I728228

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本　**(11)證書號數：TW I728228 B**

(45)公告日： 中華民國 110 (2021) 年 05 月 21 日

(21)申請案號：107103914　(22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 02 月 05 日

(51)Int. Cl.：　*C12N15/36* *(2006.01)*　*C12N15/64* *(2006.01)*

C07K14/02 *(2006.01)*　*A61K39/29* *(2006.01)*

A61P31/20 *(2006.01)*

(30)優先權：2017/02/17　中國大陸　201710085194.3

(71)申請人：廈門大學 (中國大陸)　(CN)

中國大陸

大陸商養生堂有限公司 (中國大陸)　(CN)

中國海南省海口市金盤工業區金牛路 570216

(72)發明人：張天英 (CN)；袁權 (CN)；郭雪染 (CN)；魏旻希 (CN)；康曉圳 (CN)；張軍 (CN)；夏甯邵 (CN)

(74)代理人：蔡清福；蔡馭理

(56)參考文獻：

US　2005/0025782A1

Drexler JF et al., "Bats carry pathogenic hepadnaviruses antigenically related to hepatitis B virus and capable of infecting human hepatocytes", PNAS, vol. 110, no. 40, p.16151-16156, 2013/10/01

Roose K et al., "Hepatitis B core-based virus-like particles to present heterologous epitopes", Expert Review of Vaccines, vol.12, no.2, p.183-198, 2013

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：16 項　圖式數：17　共 191 頁

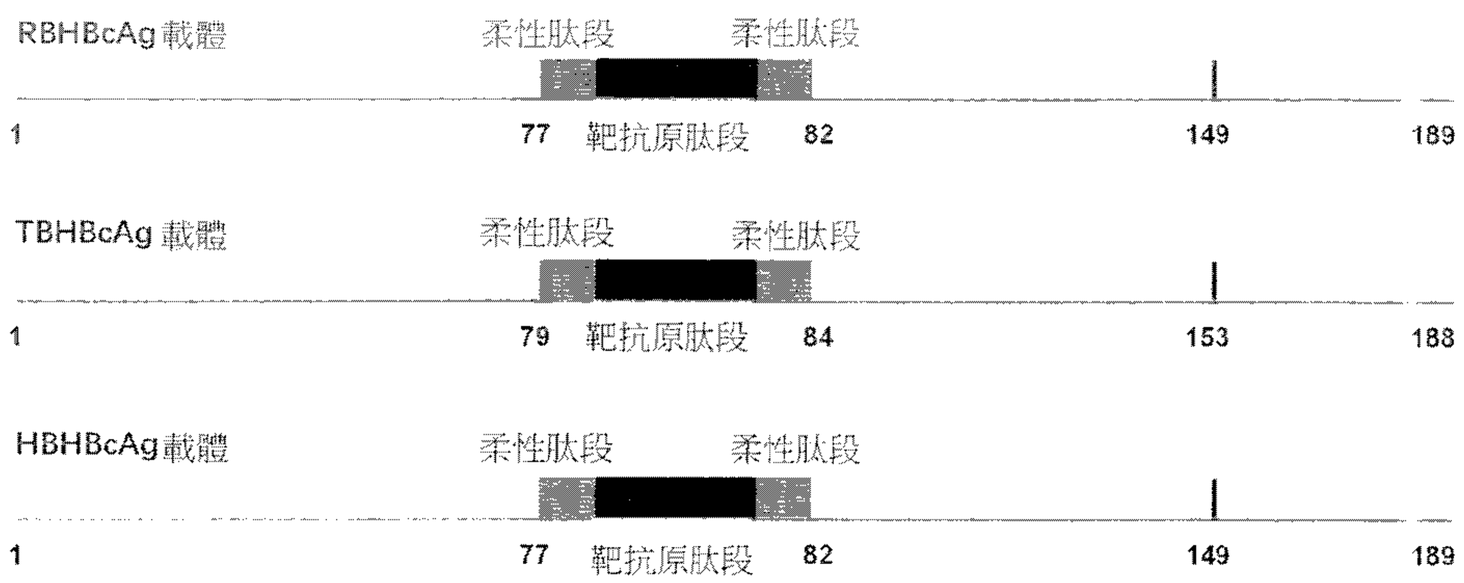
(54)名稱

一種用於展示目的多肽的多肽載體及其用途

(57)摘要

本發明涉及一種用於展示目的多肽的多肽載體及其用途。具體而言，本發明涉及一種核酸分子，其包含編碼多肽載體的核苷酸序列，且用於插入編碼目的多肽的核苷酸序列。此外，本發明還涉及包含該多肽載體和目的多肽的重組蛋白。進一步，本發明還涉及，該核酸分子和該重組蛋白的用途。此外，本發明還特別涉及，可用於預防、減輕或治療 HBV 感染或與 HBV 感染相關的疾病(例如 B 肝)的疫苗或藥物組合物，其包含含有本發明的多肽載體和來自 HBV 的表位的重組蛋白。

指定代表圖：



第 1 圖

符號簡單說明：

RBHBcAg・・・蹄蝠 B 型肝炎病毒(roundleaf bat HBV，RBHBV)的核心抗原蛋白

TBHBcAg・・・簗帳蝠 B 型肝炎病毒(tent-making bat HBV，TBHBV)的核心抗原蛋白

HBHBcAg・・・菊頭蝠 B 型肝炎病毒(horseshoe bat HBV，HBHBV)的核心抗原蛋白

公告本

I728228

【發明摘要】

【中文發明名稱】　一種用於展示目的多肽的多肽載體及其用途

【中文】

本發明涉及一種用於展示目的多肽的多肽載體及其用途。具體而言，本發明涉及一種核酸分子，其包含編碼多肽載體的核苷酸序列，且用於插入編碼目的多肽的核苷酸序列。此外，本發明還涉及包含該多肽載體和目的多肽的重組蛋白。進一步，本發明還涉及，該核酸分子和該重組蛋白的用途。此外，本發明還特別涉及，可用於預防、減輕或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如B肝)的疫苗或藥物組合物，其包含含有本發明的多肽載體和來自HBV的表位的重組蛋白。

【指定代表圖】　第1圖

【代表圖之符號簡單說明】

RBHBcAg：蹄蝠B型肝炎病毒(roundleaf bat HBV，RBHBV)的核心抗原蛋白

TBHBcAg：簗帳蝠B型肝炎病毒(tent-making bat HBV，TBHBV)的核心抗原蛋白

HBHBcAg：菊頭蝠B型肝炎病毒(horseshoe bat HBV，HBHBV)的核心抗原蛋白

【發明說明書】

【中文發明名稱】　一種用於展示目的多肽的多肽載體及其用途

【技術領域】

【0001】本發明涉及基因工程疫苗領域、分子病毒學領域和免疫學領域。此外，本發明還特別涉及B型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染治療領域。具體而言，本發明涉及一種核酸分子，其包含編碼多肽載體(peptide carrier)的核苷酸序列，且用於插入編碼目的多肽的核苷酸序列。特別地，本發明的該核酸分子在插入編碼目的多肽的核苷酸序列且表達為重組蛋白後，該多肽載體能夠展示該目的多肽(例如目的抗原或抗原中的目的表位元)，和/或，該重組蛋白能夠形成類病毒顆粒並展示該目的多肽。此外，本發明還涉及包含該多肽載體以及目的多肽的重組蛋白。進一步，本發明還涉及，該核酸分子和該重組蛋白的用途。此外，本發明還特別涉及，可用於預防、減輕或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如B肝)的疫苗或藥物組合物，其包含含有本發明的多肽載體和來自HBV的表位的重組蛋白。

【先前技術】

【0002】疫苗是應對傳染病的有效手段。根據適用人群的不同，疫苗可分為預防性疫苗和治療性疫苗。預防性疫苗主要應用於預防病毒感染，包括減毒疫苗、滅活疫苗、基因工程疫苗，其主要通過誘導機體產生中和抗體來保護機體不被病毒感染。治療性疫苗主要應用於治療持續性病毒感染以及腫瘤等疾病。在這些疾病中，患者對於靶抗原通常表現為免疫耐受的狀態，因此，研發人員嘗試通過多種形式的疫苗來誘導機體產生針對靶抗原

的有效免疫應答。治療性疫苗主要包括核酸疫苗、病毒載體疫苗、基因工程疫苗等，其中基因工程疫苗具有明顯的優勢。

【0003】已上市的基因工程疫苗包括B型肝炎病毒疫苗、人類乳突病毒(Human Papillomavirus，HPV)疫苗、E型肝炎病毒(Hepatitis E virus，HEV)疫苗，它們均為類病毒顆粒(virus-like particles, VLPs)的形式。類病毒顆粒是指，由某種病毒的一或複數結構蛋白構成的空心顆粒，其不包含病毒核酸，不能進行自主複製，但在形態上與真正的病毒粒子相同或相似。類病毒顆粒具有以下優點：免疫原性強、安全性好、不易失活、可展示外源肽段並誘導機體產生針對外源肽段的特異性免疫應答，因此，在疫苗領域具有重要的應用價值。

【0004】目前，全球約有20億人感染過HBV，其中約有3.5億的慢性HBV感染者，這些感染者最終死於HBV感染相關肝臟疾病的風險可達15%-25%。全球每年超過100萬人死於B肝導致的終末期肝病。我國是HBV感染的重災區，目前約有9300萬B肝帶原者。近年來，隨著病例報告系統不斷健全，B肝相關疾病的發生率，病死率不降反升。

【0005】當前針對慢性HBV感染的治療藥物主要可分為兩類，即干擾素類(Interferon)和核苷/核苷酸類似物(NAs)。慢性HBV感染的治療的最終目標是，阻止重症肝炎(肝衰竭)、肝硬化和肝癌等終末期肝臟疾病的發生；其臨床最佳治療終點是，使患者達到B型肝炎病毒表面抗原的血清學陰轉或血清學轉換，即完全清除HBV。但現有藥物實現該目標的療效十分有限。因此，針對慢性HBV感染者開發新的、能更有效地清除病毒、尤其是能有效清除HBsAg或大幅降低HBsAg水準的創新型治療藥物和方法是迫切而必要的，並且，研發治療性疫苗是具有一定潛力的策略。

【發明內容】

【0006】本申請發明人基於三種蝙蝠來源的B型肝炎病毒核心抗原蛋白(即，蹄蝠B型肝炎病毒(roundleaf bat HBV，RBHBV)的核心抗原蛋白(RBHBcAg)；簑帳蝠B型肝炎病毒(tent-making bat HBV，TBHBV)的核心抗原蛋白(TBHBcAg)；菊頭蝠B型肝炎病毒(horseshoe bat HBV，HBHBV)的核心抗原蛋白(HBHBcAg))，開發了一類新的用於展示目的多肽的多肽載體(peptide carrier)。由此，本發明提供了一種核酸分子，其含有編碼多肽載體的核苷酸序列。此類核酸分子能夠插入編碼目的多肽的核苷酸序列，並表達為含有多肽載體和目的多肽(例如目的抗原，或抗原中的目的表位元)的重組蛋白。進一步，所產生的重組蛋白能夠有效形成VLP，並能夠在VLP表面展示插入其中的目的多肽，從而該目的多肽能夠有效地被機體的免疫系統識別，誘發機體產生針對目的多肽的特異性免疫應答。因此，本發明的多肽載體可用作疫苗載體，用於展示目的多肽，例如來自目的抗原的肽段(例如表位)；並且，包含本發明的多肽載體和目的多肽的重組蛋白可用作疫苗，用於誘發機體產生針對目的多肽的特異性免疫應答。

【0007】進一步，本申請的發明人還發現，RBHBcAg蛋白、TBHBcAg蛋白和HBHBcAg蛋白的C端均為富含精氨酸的區域，其對於VLP組裝不是必須的。因此，本發明的多肽載體可以不包含RBHBcAg蛋白、TBHBcAg蛋白和HBHBcAg蛋白的C端區域。例如，本發明的RBHBcAg載體可以缺失RBHBcAg蛋白的第145-189位元氨基酸的部分或全部(例如，缺失RBHBcAg蛋白的第150-189位氨基酸)；本發明的TBHBcAg載體可以缺失TBHBcAg蛋白的第149-188位元氨基酸的部分或全部(例如，缺失TBHBcAg蛋白的第154-188位氨基酸)；本發明的HBHBcAg載體可以缺失HBHBcAg蛋白的第

145-189位元氨基酸的部分或全部(例如，缺失HBHBcAg蛋白的第150-189位氨基酸)。

【0008】進一步，本申請的發明人還發現，RBHBcAg蛋白、TBHBcAg蛋白和HBHBcAg蛋白中的部分氨基酸序列可被置換為人T細胞表位，而不影響VLP的組裝。因此，為了加強人體對包含本發明多肽載體和目的多肽的重組蛋白的免疫應答，本申請的發明人還對本發明的多肽載體進行了進一步的改造，即，將該多肽載體中的部分氨基酸序列置換為人T細胞表位，由此獲得了優化的多肽載體（即，攜帶有人T細胞表位的多肽載體）。例如，本申請的發明人發現，RBHBcAg蛋白的第18-27位氨基酸殘基、第50-69位氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基可被置換為人T細胞表位（例如MHC I限制性表位和/或MHC II限制性表位），而不影響VLP的組裝。TBHBcAg蛋白和HBHBcAg蛋白也有類似的性質。因此，可對多肽載體RBHBcAg、TBHBcAg和HBHBcAg進行相應的改造，從而獲得攜帶有人T細胞表位的多肽載體RBHBcAg-T、TBHBcAg-T和HBHBcAg-T。

【0009】此外，本申請的發明人還出人意料地發現，本發明的多肽載體特別適合用於展示來自人B肝病毒的抗原表位元(例如來自人HBV的HBsAg中的表位)，能夠在受試者中誘發特別強的清除HBsAg的特異性免疫應答，其功效顯著優於現有的B肝疫苗(例如，以人HBV的HBcAg為多肽載體構建的、含有相同表位的疫苗)。因此，本發明還提供了一種特別適合用於展示來自人B肝病毒的抗原表位元的多肽載體。

【0010】因此，在一方面，本發明提供了一種核酸分子，其包含編碼多肽載體的核苷酸序列或者其變體，該變體與該核苷酸序列具有至少90% (例如，至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%)的同

一性，或者在嚴緊條件或者高嚴緊條件下，能夠與該核苷酸序列雜交，其中，該多肽載體選自：

(1) RBHBcAg載體，其與蹄蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(RBHBcAg；例如，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 1所示)的區別包括：(a) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個氨基酸殘基；例如，第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、或第78-80位氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體(例如，柔性連接體；例如，如SEQ ID NO: 43所示的連接體)；以及(b)任選地，RBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基)；

(2) TBHBcAg載體，其與簇帳蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(TBHBcAg；例如，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 2所示)的區別包括：(a) TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個或5個氨基酸殘基；例如，第80-84位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、或第80-82位氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體(例如，柔性連接體；例如，如SEQ ID NO: 43所示的連接體)；以及(b)任選地，TBHBcAg蛋白的C端缺失1-35個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，或30-35個氨基酸殘基)；

(3) HBHBcAg載體，其與菊頭蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(HBHBcAg；例如，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 3所示)的區別包括：(a) HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個氨基酸殘基；例如，第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、或第78-80位氨基酸

殘基)被缺失或被置換為連接體(例如，柔性連接體；例如，如SEQ ID NO: 43所示的連接體)；以及(b)任選地，HBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基)。

RBHBcAg載體

【0011】在一較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白是野生型RBHBcAg。在一較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 1所示。

【0012】在一較佳的實施方案中，RBHBcAg載體與RBHBcAg蛋白的區別包括：RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體。例如，RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、第78-80位氨基酸殘基、第78-79位氨基酸殘基、第79-83位氨基酸殘基、第79-82位氨基酸殘基、第79-81位氨基酸殘基、第79-80位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、第80-82位氨基酸殘基、第80-81位氨基酸殘基、第81-83位氨基酸殘基、第81-82位氨基酸殘基、第82-83位氨基酸殘基、第78位氨基酸殘基、第79位氨基酸殘基、第80位氨基酸殘基、第81位氨基酸殘基、第82位氨基酸殘基、或第83位氨基酸殘基可被缺失或被置換為連接體。在一較佳的實施方案中，該連接體例如為柔性連接體。此類柔性連接體是本領域技術人員公知的，例如，GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 43)。

【0013】在一較佳的實施方案中，RBHBcAg載體與RBHBcAg蛋白的區別包括：(1) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體，如上文所定義的；和(2) RBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個

氨基酸殘基。在一較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的C端被缺失1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基；例如，被缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或40個氨基酸殘基。

TBHBcAg載體

【0014】在一較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白是野生型TBHBcAg。在一較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 2所示。

【0015】在一較佳的實施方案中，TBHBcAg載體與TBHBcAg蛋白的區別包括：TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，或5個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體。例如，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、第80-82位氨基酸殘基、第80-81位氨基酸殘基、第81-84位氨基酸殘基、第81-83位氨基酸殘基、第81-82位氨基酸殘基、第82-84位氨基酸殘基、第82-83位氨基酸殘基、第83-84位氨基酸殘基、第80位氨基酸殘基、第81位氨基酸殘基、第82位氨基酸殘基、第83位氨基酸殘基、或第84位氨基酸殘基可被缺失或被置換為連接體。在一較佳的實施方案中，該連接體例如為柔性連接體。此類柔性連接體是本領域技術人員公知的，例如，GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 43)。

【0016】在一較佳的實施方案中，TBHBcAg載體與TBHBcAg蛋白的區別包括：(1) TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，或5個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體，如上文所定義的；和(2) TBHBcAg蛋白的C端缺失1-35個氨基酸殘基。在一較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的C端被缺失1-5個，5-10

個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，或30-35個氨基酸殘基；例如，被缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、或35個氨基酸殘基。

HBHBcAg載體

【0017】在一較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白是野生型HBHBcAg。在一較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 3所示。

【0018】在一較佳的實施方案中，HBHBcAg載體與HBHBcAg蛋白的區別包括：HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體。例如，HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、第78-80位氨基酸殘基、第78-79位氨基酸殘基、第79-83位氨基酸殘基、第79-82位氨基酸殘基、第79-81位氨基酸殘基、第79-80位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、第80-82位氨基酸殘基、第80-81位氨基酸殘基、第81-83位氨基酸殘基、第81-82位氨基酸殘基、第82-83位氨基酸殘基、第78位氨基酸殘基、第79位氨基酸殘基、第80位氨基酸殘基、第81位氨基酸殘基、第82位氨基酸殘基、或第83位氨基酸殘基可被缺失或被置換為連接體。在一較佳的實施方案中，該連接體例如為柔性連接體。此類柔性連接體是本領域技術人員公知的，例如，GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 43)。

【0019】在一較佳的實施方案中，HBHBcAg載體與HBHBcAg蛋白的區別包括：(1) HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體，如上文所定義的；和(2) HBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個

氨基酸殘基。在一較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的C端被缺失1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基；例如，被缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或40個氨基酸殘基。

【0020】在某些較佳的實施方案中，該多肽載體還攜帶T細胞表位。在某些較佳的實施方案中，該T細胞表位為人T細胞表位。在某些較佳的實施方案中，該T細胞表位選自MHC I和MHC II限制性人T細胞表位。在某些較佳的實施方案中，該MHC I限制性人T細胞表位如SEQ ID NO: 87所示。在某些較佳的實施方案中，該MHC II限制性人T細胞表位如SEQ ID NO: 88或89所示。

【0021】在某些較佳的實施方案中，該多肽載體攜帶人T細胞表位，並且選自：

(1) RBHBcAg-T載體，其與蹄蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(RBHBcAg；例如，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 1所示)的區別包括：

(1a) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個氨基酸殘基；例如，第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、或第78-80位氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體(例如，柔性連接體；例如，如SEQ ID NO: 43所示的連接體)；

(1b) RBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）；以及

(1c) 任選地，RBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基)；

(2) TBHBcAg-T載體，其與簗帳蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(TBHBcAg；例如，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 2所示)的區別包括：

(2a) TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個或5個氨基酸殘基；例如，第80-84位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、或第80-82位氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體(例如，柔性連接體；例如，如SEQ ID NO: 43所示的連接體)；

(2b) TBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第54-73位中的一或複數氨基酸殘基和/或第124-144位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）；以及

(2c) 任選地，TBHBcAg蛋白的C端缺失1-35個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，或30-35個氨基酸殘基)；和

(3) HBHBcAg-T載體，其與菊頭蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(HBHBcAg；例如，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 3所示)的區別包括：

(3a) HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個氨基酸殘基；例如，第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、或第78-80位氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體(例如，柔性連接體；例如，如SEQ ID NO: 43所示的連接體)；

(3b) HBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）；以及

(3c) 任選地，HBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基)。

RBHBcAg-T載體

【0022】在一較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白是野生型RBHBcAg。在一較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 1所示。

【0023】在一較佳的實施方案中，RBHBcAg-T載體與RBHBcAg蛋白的區別包括，(i) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體；(ii) RBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）；以及，(iii) 任選地，RBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基)。

關於區別(i)

【0024】在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、第78-80位氨基酸殘基、第78-79位氨基酸殘基、第79-83位氨基酸殘基、第79-82位氨基酸殘基、第79-81位氨基酸殘基、第79-80位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、第

