggtgt aatgaaggat ctaggacagc ccttcagtc gtcatgtgga	1680
acgagaaggg agttaccgtg aagtatactc cagagaactg cgagcaatgg tcactagtga	1740
ccaccatgtg tctgctcgcc aatgtgacgt tccatgtgc tcaaccacca atttgctacg	1800
acagaaaacc agcagagact ttggccatgc tcagcgtaa cgttgacaac ccgggtacg	1860
atgagctgct ggaagcagct gtttaagtgc ccggaaggaa aaggagatcc accgaggagc	1920
tgtttaatga gtataagcta accgcacctt acatggccag atgcatcaga tgtgcagttg	1980
ggagctgcc a tagtccaata gcaatcgagg cagtaaagag cgacgggcac gacggttatg	2040
ttagacttca gacttcctcg cagtatggcc tggattcctc cggcaactta aagggcagga	2100
ccatgcggta tgacatgcac gggaccatta aagagatacc actacateaa gtgtcactct	2160
atacatctcg cccgtgtcac attgtggatg ggcacggtta tttcctgctt gccagggtcc	2220
cggcagggga ctccatcacc atggaattta agaaagattc cgtcagacac tctgtctcgg	2280

[0163]

tgccgtatga agtgaaattt aatcctgtag gcagagaact ctatactcat cccccagaac	2340
acggagtaga gcaagcgtgc caagtctacg cacatgatgc acagaacaga ggagcttatg	2400
tcgagatgea cctccccggc tcagaagtgg acagcagitt ggtttccttg agcggcagtt	2460
ccggaggcgg cgccatcagc ctgcaccca aggccaagat cgaggaatct ggatcctcag	2520
tcaccgtgac acctcctgat gggactagcg ccctggtgga atgcgagtgt ggcggcacia	2580
agatctccga gaccatcaac aagacaaaac agttcagcca gtgcacaaag aaggagcagt	2640
gcagagcata tcggctgcag aacgataagt ggggtgtataa ttctgacaaa ctgcccacag	2700
cagcgggagc caccctaaaa ggaaaactgc atgtccatt ctgtctggca gacggcaaat	2760
gcaccgtgcc tctagcacca gaacctatga taaccttcgg ttccagatca gtgtactga	2820
aactgcacce taagaatecc acatatctaa tcaccgcca acttctgat gacccact	2880
acacgcacga gctcatatct gaaccagctg ttaggaattt taccgtcacc gaaaaagggt	2940
gggagtttgt atggggaaac caccgcccga aaaggttttg ggcacaggaa acagcaccg	3000
gaaatccaca tgggtaccg cagaggtga taactcatta ttaccacaga taccctatgt	3060
ccaccatcct gggtttgtca atttgtccg ccattgcaac cgtttccgtt gcagcgteta	3120
cctggctggt ttgcagatca agagttgcgt gcctaactcc ttaccggeta acacctaacg	3180
ctaggatacc attttgtctg gtgtgtcttt gctgcgcccg cactgcccg gcagagacca	3240

[0164]

cctgggagtc cttggatcac ctatggaaca ataaccaaca gatgttctgg attcaattgc	3300
tgatccctct ggccgcttgg atcgtagtga ctgcctgct caggtgcgtg tgcgtgtcgc	3360
tgcctttttt agtcatggcc ggccgccgag gccccggcgc ctacgagcac gccaccacga	3420
tgcgagcca agcgggaatc tcgtataaca ctatagtcaa cagagcaggc tacgcaccac	3480
tccctatcag cataacacca acaaagatca agctgatacc tacagtgaac ttggagtacg	3540
tcacctgcca ctacaaaaca ggaatggatt caccagccat caaatgctgc ggatctcagg	3600
aatgcactcc aacttacagg cctgatgaac agtgcaaagt cttcacaggg gtataccctg	3660
tcatgtgggg tgggtcatac tgcctttgcg acactgagaa cacccaagtc agcaaggcct	3720
acgtaatgaa atctgacgac tgccttgcgg atcatgtga agcatataaa gccacacag	3780
cctcagtga gccgttcttc aacatcacag tgggagaaca ctctattgtg actaccgtgt	3840
atgtgaatgg agaaactcct gtgaatttca atggggtcac aataactgca ggtccgcttt	3900
ccacagcttg gacacccttt gatcgcaaaa tcgtgcagta tgcgggggag atctataatt	3960
atgattttcc tgagtaiggg gcaggacaac caggagcatt tggagatata caatccagaa	4020
cagtctcaag ctctgacttg tatgccaata ccaacctagt gctgcagaga cccaaagcag	4080
gagcgatcca cgtgccatac actcaggcac cttegggttt tgagcaatgg aagaaagata	4140
aagctccatc atigaaattt accgccccct teggatgaga aatatataca aaccccatte	4200
gcccgaaaa ctgtgcigta gggcaattc cattagcctt tgacattccc gacgccttgt	4260