80-82位氨基酸殘基、第80-81位氨基酸殘基、第81-83位氨基酸殘基、第81-82位氨基酸殘基、第82-83位氨基酸殘基、第78位氨基酸殘基、第79位氨基酸殘基、第80位氨基酸殘基、第81位氨基酸殘基、第82位氨基酸殘基、或第83位氨基酸殘基可被缺失或被置換為連接體。在一較佳的實施方案中，該連接體例如為柔性連接體。此類柔性連接體是本領域技術人員公知的，例如，GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 43)。

關於區別(ii)

【0025】在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第18-27位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第18-26位、第18-25位、第18-24位、第18-23位、第18-22位、第18-21位、第18-20位、第18-19位、第19-27位、第19-26位、第19-25位、第19-24位、第19-23位、第19-22位、第19-21位、第19-20位、第20-27位、第20-26位、第20-25位、第20-24位、第20-23位、第20-22位、第20-21位、第21-27位、第21-26位、第21-25位、第21-24位、第21-23位、第21-22位、第第22-27位、第22-26位、第22-25位、第22-24位、第22-23位、第23-27位、第23-26位、第23-25位、第23-24位、第24-27位、第24-26位、第24-25位、第25-27位、第25-26位、第26-27位、第27位、第26位、第25位、第24位、第23位、第22位、第21位、第20位、第19位或第18位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0026】在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第50-69位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7

個，8個，9個，10個，11個，12個，13個，14個，15個，16個，17個，18個，19個，或20個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第50-69位、第50-68位、第50-67位、第50-66位、第50-65位、第50-64位、第50-63位、第50-62位、第50-61位、第50-60位、第50-59位、第50-58位、第50-57位、第50-56位、第50-55位、第50-54位、第50-53位、第50-52位、第50-51位、第51-69位、第51-68位、第51-67位、第51-66位、第51-65位、第51-64位、第51-63位、第51-62位、第51-61位、第51-60位、第51-59位、第51-58位、第51-57位、第51-56位。第51-55位、第51-54位、第51-53位、第51-52位、第52-69位、第52-68位、第52-67位、第52-66位、第52-65位、第52-64位、第52-63位、第52-62位、第52-61位、第52-60位、第52-59位、第52-58位、第52-57位、第52-56位、第52-55位、第52-54位、第52-53位、第53-69位、第53-68位、第53-67位、第53-66位、第53-65位、第53-64位、第53-63位、第53-62位、第53-61位、第53-60位、第53-59位、第53-58位、第53-57位、第53-56位、第53-55位、第53-54位、第54-69位、第54-68位、第54-67位、第54-66位、第54-65位、第54-64位、第54-63位、第54-62位、第54-61位、第54-60位、第54-59位、第54-58位、第54-57位、第54-56位、第54-57位、第54-56位、第54-55位、第55-69位、第55-68位、第55-67位、第55-66位、第55-65位、第55-64位、第55-63位、第55-62位、第55-61位、第55-60位、第55-59位、第55-58位、第55-57位、第55-56位、第56-69位、第56-68位、第56-67位、第56-66位、第56-65位、第56-64位、第56-63位、第56-62位、第56-61位、第56-60位、第56-59位、第56-58位、第56-57位、第57-69位、第57-68位、第57-67位、第57-66位、第57-65位、第57-64位、第57-63位、第57-62位、第57-61位、第57-60位、第57-59位、第57-58位、

第58-69位、第58-68位、第58-67位、第58-66位、第58-65位、第58-64位、第58-63位、第58-62位、第58-61位、第58-60位、第58-59位、第59-69位、第59-68位、第59-67位、第59-66位、第59-65位、第59-64位、第59-63位、第59-62位、第59-61位、第59-60位、第60-69位、第60-68位、第60-67位、第60-66位、第60-65位、第60-64位、第60-63位、第60-62位、第60-61位、第61-69位、第61-68位、第61-67位、第61-66位、第61-65位、第61-64位、第61-63位、第61-62位、第62-69位、第62-68位、第62-67位、第62-66位、第62-65位、第62-64位、第62-63位、第63-69位、第63-68位、第63-67位、第63-66位、第63-65位、第63-64位、第64-69位、第64-68位、第64-67位、第64-66位、第64-65位、第65-69位、第65-68位、第65-67位、第65-66位、第66-69位、第66-68位、第66-67位、第67-69位、第67-68位、第68-69位、第69位、第68位、第67位、第66位、第65位、第64位、第63位、第62位、第61位、第60位、第59位、第58位、第57位、第56位、第55位、第54位、第53位、第52位、第51位或第50位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0027】在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個，10個，11個，12個，13個，14個，15個，16個，17個，18個，19個，20個或21個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第120-140位、第120-139位、第120-138位、第120-137位、第120-136位、第120-135位、第120-134位、第120-133位、第120-132位、第120-131位、第120-130位、第120-129位、第120-128位、第120-127位、第120-126

位、第120-125位、第120-124位、第120-123位、第120-122位、第120-121位、121-140位、第121-139位、第121-138位、第121-137位、第121-136位、第121-135位、第121-134位、第121-133位、第121-132位、第121-131位、第121-130位、第121-129位、第121-128位、第121-127位、第121-126位、第121-125位、第121-124位、第121-123位、第121-122位、122-140位、第122-139位、第122-138位、第122-137位、第122-136位、第122-135位、第122-134位、第122-133位、第122-132位、第122-131位、第122-130位、第122-129位、第122-128位、第122-127位、第122-126位、第122-125位、第122-124位、第122-123位、123-140位、第123-139位、第123-138位、第123-137位、第123-136位、第123-135位、第123-134位、第123-133位、第123-132位、第123-131位、第123-130位、第123-129位、第123-128位、第123-127位、第123-126位、第123-125位、第123-124位、124-140位、第124-139位、第124-138位、第124-137位、第124-136位、第124-135位、第124-134位、第124-133位、第124-132位、第124-131位、第124-130位、第124-129位、第124-128位、第124-127位、第124-126位、第124-125位、125-140位、第125-139位、第125-138位、第125-137位、第125-136位、第125-135位、第125-134位、第125-133位、第125-132位、第125-131位、第125-130位、第125-129位、第125-128位、第125-127位、126-140位、第126-139位、第126-138位、第126-137位、第126-136位、第126-135位、第126-134位、第126-133位、第126-132位、第126-131位、第126-130位、第126-129位、第126-128位、第126-127位、127-140位、第127-139位、第127-138位、第127-137位、第127-136位、第127-135位、第127-134位、第127-133位、第127-132位、第127-131位、第127-130位、第127-129位、第127-128位、128-140位、第128-139位、第128-139位、第128-137位、第128-136位、第128-135位、第128-134位、第128-133

位、第128-132位、第128-131位、第128-130位、第128-129位、129-140位、第129-139位、第129-138位、第129-137位、第129-136位、第129-135位、第129-134位、第129-133位、第129-132位、第129-131位、第129-130位、130-140位、第130-139位、第130-138位、第130-137位、第130-136位、第130-135位、第130-134位、第130-133位、第130-132位、第130-131位、131-140位、第131-139位、第131-138位、第131-137位、第131-136位、第131-135位、第131-134位、第131-133位、第131-132位、132-140位、第132-139位、第132-138位、第132-137位、第132-136位、第132-135位、第132-134位、第132-133位、133-140位、第133-139位、第133-138位、第133-137位、第133-136位、第133-135位、第133-134位、134-140位、第134-139位、第134-138位、第134-137位、第134-136位、第134-135位、135-140位、第135-139位、第135-138位、第135-137位、第135-136位、136-140位、第136-139位、第136-138位、第136-137位、137-140位、第137-139位、第137-138位、138-140位、第138-139位、139-140位、第140位、第139位、第138位、第137位、第136位、第135位、第134位、第133位、第132位、第131位第130位、第129位、第128位、第127位、第126位、第125位、第124位、第123位、第122位、第121位或第120位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0028】在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg-T載體包含上述三種置換中的任一種或兩種置換。在某些較佳的實施方案中，RBHBcAg-T載體包含上述三種置換（此類多肽載體在下文中也被簡稱為RBHBcAg-T3載體）。例如，在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第18-27位和第50-69位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位(例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第18-27

位和第120-140位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第50-69位和第120-140位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第50-69位以及第120-140位氨基酸殘基均被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第50-69位以及第120-140位氨基酸殘基分別被置換為如SEQ ID NO: 87、88和89所示的人T細胞表位。

關於區別(iii)

【0029】區別(iii)並非是必須的。換言之，在RBHBcAg-T載體中，可以存在或者不存在RBHBcAg蛋白的C端缺失。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg-T載體不存在RBHBcAg蛋白的C端缺失。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基。在某些示例性實施方案中，RBHBcAg蛋白的C端被缺失1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基；例如，被缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或40個氨基酸殘基。

TBHBcAg-T載體

【0030】在一較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白是野生型TBHBcAg。在一較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 2所示。

【0031】在一較佳的實施方案中，TBHBcAg-T載體與TBHBcAg蛋白的區別包括，(i) TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基

酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，或5個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體；(ii) TBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第54-73位中的一或複數氨基酸殘基和/或第124-144位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）；以及(iii) 任選地，TBHBcAg蛋白的C端缺失1-35個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，或30-35個氨基酸殘基)。

關於區別(i)

【0032】在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、第80-82位氨基酸殘基、第80-81位氨基酸殘基、第81-84位氨基酸殘基、第81-83位氨基酸殘基、第81-82位氨基酸殘基、第82-84位氨基酸殘基、第82-83位氨基酸殘基、第83-84位氨基酸殘基、第80位氨基酸殘基、第81位氨基酸殘基、第82位氨基酸殘基、第83位氨基酸殘基、或第84位氨基酸殘基可被缺失或被置換為連接體。在一較佳的實施方案中，該連接體例如為柔性連接體。此類柔性連接體是本領域技術人員公知的，例如，GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 43)。

關於區別(ii)

【0033】在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第18-27位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第18-26位、第18-25位、第18-24位、第18-23位、第18-22位、第18-21位、第18-20位、第18-19位、第19-27位、第19-26位、第19-25位、第19-24位、第19-23位、第19-22位、第19-21位、第19-20位、第20-27位、

第20-26位、第20-25位、第20-24位、第20-23位、第20-22位、第20-21位、第21-27位、第21-26位、第21-25位、第21-24位、第21-23位、第21-22位、第第22-27位、第22-26位、第22-25位、第22-24位、第22-23位、第23-27位、第23-26位、第23-25位、第23-24位、第24-27位、第24-26位、第24-25位、第25-27位、第25-26位、第26-27位、第27位、第26位、第25位、第24位、第23位、第22位、第21位、第20位、第19位或第18位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0034】在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第54-73位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個，10個，11個，12個，13個，14個，15個，16個，17個，18個，19個，或20個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第54-73位、第54-72位、第54-71位、第54-70位、第54-69位、第54-68位、第54-67位、第54-66位、第54-65位、第54-64位、第54-63位、第54-62位、第54-61位、第54-60位、第54-59位、第54-58位、第54-57位、第54-56位、第54-55位、55-73位、第55-72位、第55-71位、第55-70位、第55-69位、第55-68位、第55-67位、第55-66位、第55-65位、第55-64位、第55-63位、第55-62位、第55-61位、第55-60位、第55-59位、第55-58位、第55-57位、第55-56位、56-73位、第56-72位、第56-71位、第56-70位、第56-69位、第56-68位、第56-67位、第56-66位、第56-65位、第56-64位、第56-63位、第56-62位、第56-61位、第56-60位、第56-59位、第56-58位、第56-57位、57-73位、第57-72位、第57-71位、第57-70位、第57-69位、第57-68位、第57-67位、第57-66位、第57-65位、第57-64位、第57-63位、第57-62位、第57-61位、第

57-60位、第57-59位、第57-58位、58-73位、第58-72位、第58-71位、第58-70位、第58-69位、第58-68位、第58-67位、第58-66位、第58-65位、第58-64位、第58-63位、第58-62位、第58-61位、第58-60位、第58-59位、59-73位、第59-72位、第59-71位、第59-70位、第59-69位、第59-68位、第59-67位、第59-66位、第59-65位、第59-64位、第59-63位、第59-62位、第59-61位、第59-60位、60-73位、第60-72位、第60-71位、第60-70位、第60-69位、第60-68位、第60-67位、第60-66位、第60-65位、第60-64位、第60-63位、第60-62位、第60-61位、第61-73位、第61-72位、第61-71位、第61-70位、第61-69位、第61-68位、第61-67位、第61-66位、第61-65位、第61-64位、第61-63位、第61-62位、第62-73位、第62-72位、第62-71位、第62-70位、第62-69位、第62-68位、第62-67位、第62-66位、第62-65位、第62-64位、第62-63位、第63-73位、第63-72位、第63-71位、第63-70位、第63-69位、第63-68位、第63-67位、第63-66位、第63-65位、第63-64位、第64-73位、第64-72位、第64-71位、第64-70位、第64-69位、第64-68位、第64-67位、第64-66位、第64-65位、第65-73位、第65-72位、第65-71位、第65-70位、第65-69位、第65-68位、第65-67位、第65-66位、第66-73位、第66-72位、第66-71位、第66-70位、第66-69位、第66-68位、第66-67位、第67-73位、第67-72位、第67-71位、第67-70位、第67-69位、第67-68位、第68-73位、第68-72位、第68-71位、第68-70位、第68-69位、第69-73位、第69-72位、第69-71位、第69-70位、第70-73位、第70-72位、第70-71位、第71-73位、第71-72位、第72-73位、第73位、第72位、第71位、第70位、第69位、第68位、第67位、第66位、第65位、第64位、第63位、第62位、第61位、第60位、第59位、第58位、第57位、第56位、第55位或第54位氨基酸殘基被置

換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0035】在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第124-144位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個，10個，11個，12個，13個，14個，15個，16個，17個，18個，19個，20個或21個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第124-144位、第124-143位、第124-142位、第124-141位、第124-140位、第124-139位、第124-138位、第124-137位、第124-136位、第124-135位、第124-134位、第124-133位、第124-132位、第124-131位、第124-130位、第124-129位、第124-128位、第124-127位、第124-126位、第124-125位、第125-144位、第125-143位、第125-142位、第125-141位、第125-140位、第125-139位、第125-138位、第125-137位、第125-136位、第125-135位、第125-134位、第125-133位、第125-132位、第125-131位、第125-130位、第125-129位、第125-128位、第125-127位、第125-126位、第126-144位、第126-143位、第126-142位、第126-141位、第126-140位、第126-139位、第126-138位、第126-137位、第126-136位、第126-135位、第126-134位、第126-133位、第126-132位、第126-131位、第126-130位、第126-129位、第126-128位、第126-127位、第127-144位、第127-143位、第127-142位、第127-141位、第127-140位、第127-139位、第127-138位、第127-137位、第127-136位、第127-135位、第127-134位、第127-133位、第127-132位、第127-131位、第127-130位、第127-129位、第127-128位、第128-144位、第128-143位、第128-142位、第128-141位、第128-140位、第128-139位、第128-138位、第128-137位、第128-136位、第128-135位、第128-134

位、第128-133位、第128-132位、第128-131位、第128-130位、第128-129位、第129-144位、第129-143位、第129-142位、第129-141位、第129-140位、第129-139位、第129-138位、第129-137位、第129-136位、第129-135位、第129-134位、第129-133位、第129-132位、第129-131位、第129-130位、第130-144位、第130-143位、第130-142位、第130-141位、第130-140位、第130-139位、第130-138位、第130-137位、第130-136位、第130-135位、第130-134位、第130-133位、第130-132位、第130-131位、第131-144位、第131-143位、第131-142位、第131-141位、第131-140位、第131-139位、第131-138位、第131-137位、第131-136位、第131-135位、第131-134位、第131-133位、第131-132位、第132-144位、第132-143位、第132-142位、第132-141位、第132-140位、第132-139位、第132-138位、第132-137位、第132-136位、第132-135位、第132-134位、第132-133位、第133-144位、第133-143位、第133-142位、第133-141位、第133-140位、第133-139位、第133-138位、第133-137位、第133-136位、第133-135位、第133-134位、第134-144位、第134-143位、第134-142位、第134-141位、第134-140位、第134-139位、第134-138位、第134-137位、第134-136位、第134-135位、第135-144位、第135-143位、第135-142位、第135-141位、第135-140位、第135-139位、第135-138位、第135-137位、第135-136位、第136-144位、第136-143位、第136-142位、第136-141位、第136-140位、第136-139位、第136-138位、第136-137位、第137-144位、第137-143位、第137-142位、第137-141位、第137-140位、第137-139位、第137-138位、第138-144位、第138-143位、第138-142位、第138-141位、第138-140位、第138-139位、第139-144位、第139-143位、第139-142位、第139-141位、第139-140位、第140-144位、第140-143位、第140-142位、第140-141位、第141-144

位、第141-143位、第141-142位、第142-144位、第142-143位、第143-144位、第144位、第143位、第142位、第141位、第140位、第139位、第138位、第137位、第136位、第135位、第134位、第133位、第132位、第131位、第130位、第129位、第128位、第127位、第126位、第125位或第124位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0036】在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg-T載體包含上述三種置換中的任一種或兩種置換。在某些較佳的實施方案中，TBHBcAg-T載體包含上述三種置換（此類多肽載體在下文中也被簡稱為TBHBcAg-T3載體）。例如，在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第18-27位和第54-73位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第18-27位和第124-144位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第54-73位和第124-144位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第54-73位以及第124-144位氨基酸殘基均被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第54-73位以及第124-144位氨基酸殘基分別被置換為如SEQ ID NO: 87、88和89所示的人T細胞表位。

關於區別(iii)

【0037】區別(iii)並非是必須的。換言之，在TBHBcAg-T載體中，可以存在或者不存在TBHBcAg蛋白的C端缺失。在某些示例性實施方案中，

TBHBcAg-T載體不存在TBHBcAg蛋白的C端缺失。在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的C端缺失1-35個氨基酸殘基。在某些示例性實施方案中，TBHBcAg蛋白的C端被缺失1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，或30-35個氨基酸殘基；例如，被缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、或35個氨基酸殘基。

HBHBcAg-T載體

【0038】在一較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白是野生型HBHBcAg。在一較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 3所示。

【0039】在一較佳的實施方案中，HBHBcAg-T載體與HBHBcAg蛋白的區別包括，(i) HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數連續氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個或6個連續氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體；(ii) HBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）；以及，(iii) 任選地，HBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基(例如，1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基)。

關於區別(i)

【0040】在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基、第78-82位氨基酸殘基、第78-81位氨基酸殘基、第78-80位氨基酸殘基、第78-79位氨基酸殘基、第79-83位氨基酸殘基、第79-82位氨基酸殘基、第79-81位氨基酸殘基、第79-80位氨基酸殘基、第80-83位氨基酸殘基、第80-82位氨基酸殘基、第80-81位氨基酸殘基、第81-83位氨基酸殘基、第81-82

位氨基酸殘基、第82-83位氨基酸殘基、第78位氨基酸殘基、第79位氨基酸殘基、第80位氨基酸殘基、第81位氨基酸殘基、第82位氨基酸殘基、或第83位氨基酸殘基可被缺失或被置換為連接體。在一較佳的實施方案中，該連接體例如為柔性連接體。此類柔性連接體是本領域技術人員公知的，例如，GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 43)。

關於區別(ii)

【0041】在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第18-27位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第18-26位、第18-25位、第18-24位、第18-23位、第18-22位、第18-21位、第18-20位、第18-19位、第19-27位、第19-26位、第19-25位、第19-24位、第19-23位、第19-22位、第19-21位、第19-20位、第20-27位、第20-26位、第20-25位、第20-24位、第20-23位、第20-22位、第20-21位、第21-27位、第21-26位、第21-25位、第21-24位、第21-23位、第21-22位、第第22-27位、第22-26位、第22-25位、第22-24位、第22-23位、第23-27位、第23-26位、第23-25位、第23-24位、第24-27位、第24-26位、第24-25位、第25-27位、第25-26位、第26-27位、第27位、第26位、第25位、第24位、第23位、第22位、第21位、第20位、第19位或第18位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0042】在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第50-69位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個，10個，11個，12個，13個，14個，15個，16個，17個，18

個，19個，或20個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位)。在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第50-69位、第50-68位、第50-67位、第50-66位、第50-65位、第50-64位、第50-63位、第50-62位、第50-61位、第50-60位、第50-59位、第50-58位、第50-57位、第50-56位、第50-55位、第50-54位、第50-53位、第50-52位、第50-51位、第51-69位、第51-68位、第51-67位、第51-66位、第51-65位、第51-64位、第51-63位、第51-62位、第51-61位、第51-60位、第51-59位、第51-58位、第51-57位、第51-56位。第51-55位、第51-54位、第51-53位、第51-52位、第52-69位、第52-68位、第52-67位、第52-66位、第52-65位、第52-64位、第52-63位、第52-62位、第52-61位、第52-60位、第52-59位、第52-58位、第52-57位、第52-56位、第52-55位、第52-54位、第52-53位、第53-69位、第53-68位、第53-67位、第53-66位、第53-65位、第53-64位、第53-63位、第53-62位、第53-61位、第53-60位、第53-59位、第53-58位、第53-57位、第53-56位、第53-55位、第53-54位、第54-69位、第54-68位、第54-67位、第54-66位、第54-65位、第54-64位、第54-63位、第54-62位、第54-61位、第54-60位、第54-59位、第54-58位、第54-57位、第54-56位、第54-57位、第54-56位、第54-55位、第55-69位、第55-68位、第55-67位、第55-66位、第55-65位、第55-64位、第55-63位、第55-62位、第55-61位、第55-60位、第55-59位、第55-58位、第55-57位、第55-56位、第56-69位、第56-68位、第56-67位、第56-66位、第56-65位、第56-64位、第56-63位、第56-62位、第56-61位、第56-60位、第56-59位、第56-58位、第56-57位、第57-69位、第57-68位、第57-67位、第57-66位、第57-65位、第57-64位、第57-63位、第57-62位、第57-61位、第57-60位、第57-59位、第57-58位、第58-69位、第58-68位、第58-67位、第58-66位、第58-65位、第58-64位、第

58-63位、第58-62位、第58-61位、第58-60位、第58-59位、第59-69位、第59-68位、第59-67位、第59-66位、第59-65位、第59-64位、第59-63位、第59-62位、第59-61位、第59-60位、第60-69位、第60-68位、第60-67位、第60-66位、第60-65位、第60-64位、第60-63位、第60-62位、第60-61位、第61-69位、第61-68位、第61-67位、第61-66位、第61-65位、第61-64位、第61-63位、第61-62位、第62-69位、第62-68位、第62-67位、第62-66位、第62-65位、第62-64位、第62-63位、第63-69位、第63-68位、第63-67位、第63-66位、第63-65位、第63-64位、第64-69位、第64-68位、第64-67位、第64-66位、第64-65位、第65-69位、第65-68位、第65-67位、第65-66位、第66-69位、第66-68位、第66-67位、第67-69位、第67-68位、第68-69位、第69位、第68位、第67位、第66位、第65位、第64位、第63位、第62位、第61位、第60位、第59位、第58位、第57位、第56位、第55位、第54位、第53位、第52位、第51位或第50位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0043】在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(例如，1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個，10個，11個，12個，13個，14個，15個，16個，17個，18個，19個，20個或21個氨基酸殘基)被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第120-140位、第120-139位、第120-138位、第120-137位、第120-136位、第120-135位、第120-134位、第120-133位、第120-132位、第120-131位、第120-130位、第120-129位、第120-128位、第120-127位、第120-126位、第120-125位、第120-124位、第120-123位、第120-122位、第120-121

位、121-140位、第121-139位、第121-138位、第121-137位、第121-136位、第121-135位、第121-134位、第121-133位、第121-132位、第121-131位、第121-130位、第121-129位、第121-128位、第121-127位、第121-126位、第121-125位、第121-124位、第121-123位、第121-122位、122-140位、第122-139位、第122-138位、第122-137位、第122-136位、第122-135位、第122-134位、第122-133位、第122-132位、第122-131位、第122-130位、第122-129位、第122-128位、第122-127位、第122-126位、第122-125位、第122-124位、第122-123位、123-140位、第123-139位、第123-138位、第123-137位、第123-136位、第123-135位、第123-134位、第123-133位、第123-132位、第123-131位、第123-130位、第123-129位、第123-128位、第123-127位、第123-126位、第123-125位、第123-124位、124-140位、第124-139位、第124-138位、第124-137位、第124-136位、第124-135位、第124-134位、第124-133位、第124-132位、第124-131位、第124-130位、第124-129位、第124-128位、第124-127位、第124-126位、第124-125位、125-140位、第125-139位、第125-138位、第125-137位、第125-136位、第125-135位、第125-134位、第125-133位、第125-132位、第125-131位、第125-130位、第125-129位、第125-128位、第125-127位、126-140位、第126-139位、第126-138位、第126-137位、第126-136位、第126-135位、第126-134位、第126-133位、第126-132位、第126-131位、第126-130位、第126-129位、第126-128位、第126-127位、127-140位、第127-139位、第127-138位、第127-137位、第127-136位、第127-135位、第127-134位、第127-133位、第127-132位、第127-131位、第127-130位、第127-129位、第127-128位、128-140位、第128-139位、第128-139位、第128-137位、第128-136位、第128-135位、第128-134位、第128-133位、第128-132位、第128-131位、第128-130位、第128-129位、129-140位、

第129-139位、第129-138位、第129-137位、第129-136位、第129-135位、第129-134位、第129-133位、第129-132位、第129-131位、第129-130位、130-140位、第130-139位、第130-138位、第130-137位、第130-136位、第130-135位、第130-134位、第130-133位、第130-132位、第130-131位、131-140位、第131-139位、第131-138位、第131-137位、第131-136位、第131-135位、第131-134位、第131-133位、第131-132位、132-140位、第132-139位、第132-138位、第132-137位、第132-136位、第132-135位、第132-134位、第132-133位、133-140位、第133-139位、第133-138位、第133-137位、第133-136位、第133-135位、第133-134位、134-140位、第134-139位、第134-138位、第134-137位、第134-136位、第134-135位、135-140位、第135-139位、第135-138位、第135-137位、第135-136位、136-140位、第136-139位、第136-138位、第136-137位、137-140位、第137-139位、第137-138位、138-140位、第138-139位、139-140位、第140位、第139位、第138位、第137位、第136位、第135位、第134位、第133位、第132位、第131位第130位、第129位、第128位、第127位、第126位、第125位、第124位、第123位、第122位、第121位或第120位氨基酸殘基被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位；例如，如SEQ ID NO: 87-89所示的人T細胞表位）。

【0044】在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg-T載體包含上述三種置換中的任一種或兩種置換。在某些較佳的實施方案中，HBHBcAg-T載體包含上述三種置換（此類多肽載體在下文中也被簡稱為HBHBcAg-T3載體）。例如，在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第18-27位和第50-69位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位(例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位)。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第18-27位和第120-140位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC

I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第50-69位和第120-140位氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第50-69位以及第120-140位氨基酸殘基均被置換為人T細胞表位（例如MHC I或MHC II限制性人T細胞表位）。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的N端第18-27位、第50-69位以及第120-140位氨基酸殘基分別被置換為如SEQ ID NO: 87、88和89所示的人T細胞表位。

關於區別(iii)

【0045】區別(iii)並非是必須的。換言之，在HBHBcAg-T載體中，可以存在或者不存在HBHBcAg蛋白的C端缺失。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg-T載體不存在HBHBcAg蛋白的C端缺失。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基。在某些示例性實施方案中，HBHBcAg蛋白的C端被缺失1-5個，5-10個，10-15個，15-20個，20-25個，25-30個，30-35個，或35-40個氨基酸殘基；例如，被缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或40個氨基酸殘基。

【0046】如本領域技術人員已知的，限制性酶切位點的引入是特別有利的。因此，在一較佳的實施方案中，在本發明的核酸分子中，在編碼該被缺失的一或複數氨基酸殘基（例如RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基和HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基）的位置處引入限制性酶切位點。在一較佳的實施方案中，在本發明的核酸分子中，在編碼該連接體的核苷酸序列中和/或其一端或兩

端引入限制性酶切位點。在一較佳的實施方案中，在本發明的核酸分子中和/或其一端或兩端引入一或複數限制性酶切位點。各種限制性酶切位點是本領域技術人員已知的，其包括但不限於，EcoR Ⅰ、BamH Ⅰ、Hind Ⅱ、Hind Ⅲ，HpaⅠ、Hpa Ⅱ，MboⅠ、Mbo Ⅱ等限制性內切酶識別的酶切位點。

【0047】在一較佳的實施方案中，該變體與該編碼多肽載體的核苷酸序列具有至少90%的同一性，例如，至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%的同一性。

【0048】在一較佳的實施方案中，該變體能夠在嚴緊條件下與該編碼多肽載體的核苷酸序列雜交。在一較佳的實施方案中，該變體能夠在高嚴緊條件下與該編碼多肽載體的核苷酸序列雜交。

【0049】在一較佳的實施方案中，該多肽載體的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 4-9和75-80。

【0050】在一較佳的實施方案中，該核酸分子包含選自SEQ ID NO: 12-17和81-86的核苷酸序列。

【0051】在一較佳的實施方案中，該核酸分子用於插入編碼目的多肽的核苷酸序列。例如，該編碼目的多肽的核苷酸序列被插入至編碼該被缺失的一或複數氨基酸殘基（例如RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基和HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基）的位置處，或者被插入至編碼該連接體的核苷酸序列中或其一端或兩端。在一較佳的實施方案中，以符合讀框的方式將編碼目的多肽的核苷酸序列插入編碼多肽載體的核苷酸序列中。在一較佳的實施方案中，利用限制性酶切位元點，將編碼目的多肽的核苷酸序列插入編碼多肽載體的核苷酸序列中。

【0052】在一較佳的實施方案中，該核酸分子還包含，編碼目的多肽的核苷酸序列，其中，該目的多肽相對於該多肽載體而言是異源的，並且該編碼目的多肽的核苷酸序列被插入至編碼該被缺失的一或複數氨基酸殘基（例如RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基和HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基）的位置處，或者被插入至編碼該連接體的核苷酸序列中或其一端或兩端。在一較佳的實施方案中，以符合讀框的方式將編碼目的多肽的核苷酸序列插入編碼多肽載體的核苷酸序列中。在一較佳的實施方案中，利用限制性酶切位元點，將編碼目的多肽的核苷酸序列插入編碼多肽載體的核苷酸序列中。

【0053】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者是抗原或者含有抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是表位元肽，例如包含來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位的表位肽。

【0054】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg或含有HBsAg的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為RBHBcAg載體或RBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為TBHBcAg載體或TBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為HBHBcAg載體或HBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。

【0055】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg蛋白或含有HBsAg蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該HBV選自HBV基因型A、B、C和D。在一較佳的實施方案中，該HBsAg蛋白的表位為HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸。

【0056】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自HIV的GP120蛋白或含有GP120蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是GP120蛋白的第361-375位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人PD-L1蛋白或含有人PD-L1蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是人PD-L1蛋白的第147-160位氨基酸。

【0057】在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 20-22和60-62。在一較佳的實施方案中，該核酸分子包含或者由編碼選自SEQ ID NO: 23-40、69-74和90-96的氨基酸序列的核苷酸序列組成。

【0058】在另一方面，本發明涉及，含有如上所定義的本發明核酸分子的載體(vector)。

【0059】可用於插入目的多核苷酸(例如，本發明的核酸分子)的載體是本領域公知的，包括但不限於克隆載體和表達載體。在一較佳的實施方案中，本發明的載體可以是真核表達載體或原核表達載體。在一較佳的實施方案中，本發明的載體是例如質粒，黏粒，或噬菌體等。

【0060】在另一方面，本發明還涉及包含上述核酸分子或載體的宿主細胞。此類宿主細胞包括但不限於，原核細胞例如大腸桿菌細胞，以及真核細胞例如酵母細胞，昆蟲細胞，植物細胞和動物細胞(如哺乳動物細胞，例如小鼠細胞、人細胞等)。本發明的宿主細胞還可以是細胞系，例如293T細胞。

【0061】在另一方面，本發明涉及一種展示目的多肽的方法，其包括:

(1)將編碼該目的多肽的核苷酸序列插入至本發明的核酸分子中(特別是，插入至編碼多肽載體的核苷酸序列中)，從而獲得編碼重組蛋白的核酸分子；和

(2)將步驟(1)中的編碼重組蛋白的核酸分子表達為重組蛋白。

【0062】在一較佳的實施方案中，該目的多肽相對於該多肽載體而言是異源的。在一較佳的實施方案中，該編碼目的多肽的核苷酸序列被插入至編碼該被缺失的一或複數氨基酸殘基（例如RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基和HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基）的位置處，或者被插入至編碼該連接體的核苷酸序列中或其一端或兩端。在一較佳的實施方案中，以符合讀框的方式將編碼目的多肽的核苷酸序列插入編碼多肽載體的核苷酸序列中。在一較佳的實施方案中，利用限制性酶切位元點，將編碼目的多肽的核苷酸序列插入編碼多肽載體的核苷酸序列中。

【0063】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者是抗原或者含有抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是表位元肽，例如包含來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位的表位肽。

【0064】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg或含有HBsAg的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為RBHBcAg載體或RBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為TBHBcAg載體或TBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為HBHBcAg

載體或HBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV(特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。

【0065】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg蛋白或含有HBsAg蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該HBV選自HBV基因型A、B、C和D。在一較佳的實施方案中，該HBsAg蛋白的表位為HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸。

【0066】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自HIV的GP120蛋白或含有GP120蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是GP120蛋白的第361-375位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人PD-L1蛋白或含有人PD-L1蛋白的表位元(例如線性表位元) 的表位肽。在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是人PD-L1蛋白的第147-160位氨基酸。

【0067】在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 20-22和60-62。在一較佳的實施方案中，該編碼重組蛋白的核酸分子包含或者由編碼選自SEQ ID NO: 23-40、69-74和90-96的氨基酸序列的核苷酸序列組成。

【0068】在另一方面，本發明涉及一種重組蛋白，其包含多肽載體和目的多肽，其中，該多肽載體如上文所定義，並且，該目的多肽被插入至該多肽載體中。

【0069】在一較佳的實施方案中，該目的多肽被插入至該被缺失的一或複數氨基酸殘基（例如RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基，TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基和HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基）的位置處，或者被插入至該連接體中或其一端或兩端。

【0070】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者是抗原或者含有抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是表位元肽，例如包含來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg或含有HBsAg的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0071】在一較佳的實施方案中，該多肽載體為RBHBcAg載體或RBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為TBHBcAg載體或TBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為HBHBcAg載體或HBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HIV、PDL1或HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。

【0072】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg蛋白或含有HBsAg蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該HBV選自HBV基因型A、B、C和D。在一較佳的實施方案中，該HBsAg蛋白的表位為HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸。

【0073】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自HIV的GP120蛋白或含有GP120蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是GP120蛋白的第361-375位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人PD-L1蛋白或含有人PD-L1蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是人PD-L1蛋白第147-160位氨基酸。

【0074】在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 20-22和60-62。在一較佳的實施方案中，該多肽載體的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 4-9和75-80。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 23-40、69-74和90-96的氨基酸序列組成。

【0075】在另一方面，本發明涉及一種類病毒顆粒，其包含或者由本發明的重組蛋白組成。

【0076】在另一方面，本發明涉及一種藥物組合物(例如疫苗)，其包含本發明的重組蛋白或本發明的類病毒顆粒，和任選地，一種或多種藥學上可接受的載體(vehicle)或賦形劑(例如佐劑)。在一較佳的實施方案中，本發明的重組蛋白或本發明的類病毒顆粒以有效量存在於藥物組合物中。例如，本發明的藥物組合物可包含有效預防或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如，B型肝炎)的量的重組蛋白或類病毒顆粒。

【0077】在另一方面，本發明涉及一種預防或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如，B型肝炎)的方法，其包括，給有此需要的受試者施用本發明的重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物，其中該目的多肽包含來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg或含有HBsAg的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0078】在一較佳的實施方案中，該多肽載體為RBHBcAg載體或RBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為TBHBcAg載體或TBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的

HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為HBHBcAg載體或HBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。

【0079】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg蛋白或含有HBsAg蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該HBV選自HBV基因型A、B、C和D。在一較佳的實施方案中，該HBsAg蛋白的表位為HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸。

【0080】在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 22和60-62。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 35-40、69-74和90-96的氨基酸序列組成。

【0081】在一較佳的實施方案中，以有效預防或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如，B型肝炎)的量施用本發明的重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物。

【0082】在另一方面，本發明涉及上述重組蛋白或類病毒顆粒用於製備藥物的用途，該藥物用於預防或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如，B型肝炎)，其中該目的多肽包含來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg或含有HBsAg的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0083】在一較佳的實施方案中，該多肽載體為RBHBcAg載體或RBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為TBHBcAg載體或TBHBcAg-T載體，且該表位肽

包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為HBHBcAg載體或HBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。

【0084】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg蛋白或含有HBsAg蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該HBV選自HBV基因型A、B、C和D。在一較佳的實施方案中，該HBsAg蛋白的表位為HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸。

【0085】在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 22和60-62。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 35-40、69-74和90-96的氨基酸序列組成。

【0086】在另一方面，本發明涉及上述重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物，其用於預防或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病(例如，B型肝炎)，其中該目的多肽包含來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg或含有HBsAg的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0087】在一較佳的實施方案中，該多肽載體為RBHBcAg載體或RBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體為TBHBcAg載體或TBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。在一較佳的實施方案中，該多肽載體

為HBHBcAg載體或HBHBcAg-T載體，且該表位肽包含或者是來自HBV (特別是人HBV)的抗原表位(例如，來自人HBV的HBsAg的表位元(例如線性表位元))。

【0088】在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人HBV的HBsAg蛋白或含有HBsAg蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。在一較佳的實施方案中，該HBV選自HBV基因型A、B、C和D。在一較佳的實施方案中，該HBsAg蛋白的表位為HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸。

【0089】在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列選自SEQ ID NO: 22和60-62。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 35-40、69-74和90-96的氨基酸序列組成。

【0090】在另一方面，本發明涉及一種預防或治療HIV感染或與HIV感染相關的疾病(例如，AIDS)的方法，其包括，給有此需要的受試者施用本發明的重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物，其中該目的多肽包含來自HIV的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含來自HIV的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自HIV的GP120蛋白或含有GP120蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0091】在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是GP120蛋白的第361-375位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列如SEQ ID NO: 20所示。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 23-28的氨基酸序列組成。

【0092】在一較佳的實施方案中，以有效預防或治療HIV感染或與HIV感染相關的疾病(例如，AIDS)的量施用本發明的重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物。

【0093】在另一方面，本發明涉及上述重組蛋白或類病毒顆粒用於製備藥物的用途，該藥物用於預防或治療HIV感染或與HIV感染相關的疾病(例如，AIDS)，其中該目的多肽包含來自HIV的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含來自HIV的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自HIV的GP120蛋白或含有GP120蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0094】在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是GP120蛋白的第361-375位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列如SEQ ID NO: 20所示。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 23-28的氨基酸序列組成。

【0095】在另一方面，本發明涉及上述重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物，其用於預防或治療HIV感染或與HIV感染相關的疾病(例如，AIDS)，其中該目的多肽包含來自HIV的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含來自HIV的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自HIV的GP120蛋白或含有GP120蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0096】在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是GP120蛋白的第361-375位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列如SEQ ID NO: 20所示。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 23-28的氨基酸序列組成。

【0097】在另一方面，本發明涉及一種預防或治療癌症(例如，非小細胞肺癌)的方法，其包括，給有此需要的受試者施用本發明的重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物，其中該目的多肽包含人PD-L1蛋白的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含人PD-L1蛋白的抗原表位的表位

肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人PD-L1蛋白或含有人PD-L1蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0098】在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是人PD-L1蛋白第147-160位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列如SEQ ID NO: 21所示。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 29-34的氨基酸序列組成。

【0099】在一較佳的實施方案中，以有效預防或治療癌症(例如，非小細胞肺癌)的量施用本發明的重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物。

【0100】在另一方面，本發明涉及上述重組蛋白或類病毒顆粒用於製備藥物的用途，該藥物用於預防或治療癌症(例如，非小細胞肺癌)，其中該目的多肽包含人PD-L1蛋白的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含人PD-L1蛋白的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人PD-L1蛋白或含有人PD-L1蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0101】在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是人PD-L1蛋白第147-160位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列如SEQ ID NO: 21所示。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 29-34的氨基酸序列組成。

【0102】在另一方面，本發明涉及上述重組蛋白或類病毒顆粒或藥物組合物，其用於預防或治療癌症(例如，非小細胞肺癌)，其中該目的多肽包含人PD-L1蛋白的抗原表位。在一較佳的實施方案中，該目的多肽是包含人PD-L1蛋白的抗原表位的表位肽。在一較佳的實施方案中，該目的多肽包含或者選自人PD-L1蛋白或含有人PD-L1蛋白的表位元(例如線性表位元)的表位肽。

【0103】在一較佳的實施方案中，該表位肽包含或者是人PD-L1蛋白第147-160位氨基酸。在一較佳的實施方案中，該目的多肽的氨基酸序列如SEQ ID NO: 21所示。在一較佳的實施方案中，該重組蛋白包含或者由選自SEQ ID NO: 29-34的氨基酸序列組成。

【0104】在另一方面，本發明涉及編碼上述重組蛋白的多核苷酸以及含有該多核苷酸的載體。

【0105】可用於插入目的多核苷酸的載體是本領域公知的，包括但不限於克隆載體和表達載體。在一較佳的實施方案中，本發明的載體可以是真核表達載體或原核表達載體。在一較佳的實施方案中，本發明的載體是例如質粒，黏粒，或噬菌體等。

【0106】在另一方面，本發明還涉及包含上述多核苷酸或載體的宿主細胞。此類宿主細胞包括但不限於，原核細胞例如大腸桿菌細胞，以及真核細胞例如酵母細胞，昆蟲細胞，植物細胞和動物細胞(如哺乳動物細胞，例如小鼠細胞、人細胞等)。本發明的宿主細胞還可以是細胞系，例如293T細胞。