[0165]

tcaccagggt gtcagaaaca ccgacacttt cagcggccga atgcactctt aacgagtgcg	4320
tgtattcttc cgactttggt gggatcgcca cggtaagta ctcggccagc aagtcaggca	4380
agtgcgcagt ccaigtgcca tcagggactg ctaccctaaa agaagcagca gtcgagctaa	4440
ccgagcaagg gtcggcgact atccatttct cgaccgeaaa taccacccg gagttcaggc	4500
tccaaatatg cacatcatat gtacgtgca aaggtgattg tcacccccg aaagaccata	4560
ttgtgacaca cctcagtat cagcccaaaa catttacagc cgcggtgtca aaaaccgcgt	4620
ggacgtggtt aacatccctg ctgggaggat cagccgtaat tattataatt ggcttggtc	4680
tggctactat tgtggccatg tacgtgtga ccaaccagaa acataattaa ggatctagat	4740
ctgctgtgcc ttctagtgc cagccatctg ttgtttgcc cteccccgtg ccttcctga	4800
ccctggaagg tgccactccc actgtccttt cctaataaaa tgaggaaatt gcatcgcatt	4860
gtctgagtag gtgtcattct attctggggg gtggggtggg gcaggacagc aagggggagg	4920
attgggaaga caatagcagg catgctgggg atgcggtggg ctctatgggt acccaggtgc	4980
tgaagaattg acccggttcc tccctggcca gaaagaagca ggcacatccc ctctctgtg	5040
acacaccctg tccacgeccc tggttcttag ttccageccc actcatagga cactcatagc	5100
tcaggagggc tccgccttca atcccaccg ctaaagtact tggagcggtc tctccctcc	5160
tcatcagccc accaaaccaa acctagctc caagagtggg aagaaattaa agcaagatag	5220

[0166]

gtattaagt gcagaggag agaaaatgcc tccaacatgt gaggaagtaa tgagagaaat	5280
catagaattt taaggccatg atttaaggcc atcatggcct aagettgaaa ggagatagga	5340
tcaaagcttg gcgtaatcat ggtcatagct gtttctctgt tgaaattggt atccgctcac	5400
aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtglaaa gccctggggtg cctaatgagt	5460
gagctaacte acattaattg cgttgcgctc aetgeccgct ttccagtcgg gaaacctgtc	5520
gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg	5580
ctcttcgct tectcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggtctc ggcgagcgg	5640
atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa	5700
gaacaigtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggcgg cgttgcctgc	5760
gtttttccat aggtccggcc cccctgacga gcatacaaaa aatcgacgt caagtcagag	5820
gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt ccccttgaa gctccctcgt	5880
gcgctctct gttecgacct tgcgcttac cggatactg tccgccttc tcccttcggg	5940
aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg	6000
ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg	6060
taactatcgt cttgagtcga acccggttaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac	6120
tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtggg	6180
gcctaactac ggtacacta gaagaacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt	6240

[0167]

taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg	6300
tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc	6360
tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatitt	6420
ggtcattgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatectt ttaaattaaa aatgaagttt	6480
taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag	6540
tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagtgcct gactccccgt	6600
cgtgtagata actacgatac gggagggctt accatctggc cccagtgtg caatgatacc	6660
gcgagaacca cgtcacccg ctcagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc	6720
cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgcg	6780
ggaagctaga gtaagtagtt cggcagttaa tagtttgcgc aacgttggtg ccattgctac	6840
aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gtccccaacg	6900
atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc	6960
tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact	7020
gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc	7080
aaccaagtea ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgcctttgcc cggcgtcaat	7140
acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc	7200

[0168]

ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac	7260
tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tacittcacc agcgtttctg ggtgagcaaa	7320
aacaggaagg caaatgccg caaaaaaggg aataaggcg acacggaaat gtigaatact	7380
catactcttc ctttticaat attattgaag cattatcag ggttattgtc tcatgagcgg	7440
atacatatit gaatgtatit agaaaaataa acaaataggg gticcgcgca catttcccg	7500
aaaagtgcc aactgacgtt agaaaccat tattatcatg acattaacct ataaaaatag	7560
gcgtatcacg aggccctttc gggtcgcgcg tticggtgat gacggtgaaa acctctgaca	7620
catgcagctc ccgttgacgg tcacagcttg tcgtgaagcg gatcccgga gcagacaagc	7680
ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc tggettaaet atgcggcctc	7740
agagcagatt gtactgagag tgcaccataa aattgtaac gttaatatit tgttaaaatt	7800
cgcgttaaat ttttgttaaa tcagctcatt ttttaaccaa taggccgaaa tcggcaaaat	7860
cccttataaa tcaaaagaat agcccgagat agggttgagt gtgttccag ttggaacaa	7920
gagtcacta ttaaagaacg tggactccaa cgtcaaagg cgaaaaaccg tctatcaggg	7980
cgatggccca ctacgtgaac catcaccaa atcaagttit ttggggtcga ggtgccgtaa	8040
agcactaaat cggaacccta aaggagccc ccgatttaga gcttgacggg gaaagccggc	8100
gaacgtggcg agaaaggaag ggaagaaagc gaaaggagcg ggcgctaggg cgctggcaag	8160
tgtagcggtc acgctgcgcg taaccaccac acccgccgcg cttaatgcgc cgctacaggg	8220

[0169]

cgcggtactat ggttgctttg acgtatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga 8280

aaataccgca tcaggcgcca ttccgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg 8340

gtgcggggcct cttegcattt acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta 8400

agttgggtaa cgccagggtt ttcccagtcg cgacgttgta aaacgacggc cagtgaattc 8460

catggtctca actttc 8476

<210> 50

<211> 7290

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP299.25 载体

<400> 50

tcgcgcgttt cggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggta 60

cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcaggcgcg tcagcgggtg 120

tiggggggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180

accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240

attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aaggcgatc ggtgcgggcc tcttcgtat 300

tacgccagct ggcgaaagg ggtgtgtctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360