【0107】在另一方面，本發明還涉及製備上述重組蛋白的方法，其包括，在適合表達該重組蛋白的條件下培養本發明的宿主細胞，和，回收該重組蛋白。

本發明中相關術語的說明及解釋

【0108】在本發明中，除非另有說明，否則本文中使用的科學和技術名詞具有本領域技術人員所通常理解的含義。並且，本文中所用的細胞培養、分子遺傳學、核酸化學、免疫學實驗室操作步驟均為相應領域內廣泛使用的常規步驟。同時，為了更好地理解本發明，下面提供相關術語的定義和解釋。

【0109】如本文中所使用的，術語“蹄蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(RBHBcAg)”和“RBHBcAg蛋白”是指，來自蹄蝠B型肝炎病毒(roundleaf bat HBV，RBHBV)的核心抗原蛋白，其是本領域技術人員公知的(參見，例如NCBI GENBANK資料庫登錄號：KC790373.1)。

【0110】如本文中所使用的，當提及RBHBcAg蛋白的氨基酸序列時，其使用SEQ ID NO：1所示的序列來進行描述。例如，表述“RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基”是指，SEQ ID NO：1所示的多肽的第78-83位氨基酸殘基。然而，本領域技術人員理解，在RBHBcAg蛋白的氨基酸序列中，可天然產生或人工引入突變或變異(包括但不限於，置換，缺失和/或添加，例如不同基因型或基因亞型的RBHBcAg蛋白)，而不影響其生物學功能。因此，在本發明中，術語“RBHBcAg蛋白”應包括所有此類序列，包括例如SEQ ID NO：1所示的序列以及其天然或人工的變體。並且，當描述RBHBcAg蛋白的序列片段時，其不僅包括SEQ ID NO：1的序列片段，還包括其天然或人工變體中的相應序列片段。例如，表述“RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基”包括，SEQ ID NO：1的第78-83位氨基酸殘基，以及其變體(天然或人工)中的相應片段。根據本發明，表述“相應序列片段”或“相應片段”是指，當對序列進行最優比對時，即當序列進行比對以獲得最高百分數同一性時，進行比較的序列中位於等同位置的片段。

【0111】如本文中所使用的，術語“野生型RBHBcAg”是指，天然存在於蹄蝠B型肝炎病毒中的核心抗原蛋白。

【0112】如本文中所使用的，術語“RBHBcAg載體”和“RBHBcAg-T載體”是指，衍生自RBHBcAg蛋白的多肽載體。如上文所詳細描述的，RBHBcAg載體與RBHBcAg蛋白的差異包括：(a) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；以

及(b)任選地，RBHBcAg蛋白的C端被缺失1-40個氨基酸殘基。RBHBcAg-T載體與RBHBcAg蛋白的差異包括：(a) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；(b) RBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位；以及(c)任選地，RBHBcAg蛋白的C端被缺失1-40個氨基酸殘基。

【0113】如本文中所使用的，術語“築帳蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(TBHBcAg)”和“TBHBcAg蛋白”是指，來自築帳蝠B型肝炎病毒(tent-making bat HBV，TBHBV)的核心抗原蛋白，其是本領域技術人員公知的(參見，例如NCBI GENBANK資料庫登錄號：KC790378.1)。

【0114】如本文中所使用的，當提及TBHBcAg蛋白的氨基酸序列時，其使用SEQ ID NO：2所示的序列來進行描述。例如，表述“TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基”是指，SEQ ID NO：2所示的多肽的第80-84位氨基酸殘基。然而，本領域技術人員理解，在TBHBcAg蛋白的氨基酸序列中，可天然產生或人工引入突變或變異(包括但不限於，置換，缺失和/或添加，例如不同基因型或基因亞型的TBHBcAg蛋白)，而不影響其生物學功能。因此，在本發明中，術語“TBHBcAg蛋白”應包括所有此類序列，包括例如SEQ ID NO:2所示的序列以及其天然或人工的變體。並且，當描述TBHBcAg蛋白的序列片段時，其不僅包括SEQ ID NO：2的序列片段，還包括其天然或人工變體中的相應序列片段。例如，表述“TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基”包括，SEQ ID NO：2的第80-84位氨基酸殘基，以及其變體(天然或人工)中的相應片段。根據本發明，表述“相應序列片段”或“相

應片段”是指，當對序列進行最優比對時，即當序列進行比對以獲得最高百分數同一性時，進行比較的序列中位於等同位置的片段。

【0115】如本文中所使用的，術語“野生型TBHBcAg”是指，天然存在於築帳蝠B型肝炎病毒中的核心抗原蛋白。

【0116】如本文中所使用的，術語“TBHBcAg載體”和“TBHBcAg-T載體”是指，衍生自TBHBcAg蛋白的多肽載體。如上文所詳細描述的，TBHBcAg載體與TBHBcAg蛋白的差異包括：(a) TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；以及(b)任選地，TBHBcAg蛋白的C端被缺失1-35個氨基酸殘基。TBHBcAg-T載體與TBHBcAg蛋白的差異包括：(a) TBHBcAg蛋白的N端第80-84位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；(b) TBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第54-73位中的一或複數氨基酸殘基和/或第124-144位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位；以及(c)任選地，TBHBcAg蛋白的C端被缺失1-35個氨基酸殘基。

【0117】如本文中所使用的，術語“菊頭蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(HBHBcAg)”和“HBHBcAg蛋白”是指，來自菊頭蝠B型肝炎病毒(horseshoe bat HBV，HBHBV)的核心抗原蛋白，其是本領域技術人員公知的(參見，例如NCBI GENBANK資料庫登錄號：KC790377.1)。

【0118】如本文中所使用的，當提及HBHBcAg蛋白的氨基酸序列時，其使用SEQ ID NO：3所示的序列來進行描述。例如，表述“HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基”是指，SEQ ID NO：3所示的多肽的第78-83位氨基酸殘基。然而，本領域技術人員理解，在HBHBcAg蛋白的氨基酸序列中，可天然產生或人工引入突變或變異(包括但不限於，置換，缺失和/或添加，

例如不同基因型或基因亞型的HBHBcAg蛋白)，而不影響其生物學功能。因此，在本發明中，術語“HBHBcAg蛋白”應包括所有此類序列，包括例如SEQ ID NO：3所示的序列以及其天然或人工的變體。並且，當描述HBHBcAg蛋白的序列片段時，其不僅包括SEQ ID NO：3的序列片段，還包括其天然或人工變體中的相應序列片段。例如，表述“HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基”包括，SEQ ID NO：3的第78-83位氨基酸殘基，以及其變體(天然或人工)中的相應片段。根據本發明，表述“相應序列片段”或“相應片段”是指，當對序列進行最優比對時，即當序列進行比對以獲得最高百分數同一性時，進行比較的序列中位於等同位置的片段。

【0119】如本文中所使用的，術語“野生型HBHBcAg”是指，天然存在於菊頭蝠B型肝炎病毒中的核心抗原蛋白。

【0120】如本文中所使用的，術語“HBHBcAg載體”和“HBHBcAg-T載體”是指，衍生自HBHBcAg蛋白的多肽載體。如上文所詳細描述的，HBHBcAg載體與HBHBcAg蛋白的差異包括：(a) HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；以及(b)任選地，HBHBcAg蛋白的C端被缺失1-40個氨基酸殘基。HBHBcAg-T載體與HBHBcAg蛋白的差異包括：(a) HBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；(b) HBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位；以及(c)任選地，HBHBcAg蛋白的C端被缺失1-40個氨基酸殘基。

【0121】如本文中所使用的，術語“人HBV的HBcAg”和“Hu-HBcAg”是指，人B型肝炎病毒的核心抗原蛋白，其是本領域技術人員公知的(參見，

例如NCBI GENBANK資料庫登錄號：AAO63517.1)。如本文中所使用的，當提及人HBV的HBcAg的氨基酸序列時，其使用NCBI GENBANK資料庫登錄號：AAO63517.1所示的序列來進行描述。

【0122】如本文中所使用的，術語“人HBV的HBsAg”和“Hu-HBsAg”是指，人B型肝炎病毒的表面抗原主蛋白，其是本領域技術人員公知的(參見，例如NCBI GENBANK資料庫登錄號：AAF24729.1)。

【0123】如本文中所使用的，當提及人HBV的HBsAg的氨基酸序列時，其使用SEQ ID NO：44所示的序列(即，NCBI GENBANK資料庫登錄號：AAF24729.1)來進行描述。例如，表述“HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸殘基”是指，SEQ ID NO：44所示的多肽的第113-135位氨基酸殘基。然而，本領域技術人員理解，在HBsAg蛋白的氨基酸序列中，可天然產生或人工引入突變或變異(包括但不限於，置換，缺失和/或添加，例如不同基因型或基因亞型的HBsAg蛋白)，而不影響其生物學功能。因此，在本發明中，術語“HBsAg蛋白”應包括所有此類序列，包括例如SEQ ID NO：44所示的序列以及其天然或人工的變體。並且，當描述HBsAg蛋白的序列片段時，其不僅包括SEQ ID NO：44的序列片段，還包括其天然或人工變體中的相應序列片段。例如，表述“HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸殘基”包括，SEQ ID NO：44的第113-135位氨基酸殘基，以及其變體(天然或人工)中的相應片段。根據本發明，表述“相應序列片段”或“相應片段”是指，當對序列進行最優比對時，即當序列進行比對以獲得最高百分數同一性時，進行比較的序列中位於等同位置的片段。

【0124】如本文中所使用的，表述“X蛋白的C端缺失Y個氨基酸殘基”是指，X蛋白的C端最後Y個氨基酸殘基全部被去除。例如，表述“RBHBcAg

蛋白的C端缺失1-40個氨基酸殘基”是指，RBHBcAg蛋白的C端最後1-40個氨基酸殘基全部被去除。

【0125】如本文中所使用的，術語“同一性”用於指兩個多肽之間或兩個核酸之間序列的匹配情況。當兩個進行比較的序列中的某個位置都被相同的堿基或氨基酸單體亞單元佔據時(例如，兩個DNA分子的每一中的某個位置都被腺嘌呤佔據，或兩個多肽的每一中的某個位置都被賴氨酸佔據)，那麼各分子在該位置上是同一的。兩個序列之間的“百分數同一性”是由這兩個序列共有的匹配位置數目除以進行比較的位置數目×100的函數。例如，如果兩個序列的10個位置中有6個匹配，那麼這兩個序列具有60%的同一性。例如，DNA序列CTGACT和CAGGTT共有50%的同一性(總共6個位置中有3個位置匹配)。通常，在將兩個序列比對以產生最大同一性時進行比較。這樣的比對可通過使用，例如，可通過電腦程式例如Align程式(DNAstar, Inc.)方便地進行的Needleman等人(1970)J. Mol. Biol. 48：443-453的方法來實現。還可使用已整合入ALIGN程式(版本2.0)的E. Meyers和W. Miller (Comput. Appl Biosci.，4:11-17 (1988))的演算法，使用PAM120權重殘基表(weight residue table)、12的缺口長度罰分和4的缺口罰分來測定兩個氨基酸序列之間的百分數同一性。此外，可使用已整合入GCG套裝軟體(可在www.gcg.com上獲得)的GAP程式中的Needleman和Wunsch (J MoI Biol. 48:444-453 (1970))演算法，使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣以及16、14、12、10、8、6或4的缺口權重(gap weight)和1、2、3、4、5或6的長度權重來測定兩個氨基酸序列之間的百分數同一性。

【0126】如本文中使用的，術語“保守置換”意指不會不利地影響或改變包含氨基酸序列的蛋白/多肽的必要特性的氨基酸置換。例如，可通過本領域內已知的標準技術例如定點誘變和PCR介導的誘變引入保守置換。保守

氨基酸置換包括用具有相似側鏈的氨基酸殘基替代氨基酸殘基的置換，例如用在物理學上或功能上與相應的氨基酸殘基相似(例如具有相似大小、形狀、電荷、化學性質，包括形成共價鍵或氫鍵的能力等)的殘基進行的置換。已在本領域內定義了具有相似側鏈的氨基酸殘基的家族。這些家族包括具有鹼性側鏈(例如，賴氨酸、精氨酸和組氨酸)、酸性側鏈(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不帶電荷的極性側鏈(例如甘氨酸、天冬醯胺、穀氨醯胺、絲氨酸、蘇氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非極性側鏈(例如丙氨酸、纈氨酸、亮氨酸、異亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、β 分支側鏈(例如，蘇氨酸、纈氨酸、異亮氨酸)和芳香族側鏈(例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、組氨酸)的氨基酸。因此，較佳用來自相同側鏈家族的另一氨基酸殘基替代相應的氨基酸殘基。鑒定氨基酸保守置換的方法在本領域內是熟知的(參見，例如，Brummell等人，Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashi等人 Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); 和Burks等人Proc. Natl Acad. Set USA 94:412-417 (1997)，其通過引用併入本文)。

【0127】如本文中所使用的，術語“雜交”是指，相互間具有互補序列的兩個單鏈核酸分子在一定條件下(適宜的溫度及離子強度等)按堿基互補配對原則退火形成雙鏈核酸的過程。核酸雜交可以在DNA-DNA之間，也可在DNA-RNA或RNA-RNA之間進行，只要它們之間存在互補序列，可以進行堿基配對。關於核酸雜交的進一步詳細描述，可參見例如，Henegariu O等人，(1999). “Custom fluorescent-nucleotide synthesis as an alternative method for nucleic acid labeling”, Nature Biotechnology 18:345-348；Ezaki T等人，1989. Fluorometric Deoxyribonucleic Acid-Deoxyribonucleic Acid Hybridization in Microdilution Wells as an Alternative to Membrane Filter Hybridization in which Radioisotopes Are Used To Determine Genetic

Relatedness among Bacterial Strains. Int. J. of Systemic Bacteriology 29 (3): 224-229；和Herrington C等人，1998. PCR 3: PCR in situ hybridization: a practical approach, Volume 3. Oxford: Oxford University Press。

【0128】為了保證核酸雜交的特異性，通常使用嚴緊條件或者高嚴緊條件。嚴緊條件和高嚴緊條件在分子生物學領域中是熟知的。例如，嚴緊條件可以是指，在6x氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中、於約45℃下進行雜交，隨後在0.2xSSC/0.1% SDS中、於約50－65℃下進行一次或多次洗滌。高嚴緊條件可以是指，在6xSSC中、於約45℃下進行雜交，隨後在0.1xSSC/0.2% SDS中、於約68℃下進行一次或多次洗滌。關於本領域技術人員已知的其它嚴緊條件或高嚴緊條件，可參見例如Ausubel, F.M.等編, 1989, Current Protocols in Molecular Biology, 第1卷, Green Publishing Associates, Inc., 和John Wiley & Sons, Inc., 紐約，第6.3.1-6.3.6和2.10.3頁。

【0129】如本文中所使用的，術語“連接體”是指，用於連接兩個分子(例如蛋白)的短肽。此類連接體是本領域技術人員公知的，包括但不限於柔性連接體，例如$(Gly)_4$，$(Gly)_4$-Ser，$((Gly)_4\text{-Ser})_3$等等。

【0130】在本發明中，術語“多肽”和“蛋白質”具有相同的含義，可互換使用。並且在本發明中，氨基酸通常用本領域公知的單字母和三字母縮寫來表示。例如，丙氨酸可用A或Ala表示。

【0131】如本文中所使用的，術語“限制性酶切位點”是指，限制性內切酶識別的酶切位點。此類限制性酶切位點是本領域技術人員已知的，其包括但不限於，EcoR Ⅰ、BamH Ⅰ、HindⅡ、HindⅢ，HpaI、HpaⅡ，MboI、MboⅡ等限制性內切酶識別的酶切位點。

【0132】如本文中所使用的，術語“抗原表位”和“表位”是指，抗原上被免疫球蛋白或抗體特異性結合的部位。“表位”在本領域內也稱為“抗

原決定簇”。表位元或抗原決定簇通常由分子的化學活性表面基團例如氨基酸或碳水化合物或糖側鏈組成並且通常具有特定的三維結構特徵以及特定的電荷特徵。例如，表位通常以獨特的空間構象包括至少3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14或15個連續或非連續的氨基酸，其可以是“線性的”或“構象的”。參見，例如，Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology，第66卷，G. E. Morris，Ed. (1996)。在線性表位元中，蛋白質與相互作用分子(例如抗體)之間的所有相互作用的點沿著蛋白質的一級氨基酸序列線性存在。在構象表位中，相互作用的點跨越彼此分開的蛋白質氨基酸殘基而存在。

【0133】如本文中所使用的，術語“T細胞表位”是指，能夠被T細胞受體（TCR）識別的表位。相應地，人T細胞表位是指，能夠被人T細胞受體（TCR）識別的表位。如本領域技術人員通常理解的，TCR一般不識別構象表位，而只識別由連續的氨基酸殘基組成的線性表位元（例如，約10-20個氨基酸的小分子多肽）。並且，此類表位元需要與MHC分子結合後才能被TCR識別。因此，根據所結合的MHC分子的類型，可將人T細胞表位分類為MHC I和MHC II限制性人T細胞表位，其分別結合MHC I類分子和MHC II類分子。在本文中，示例性的MHC I限制性人T細胞表位如SEQ ID NO: 87所示（參見Zhang H P, Yan H P, Zhang Y H, et al. Detection of antigen-epitope-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with hepatitis B virus infection by enzyme linked immunospot assay[J]. Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine], 2009, 43(8): 690-694）；示例性的MHC II限制性人T細胞表位如SEQ ID NO: 88-89所示（參見J Immunol. 2000 Feb 1;164(3):1625-33 和 Proc. Nati. Acad. Sci. USA Vol. 85, pp. 1610-1614, March 1988）。然而，易於理解的是，由於線性表位元與空間

結構、構型和構象無關，因此，本領域技術人員也可以選擇其他人T細胞表位，並將其用於實施本發明。本發明不受特定的人T細胞表位限制。

【0134】如本文中所使用的，術語“HBsAg的表位”是指，存在於HBsAg中的、能夠被免疫球蛋白或抗體特異性結合的部位。已對人HBV的HBsAg的結構和功能進行了深入的研究。並且，已有許多文獻報導了人HBV的HBsAg上的表位。參見例如，WO 97/39029 A2；WO 85/04103 A1；Xiaoxing Qiu等，The Journal of Immunology，1996，第156卷，第3350-3356頁；WO 2013/185558 A1等。

【0135】如本文中所使用的，術語“表位肽”是指，抗原上能夠形成表位/用作表位的肽段。在一些情況下，單獨的表位肽即能夠被針對該表位的抗體特異性識別/結合。在另一些情況下，可能需要將表位元肽與多肽載體融合，以便表位肽能夠被特異性抗體識別。表位元肽所包含的表位元可以是線性表位元，也可以是構象表位。當表位元肽包含線性表位元時，其可以包含或者是抗原中構成該表位的連續氨基酸區段(即，肽片段)。當表位肽包含構象表位時，其可以包含或者是抗原中橫跨該構象表位所涉及的所有氨基酸殘基的連續氨基酸區段(即，肽片段)。在本發明的某些實施方案中，表位肽較佳地具有不超過500個氨基酸殘基的長度，例如不超過400個氨基酸殘基的長度，不超過300個氨基酸殘基的長度，不超過200個氨基酸殘基的長度，不超過100個氨基酸殘基的長度，不超過90個氨基酸殘基的長度，不超過80個氨基酸殘基的長度，不超過70個氨基酸殘基的長度，不超過60個氨基酸殘基的長度，不超過50個氨基酸殘基的長度，不超過40個氨基酸殘基的長度，不超過30個氨基酸殘基的長度，或不超過25個氨基酸殘基的長度。

【0136】如本文中所使用的，術語“多肽載體”是指這樣的載體蛋白，其可以充當表位肽的載體，即，其可以在特定位置處（例如蛋白內部，N端或C端）插入表位肽，以便該表位肽能夠呈現出來，從而該表位肽能夠被抗體或免疫系統識別。之前的文獻已報導了此類載體蛋白，包括例如，HPV L1蛋白(可以將表位肽插入在該蛋白的第130-131位氨基酸之間或在第426-427位氨基酸之間，參見Slupetzky, K.等 Chimeric papillomavirus-like particles expressing a foreign epitope on capsid surface loops[J]. J Gen Virol,2001, 82: 2799-2804；Varsani, A.等 Chimeric human papillomavirus type 16 (HPV-16) L1 particles presenting the common neutralizing epitope for the L2 minor capsid protein of HPV-6 and HPV-16[J]. J Virol,2003, 77: 8386-8393），CRM197蛋白（可以將表位肽連接至該蛋白或其片段的N末端或C末端）等。如上文所論述的，本發明提供了一類新的多肽載體，其用於展示目的多肽，並且特別適合用於展示含有來自人B肝病毒的抗原表位元(例如來自人HBV的HBsAg中的表位)的表位肽。在本發明的實施方案中，可以在表位肽與多肽載體之間使用連接體（例如柔性或剛性連接體），以促進二者各自的折疊。

【0137】如本文中所使用的，術語“重組蛋白”僅表示，所描述的蛋白不是天然存在的，而不意欲限定該蛋白的產生/獲得方式。本發明的重組蛋白可以通過任何已知的方法來產生，包括但不限於，基因工程方法和人工合成方法。