[0170]

tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt gacgcgtggt ggcattgatt	420
attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttecatagcc catatatgga	480
gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgceca acgacccccg	540
cccattgaag tcaataaiga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttccattg	600
acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc aagtgtatca	660
tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tgccccgeet ggcattatgc	720
ccagtacatg accttatggg actttectac ttggcagtac atctacgtat tagtcatgcg	780
tattaccatg gtgatgcggg tttggcagta catcaatggg cgtggatagc ggtttgactc	840
acggggattt ccaagtctcc acccattga cgtcaatggg agtttgtttt ggcacaaaaa	900
tcaacgggac ttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccc a ttgacgcaaa tgggcggtag	960
gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgitta gtgaaccgtc agataactgc	1020
aggtegacga tategcggec gccaccatgt tcccgttcca gccaatgtat ccgatgcagc	1080
caatgcctta tcgcaacccg ttgcggccc cgcgcaggcc ctggttcccc agaaccgacc	1140
cttttctggc gatgcaggtg caggaattaa cccgctcgat ggctaacctg acgttcaagc	1200
aacgcggga cgcgccacct gaggggceat ccgctaataa accgaagaag gaggcctcgc	1260
aaaaacagaa agggggaggc caagggaaga agaagaagaa ccaagggaag aagaaggcta	1320
agacagggcc gcctaatccg aaggcacaga atggaaacaa gaagaagacc aacaagaaac	1380

[0171]

caggcaagag acagcgcatg gtcatgaaat tggaatctga caagacgttc ccaatcatgt	1440
tggaaggga gataaacggc tacgcttggtg tggtcggagg gaagttattc aggccgatgc	1500
atgtggaagg caagatcgac aacgacgttc tggccgcgt taagacgaag aaagcatcca	1560
aatacgatct tgagtatgca gatgtgccac agaacatgcg ggccgataca ttcaaataca	1620
cccatgagaa accccaaggc tattacagct ggcatcatgg agcagtccaa tatgaaaatg	1680
ggcgtttcac ggtgccgaaa ggagttgggg ccaagggaga cagcggacga cccattctgg	1740
ataaccaggg acgggtggtc gctattgtgc tgggagggtg gaatgaagga tctaggacag	1800
ccctttcagt cgtcatgtgg aacgagaagg gagttaccgt gaagtatact ccagagaact	1860
gcgagcaatg gtcactagt accaccatgt gtctgctcgc caatgtgacg ttcccatgtg	1920
ctcaaccacc aatttgetac gacagaaaac cagcagagac tttggccatg ctcagcgta	1980
acgttgacaa cccgggctac gatgagctgc tggaagcagc tgtaagtgc cccggaagga	2040
aaaggagatc caccgaggag ctgtttaatg agtataagct aacgcgccct tacatggcca	2100
gatgcacag atgtgcagtt gggagctgcc atagtccaat agcaatcgag gcagtaaaga	2160
gcgacgggca cgacggttat gttagaattc agaattcttc gcagtatggc ctggattcct	2220
ccggcaactt aaagggcagg accatgcggt atgacatgca cgggaccatt aaagagatac	2280
cactacatca agtgicactc tatacatctc gcccggtgca catttggat gggcacggtt	2340

[0172]

atttctgtct tgcaggatgc ccggcagggg actccatcac catggaattt aagaaagatt	2400
ccgtcagaca ctctgtctcg gtgccgtatg aagtgaattt taatcctgta ggcagagaac	2460
tctataactca tccccagaa caccgagtag agcaagcgtg ccaagtctac gcacatgatg	2520
cacagaacag aggagcttat gtccgagatgc acctcccgga ctccagaagtg gacagcagtt	2580
tggttttcctt gaggcggcagt tccggaggct gcacatcacg ctacggcgga gccgactact	2640
gcggcggatc ctccagtcacc gtgacacctc ctgatgggac tagcgccttg gtggaatgag	2700
agtgtggcgg cacaagatc tccgagacca tcaacaagac aaaacagttc agccagtcca	2760
caaagaagga gcagtgcaga gcataatggc tgcagaacga taagtgggtg tataattctg	2820
acaaactgcc caaagcagcg ggagccacct taaaaggaaa actgcattgc ccattcttgc	2880
tggcagacgg caaatgcacc gtgcctctag caccagaacc tatgataacc ttcggtttca	2940
gatcagtgtc actgaaactg caccctaaga atcccacata tctaattcac cgccaacttg	3000
ctgatgagcc tcactacacg caccagctca tatctgaacc agctgttagg aattttaccg	3060
tcaccgaaaa aggggtgggag ttigtatggg gaaaccaccc gccgaaaagg ttttgggcac	3120
aggaaacagc acccggaatt ccacatgggc taccgcacga ggtgataact cattattacc	3180
acagataccc tatgtccacc atcctgggtt tgtaatttg tgcgccatt gcaaccgttt	3240
ccgttgacgc gtctacctgg ctgttttgea gatcaagagt tgcgtgecta actcttacc	3300
ggctaacacc taacgttagg ataccatttt gtctggctgt gctttgctgc gcccgcactg	3360