【0138】如本文中所使用的，術語“類病毒顆粒”是指，由某種病毒的一或複數結構蛋白構成的空心顆粒，其不包含病毒核酸，不能進行自主複製，但在形態和結構上與真正的病毒粒子相同或相似。

【0139】如本文中所使用的，術語“藥學可接受的載體和/或賦形劑”是指在藥理學和/或生理學上與受試者和活性成分相容的載體和/或賦形劑，其是

本領域公知的(參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences. Edited by Gennaro AR, 19th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1995)，並且包括但不限於：pH調節劑，表面活性劑，佐劑，離子強度增強劑。例如，pH調節劑包括但不限於磷酸鹽緩衝液；表面活性劑包括但不限於陽離子，陰離子或者非離子型表面活性劑，例如Tween-80；離子強度增強劑包括但不限於氯化鈉。

【0140】如本文中所使用的，術語“佐劑”是指非特異性免疫增強劑，當其與抗原一起或預先遞送入機體時，其可增強機體對抗原的免疫應答或改變免疫應答類型。佐劑有很多種，包括但不限於鋁佐劑(例如氫氧化鋁)、弗氏佐劑(例如完全弗氏佐劑和不完全弗氏佐劑)、短小棒狀桿菌、脂多糖、細胞因數等。弗氏佐劑是目前動物試驗中最常用的佐劑。氫氧化鋁佐劑則在臨床實驗中使用較多。

【0141】如本文中所使用的，術語“大腸桿菌表達系統”是指由大腸桿菌(菌株)與載體(vector)組成的表達系統，其中大腸桿菌(菌株)來源於市場上可得到的菌株，例如但不限於：GI698, ER2566, BL21(DE3), B834(DE3), BLR(DE3)。

【0142】如本文中所使用的，術語“載體(vector)”是指，可將多聚核苷酸插入其中的一種核酸運載工具。當載體能使插入的多核苷酸編碼的蛋白獲得表達時，載體稱為表達載體。載體可以通過轉化，轉導或者轉染導入宿主細胞，使其攜帶的遺傳物質元件在宿主細胞中獲得表達。載體是本領域技術人員公知的，包括但不限於：質粒；噬菌粒；柯斯質粒；人工染色體，例如酵母人工染色體(YAC)、細菌人工染色體(BAC)或P1來源的人工染色體(PAC)；噬菌體如λ 噬菌體或M13噬菌體及動物病毒等。可用作載體的動物病毒包括但不限於，逆轉錄酶病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相關病毒、皰

疹病毒(如單純皰疹病毒)、痘病毒、杆狀病毒、乳頭瘤病毒、乳頭多瘤空泡病毒(如SV40)。一種載體可以含有多種控制表達的元件，包括但不限於，啟動子序列、轉錄起始序列、增強子序列、選擇元件及報告基因。另外，載體還可含有複製起始位點。

【0143】如本文中所使用的，術語“宿主細胞”是指，可用於導入載體的細胞，其包括但不限於，如大腸桿菌或枯草菌等的原核細胞，如酵母細胞或曲黴菌等的真菌細胞，如S2果蠅細胞或Sf9等的昆蟲細胞，或者如纖維原細胞，CHO細胞，COS細胞，NSO細胞，HeLa細胞，BHK細胞，HEK 293細胞或人細胞等的動物細胞。

【0144】如本文中使用的，術語“受試者”是指哺乳動物，例如靈長類哺乳動物，例如人。

【0145】如本文中所使用的，術語“有效量”是指足以獲得或至少部分獲得期望的效果的量。例如，預防疾病(例如HBV感染或與HBV感染相關的疾病)有效量是指，足以預防，阻止，或延遲疾病(例如HBV感染或與HBV感染相關的疾病)的發生的量；治療疾病有效量是指，足以治癒或至少部分阻止已患有疾病的患者的疾病和其併發症的量。測定這樣的有效量完全在本領域技術人員的能力範圍之內。例如，對於治療用途有效的量將取決於待治療的疾病的嚴重度、患者自己的免疫系統的總體狀態、患者的一般情況例如年齡，體重和性別，藥物的施用方式，以及同時施用的其他治療等等。

發明的有益效果

【0146】與現有技術相比，本發明的技術方案具有以下有益效果：

(1) 本發明提供了一種新的多肽載體，其具有廣泛的通用性，能夠用於高效展示各種目的多肽(例如，抗原表位/抗原肽段)，並誘發宿主免疫系統產生針對目的多肽的特異性免疫應答。此類目的多肽(例如，抗原表位/抗原

肽段)包括但不限於，來源於HIV的抗原表位/抗原肽段(例如，來源於HIV的GP120蛋白的抗原表位/抗原肽段；例如含有GP120蛋白的第361-375位氨基酸的多肽)，來源於人PD-L1蛋白的抗原表位/抗原肽段(例如，含有人PD-L1蛋白第147-160位氨基酸的多肽)，和來源於人HBV的抗原表位/抗原肽段(例如，來源於人HBV的HBsAg蛋白的抗原表位/抗原肽段；例如含有HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸的多肽)。

(2) 本發明的多肽載體特別適合用於展示來自人B肝病毒的抗原表位元(例如來自人HBV的HBsAg中的表位)，能夠在受試者中誘發特別強的清除HBsAg的特異性免疫應答，其功效顯著優於現有的B肝疫苗(例如，以人HBV的HBcAg為多肽載體構建的、含有相同表位的疫苗)。

(3) 本發明的攜帶人T細胞表位的多肽載體能夠在人體內誘發增強的免疫應答，例如刺激人免疫細胞分泌IFNγ ，從而是特別有利的。

【0147】下面將結合附圖和實施例對本發明的實施方案進行詳細描述，但是本領域技術人員將理解，下列附圖和實施例僅用於說明本發明，而不是對本發明的範圍的限定。根據附圖和較佳實施方案的下列詳細描述，本發明的各種目的和有利方面對於本領域技術人員來說將變得顯然。

【圖式簡單說明】

【0148】

第1圖展示了，將目的多肽(靶抗原肽段)插入本發明的RBHBcAg載體、TBHBcAg載體和HBHBcAg載體以構建重組蛋白的克隆方案的示意圖。

第2圖展示了，實施例2中所構建的18種重組蛋白的SDS-PAGE結果，以及由該重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。

第3圖展示了，用實施例2中構建的18種重組蛋白形成的類病毒顆粒免疫BALB/C小鼠後，小鼠血清中抗重組蛋白中的目的多肽的抗體滴度隨時間的變化情況。縱軸：抗體滴度(log10)；橫軸：時間(周)。第3圖A：所使用的目的多肽為SEQ ID NO: 20，且檢測抗GP120抗體的滴度；第3圖B：所使用的目的多肽為SEQ ID NO: 21，且檢測抗PD-L1抗體的滴度；第3圖C：所使用的目的多肽為SEQ ID NO: 22，且檢測抗HBsAg抗體的滴度。

第4圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第4圖A)和雌性(第4圖B)小鼠後，小鼠血清中HBsAg的水準隨時間的變化情況。縱軸：HBsAg的水準(IU/ml)；橫軸：時間(周)。箭頭指示，給小鼠施用類病毒顆粒的時間點。

第5圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性小鼠後，小鼠血清中HBV DNA的水準隨時間的變化情況。縱軸：HBV DNA的水準(Log10 IU/ml)；橫軸：時間(周)。箭頭指示，給小鼠施用類病毒顆粒的時間點。

第6圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第6圖A)和雌性(第6圖B)小鼠後，小鼠血清中抗HBsAg抗體的滴度隨時間的變化情況。縱軸：抗HBsAg抗體的滴度；橫軸：時間(周)。

第7圖顯示了，由實施例5中構建的6種重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。

第8圖展示了，用8種重組蛋白形成的類病毒顆粒免疫BALB/C小鼠3周後，小鼠血清中抗相應靶多肽（SEQ ID NO：60，22，61，62）的抗體滴度；其中，用來自HBV基因型A的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO：60）來檢測用RBHBcAg149-SEQ60和TBHBcAg153-SEQ60免疫的小鼠血清的抗體滴度；用來自HBV基因型B的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO: SEQ22）

來檢測用RBHBcAg149-SEQ22和TBHBcAg153-SEQ22免疫的小鼠血清的抗體滴度；用來自HBV基因型C的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO: 61）來檢測用RBHBcAg149-SEQ61和TBHBcAg153-SEQ61免疫的小鼠血清的抗體滴度；並且，使用來自HBV基因型D的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO: 62）來檢測用RBHBcAg149-SEQ62和TBHBcAg153-SEQ62免疫的小鼠血清的抗體滴度。結果顯示，8種重組蛋白形成的類病毒顆粒均具有良好的免疫原性，能夠誘導小鼠產生高滴度的特異性結合靶抗原的抗體。

第9圖展示了，用4種重組蛋白（SEQ ID NO：36，69，70，71）形成的類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第9圖A)和雌性(第9圖B)小鼠後，小鼠血清中HBsAg的水準隨時間的變化情況，其中，縱軸：HBsAg的水準（IU/ml）；橫軸：時間(周)。

第10圖展示了，將目的多肽(靶抗原肽段)插入本發明的RBHBcAg-T3載體、TBHBcAg-T3載體和HBHBcAg-T3載體以構建重組蛋白的克隆方案的示意圖。

第11圖展示了實施例7構建的2種重組蛋白（RBHBcAg189-T3-SEQ22和RBHBcAg149-T3-SEQ22）的SDS-PAGE結果，以及由該重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。

第12圖展示了，用實施例7的重組蛋白RBHBcAg189-T3-SEQ22和RBHBcAg149-T3-SEQ22形成的類病毒顆粒以及實施例2的重組蛋白RBHBcAg189-SEQ22和RBHBcAg149-SEQ22形成的類病毒顆粒分別免疫BALB/C小鼠後，小鼠血清中抗重組蛋白中的目的多肽HBsAg的抗體滴度隨時間的變化情況。縱軸：抗HBsAg抗體滴度(log10)；橫軸：時間(周)；箭頭指示，給小鼠施用類病毒顆粒的時間點(疫苗注射)。結果顯示，4種類病毒

顆粒均具有良好的免疫原性，能夠誘導小鼠產生高滴度的特異性結合靶抗原HBsAg的抗體。

第13圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的2種不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第13圖A)和雌性(第13圖B)小鼠後，小鼠血清中HBsAg的水準隨時間的變化情況。縱軸：HBsAg的水準(IU/ml)；橫軸：時間(周)。箭頭指示，給小鼠施用類病毒顆粒的時間點(疫苗注射)。結果顯示，在施用給HBV轉基因小鼠後，2種類病毒顆粒都可以引起小鼠血清中HBsAg水準的降低，且兩種VLP效果相當。

第14圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的2種類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第14圖A)和雌性(第14圖B)小鼠後，小鼠血清中HBV DNA的水準隨時間的變化情況。縱軸：HBV DNA的水準(Log10 IU/ml)；橫軸：時間(周)；箭頭指示，給小鼠施用類病毒顆粒的時間點(疫苗注射)。結果顯示，在施用給HBV轉基因小鼠後，2種類病毒顆粒都可以引起小鼠血清中HBV DNA水準的降低，且兩種VLP效果相當。

第15圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的2種類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第15圖A)和雌性(第15圖B)小鼠後，小鼠血清中抗HBsAg抗體的滴度隨時間的變化情況。縱軸：抗HBsAg抗體的滴度；橫軸：時間(周)。結果顯示，在施用給HBV轉基因小鼠後，2種類病毒顆粒都可以誘發小鼠產生高滴度的抗-HBsAg抗體，且兩種VLP效果相當。

第16圖展示了，用類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22或類病毒顆粒RBHBcAg149-SEQ22孵育獲自B肝患者的全血後，全血中分泌的IFNγ 的水準。結果顯示，用RBHBcAg149-T3-SEQ22孵育的全血中的IFNγ 水準顯著高於用RBHBcAg149-SEQ22（p=0.0021）或PBS（p=0.0037）孵育的全血中的IFNγ 水準。

第17圖顯示了，經純化的重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22的SDS-PAGE結果，以及由該重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。

【實施方式】

【0149】序列資訊

本發明涉及的部分序列（SEQ ID NO: 1-44和75-96）的資訊提供於下面的表1中。

表1：SEQ ID NO: 1-44和75-96的序列資訊

SEQ ID NO	名稱	序列資訊
1	RBHBcAg	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGPLIQDAIVQQVQASV GLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPI LSTLPEHTIVRRRGGSRATRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSP ASSNC
2	TBHBcAg	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGLSPDADALLAGY LRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPV NAPILTTLPETSVIRRRPASRRSTPSPRRRRSQSPRRRRSPSPRPA SNC
3	HBHBcAg	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGQPVQDAIIGYVQTT VGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNA PILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQ SPAPSNC
4	RBHBcAg189	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSE FGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQP TVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHTIVRRRGGSRATRS PRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPASSNC
5	RBHBcAg149	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSE FGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQP TVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHTIV

6	TBHBcAg188	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGK QTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPVNAPILTTLPETSVIRRRPASRRST PSPRRRRSQSPRRRRSPSPRPASNC
7	TBHBcAg153	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGK QTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPVNAPILTTLPETSVI
8	HBHBcAg189	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS EFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQT VIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRS PRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPAPSNC
9	HBHBcAg149	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS EFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQT VIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTVI
10	HBcAg183	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEH CSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDGGGGSGGGGTGSE FGGGGSGGGGSRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETV LEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTP SPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
11	HBcAg149	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEH CSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDGGGGSGGGGTGSE FGGGGSGGGGSRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETV LEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTLPETTVV
12	RBHBcAg189	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAATTTGGAGCTTCATCTCAACTG ATCTCTTTCTTGCCTGAGGACTTTTTCCCAAACCTTGCAGAATTG GTCGAGACCACCACAGCTCTCTATGAAGAAGAATTAGTAGGTAA GGAGCATTGCTCCCCTCACCATACTGCTTTACGATCCTTGCTAA ATTGCTGGGGAGAGACTGTTAGATTAATAACTTGGGTCAGGAAC TCTGTGGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTACTG GATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGTTCCCA AGATGCCATTGTCCAGCAAGTTCAGGCCTCGGTGGGCCTGCGC ATGAGACAGTTAATGTGGTTCCATCTCTCATGCCTAACATTTGGA CAGCCCACTGTCATAGAATTTCTGGTCTCTTTTGGAACATGGAT CAGAACCCCGCAAGCTTACAGACCCCCTAATGCACCCATTCTCT CGACTCTTCCGGAGCATACAATCGTTAGGAGAAGAGGAGGTTCA

		CGCGCTACTAGGTCCCCCCGAAGGCGCACTCCCTCTCCTCGCC GACGCAGATCTCAATCGCCGCGTCGCCGCAGATCTCAGTCTCC AGCTTCCTCCAACTGCTAA
13	RBHBcAg149	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAATTTGGAGCTTCATCTCAACTG ATCTCTTTCTTGCCTGAGGACTTTTTCCCAAACCTTGCAGAATTG GTCGAGACCACCACAGCTCTCTATGAAGAAGAATTAGTAGGTAA GGAGCATTGCTCCCCTCACCATACTGCTTTACGATCCTTGCTAA ATTGCTGGGGAGAGACTGTTAGATTAATAACTTGGGTCAGGAAC TCTGTGGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTACTG GATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGTTCCCA AGATGCCATTGTCCAGCAAGTTCAGGCCTCGGTGGGCCTGCGC ATGAGACAGTTAATGTGGTTCCATCTCTCATGCCTAACATTTGGA CAGCCCACTGTCATAGAATTTCTGGTCTCTTTTGGAACATGGAT CAGAACCCCGCAAGCTTACAGACCCCCTAATGCACCCATTCTCT CGACTCTTCCGGAGCATACAATCGTT
14	TBHBcAg188	ATGGAAAACCTTGAAAGACTTGACATCTATAAAGAATTTGGAGTC TCTGATGTCTTGGTGTCTTTCTTACCTGATGATTTCTTTCCAACTT TACAGCAACTTTTGGAATCAGTGAATGCCCTATATGAGGATGAA CTCACTGGGCCTAATCACTGTTCTCCCCATCATACTGCCTTAAG GCACTTGATTATGTGTGGGGTAGAATTAAGAGATTTTATTGATTG GATGCATGAACAGGGGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGG TACTGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGT TCCGATGCAGACGCTCTTTTGGCTGGTTACCTTCGATCCAAATA TCTTAAACATATTACCAAGGCTATTTGGTATCATTTAAGCTGTTT GACCTTTGGTAAGCAAACAGTGCATGAATACCTGGTATCCTTTG GCACCTGGATCAGAACCCCAGCTGCATATAGACCAGTGAATGCA CCCATTCTCACCACTCTTCCGGAAACTTCAGTTATCAGAAGAAG GCCTGCCTCCAGAAGATCTACTCCCTCTCCTCGCAGACGCCGAT CTCAATCACCGCGCCGCCGCCGCTCTCCATCTCCAAGACCAGC AAGCAATTGCTGA
15	TBHBcAg153	ATGGAAAACCTTGAAAGACTTGACATCTATAAAGAATTTGGAGTC TCTGATGTCTTGGTGTCTTTCTTACCTGATGATTTCTTTCCAACTT TACAGCAACTTTTGGAATCAGTGAATGCCCTATATGAGGATGAA CTCACTGGGCCTAATCACTGTTCTCCCCATCATACTGCCTTAAG GCACTTGATTATGTGTGGGGTAGAATTAAGAGATTTTATTGATTG GATGCATGAACAGGGGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGG

		TACTGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGT TCCGATGCAGACGCTCTTTTGGCTGGTTACCTTCGATCCAAATA TCTTAAACATATTACCAAGGCTATTTGGTATCATTTAAGCTGTTT GACCTTTGGTAAGCAAACAGTGCATGAATACCTGGTATCCTTTG GCACCTGGATCAGAACCCCAGCTGCATATAGACCAGTGAATGCA CCCATTCTCACCACTCTTCCGGAAACTTCAGTTATC
16	HBHBcAg189	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAGTTCGGTGCTTCATCTCAACTT GTCTCCTTTTTGCCTGCTGACTTCTTTCCCGCCTTGAACGACCT GGTGGAAACTTCGGTGGCCTTATATGAGGAAGACCTTGTAGGTA AGGAGCATTGCTCCCCTCATCATGCAGCCTTAAGGGCCCTACTT AATTGCTGGGAGGAAACAGTCAGACTGATTACCTGGGTCCGTG CCACAGTAGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGTTCC CAGGATGCCATCATCGGTTATGTCCAGACTACGGTGGGCCTAC GCATGAGACAACAGATCTGGTTCCATCTCTCATGCCTTACTTTTG GGCAGCAGACTGTGATAGAGTTCCTGGTCTCATTTGGGACATGG ATGAGAACTCCAGCCGCCTATAGACCCCCCAATGCACCCATTTT ATCAACTCTTCCAGAGCACACAGTCATTAGGAGAAGAGGAAATC CGCGTGCTCCTAGGTCCCCCAGAAGGCGCACTCCCTCTCCTCG CCGACGCAGATCTCAATCTCCGCGTCGCCGGAGATCTCAATCTC CAGCTCCCTCCAACTGCTAA
17	HBHBcAg149	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAGTTCGGTGCTTCATCTCAACTT GTCTCCTTTTTGCCTGCTGACTTCTTTCCCGCCTTGAACGACCT GGTGGAAACTTCGGTGGCCTTATATGAGGAAGACCTTGTAGGTA AGGAGCATTGCTCCCCTCATCATGCAGCCTTAAGGGCCCTACTT AATTGCTGGGAGGAAACAGTCAGACTGATTACCTGGGTCCGTG CCACAGTAGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGTTCC CAGGATGCCATCATCGGTTATGTCCAGACTACGGTGGGCCTAC GCATGAGACAACAGATCTGGTTCCATCTCTCATGCCTTACTTTTG GGCAGCAGACTGTGATAGAGTTCCTGGTCTCATTTGGGACATGG ATGAGAACTCCAGCCGCCTATAGACCCCCCAATGCACCCATTTT ATCAACTCTTCCAGAGCACACAGTCATT
18	HBcAg183	ATGGACATTGATCCATATAAAGAATTTGGAGCTTCTGTGGAGTTA CTCTCTTTTTTGCCTTCCGACTTCTTTCCTTCTATCCGAGATCTC CTCGACACCGCCTCTGCTCTGTATCGGGAGGCCTTAGAGTCTC CGGAACATTGTTCACCTCACCATACGGCACTCAGGCAAGCTATT CTGTGTTGGGGTGAGTTGATGAATCTAGCCACCTGGGTGGGAA GTAATTTGGAAGATGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTAC

		TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGTTCC AGGGAACTAGTAGTCAGCTATGTCAACGTTAATATGGGCCTAAA AATCAGACAACTATTGTGGTTTCACATTTCCTGTCTTACTTTTGG GAGAGAAACTGTTCTTGAATATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGAT TCGCACTCCTCCTGCATATAGACCACAAAATGCCCCTATCTTATC AACACTTCCGGAAACTACTGTTGTTCGTCGCCGAGGCCGTAGCC CGCGACGACGTACCCCGAGCCCGCGTCGACGTCGCAGCCAGA GCCCGCGCCGTCGTCGCAGCCAGAGCCGTGAAAGCCAGTGCT AA
19	HBcAg149	ATGGACATTGATCCATATAAAGAATTTGGAGCTTCTGTGGAGTTA CTCTCTTTTTTGCCTTCCGACTTCTTTCCTTCTATCCGAGATCTC CTCGACACCGCCTCTGCTCTGTATCGGGAGGCCTTAGAGTCTC CGGAACATTGTTCACCTCACCATACGGCACTCAGGCAAGCTATT CTGTGTTGGGGTGAGTTGATGAATCTAGCCACCTGGGTGGGAA GTAATTTGGAAGATGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGTGGTTCC AGGGAACTAGTAGTCAGCTATGTCAACGTTAATATGGGCCTAAA AATCAGACAACTATTGTGGTTTCACATTTCCTGTCTTACTTTTGG GAGAGAAACTGTTCTTGAATATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGAT TCGCACTCCTCCTGCATATAGACCACAAAATGCCCCTATCTTATC AACACTTCCGGAAACTACTGTTGTT
20	HIV-GP120 -aa361-375	FKQSSGGDPEIVTHS
21	hPDL1-aa1 47-160	TSEHELTCQAEGYP
22	HBsAg-aa1 13-135	SSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFP
23	RBHBcAg1 89-SEQ20	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSF KQSSGGDPEIVTHSEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQ LMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEH TIVRRRGGSRATRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPASSNC
24	RBHBcAg1 49-SEQ20	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSF KQSSGGDPEIVTHSEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQ LMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEH TIV

25	TBHBcAg1 88-SEQ20	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SFKQSSGGDPEIVTHSEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKH ITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPVNAPILTTLP ETSVIRRRPASRRSTPSPRRRRSQSPRRRRSPSPRPASNC
26	TBHBcAg1 53-SEQ20	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SFKQSSGGDPEIVTHSEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKH ITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPVNAPILTTLP ETSVI
27	HBHBcAg1 89-SEQ20	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS FKQSSGGDPEIVTHSEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQ QIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPE HTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPAPSNC
28	HBHBcAg1 49-SEQ20	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS FKQSSGGDPEIVTHSEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQ QIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPE HTVI
29	RBHBcAg1 89-SEQ21	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGST SEHELTCQAEGYPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQL MWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHT IVRRRGGSRATRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPASSNC
30	RBHBcAg1 49-SEQ21	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGST SEHELTCQAEGYPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQL MWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHT IV
31	TBHBcAg1 88-SEQ21	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG STSEHELTCQAEGYPEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHI TKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPVNAPILTTLP ETSVIRRRPASRRSTPSPRRRRSQSPRRRRSPSPRPASNC
32	TBHBcAg1 53-SEQ21	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG STSEHELTCQAEGYPEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHI TKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPVNAPILTTLP

		ETSVI
33	HBHBcAg1 89-SEQ21	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS TSEHELTCQAEGYPEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQ QIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPE HTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPAPSNC
34	HBHBcAg1 49-SEQ21	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS TSEHELTCQAEGYPEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQ QIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPE HTVI
35	RBHBcAg1 89-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPN APILSTLPEHTIVRRRGGSRATRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRS QSPASSNC
36	RBHBcAg1 49-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPN APILSTLPEHTIV
37	TBHBcAg1 88-SEQ22	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSDADALLAG YLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRP VNAPILTTLPETSVIRRRPASRRSTPSPRRRRSQSPRRRRSPSPRP ASNC
38	TBHBcAg1 53-SEQ22	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSDADALLAG YLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRP VNAPILTTLPETSVI
39	HBHBcAg1 89-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS SSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQT TVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPN

		APILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRS QSPAPSNC
40	HBHBcAg1 49-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHAALRALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGSGGGGTGS SSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQT TVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGTWMRTPAAYRPPN APILSTLPEHTVI
41	HBcAg183-SEQ22	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEH CSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSRELVVSYVNV NMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNA PILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQ C
42	HBcAg149-SEQ22	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEH CSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSRELVVSYVNV NMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNA PILSTLPETTVV
43	Linker	GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS
44	HBsAg	MENIASGLLGPLLVLQAGFFLLTKILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTPV CLGQNSQSQISSHSPTCCPPICPGYRWMCLRRFIIFLCILLLCLIFLL VLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPSCCCTK PTDGNCTCIPIPSSWAFAKYLWEWASVRFSWLSLLVPFVQWFVGL SPTVWLSVIWMMWFWGPSLYNILSPFMPLLPIFFCLWVYI
75	RBHBcAg189-T3	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSE FGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQP TVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGGSRATRS PRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPASSNC
76	TBHBcAg188-T3	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFFPSVFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGT GSEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTF GKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILTTLPETSVIRRRPASRR STPSPRRRRSQSPRRRRSPSPRPASNC
77	HBHBcAg189-T3	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPSDFFPSVNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGSGGGGTGS EFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQT VIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSP

		RRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSPAPSNC
78	RBHBcAg1 49-T3	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSE FGGGGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQP TVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI
79	TBHBcAg1 53-T3	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFFPSVFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGT GSEFGGGGSGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTF GKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILTTLPETSVI
80	HBHBcAg1 49-T3	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPSDFFPSVNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGSGGGGTGS EFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQT VIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI
81	RBHBcAg1 89-T3	ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCGGTGCTTCTTCTCAGCT GATCTCTTTCCTGCCGTCTGACTTCTTCCCGTCTGTTGCTGAACT GGTTGAAACCACCACCGCTCTGTACGAAGAAGAACTGGTTGGTA AAGAACACTGCTCTCCGCACCACACCGCTCTGCGTCAGGCTATC CTGTGCTGGGGTGAACTGATGACCCTGGCTACCTGGGTTCGTA ACTCTGTTGAAGGTGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTAC CGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTTCT CAGGACGCTATCGTTCAGCAGGTTCAGGCTTCTGTTGGTCTGCG TATGCGTCAGCTGATGTGGTTCCACCTGTCTTGCCTGACCTTCG GTCAGCCGACCGTTATCGAATTCCTGGTTTCTTTCGGTGTTTGG ATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGAACGCTCCGATCC TGTCTACCCTGCCGGAACACACCGTTATCCGTCGTCGTGGTAAC CCGCGTGCTCCGCGTTCTCCGCGTCGTCGTACCCCGTCTCCGC GTCGTCGTCGTTCTCAGTCTCCGCGTCGTCGTCGTTCTCAGTCT CCGGCTCCGTCTAACTGCTAA
82	TBHBcAg1 88-T3	ATGGAAAACCTGGAACGTCTGGACATCTACAAAGAATTCGGTGT TTCTGACTTCCTGCCGTCTGACTTCTTCCCGTCTGTTTTCCCGAC CCTGCAGCAGCTGCTGGAATCTGTTAACGCTCTGTACGAAGACG AACTGACCGGTCCGAACCACTGCTCTCCGCACCACACCGCTCT GCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAACTGCGTGACTTCATC GACTGGATGCACGAACAGGGTGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTG GTGGTACCGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGG TGGTTCTGACGCTGACGCTCTGCTGGCTGGTTACCTGCGTTCTA AATACCTGAAACACATCACCAAAGCTATCTGGTACCACCTGTCTT GCCTGACCTTCGGTAAACAGACCGTTCACGAATACCTGGTTTCT TTCGGTGTTTGGATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGA

		ACGCTCCGATCCTGACCACCCTGCCGGAAACCTCTGTTATCCGT CGTCGTCCGGCTTCTCGTCGTTCTACCCCGTCTCCGCGTCGTC GTCGTTCTCAGTCTCCGCGTCGTCGTCGTTCTCCGTCTCCGCGT CCGGCTTCTAACTGC
83	HBHBcAg1 89-T3	ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCGGTGCTTCTTCTCAGCT GGTTTCTTTCCTGCCGTCTGACTTCTTCCCGTCTGTTAACGACCT GGTTGAAACCTCTGTTGCTCTGTACGAAGAAGACCTGGTTGGTA AAGAACACTGCTCTCCGCACCACACCGCTCTGCGTCAGGCTATC CTGTGCTGGGGTGAACTGATGACCCTGGCTACCTGGGTTCGTG CTACCGTTGAAGGTGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTAC CGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTTCT CAGGACGCTATCATCGGTTACGTTCAGACCACCGTTGGTCTGCG TATGCGTCAGCAGATCTGGTTCCACCTGTCTTGCCTGACCTTCG GTCAGCAGACCGTTATCGAATTCCTGGTTTCTTTCGGTGTTTGG ATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGAACGCTCCGATCC TGTCTACCCTGCCGGAACACACCGTTATCCGTCGTCGTGGTAAC CCGCGTGCTCCGCGTTCTCCGCGTCGTCGTACCCCGTCTCCGC GTCGTCGTCGTTCTCAGTCTCCGCGTCGTCGTCGTTCTCAGTCT CCGGCTCCGTCTAACTGC
84	RBHBcAg1 49-T3	ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCGGTGCTTCTTCTCAGCT GATCTCTTTCCTGCCGTCTGACTTCTTCCCGTCTGTTGCTGAACT GGTTGAAACCACCACCGCTCTGTACGAAGAAGAACTGGTTGGTA AAGAACACTGCTCTCCGCACCACACCGCTCTGCGTCAGGCTATC CTGTGCTGGGGTGAACTGATGACCCTGGCTACCTGGGTTCGTA ACTCTGTTGAAGGTGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTAC CGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTTCT CAGGACGCTATCGTTCAGCAGGTTCAGGCTTCTGTTGGTCTGCG TATGCGTCAGCTGATGTGGTTCCACCTGTCTTGCCTGACCTTCG GTCAGCCGACCGTTATCGAATTCCTGGTTTCTTTCGGTGTTTGG ATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGAACGCTCCGATCC TGTCTACCCTGCCGGAACACACCGTTATCTAA
85	TBHBcAg1 53-T3	ATGGAAAACCTGGAACGTCTGGACATCTACAAAGAATTCGGTGT TTCTGACTTCCTGCCGTCTGACTTCTTCCCGTCTGTTTTCCCGAC CCTGCAGCAGCTGCTGGAATCTGTTAACGCTCTGTACGAAGACG AACTGACCGGTCCGAACCACTGCTCTCCGCACCACACCGCTCT GCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAACTGCGTGACTTCATC GACTGGATGCACGAACAGGGTGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTG GTGGTACCGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGG TGGTTCTGACGCTGACGCTCTGCTGGCTGGTTACCTGCGTTCTA

		AATACCTGAAACACATCACCAAAGCTATCTGGTACCACCTGTCTT GCCTGACCTTCGGTAAACAGACCGTTCACGAATACCTGGTTTCT TTCGGTGTTTGGATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGA ACGCTCCGATCCTGACCACCCTGCCGGAAACCTCTGTTATC
86	HBHBcAg1 49-T3	ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCGGTGCTTCTTCTCAGCT GGTTTCTTTCCTGCCGTCTGACTTCTTCCCGTCTGTTAACGACCT GGTTGAAACCTCTGTTGCTCTGTACGAAGAAGACCTGGTTGGTA AAGAACACTGCTCTCCGCACCACACCGCTCTGCGTCAGGCTATC CTGTGCTGGGGTGAACTGATGACCCTGGCTACCTGGGTTCGTG CTACCGTTGAAGGTGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTAC CGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTTCT CAGGACGCTATCATCGGTTACGTTCAGACCACCGTTGGTCTGCG TATGCGTCAGCAGATCTGGTTCCACCTGTCTTGCCTGACCTTCG GTCAGCAGACCGTTATCGAATTCCTGGTTTCTTTCGGTGTTTGG ATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGAACGCTCCGATCC TGTCTACCCTGCCGGAACACACCGTTATC
87	T 細胞表位	FLPSDFFPSV
88	T 細胞表位	PHHTALRQAILCWGELMTLA
89	T 細胞表位	VSFGVWIRTPPAYRPPNAPIL
90	RBHBcAg1 89-T3-SEQ 22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPN APILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRS QSPAPSNC
91	RBHBcAg1 49-T3-SEQ 22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPN APILSTLPEHTVI
92	TBHBcAg1 88-T3-SEQ 22	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFFPSVFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGT GSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSDADALLA GYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYR PPNAPILTTLPETSVIRRRPASRRSTPSPRRRRSQSPRRRRSPSPR PASNC
93	TBHBcAg1 53-T3-SEQ 22	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFFPSVFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGT GSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSDADALLA

		GYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYR PPNAPILTTLPETSVI
94	HBHBcAg1 89-T3-SEQ 22	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPSDFFPSVNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGSGGGGTGS SSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQT TVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNA PILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQ SPAPSNC
95	HBHBcAg1 49-T3-SEQ 22	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPSDFFPSVNDLVETSVALYEEDLVGKE HCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGSGGGGTGS SSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIIGYVQT TVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQQTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNA PILSTLPEHTVI
96	RBHBcAg1 49n-T3-SE Q22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGSSTTSTGPCKTCTT PAQGTSMFPQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIE FLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI

具體實施方式

【0150】現參照下列意在舉例說明本發明(而非限定本發明)的實施例來描述本發明。

【0151】除非特別指明，本發明中所使用的分子生物學實驗方法和免疫檢測法，基本上參照J. Sambrook等人，分子克隆：實驗室手冊，第2版，冷泉港實驗室出版社，1989，以及F. M. Ausubel等人，精編分子生物學實驗指南，第3版，John Wiley & Sons, Inc.，1995中該的方法進行；限制性內切酶的使用依照產品製造商推薦的條件。本領域技術人員知曉，實施例以舉例方式描述本發明，且不意欲限制本發明所要求保護的範圍。

實施例1. 編碼多肽載體的質粒的構建

【0152】在本實施例中，我們構建了編碼多肽載體的質粒。

1.1 編碼多肽載體的核苷酸序列的製備

修正之日期：110 年 3 月 10 日

【0153】基於三種蝙蝠來源的B型肝炎病毒核心抗原蛋白(即，RBHBcAg蛋白，TBHBcAg蛋白，HBHBcAg蛋白)，設計了下述多肽載體：

RBHBcAg189載體，其與RBHBcAg蛋白(SEQ ID NO: 1)的區別在於，RBHBcAg蛋白的第78-81位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示的連接體；RBHBcAg189載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 4所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 12所示；

TBHBcAg188載體，其與TBHBcAg蛋白(SEQ ID NO: 2)的區別在於，TBHBcAg蛋白的第80-83位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示的連接體；TBHBcAg188載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 6所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 14所示；

HBHBcAg189載體，其與HBHBcAg蛋白(SEQ ID NO: 3)的區別在於，HBHBcAg蛋白的第78-81位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示的連接體；HBHBcAg189載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 8所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 16所示。

【0154】另外，還基於人HBV的HBcAg蛋白，設計了HBcAg183載體，用作對照。HBcAg183載體與人HBV的HBcAg蛋白的區別在於，人HBV的HBcAg蛋白的第79-81位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示的連接體；HBcAg183載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 10所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 18所示。

【0155】上述四種載體的核苷酸序列均委託生工生物工程上海(股份)有限公司進行全基因合成。

1.2 編碼多肽載體的質粒的製備

【0156】以上述合成的核苷酸序列為範本，使用表2中的引物，通過PCR分別擴增上述4種載體的全長基因以及其截短體(即，C端截短的基因片段)。

一共獲得8種PCR產物，分別是：編碼RBHBcAg189載體的基因(SEQ ID NO: 12；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 4)、編碼RBHBcAg149載體的基因(SEQ ID NO: 13；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 5)、編碼TBHBcAg188載體的基因(SEQ ID NO: 14；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 6)、編碼TBHBcAg153載體的基因(SEQ ID NO: 15；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 7)、編碼HBHBcAg189載體的基因(SEQ ID NO: 16；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 8)、編碼HBHBcAg149載體的基因(SEQ ID NO: 17；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 9)、編碼HBcAg183載體的基因(SEQ ID NO: 18；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 10)、和編碼HBcAg149載體的基因(SEQ ID NO: 19；其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 11)。

【0157】用NdeI和HindIII將pTO-T7載體(羅文新, 張軍, 楊海傑, 等. 一種帶增強子的原核高效表達載體的構建及初步應用[J]. 生物工程學報, 2000, 16(5): 578-581)雙酶切，獲得線性化載體。利用Gibson assembly克隆方法(New England Biolabs (UK) Ltd)，將獲得的8種PCR產物與線性化載體連接，並轉化入DH5a感受態細菌中。將經轉化的細菌塗板培養，然後挑取單克隆菌落，提取質粒並進行測序。經測序驗證，獲得8種含有編碼多肽載體的核苷酸序列的質粒。

【0158】上述PCR過程涉及的引物示於表2中。

表2：引物序列

SEQ ID NO:	引物名稱	序列
45	RBHBcAg149/189F	ACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATGGACATTGATCCTTATAAAG
46	RBHBcAg149R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAAACGATTGTATGCTCCGGAAGAGTCGA
47	RBHBcAg189R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGCAGTTGGAGGAAGCTGGAGACTGAGATCTGCGGCGAC

48	TBHBcAg153/188F	ACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATGGAAAACCTTGAAAGACTTG
49	TBHBcAg153R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGATAACTGAAGTTTCCGGAAGAGTG
50	TBHBcAg188R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGCAATTGCTTGCTGGTCTTG
51	HBHBcAg149/189F	ACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATGGACATTGATCCTTATAAAG
52	HBHBcAg149R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAAATGACTGTGTGCTCTGGAAGAGTTGA
53	HBHBcAg189R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGCAGTTGGAGGGAGCTGGAGATTGAGATCTCCGGCGAC

實施例2. 重組蛋白的製備

【0159】在本實施例中，我們將編碼目的多肽的核苷酸序列插入實施例1構建的質粒中，並獲得了含有目的多肽和多肽載體的重組蛋白。將目的多肽(靶抗原肽段)插入本發明的RBHBcAg載體、TBHBcAg載體和HBHBcAg載體以構建重組蛋白的克隆方案的示意圖如第1圖所示。

2.1 編碼含有目的多肽和多肽載體的重組蛋白的表達質粒的構建

【0160】本實施例利用3種目的多肽來驗證本發明的多肽載體用於展示肽段的通用性。這3種目的多肽為：多肽HIV-GP120-aa361-375 (即，來源於HIV GP120蛋白的第361-375位氨基酸，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 20所示)；多肽hPDL1-aa147-160 (即，來源於人PD-L1蛋白的第147-160位氨基酸，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 21所示)；多肽HBsAg-aa113-135 (即，來源於人HBV表面抗原主蛋白(HBsAg)的第113-135位氨基酸，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 22所示)。

【0161】直接合成該3種目的多肽的正義和反義編碼序列(如表3所示)，並進行退火，從而獲得具有黏性末端的、編碼目的多肽的基因片段。

【0162】表3：3種目的多肽的正義和反義編碼序列

SEQ	引物名稱	序列

修正之日期：110 年 3 月 10 日

ID NO:		
54	hPDL1-aa147-160F	GATCCACCTCTGAACATGAACTGACATGTCAGGCTGA GGGCTACCCCG
55	hPDL1-aa147-160R	AATTCGGGGTAGCCCTCAGCCTGACATGTCAGTTCAT GTTCAGAGGTG
56	HIV-GP120-aa361-375 F	GATCCTTCAAACAGTCTTCTGGTGGTGACCCGGAAATC GTTACCCACTCTG
57	HIV-GP120-aa361-375 R	AATTCAGAGTGGGTAACGATTTCCGGGTCACCACCAG AAGACTGTTTGAAG
58	HBsAg-aa113-135F	GATCCTCATCAACAACCAGCACCGGACCATGCAAAAC CTGCACAACTCCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCG
59	HBsAg-aa113-135R	AATTCGGGAAACATAGAGGTTCCTTGAGCAGGAGTTGT GCAGGTTTTGCATGGTCCGGTGCTGGTTGTTGATGAG

【0163】將實施例1中獲得的6種質粒(RBHBcAg189、RBHBcAg149、TBHBcAg188、TBHBcAg153、HBHBcAg189和HBHBcAg149)分別用BamHI和EcoRI雙酶切，獲得6種線性化的載體。然後，將如上製備的3種具有黏性末端的、編碼目的多肽的基因片段分別連接入各個線性化載體中，獲得編碼重組蛋白的表達質粒(一共18種：RBHBcAg189-SEQ20，RBHBcAg149-SEQ20，TBHBcAg188-SEQ20，TBHBcAg153-SEQ20，HBHBcAg189-SEQ20，HBHBcAg149-SEQ20，RBHBcAg189-SEQ21，RBHBcAg149-SEQ21，TBHBcAg188-SEQ21，TBHBcAg153-SEQ21，HBHBcAg189-SEQ21，HBHBcAg149-SEQ21，RBHBcAg189-SEQ22，RBHBcAg149-SEQ22，TBHBcAg188-SEQ22，TBHBcAg153-SEQ22，HBHBcAg189-SEQ22，和HBHBcAg149-SEQ22)。

2.2 重組蛋白的表達、純化和組裝

【0164】使用前一步驟構建的18種表達質粒，通過相同的方法來表達和純化該表達質粒編碼的重組蛋白。下面以RBHBcAg149-SEQX（SEQX表示SEQ20、SEQ21或SEQ22）為例，闡述這些重組蛋白的表達和純化過程。