[0173]

cccgggccga gaccacctgg gagtccttgg atcacctatg gaacaataac caacagatgt	3420
tctggattca attgctgac cctctggccg ccttgatcgt agtgactcgc ctgctcaggt	3480
gcgtgtgctg tgctctgcct tttttagtea tggccggcgc cgcaggcgcc ggcgcctacg	3540
agcacgcgac cacgatgccg agccaagegg gaatctctga taacactata gtcaacagag	3600
caggctacgc accactccct atcagcataa caccaacaaa gatcaagctg atacctacag	3660
tgaacttggg gtacgtcacc tgccactaca aaacaggaat ggattcacca gccatcaaat	3720
gctgeggatc tcaggaatgc actccaactt acaggcciga tgaacagtgc aaagtcttca	3780
caggggttta cccgttcatg tggggtggtg catattgett ttgcgacct gagaacaccc	3840
aagtcagcaa ggcctacgta atgaaatctg acgactgcct tgcggatcat gctgaagcat	3900
ataaagcgca cacagctca gtgcaggcgt tcttcaacat cacagtggga gaacacteta	3960
ttgtgactac cgtgtatgtg aatggagaaa ctctgtgaa tttcaatggg gtcaaaataa	4020
ctgcaggicc gctttccaca gcttggacac cctttgatcg caaaatcgtg cagtatgccg	4080
gggagatata taattatgat tticctgagt atggggcagg acaaccagga gcatttggag	4140
atatacaate cagaacagtc tcaagctctg atctgtatgc caataccaac ctagtctcgc	4200
agagacceaa agcaggagcg atccacgtgc cataactca ggcaccttcg ggttttgagc	4260
aatggaagaa agataaagct ccatcattga aatttaccgc ccttttcgga tgcgaaatat	4320

[0174]

atacaaacc ctttcgcgc gaaaactgtg ctgtagggtc aattccatta gcctttgaca	4380
ttcccgacgc ctigtccacc aggggtgcag aaacaccgac acittcagcg gccgaatgca	4440
ctcttaacga gtgcgtgtat tcttcgact ttggtgggat cgccacggtc aagtactcgg	4500
ccagcaagtc aggcaagtc gcagtcctat tgccatcagg gactgctacc ctaaaagaag	4560
cagcagtcga gctaaccgag caagggtcgg cgactatcca ttctcagacc gcaaatatcc	4620
acccgaggtt caggctccaa atatgcacat catatgttac gtgcaaaggt gattgtcacc	4680
ccccgaaaga ccatattgtg acacaccctc agtatcagc ccaaacattt acagccgcgg	4740
tgtaaaaaac cgcgtggacg tggttaacat ccctgcctgg aggatcagcc glaattatta	4800
taattggctt ggtgtgtgct actattgttg caatgtacgt gtgaccaac cagaaacata	4860
attaaggate tagatctgct gtgccttcta gttgccagcc atctgttggt tgcctctccc	4920
ccgtgccttc cttgaccctg gaagggtcca ctcccactgt cctttcctaa taaaatgagg	4980
aaattgcacg gcattgtctg agtaggtgtc attctattct ggggggtggg gtggggcagg	5040
acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc tggggatgcg gtgggctcta	5100
tggtcgcagc atggtcatag ctgtttcctg tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac	5160
acaacatacg agccggaagc ataaagtgt aagcctgggg tgcctaatga gtgagctaac	5220
tcacattaat tgcgttgcgc tcactgcccg ctctccagtc gggaaacctg tcgtgccagc	5280
tgcattaatg aatcgcccaa cgcgcgggga gaggcggttt gcgtattggg cgctcttccg	5340

[0175]

cttctctgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc	5400
actcaaagcg ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt	5460
gagcaaaaagg ccagcaaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc	5520
ataggetccg cccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa	5580
acccgacagg actataaaga taccaggcgt tccccctgg aagetccctc gtgcgctctc	5640
ctgttcgac cctgcgcgtt accggatacc tgtcgcgtt tctcccttcg ggaagcgtgg	5700
cgctttctca tagctcacgc ttaggtatc tcagttcggg ttaggtcgtt cgtccaagc	5760
tgggctgtgt gcacgaacce cccgttcagc ccgaccgtg cgccttatec ggtaactatc	5820
gtcttgagtc caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca	5880
ggattagcag agcgaggat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtg tggcetaact	5940
acggctacac tagaagaaca gtatttggtg tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg	6000
gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtggttttt	6060
tgttttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct	6120
tttctacggg gtctgaagct cagtggaaacg aaaactcaag ttaagggatt ttggtcatga	6180
gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa	6240
tctaaagtat atatgagtaa acttggctctg acagttagaa aaactcatcg agcatcaaat	6300

[0176]

gaaactgcaa tttattcata tcaggattat caataccata tttttgaaaa agccgtttct	6360
gtaatgaagg agaaaaactca ccgaggcagt tccataggat ggcaagatcc tggtatcggt	6420
ctgcgattcc gactcgicca acatcaatac aacctattaa tttccctcg tcaaaaaataa	6480
ggttatcaag tgagaaaatca ccatgagtga cgactgaatc cggtgagaat ggcaaaagtt	6540
tatgcatttc tttccagact tgttcaacag gccagccatt acgctcgta tcaaaatcac	6600
tcgcataac caaacctta ttcattctg attgcgctg agcgagacga aatacgcgat	6660
cgtgttaaa aggacaatta caaacaggaa tcgaatgcaa ccggcgagg aacactgcca	6720
gcgcataac aatattttca cctgaatcag gatattcttc taatacctgg aatgctgttt	6780
tcccaggat cgcagtggg agtaacctg catcatcagg agtaaggata aaatgctga	6840
tggtcggaag aggcataaat tccgtcagcc agtttagct gaccatctca tctgtaacat	6900
cattggcaac gctaccttg ccatgtttca gaaacaactc tggcgcatcg ggcttcccat	6960
acaatcgata gattgtcgca cctgattgcc cgacattatc gcgagcccat ttatacccat	7020
ataaatcagc atccatgttg gaatttaatc ggggcctaga gcaagacgtt tcccgttgaa	7080
tatggctcat acttttctt ttcaatatt attgaagcat ttatcagggt tattgtctca	7140
tgagcggata catatttgaa tgtattttaga aaaataaaca aataggggtt ccgcgcacat	7200
ttcccgaaa agigccacct gacgtctaag aaaccattat tateatgaca ttaacctata	7260
aaaataggcg tatcacgagg cctttctgc	7290

[0177]

<210> 51

<211> 72

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP31 插入物

<400> 51

tccggaggac taaactggta ccgatgagc cccagcaacc agacggacaa gctggccgcc 60

ttcggaggat cc 72

<210> 52

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VLP31 插入物

<400> 52

Ser Gly Gly Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp

1 5 10 15

Lys Leu Ala Ala Phe Gly Gly Ser

20

[0178]

<210> 53

<211> 78

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP32 插入物

<400> 53

tccggaggaa tgctaaactg gtaccgcatg agcccccagca accagacgga caagctggcc 60

gccttctcag gaggatec 78

<210> 54

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VLP32 插入物

<400> 54

Ser Gly Gly Met Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr

1 5 10 15

Asp Lys Leu Ala Ala Phe Ser Gly Gly Ser

20 25

[0179]

<210> 55

<211> 78

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP33 插入物

<400> 55

tccggaggag tgctaaactg gtaccgcatg agccccagca accagacgga caagctggcc 60

gccttccccg gaggatcc 78

<210> 56

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VLP33 插入物

<400> 56

Ser Gly Gly Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr

1 5 10 15

Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Gly Gly Ser

20 25

<210> 57

[0180]

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> VLP299 插入物

<400> 57

tccggaggat gcatcatcag ctacggcgga gccgactacg gaggatcc

48

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VLP299 插入物

<400> 58

Ser Gly Gly Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Cys Gly Gly

1

5

10

15

Ser

<210> 59

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工

[0181]

<220>
<223> VLP274 插入物

<400> 59
tccggaggag gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tggaggatcc 60

<210> 60
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VLP274 插入物

<400> 60

Ser Gly Gly Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu
1 5 10 15

Ser Gly Ser

<210> 61
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> VLP275 插入物

[0182]

<400> 61

tccggaggat gtggcgccat cagcctgcac cccaaggcca agatcgagga aggaggatcc 60

<210> 62

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VLP275 插入物

<400> 62

Ser Gly Gly Cys Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu

1 5 10 15

Glu Cys Gly Gly Ser

20

<210> 63

<211> 3747

<212> DNA

<213> 基孔肯雅病毒

<400> 63

atggagttca tcccaacca aactttttac aataggaggt accagcctcg acctggact 60

ccgcgcctta ctatccaagt catcaggccc agaccgcgcc ctcagaggca agctgggcaa 120

[0183]

cttgcgccagc tgatctcagc agttaataaa ctgacaaatgc gcgcggtacc acaacagaag	180
ccacgcagga atcggaagaa taagaagcaa aagcaaaaac aacaggcgcc acaaaacaac	240
acaaatcaaa agaagcagcc acctaaaaag aaaccggctc aaaagaaaaa gaagccgggc	300
cgcagagaga ggatgtgcat gaaaatcgaa aatgattgta ttctcgaagt caagcacgaa	360
ggtaaggtaa caggttacgc gtgcctgggtg ggggacaaag taatgaaacc agcacacgta	420
aaggggacca tcgataacgc ggacctggcc aaactggcct ttaagcggtc atctaagtat	480
gaccttgaat gcgcgcagat acccgtgcac atgaagtcg acgtctcgaa gtccaccat	540
gagaaaccgg aggggtacta caactggcac caccggagcag tacagtactc aggaggccgg	600
ttcaccatcc ctacaggtgc tggcaaacca ggggacagcg gcagaccgat ctctgacaac	660
aagggacgcg tgggtggccat agtcttagga ggagctaattg aaggagcccg tacagccctc	720
tcggttggtga cctggaataa agacattgtc actaaaaatca ccccgaggg ggccgaagag	780
tggagtcttg ccatcccagt tatgtgctg ttggcaaac aacgttccc ctgtctccag	840
cccccttgca cgccctgctg ctacgaaaag gaaccggagg aaacctacg catgcttgag	900
gacaacgtca tgagacctgg gtactatcag ctgtacaag catccttaac atgttctccc	960
caccgccagc gacgcagcac caaggacaac ttcaatgtct ataaagccac aagaccatac	1020
ttagctcact gtcccgactg tggagaaggg cactcgtgcc atagtcctgt agcactagaa	1080
cgcacagaa atgaagegac agacgggacg ctgaaaaatcc aggtctcctt gcaaatcgga	1140