【0165】(2.2.1)用於表達重組蛋白的菌株的製備：將2.1中獲得的表達質粒RBHBcAg149-SEQX轉化入大腸桿菌ER2566菌株，從而獲得表達菌株。

【0166】(2.2.2)重組蛋白RBHBcAg149-SEQX的表達：將表達菌株接種至500 mL三角瓶中，於37℃定溫搖床培養至OD=1.0左右；隨後加入異丙基-beta-D-硫代半乳糖苷(IPTG)至終濃度0.5 mM，並於25℃繼續表達6小時。

【0167】(2.2.3)重組蛋白RBHBcAg149-SEQX的純化：

【0168】(2.2.3.1)菌體超聲破碎：離心收取2.2.2中的菌體，並進行超聲破碎。超聲緩衝液為：20 mM 磷酸鹽緩衝液(PH6.0)+300 mM NaCl。

【0169】(2.2.3.2)重組蛋白的初步純化：將超聲破碎後的混合物於65℃水浴中溫育30分鐘，隨後離心收取上清；按1:1的體積比向上清中加入飽和硫酸銨，離心收取沉澱；加入適當體積的緩衝液(20 mM 磷酸鹽緩衝液(pH=7.4)+150 mM NaCl)將沉澱重懸，從而獲得初步純化的重組蛋白RBHBcAg149-SEQX。

【0170】(2.2.3.3)重組蛋白的層析純化：按照製造商的說明書，利用Sepharose 4FF(GE)分子篩柱層析進一步純化2.2.3.2中獲得的蛋白，從而獲得經純化的重組蛋白。對經純化的目的蛋白進行SDS-PAGE檢測，並用透射電鏡觀察由重組蛋白形成的VLP的狀態。

【0171】第2圖顯示了，所構建的18種重組蛋白的SDS-PAGE結果，以及由該重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。結果顯示，所獲得的18種重組蛋白的純度均大於85%，並且均能夠組裝成直徑約30nm類病毒顆粒。這些結果表明，本發明所構建的多肽載體具有廣泛的通用性，能夠用於展示各種目的多肽，並且能夠形成VLP。

實施例3. 類病毒顆粒的免疫原性的評估

【0172】在本實施例中，我們驗證了由實施例2製備的重組蛋白形成的類病毒顆粒的免疫原性。此類類病毒顆粒均能夠誘導機體產生特異性結合靶抗原的抗體。

3.1 小鼠免疫

【0173】用實施例2製備的18種類病毒顆粒分別免疫BALB/C小鼠。免疫方案如下：免疫佐劑為氫氧化鋁佐劑；免疫劑量為3ug/dose；免疫方式為後肢大腿外側肌肉注射；免疫程式為，初次免疫+2周後的加強免疫，共免疫2次。

3.2 血清中特異性結合靶抗原的抗體的滴度的檢測

3.2.1 反應板的製備

【0174】反應板的包被抗原是，分別與上述3種目的多肽對應的靶抗原，即：HIV-1的gp120蛋白(購自北京義翹神州生物技術有限公司，目錄號11233-V08H)，人PD-L1蛋白(購自北京義翹神州生物技術有限公司)，CHO細胞重組表達的人B型肝炎病毒表面抗原主蛋白(HBsAg，購自北京萬泰生物藥業股份有限公司)。

【0175】將3種重組蛋白分別用pH9.6的50 mM CB緩衝液($NaHCO_3/Na_2CO_3$緩衝液，終濃度為50mM，pH值為9.6)稀釋，終濃度為2μ g/mL，以獲得包被液。在96孔酶標板的各個孔中加入100μ L的包被液，並在2-8℃包被16-24小時，然後在37℃繼續包被2小時。然後，用PBST洗滌液(20 mM PB7.4，150 mM NaCl，0.1% Tween20)洗滌孔1次；隨後每孔加入200μ L的封閉液(含20%小牛血清及1%酪蛋白的20 mM Na_2HPO_4/NaH_2PO_4緩衝液溶液，pH值為7.4)，並在37℃封閉2小時。棄去封閉液。然後，將酶標板乾燥，並裝入鋁箔袋，於2-8℃保存備用。

3.2.2 血清中Anti-HBsAg抗體滴度的ELISA檢測

【0176】血清樣品的收集：在0、2、4周採集小鼠眼眶血，分離血清並凍存於-20℃，直至檢測。

【0177】樣品稀釋：用含20%新生牛血清的PBS溶液將小鼠血清稀釋成1:100、1:500、1:2500、1:12500、1:62500、1:312500、1:1562500共7個稀釋梯度。

【0178】ELISA檢測：向經包被的酶標板的各孔中加入100μ L已稀釋的血清樣品，於37℃孵育30分鐘。然後，用PBST洗液(20mM PB7.4，150mM NaCl，0.1%Tween20)將酶標板洗滌5遍。洗滌後，向酶標板的各孔中加入100μ L GAM-HRP反應液，於37℃孵育30分鐘。然後，用PBST洗液(20mM PB7.4，150mM NaCl，0.1%Tween20)將酶標板洗滌5遍。洗滌後，向酶標板的各孔中加入50μ L TMB顯色劑(由北京萬泰生物藥業股份有限公司提供)，於37℃孵育15分鐘。孵育完成後，向酶標板的各孔中加入50μ L終止液(由北京萬泰生物藥業股份有限公司提供)，並在酶標儀上讀取各孔的OD450/630值。

【0179】抗體滴度的計算：取讀值在0.2-2.0之間的樣品孔進行分析，對樣品的稀釋倍數與讀值作回歸曲線，計算出讀值等於2倍本底值時的樣品稀釋倍數，並將該樣品稀釋倍數作為血清中的特異性抗體的滴度。

【0180】第3圖展示了，用18種重組蛋白形成的類病毒顆粒免疫BALB/C小鼠後，小鼠血清中抗靶抗原的抗體滴度隨時間的變化情況。第3圖A：所使用的目的多肽為SEQ ID NO: 20，且檢測抗GP120抗體的滴度；第3圖B：所使用的目的多肽為SEQ ID NO: 21，且檢測抗PD-L1抗體的滴度；第3圖C：所使用的目的多肽為SEQ ID NO: 22，且檢測抗HBsAg抗體的滴度。結果顯示，18種重組蛋白形成的類病毒顆粒均具有良好的免疫原性，能夠誘導小鼠產生高滴度的特異性結合靶抗原的抗體。

實施例4. 展示HBsAg表位(SEQ ID NO: 22)的類病毒顆粒的抗HBV治療效果的評估

【0181】在本實施例中，我們評估了基於不同多肽載體構建的、展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的類病毒顆粒的抗HBV治療效果。

4.1 小鼠免疫

【0182】按照實施例1-2描述的方案，製備了基於人HBV的HBcAg構建的、展示HBsAg表位(SEQ ID NO: 22)的2種重組蛋白(即，HBcAg183-SEQ22，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 41所示；和HBcAg149-SEQ22，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 42所示)，並製備了由這2種重組蛋白形成的類病毒顆粒。

【0183】隨後，利用HBV轉基因小鼠模型來評價實施例2中製備的5種展示HBsAg表位(SEQ ID NO: 22)的類病毒顆粒以及本實施例製備的2種類病毒顆粒的抗HBV治療效果。

【0184】免疫方案如下：免疫佐劑為氫氧化鋁佐劑；免疫劑量為12μ g/dose；免疫方式為後肢大腿外側肌肉注射；免疫程式為，0、2、3、4、5、6周各免疫一次，共免疫6次。

4.2 血清抗體滴度與病毒學指標的檢測

【0185】按實施例3.2中描述的方法進行血清中Anti-HBsAg抗體滴度的檢測，並檢測小鼠血清中的病毒學指標，即，HBV DNA和HBsAg的水準。

4.3 重組蛋白的治療效果分析

【0186】檢測結果示於第4圖至第6圖中。第4圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第4圖A)和雌性(第4圖B)小鼠後，小鼠血清中HBsAg的水準隨時間的變化情況。第5圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性小鼠後，小鼠血清中HBV DNA的水準隨時間的變化情況。第6圖展示

了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第6圖A)和雌性(第6圖B)小鼠後，小鼠血清中抗HBsAg抗體的滴度隨時間的變化情況。

【0187】結果顯示，在用VLP進行免疫治療的組中，在免疫後，小鼠血清中均可檢出Anti-HBsAg抗體，並且小鼠血清中的HBV DNA和HBsAg的水平均出現了不同程度的下降。相比之下，對照組小鼠(未用VLP進行免疫)的血清中均沒有產生Anti-HBsAg抗體，並且血清中的HBV DNA和HBsAg的水平均未出現下降。

【0188】這些結果顯示，基於蝙蝠B型肝炎病毒核心蛋白所構建的6種多肽載體均可以用於高效展示來自人HBV的HBsAg的表位肽(例如，HBsAg-aa113-135)，其能夠形成VLP，並在宿主體內誘導機體產生高滴度的anti-HBsAg抗體，並由此抑制小鼠體內的HBV DNA和HBsAg的水準(即，HBV DNA和HBsAg顯著下降)。此外，第4圖至第6圖的實驗資料還顯示，基於本發明的多肽載體(例如RBHBcAg149和TBHBcAg153)的類病毒顆粒具有特別顯著的抗HBV治療效果，其優於基於人HBV的HBcAg構建的類病毒顆粒。

【0189】因此，本實施例的實驗結果表明：(1) 本發明的多肽載體能夠形成VLP，適合於展示各種目的多肽，並能夠誘導機體產生高滴度的針對目的多肽的抗體；(2) 本發明的多肽載體特別適合於展示人HBV的表位(例如，人HBV的HBsAg的表位)，其能夠誘導機體產生高滴度的針對HBsAg的抗體，清除或抑制體內的HBV DNA和HBsAg的水準，並且其效果優於基於人HBV的HBcAg構建的多肽載體。因此，本發明的展示人HBV的表位的重組蛋白具有治療HBV感染的潛力，特別適合用於誘發有效的、特異的、治療性的抗HBV免疫。

實施例5. 展示來自不同基因型的HBV的HBsAg表位元的類病毒顆粒的製備和評估

【0190】實施例2-4中所使用的HBsAg表位(SEQ ID NO: 22)來自HBV基因型B。為了證實本發明的多肽載體對各種基因型的HBV的廣泛適應性，我們還以RBHBcAg149和TBHBcAg153為示例性多肽載體，構建了展示來自不同基因型（基因型A、C和D）的HBV的HBsAg表位的重組蛋白，並評估了所構建的重組蛋白組裝成類病毒顆粒的能力，以及所產生的類病毒顆粒的免疫原性和抗HBV感染的治療效果。

5.1 編碼含有目的多肽和多肽載體的重組蛋白的表達質粒的構建

【0191】在本實施例中，除了實施例2-4中所使用的HBsAg表位（來自HBV基因型B，SEQ ID NO: 22）之外，目的多肽還包括來自HBV基因型A、C和D的HBsAg蛋白表位（第113-135位氨基酸），其分別被命名為：HBsAg-aa113-135-A，HBsAg-aa113-135-C和HBsAg-aa113-135-D，並且其序列（SEQ ID NO: 60-62）示於表4中。

【0192】表4：來自HBV基因型A、C和D的HBsAg蛋白的第113-135位氨基酸的序列

SEQ ID NO	名稱	序列資訊
60	HBsAg-aa113-135-A	STTTSTGPCKTCTTPAQGNSMFP
61	HBsAg-aa113-135-C	TSTTSTGPCKTCTIPAQGTSMFP
62	HBsAg-aa113-135-D	SSTTSTGPCRTCTTPAQGTSMYP

【0193】直接合成該3種目的多肽的正義和反義編碼序列(如表5所示)，並進行退火，從而獲得具有黏性末端的、編碼目的多肽的基因片段。

【0194】表5：3種目的多肽的正義和反義編碼序列

SEQ ID NO:	引物名稱	序列資訊
63	HBsAg-aa113-135-AF	GATCCTCTACCACCACCTCTACCGGTCCGTGCAAAACCTGCACCACCCCCGGCTCAGGGTAACTCTATGTTCCCGG

64	HBsAg-aa113-135-AR	AATTCCGGGAACATAGAGTTACCCTGAGCCG GGGTGGTGCAGGTTTTGCACGGACCGGTAG AGGTGGTGGTAGAG
65	HBsAg-aa113-135-CF	GATCCACCTCTACCACCTCTACCGGTCCGTG CAAAACCTGCACCATCCCGGCTCAGGGTACC TCTATGTTCCCGG
66	HBsAg-aa113-135-CR	AATTCCGGGAACATAGAGGTACCCTGAGCCG GGATGGTGCAGGTTTTGCACGGACCGGTAG AGGTGGTAGAGGTG
67	HBsAg-aa113-135-DF	GATCCTCTTCTACCACCTCTACCGGTCCGTG CCGTACCTGCACCACCCCGGCTCAGGGTAC CTCTATGTACCCGG
68	HBsAg-aa113-135-DR	AATTCCGGGTACATAGAGGTACCCTGAGCCG GGGTGGTGCAGGTACGGCACGGACCGGTAG AGGTGGTAGAAGAG

【0195】如實施例2中該，將如上製備的3種具有黏性末端的、編碼目的多肽的基因片段分別連接入線性化載體RBHBcAg149和TBHBcAg153中，從而獲得編碼重組蛋白的表達質粒（共6種：RBHBcAg149-SEQ60，RBHBcAg149-SEQ61，RBHBcAg149-SEQ62，TBHBcAg153-SEQ60，TBHBcAg153-SEQ61，TBHBcAg153-SEQ62）。這些表達質粒所編碼的重組蛋白的氨基酸序列如表6所示。

【0196】表6：6種重組蛋白的氨基酸序列

SEQ ID NO:	重組蛋白	序列資訊
69	RBHBcAg149-SEQ60	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSS TTTSTGPCKTCTTPAQGNSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPN APILSTLPEHTIV
70	RBHBcAg149-SEQ61	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGST STTSTGPCKTCTIPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPN

		APILSTLPEHTIV
71	RBHBcAg1 49-SEQ62	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEH CSPHHTALRSLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGSGGGGTGSS STTSTGPCRTCTTPAQGTSMYPEFGGGGSGGGGSQDAIVQQVQA SVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPN APILSTLPEHTIV
72	TBHBcAg1 53-SEQ60	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SSTTTSTGPCKTCTTPAQGNSMFPEFGGGGSGGGGSDADALLAG YLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRP VNAPILTTLPETSVI
73	TBHBcAg1 53-SEQ61	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG STSTTSTGPCKTCTIPAQGTSMFPEFGGGGSGGGGSDADALLAGY LRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPV NAPILTTLPETSVI
74	TBHBcAg1 53-SEQ62	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELT GPNHCSPHHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGSGGGGTG SSSTTSTGPCRTCTTPAQGTSMYPEFGGGGSGGGGSDADALLAG YLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRP VNAPILTTLPETSVI

【0197】5.2 重組蛋白的表達、純化和組裝

如實施例2中該，使用前一步驟構建的6種表達質粒，表達和純化了該表達質粒編碼的重組蛋白。隨後，使用透射電鏡觀察由這些重組蛋白形成的VLP的狀態。

【0198】第7圖顯示了，由所構建的6種重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。結果顯示，所獲得的6種重組蛋白均能夠組裝成直徑約30nm類病毒顆粒。這些結果表明，本發明所構建的多肽載體具有廣泛的通用性，能夠用於展示來自各種基因型的HBV的表位肽（例如HBsAg蛋白的aa113-135），並且能夠形成良好的VLP。

【0199】5.3 類病毒顆粒的免疫原性的評估

使用實施例3中描述的方法，評估了如上構建的6個重組蛋白以及實施例2中的重組蛋白RBHBcAg149-SEQ22和TBHBcAg153-SEQ22形成的類病毒顆粒的免疫原性。實驗結果示於第8圖中。

【0200】第8圖展示了，用8種重組蛋白形成的類病毒顆粒免疫BALB/C小鼠3周後，小鼠血清中抗相應靶多肽（SEQ ID NO：60，22，61，62）的抗體滴度；其中，用來自HBV基因型A的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO：60）來檢測用RBHBcAg149-SEQ60和TBHBcAg153-SEQ60免疫的小鼠血清的抗體滴度；用來自HBV基因型B的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO: SEQ22）來檢測用RBHBcAg149-SEQ22和TBHBcAg153-SEQ22免疫的小鼠血清的抗體滴度；用來自HBV基因型C的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO: 61）來檢測用RBHBcAg149-SEQ61和TBHBcAg153-SEQ61免疫的小鼠血清的抗體滴度；並且，使用來自HBV基因型D的HBsAg蛋白的表位肽（SEQ ID NO: 62）來檢測用RBHBcAg149-SEQ62和TBHBcAg153-SEQ62免疫的小鼠血清的抗體滴度。結果顯示，8種重組蛋白形成的類病毒顆粒均具有良好的免疫原性，能夠誘導小鼠產生高滴度的特異性結合靶表位的抗體。

【0201】5.4 類病毒顆粒的抗HBV治療效果的評估

使用實施例4中描述的方法，評估了4種重組蛋白（SEQ ID NO：36，69，70，71）形成的類病毒顆粒的抗HBV治療效果。實驗結果示於第9圖中。

【0202】第9圖展示了，用如上構建的4種重組蛋白（RBHBcAg149-SEQ22，RBHBcAg149-SEQ60，RBHBcAg149-SEQ61，RBHBcAg149-SEQ62；其序列分別SEQ ID NO：36，69，70，71）形成的類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第9圖A)和雌性(第9圖B)小鼠後，小鼠血清中HBsAg的水準隨時間的變化情況，其中，縱軸：HBsAg的水準（IU/ml）；橫軸：時間(周)。結果

顯示，在用VLP進行免疫治療的小鼠中，在免疫後，小鼠血清中的HBsAg的水平均出現了顯著的下降。

【0203】這些實驗結果顯示，本發明的多肽載體(例如RBHBcAg149和TBHBcAg153)可用于高效展示來自不同基因型（例如基因型A、B、C和D）的人HBV的HBsAg的表位肽(例如，HBsAg-aa113-135)。基於本發明的多肽載體和HBsAg的表位肽所構建的重組蛋白能夠形成VLP，並且能夠在宿主體內誘導機體產生高滴度的anti-HBsAg抗體，並由此抑制小鼠體內的HBsAg的水準(即，HBsAg的水準顯著下降)。這表明，含有本發明的多肽載體和HBsAg的表位肽的重組蛋白能夠用於預防和治療各種基因型的HBV的感染，從而可用于開發新的抗HBV疫苗和藥物。

實施例6. 編碼攜帶T細胞表位的多肽載體的質粒的構建

【0204】在本實施例中，我們構建了編碼攜帶T細胞表位的多肽載體的質粒。

6.1 編碼攜帶T細胞表位的多肽載體的核苷酸序列的製備

【0205】基於三種蝙蝠來源的B型肝炎病毒核心抗原蛋白(即，RBHBcAg蛋白蛋白，TBHBcAg蛋白，HBHBcAg蛋白)，設計了下述多肽載體：

RBHBcAg189-T3載體，其與RBHBcAg蛋白(SEQ ID NO: 1)的區別在於：RBHBcAg蛋白的第78-81位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示的連接體；RBHBcAg蛋白的第18-27位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 87所示的序列,RBHBcAg蛋白的第50-69位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 88所示的序列,RBHBcAg蛋白的第120-140位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 89所示的序列。RBHBcAg189-T3載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 75所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 81所示。

TBHBcAg188-T3載體，其與TBHBcAg蛋白(SEQ ID NO: 2)的區別在於：TBHBcAg蛋白的第80-83位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示

的連接體；TBHBcAg蛋白的第18-27位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 87所示的序列,TBHBcAg蛋白的第54-73位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 88所示的序列,TBHBcAg蛋白的第124-144位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 89所示的序列。TBHBcAg188-T3載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 76所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 82所示。

HBHBcAg189-T3載體，其與HBHBcAg蛋白(SEQ ID NO: 3)的區別在於：HBHBcAg蛋白的第78-81位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 43所示的連接體；HBHBcAg蛋白的第18-27位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 87所示的序列,HBHBcAg蛋白的第50-69位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 88所示的序列,HBHBcAg蛋白的第120-140位氨基酸殘基被替換為如SEQ ID NO: 89所示的序列。HBHBcAg189-T3載體的氨基酸序列如SEQ ID NO: 77所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 83所示。

【0206】上述3種載體的核苷酸序列均委託生工生物工程上海(股份)有限公司進行全基因合成。

6.2 編碼多肽載體的質粒的製備

【0207】以上述合成的核苷酸序列（例如RBHBcAg189-T3載體）為範本，使用如SEQ ID NO: 45-47所示的引物，通過PCR擴增RBHBcAg189-T3載體的全長基因以及其截短體(即，C端截短的基因片段)。一共獲得2種PCR產物，分別是：編碼RBHBcAg189-T3載體的基因(SEQ ID NO: 81，其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 75)；以及，編碼RBHBcAg149-T3載體的基因(SEQ ID NO: 84，其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 78)。

【0208】通過類似的方法，可獲得下列PCR產物：編碼TBHBcAg188-T3載體的基因(SEQ ID NO: 82，其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 76)；編碼HBHBcAg189-T3載體的基因(SEQ ID NO: 83，其編碼的氨基酸序列為SEQ