[0184]

ataaagacgg atgacagcca cgattggacc aagctgcgtt atatggacaa ccacatgcca	1200
gcagacgcag agagggcggg gctatttgta agaacatcag caccgtgtac gattactgga	1260
acaatgggac acttcatcct ggcctgatgt ccaaaagggg aaactctgac ggtgggattc	1320
actgacagta ggaagattag tcactcatgt acgcaccat ttcaccacga cctcctgtg	1380
ataggtcggg aaaaattcca ttcccgaccg cagcacggt aagagctacc ttgcagcacg	1440
tacgtgcaga gcaccgccgc aactaccgag gagatagagg tacacatgcc cccagacacc	1500
cctgatcgca catiaatgtc acaacagtcc ggcaacgtaa agatcacagt caatggccag	1560
acggtcgggt acaagtgtaa ttgcggtggc tcaaataaag gactaacaac tacagacaaa	1620
gtgattaata actgcaaggt tgatcaatgt catgccgcgg tcaccaatca caaaaagtgg	1680
cagtataact cccctctggt cccgcgtaat gctgaacttg gggaccgaaa aggaaaaatt	1740
cacatcccggt ttccgctggc aaatgtaaca tgcagggtgc ctaaagcaag gaaccccacc	1800
gtgacgtacg ggaaaaacca agtcatcatg ctactgtatc ctgaccaccc aacactctg	1860
tcctaccgga atatgggaga agaaccacaa tatcaagaag agtgggtgat gcataagaag	1920
gaagtcgtgc taaccgtgcc gactgaaggg ctgcagggtc cgtggggcaa caacgagccg	1980
tataagtatt ggccgcagtt atctacaaac ggtacagccc atgcccaccc gcatgagata	2040
attctgtatt attatgagct gtaccccaat atgactgtag tagttgtgtc agtggccacg	2100

[0185]

ttcatactcc tgtcgaatgt gggatatggca gcggggaigt gcatgtgtgc acgacgcaga	2160
tgcatacacac cgtatgaact gacaccagga gctaccgtcc ctttcctgct tagcetaata	2220
tgtctcatca gaacagetaa agcggccaca taccaagagg ctgcgatata cctgtggaac	2280
gagcagcaac ctttgttttg gtacaagcc ctattccgc tggcagccct gattgttcta	2340
tgcaactgtc tgagactctt accatgtctgc tgtaaaacgt tggtttttt agccgtaatg	2400
agcgtcgggtg cccacactgt gagcgctac gaacacgtaa cagtgatecc gaacacggtg	2460
ggagtaccgt ataagaactt agtcaataga cctggctaca gcccacatgt attggagatg	2520
gaactactgt cagtcacttt ggagccaaca ctatcgcttg attacatcac gtgcgagtac	2580
aaaacegtca tcccgctccc gtacgtgaag tgetgcggta cagcagagtg caaggacaaa	2640
aacctacctg actacagctg taaggtcttc accggcgtct acceatttat gtggggcggc	2700
gcctactgct tctgcgacgc tgaaaacacg cagttgagcg aagcacacgt ggagaagtcc	2760
gaatcatgca aaacagaatt tgcatcagca tacaggctc ataccgcatc tgcatcagct	2820
aagctccgcg tcctttacca aggaaataac atcactgtaa ctgcctatgc aaacggcgac	2880
catgcegtca cagttaagga cgccaaattc attgtgggga caatgtcttc agcctggaca	2940
cttttcgaca acaaaatigt ggtgtacaaa ggtgacgtct ataacatgga ctaccgccc	3000
tttggcgcag gaagaccagg acaatttggc gatatccaaa gtcgcacacc tgagagtaaa	3060
gacgtctatg ctaatacaca actgggtactg cagagaccgg ctgtgggtac ggtacacgtg	3120

[0186]

ccatactctc aggcaccatc tggctttaag tattggctaa aagaacgcgg ggcgtcgtg	3180
cagcacacag caccatttgg ctgccaaata gcaacaaacc cggtaagagc ggtgaactgc	3240
gccgtaggga acatgcccat ctccategac ataccggaag cgcccttcac tagggtcgtc	3300
gacgcgcctt cttaacgga catgtcgtgc gaggtaccag cctgcaccca ttcctcagac	3360
tttggggcgc tcgccattat taaatatgca gccagcaaga aaggcaagtg tgcggtgcat	3420
tcgatgacta acgccgtcac tattcgggaa gctgagatag aagtgaagg gaattctcag	3480
ctgcaaatct cttctcagac ggccttagcc agcgcggaat tccgcgtaca agtctgttct	3540
acacaagtac actgtgcagc cgagtgcac cccccgaagg accacatagt caactaccgc	3600
gcgtcacata ccacctcgg ggtccaggac atctccgcta cgcgatgtc atgggtgcag	3660
aagateacgg gagtgtggg actggttggt gctgttgccg cactgattct aatcgtggtg	3720
ctatgcgtgt cgttcagcag gcactaa	3747

<210> 64

<211> 3765

<212> DNA

<213> 委内瑞拉马脑炎病毒

<400> 64

atgttcccg tccagccaat gttccgatg cagccaatgc cctatcgcaa cccgttcgcg	60
gccccgcga ggccttggtt cccagaacc gacccttttc tggegatgca ggtgcaggaa	120

[0187]

ttaacccgct cgatggctaa cctgacgttc aagcaacgcc gggacgcgcc acctgagggg	180
ccatccgcta ataaaccgaa gaaggaggcc tcgcaaaaac agaaaggggg aggccaaggg	240
aagaagaaga agaaccaagg gaagaagaag gctaagacag ggccgcctaa tccgaaggca	300
cagaatggaa acaagaagaa gaccaacaag aaaccaggca agagacagcg catggtcatg	360
aaattggaat ctgacaagac gtcccaatc atgttggaag ggaagataaa cggctacgt	420
tgtgtggteg gagggaagtt attcaggccg atgcatgtgg aaggcaagat cgacaacgac	480
gttctggccg cgettaagac gaagaaagca tccaaatacg atcttgagta tgcagatgtg	540
ccacagaaca tgegggccga tacattcaaa tacacccatg agaaacccca aggctattac	600
agctggcatc atggagcagt ccaatatgaa aatgggcgtt tcacggtgcc gaaaggagtt	660
ggggccaagg gagacagcgg acgaccatt ctggataacc agggacgggt ggtcgtatt	720
gtgctgggag gtgigaatga aggatctagg acagcccttt cagtcgtcat gtggaacgag	780
aagggagtta ccgtgaagta tactccggag aactgcgagc aatggtcact agtgaccacc	840
atgtgtctgc tcgccaatgt gacgttccca tgtgtctaac caccaatttg ctacgacaga	900
aaaccagcag agactttggc catgctcagc gttaacgttg acaaccggg ctacgatgag	960
ctgctggaag cagctgttaa gtgccccgga aggaaaagga gatccaccga ggagctgttt	1020
aatgagtata agctaacgcg ccettacatg gccagatgca tcagatgtgc agttgggagc	1080

[0188]

tgccatagtc caatagcaat cgaggcagta aagagcgacg ggcacgacgg ttatgttaga	1140
cttcagactt cctcgcagta tggectggat tcctccggca acttaaaggg caggaccatg	1200
cggtatgaca tgcacgggac cattaaagag ataccactac atcaagtgtc actctataca	1260
tctcgcccg tgcacattgt ggaigggcac ggattattcc tgcttgccag gtgcccggca	1320
ggggactcca tcaccatgga atttaagaaa gattccgtca gacactcctg ctcggtgccg	1380
tatgaagtga aatttaatcc tgtaggcaga gaactctata ctcaccccc agaacacgga	1440
gtagagcaag cgtgccaaagt ctacgcacat gatgcacaga acagaggagc ttatgtcgag	1500
atgcacctcc cgggctcaga agtggacagc agtttggitt ccttgagcgg cagttcagtc	1560
accgtgacac ctctgatgg gaetagegcc ctgggtggaat gcgagtgtgg cggcacaaaag	1620
atctecgaga ccatcaacaa gacaaaacag ttcagccagt gcacaaagaa ggagcagtgc	1680
agagcatatc ggctgcagaa cgataagtgg gtgtataatt ctgacaaact gcccaaagca	1740
gcgggagcca ccttaaaagg aaaactgcat gtccattct tgcitggcaga cggcaaatgc	1800
accgtgcctc tagcaccaga acctatgata accttcggtt teagatcagt gtcactgaaa	1860
ctgcacctta agaatccac ataictaatc accegccaac ttgtgatga gcctcactac	1920
acgcacgagc tcatatctga accagctgtt aggaatttta ccgtcacga aaaagggtgg	1980
gagtttgtat ggggaaacca cccgccgaaa aggttttggg cacaggaaac agcacccgga	2040
aatccacatg ggctaccgca cgaggtgata atcattatt accacagata ccctatgtcc	2100

[0189]

accatcctgg gtttgtcaat ttgtgccgc attgcaaccg ttcccggtgc agcgtctacc	2160
tggctgtttt gcagatctag agttgctgc ctaactcctt aceggctaac acetaacgt	2220
aggataccat ttgtctggc tgtgctttgc tgcgccgca ctgccgggc cgagaccacc	2280
tgggagtcct tggatcacct atggaacaat aaccaacaga tgttctggat tcaattgctg	2340
atccctctgg ccgccttgat cgtagtgaact cgcctgctca ggtgcgtgtg ctgtgtcgtg	2400
ccttttttag teatggccgg cgcgcagge gccggcgctt acgagcacgc gaccacgatg	2460
ccgagccaag cgggaatctc gtataaact atagtcaaca gagcaggcta cgcaccactc	2520
cctateagca taacaccaac aaagatcaag ctgataccta cagtgaactt ggagtaagtc	2580
acctgccact acaaaacagg aatggattca ccagccatca aatgctgcgg atctcaggaa	2640
tgcactccaa cttacaggcc tgatgaacag tgcaaagtct tcacaggggt ttacccttc	2700
atgtggggtg gtgcatattg cttttgcgac actgagaaca cccaagtcag caaggcctac	2760
gtaatgaaat ctgacgactg ctttgcggat catgctgaag catataaagc gcacacagcc	2820
tcagtgcagg cgttctcaa catcacagtg ggagaacct ctattgtgac taccgtgtat	2880
gtgaatggag aaactcctgt gaatttcaat ggggtcaaaa taactgcagg tccgtttcc	2940
acagcttga cacccttga tcgcaaaatc gtgcagtatg ccggggagat ctataattat	3000
gattttcctg agtatggggc aggacaacca ggagcatttg gagatataca atccagaaca	3060

[0190]

gtctcaagct ctgactgtga tgccaatacc aacctagtgc tgcagagacc caaagcagga	3120
gcgatccacg tgccatacac tcaggcacct tcgggttttg agcaatggaa gaaagataaa	3180
gtccatcat tgaaatttac cgcctcttgc ggatgcgaaa tatatacaaa ccccatcgc	3240
gccgaaaact gtgctgtagg gtcaattcca ttagectttg acattcccga cgccttgctc	3300
accagggtgt cagaaacacc gacactttca gcggccgaat gcactcttaa cgagtgcgtg	3360
tattcttcgc actttggtgg gatcgccacg gtcaagtact cggccagcaa gtcaggcaag	3420
tgcgcagicc atgtgccatc agggactgct accctaaaag aagcagcagt cgagctaacc	3480
gagcaagggt cggcgactat ccatttctcg accgcaaata tccaccgga gttcaggctc	3540
caaatatgca catcatatgt tacgtgcaaa ggtgattgtc accccccgaa agaccatatt	3600
gtgacacacc ctgagtatca cgcccaaaca ttacagccg cgggtgcaaa aaccgcgtgg	3660
acgtggttaa catccctgct gggaggatca gccgtaatta ttataattgg cttggtgctg	3720
gctactattg tggccatgta cgtgctgacc aaccagaaac ataatt	3765

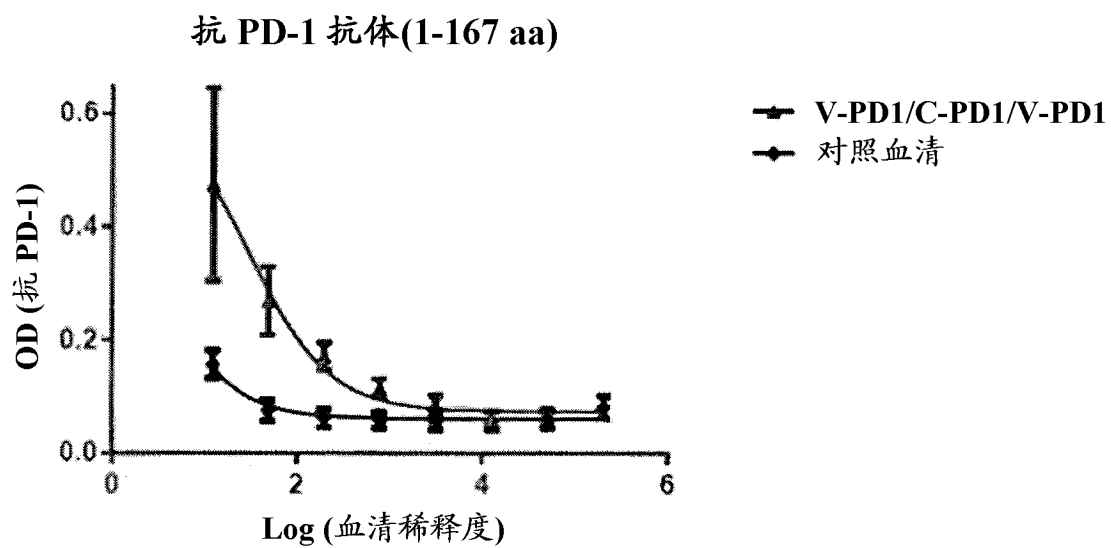


图 1

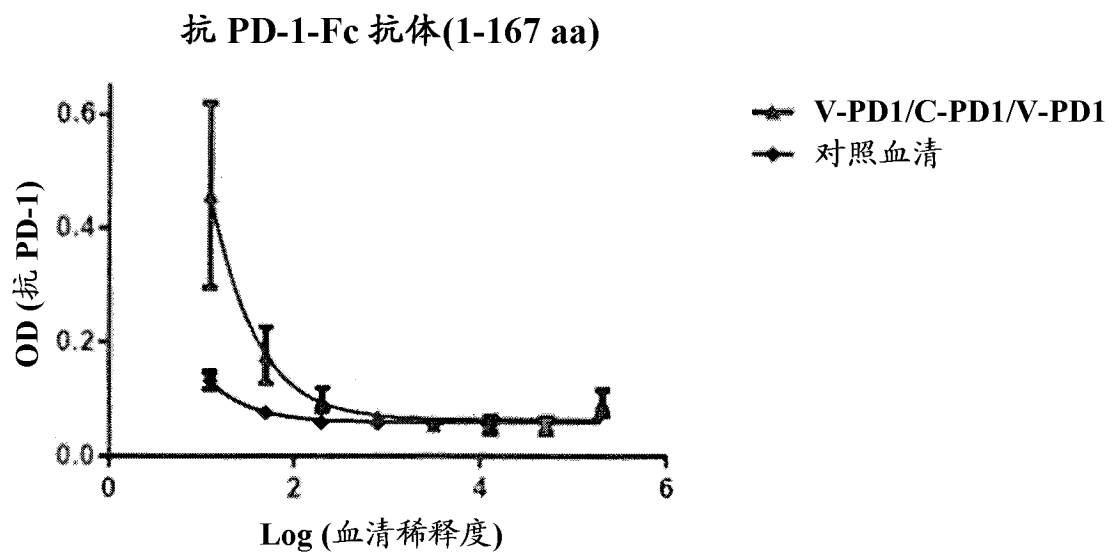


图 2