ID NO: 77)；編碼TBHBcAg153-T3載體的基因(SEQ ID NO: 85，其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 79);以及，編碼HBHBcAg149-T3載體的基因(SEQ ID NO: 86，其編碼的氨基酸序列為SEQ ID NO: 80)。

【0209】用NdeI和HindIII將pTO-T7載體(羅文新, 張軍, 楊海傑, 等. 一種帶增強子的原核高效表達載體的構建及初步應用[J]. 生物工程學報, 2000, 16(5): 578-581)雙酶切，獲得線性化載體。利用Gibson assembly克隆方法(New England Biolabs (UK) Ltd)，將獲得的PCR產物分別與線性化載體連接，並轉化入DH5a感受態細菌中。將經轉化的細菌塗板培養，然後挑取單克隆菌落，提取質粒並進行測序。經測序驗證，獲得6種含有編碼多肽載體的核苷酸序列的質粒。

實施例7. 重組蛋白的製備

【0210】在本實施例中，我們將編碼目的多肽的核苷酸序列插入實施例6構建的質粒中，並獲得了含有目的多肽和多肽載體的重組蛋白。將目的多肽(靶抗原肽段)插入本發明的RBHBcAg-T3載體、TBHBcAg-T3載體和HBHBcAg-T3載體以構建重組蛋白的克隆方案的示意圖如第10圖所示。

7.1 編碼含有目的多肽和多肽載體的重組蛋白的表達質粒的構建

【0211】本實施例證實，本發明的攜帶人T細胞表位的多肽載體可用於展示目的多肽。所使用的示例性目的多肽為HBsAg-aa113-135 (即，來源於人HBV表面抗原主蛋白(HBsAg)的第113-135位氨基酸，其氨基酸序列如SEQ ID NO: 22所示)。

【0212】具有黏性末端的、編碼目的多肽HBsAg-aa113-135的基因片段如實施例2該製備。將實施例6中獲得的質粒RBHBcAg189-T3和RBHBcAg149-T3分別用BamHI和EcoRI雙酶切，獲得2種線性化的載體。然後，將如上製備的具有黏性末端的、編碼目的多肽的基因片段分別連接入各個線性化載體

中，獲得編碼下述重組蛋白的表達質粒：RBHBcAg189-T3-SEQ22（SEQ ID NO: 90）和RBHBcAg149-T3-SEQ22（SEQ ID NO: 91）。

【0213】通過類似的方法，獲得編碼下述重組蛋白的表達質粒：TBHBcAg188-T3-SEQ22（SEQ ID NO: 92）、TBHBcAg153-T3-SEQ22（SEQ ID NO: 93）、HBHBcAg189-T3-SEQ22（SEQ ID NO: 94）和HBHBcAg149-T3-SEQ22（SEQ ID NO: 95）。

7.2 重組蛋白的表達、純化和組裝

【0214】使用實施例2.2中描述的方法來表達和純化如上製備的表達質粒編碼的重組蛋白，並將其用於組裝VLP。

【0215】第11圖顯示了，所構建的2種重組蛋白（RBHBcAg189-T3-SEQ22和RBHBcAg149-T3-SEQ22）的SDS-PAGE結果，以及由該重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。結果顯示，所獲得的重組蛋白的純度均大於85%，並且均能夠組裝成直徑約30nm的類病毒顆粒。

【0216】另外，通過上述方法可證實，重組蛋白TBHBcAg188-T3-SEQ22、TBHBcAg153-T3-SEQ22、HBHBcAg189-T3-SEQ22、HBHBcAg149-T3-SEQ22也能夠組裝成形態良好的類病毒顆粒。

【0217】這些結果表明，本發明所構建的攜帶T細胞表位的多肽載體均能夠用於展示目的多肽，並且能夠形成VLP。

實施例8. 類病毒顆粒的免疫原性的評估

【0218】在本實施例中，我們驗證了由實施例7製備的重組蛋白形成的類病毒顆粒的免疫原性。此類類病毒顆粒均能夠誘導機體產生特異性結合靶抗原的抗體。

8.1 小鼠免疫

【0219】用實施例7製備的2種類病毒顆粒（RBHBcAg189-T3-SEQ22和RBHBcAg149-T3-SEQ22）以及實施例2製備的2種類病毒顆粒（RBHBcAg189-SEQ22和RBHBcAg149-SEQ22）分別免疫BALB/C小鼠。免疫方案如下：免疫佐劑為氫氧化鋁佐劑；免疫劑量為3ug/dose；免疫方式為後肢大腿外側肌肉注射；免疫程式為，0、2、3、4、5、6周各免疫一次，共免疫6次。

8.2 血清中特異性結合靶抗原的抗體的滴度的檢測

8.2.1 反應板的製備

【0220】反應板的包被抗原是，與目的多肽SEQ22對應的靶抗原，即：CHO細胞重組表達的人B型肝炎病毒表面抗原主蛋白(HBsAg，購自北京萬泰生物藥業股份有限公司)。

【0221】將HBsAg蛋白用pH9.6的50 mM CB緩衝液($NaHCO_3/Na_2CO_3$緩衝液，終濃度為50mM，pH值為9.6)稀釋，終濃度為2μ g/mL，以獲得包被液。在96孔酶標板的各個孔中加入100μ L的包被液，並在2-8℃包被16-24小時，然後在37℃繼續包被2小時。然後，用PBST洗滌液(20 mM PB7.4，150 mM NaCl，0.1% Tween20)洗滌孔1次；隨後每孔加入200μ L的封閉液(含20%小牛血清及1%酪蛋白的20 mM Na_2HPO_4/NaH_2PO_4緩衝液溶液，pH值為7.4)，並在37℃封閉2小時。棄去封閉液。然後，將酶標板乾燥，並裝入鋁箔袋，於2-8℃保存備用。

8.2.2 血清中Anti-HBsAg抗體滴度的ELISA檢測

【0222】血清樣品的收集：在0、2、3、4、5、6、7周採集小鼠眼眶血，分離血清並凍存於-20℃，直至檢測。

【0223】樣品稀釋：用含20%新生牛血清的PBS溶液將小鼠血清稀釋成1:100、1:500、1:2500、1:12500、1:62500、1:312500、1:1562500共7個稀釋梯度。

【0224】ELISA檢測：向經包被的酶標板的各孔中加入100μ L已稀釋的血清樣品，於37℃孵育30分鐘。然後，用PBST洗液(20mM PB7.4，150mM NaCl，0.1%Tween20)將酶標板洗滌5遍。洗滌後，向酶標板的各孔中加入100μ L GAM-HRP反應液，於37℃孵育30分鐘。然後，用PBST洗液(20mM PB7.4，150mM NaCl，0.1%Tween20)將酶標板洗滌5遍。洗滌後，向酶標板的各孔中加入50μ L TMB顯色劑(由北京萬泰生物藥業股份有限公司提供)，於37℃孵育15分鐘。孵育完成後，向酶標板的各孔中加入50μ L終止液(由北京萬泰生物藥業股份有限公司提供)，並在酶標儀上讀取各孔的OD450/630值。

【0225】抗體滴度的計算：取讀值在0.2-2.0之間的樣品孔進行分析，對樣品的稀釋倍數與讀值作回歸曲線，計算出讀值等於2倍本底值時的樣品稀釋倍數，並將該樣品稀釋倍數作為血清中的特異性抗體的滴度。

【0226】第12圖展示了，用該4種重組蛋白形成的類病毒顆粒免疫BALB/C小鼠後，小鼠血清中抗靶抗原HBsAg的抗體滴度隨時間的變化情況。結果顯示，由該4種重組蛋白形成的類病毒顆粒均具有良好的免疫原性，能夠誘導小鼠產生高滴度的特異性結合靶抗原HBsAg的抗體。此外，結果還顯示，實施例7製備的類病毒顆粒RBHBcAg189-T3-SEQ22和RBHBcAg149-T3-SEQ22在小鼠體內的免疫原性與實施例2製備的類病毒顆粒RBHBcAg189-SEQ22和RBHBcAg149-SEQ22的免疫原性相當。

【0227】通過類似的方法可證實，類病毒顆粒TBHBcAg188-T3-SEQ22、TBHBcAg153-T3-SEQ22、HBHBcAg189-T3-SEQ22、HBHBcAg149-T3-SEQ22均具有良好的免疫原性。

【0228】這些結果表明，本發明的攜帶T細胞表位的多肽載體可用於展示目的多肽，且能夠組裝成VLP；並且，由包含攜帶T細胞表位的多肽載體和目的多肽的重組蛋白形成的類病毒顆粒能夠在體內誘導產生高滴度的特異性結合目的多肽的抗體。

實施例9. 展示HBsAg表位(SEQ ID NO: 22)的類病毒顆粒的抗HBV治療效果的評估

【0229】在本實施例中，我們評估了基於不同多肽載體構建的、展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的類病毒顆粒的抗HBV治療效果。

9.1 小鼠免疫

【0230】如實施例4中該，利用HBV轉基因小鼠模型來評價實施例7製備的類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22以及實施例2製備的類病毒顆粒RBHBcAg149-SEQ22（展示HBsAg表位(SEQ ID NO: 22)的2種類病毒顆粒）的抗HBV治療效果。

【0231】免疫方案如下：免疫佐劑為氫氧化鋁佐劑；免疫劑量為12μ g/dose；免疫方式為後肢大腿外側肌肉注射；免疫程式為，0、2、3、4、5、6周各免疫一次，共免疫6次。

9.2 血清抗體滴度與病毒學指標的檢測

【0232】按實施例3.2中描述的方法進行血清中Anti-HBsAg抗體滴度的檢測，並檢測小鼠血清中的病毒學指標，即，HBV DNA和HBsAg的水準。

9.3 重組蛋白的治療效果分析

【0233】檢測結果示於第13圖至第15圖中。第13圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第13圖A)和雌性(第13圖B)小鼠後，小鼠血清中HBsAg的水準隨時間的變化情況。第14圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第14圖A)和雌性(第14圖B)小鼠後，小鼠血清中HBV DNA的水準隨時間的變化情況。第15圖展示了，用展示相同表位肽(SEQ ID NO: 22)的不同類病毒顆粒治療HBV轉基因雄性(第15圖A)和雌性(第15圖B)小鼠後，小鼠血清中抗HBsAg抗體的滴度隨時間的變化情況。

【0234】結果顯示，在用類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22或類病毒顆粒RBHBcAg149-SEQ22進行免疫治療的組中，在免疫後，小鼠血清中均可檢出顯著水準的Anti-HBsAg抗體，同時小鼠血清中的HBV DNA和HBsAg的水平均出現了顯著程度的下降，並且兩種類病毒顆粒的功效相當。相比之下，對照組小鼠(未用VLP進行免疫)的血清中均沒有產生Anti-HBsAg抗體，並且血清中的HBV DNA和HBsAg的水平均未出現下降。

【0235】通過類似的方法可證實，類病毒顆粒RBHBcAg189-T3-SEQ22、TBHBcAg188-T3-SEQ22、TBHBcAg153-T3-SEQ22、HBHBcAg189-T3-SEQ22和HBHBcAg149-T3-SEQ22均具有良好的免疫原性。

【0236】這些結果顯示，基於蝙蝠B型肝炎病毒核心蛋白所構建的攜帶T細胞表位的多肽載體均可以用於高效展示來自人HBV的HBsAg的表位肽(例如，HBsAg-aa113-135)，其能夠形成VLP，並在宿主體內誘導機體產生高滴度的anti-HBsAg抗體，並由此抑制小鼠體內的HBV DNA和HBsAg的水準(即，HBV DNA和HBsAg顯著下降)。此外，第13圖至第15圖的實驗資料還顯示，類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22和類病毒顆粒

RBHBcAg149-SEQ22具有相當的抗HBV治療效果。結合實施例4中第4圖至第6圖的實驗結果可知，基於本發明的攜帶T細胞表位的多肽載體（例如RBHBcAg149-T3）的類病毒顆粒具有特別顯著的抗HBV治療效果，其優於基於人HBV的HBcAg構建的類病毒顆粒。

【0237】因此，本實施例的實驗結果表明：(1) 本發明的攜帶T細胞表位的多肽載體能夠形成VLP，適合於展示目的多肽，並能夠誘導機體產生高滴度的針對目的多肽的抗體；(2) 本發明的攜帶T細胞表位的多肽載體特別適合於展示人HBV的表位(例如人HBV的HBsAg的表位)，其能夠誘導機體產生高滴度的針對HBsAg的抗體，清除或抑制體內的HBV DNA和HBsAg的水準，並且其效果優於基於人HBV的HBcAg構建的多肽載體。因此，本發明的展示人HBV的表位的重組蛋白具有治療HBV感染的潛力，特別適合用於誘發有效的、特異的、治療性的抗HBV免疫。

實施例10. 基於攜帶T細胞表位元的多肽載體的類病毒顆粒刺激免疫細胞分泌IFNγ 的能力的評估

【0238】在本實施案例中，我們評估了基於攜帶T細胞表位元的多肽載體的類病毒顆粒刺激免疫細胞分泌IFNγ 的能力。簡言之，在體外將實施例7製備的類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22和實施例2製備的類病毒顆粒RBHBcAg149-SEQ22分別與獲自B肝患者的全血孵育，隨後檢測全血樣品中的IFNγ 的水準，從而評估該類病毒顆粒刺激B肝患者全血中的免疫細胞分泌IFNγ 的能力。

10.1 類病毒顆粒與全血的共培養

【0239】採集B肝患者（26個）的全血樣品，將其分裝至3個1.5mL EP管（每管500μL）中，並分別與類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22、RBHBcAg149-SEQ22和PBS (用作陰性對照，無類毒素)於37℃下孵育24小

時（蛋白的終濃度為2μ g/mL）。孵育後，以4000rpm離心全血樣品5分鐘，收集上清，用於下一步的檢測。

10.2 IFNγ 的檢測

【0240】根據製造商的說明書，使用購自Millipore公司的人細胞因數檢測試劑盒MILLIPLEX MAP-Human Cell Signaling Portfolio，測定上清樣品中的IFNγ 水準。測定結果示於第16圖中。

【0241】第16圖展示了，用類病毒顆粒RBHBcAg149-T3-SEQ22或類病毒顆粒RBHBcAg149-SEQ22孵育獲自B肝患者的全血後，全血中分泌的IFNγ 的水準。結果顯示，用RBHBcAg149-T3-SEQ22孵育的全血中的IFNγ 水準顯著高於用RBHBcAg149-SEQ22（p=0.0021）或PBS（p=0.0037）孵育的全血中的IFNγ 水準。

【0242】通過類似的方法可證實，類病毒顆粒RBHBcAg189-T3-SEQ22、TBHBcAg188-T3-SEQ22、TBHBcAg153-T3-SEQ22、HBHBcAg189-T3-SEQ22和HBHBcAg149-T3-SEQ22也能夠刺激獲自B肝患者的全血中的免疫細胞分泌IFNγ 。

【0243】這些結果表明，本發明的攜帶人T細胞表位的多肽載體以及基於其構建的重組蛋白/類病毒顆粒能夠刺激人免疫細胞分泌IFNγ ，從而能夠增強人體對包含該多肽載體和目的多肽的重組蛋白/類病毒顆粒的免疫應答。本發明的攜帶人T細胞表位的多肽載體在增強人T細胞應答方面有顯著優勢。

實施例11. 基於不含連接體的多肽載體構建的重組蛋白的製備、表達、純化和組裝

【0244】在本實施例中，我們利用不含連接體的多肽載體來展示目的多肽，由此獲得了包含目的多肽和該不含連接體的多肽載體的重組蛋白。進一步，我們還研究了所獲得的重組蛋白組裝成VLP的能力。

【0245】簡言之，以實施例7獲得的編碼重組蛋白RBHBcAg149-T3-SEQ22的表達質粒為基礎，構建了表達重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22 (其氨基酸序列如SEQ ID NO: 96所示)的表達質粒，其中，該重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22與重組蛋白RBHBcAg149-T3-SEQ22的區別在於，缺失了位於目的多肽SEQ22兩端的柔性連接體。編碼重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22的表達質粒的構建方法如下。

【0246】以編碼重組蛋白RBHBcAg149-T3-SEQ22的表達質粒為範本，使用第一引物對RBc149nF1（SEQ ID NO: 97）和RBc149nR1（SEQ ID NO: 98）進行PCR，從而獲得第一擴增產物，並且，使用第二引物對RBc149nF2（SEQ ID NO: 99）和RBc149nR2（SEQ ID NO: 100）進行PCR，從而獲得第二擴增產物。隨後，以第一擴增產物和第二擴增產物共同作為範本，使用引物RBc149nF1（SEQ ID NO: 97）和RBc149nR2（SEQ ID NO: 100）進行PCR，從而獲得第三擴增產物，即，編碼重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22的核酸片段。

【0247】表7：引物序列

SEQ ID NO:	引物名稱	序列
97	RBc149nF1	AACTTTAAGAAGGAGATATACATATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTC
98	RBc149nR1	GAGTTGTGCAGGTTTTGCATGGTCCGGTGCTGGTTGTTGATGAACCTTCAACAGAGTTAC
99	RBc149nF2	CAAAACCTGCACAACTCCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCCAGGACGCTATCGTTCA

100	RBc149nR2	TGGTGCTCGAGTGCGGCCGCAAGCTTAGATAACGGTGTGTTCCGGCAGGGTAG

【0248】用NdeI和HindIII將pTO-T7載體雙酶切，獲得線性化載體。利用Gibson assembly克隆方法(New England Biolabs (UK) Ltd)，將獲得的第三擴增產物與線性化載體連接，並轉化入ER2566感受態細菌中。將經轉化的細菌塗板培養，然後挑取單克隆菌落，提取質粒並進行測序。經測序驗證，獲得攜帶編碼重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22的核苷酸片段的表達質粒。

【0249】隨後，按照實施例2第2.2小節中描述的方法，表達和純化重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22，並且，對經純化的重組蛋白進行SDS-PAGE檢測，並用透射電鏡觀察由該重組蛋白形成的VLP的狀態。實驗結果如第17圖所示。

【0250】第17圖顯示了，經純化的重組蛋白RBHBcAg149n-T3-SEQ22的SDS-PAGE結果，以及由該重組蛋白形成的類病毒顆粒的透射電鏡觀察結果。結果顯示，所獲得的重組蛋白的純度大於85%，並且能夠組裝成直徑約30nm的類病毒顆粒。這些結果表明，本發明所構建的不含連接體的多肽載體可用於展示目的多肽，並且能夠形成VLP。

【0251】儘管本發明的具體實施方式已經得到詳細的描述，但本領域技術人員將理解：根據已經公開的所有教導，可以對細節進行各種修改和變動，並且這些改變均在本發明的保護範圍之內。本發明的全部範圍由所附申請專利範圍及其任何等同物給出。

【符號說明】

【0252】

RBHBcAg：蹄蝠B型肝炎病毒(roundleaf bat HBV，RBHBV)的核心抗原蛋白

TBHBcAg：築帳蝠 B 型肝炎病毒(tent-making bat HBV，TBHBV)的核心抗原蛋白

HBHBcAg：菊頭蝠B型肝炎病毒(horseshoe bat HBV，HBHBV)的核心抗原蛋白

修正之日期：110 年 2 月 20 日

序列表

<110> 廈門大學，養生堂有限公司

<120> 一種用於展示目的多肽的多肽載體及其用途

<130> IEC170123

<150> CN 201710085194.3
<151> 2017-02-17

<160> 100

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 189
<212> PRT
<213> 鼹鼠B型肝炎病毒

<400> 1

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Pro Leu
65 70 75 80

Ile Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg
85 90 95

Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln
100 105 110

Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr
115 120 125

Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
130 135 140

Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg Ala Thr Arg Ser
145 150 155 160

Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro
165 170 175

Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn Cys
180 185

〈210〉 2
〈211〉 188
〈212〉 PRT
〈213〉 篠帳蝠B型肝炎病毒

〈400〉 2

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Leu Ser Pro Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys
85 90 95

Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu
100 105 110

Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr
115 120 125

Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu
130 135 140

Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro Ala Ser Arg
145 150 155 160

Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg
165 170 175

Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys
180 185

〈210〉 3
〈211〉 189
〈212〉 PRT
〈213〉 菊頭蝠B型肝炎病毒

〈400〉 3

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gln Pro
65 70 75 80

Val Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg
85 90 95

Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln
100 105 110

Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Met Arg Thr
115 120 125

Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
130 135 140

Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser
145 150 155 160

Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro
165 170 175

Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys
180 185

〈210〉 4
〈211〉 210
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 RBHBcAg189 多肽載體

〈400〉 4

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala
100 105 110

Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly
130 135 140

Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser
165 170 175

Arg Ala Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg
180 185 190

Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Asn Cys
210

〈210〉 5
〈211〉 170
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 RBHBcAg149 多肽載體

〈400〉 5

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala
100 105 110

Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly
130 135 140

Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val
165 170

〈210〉 6
〈211〉 209
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 TBHBcAg188多肽載體

〈400〉 6

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly
100 105 110

Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr
115 120 125

His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu
130 135 140

Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val
145 150 155 160

Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg
165 170 175

Arg Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser
180 185 190

Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn
195 200 205

Cys

〈210〉 7
〈211〉 174
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 TBHBcAg153 多肽載體

〈400〉 7

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly
100 105 110

Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr
115 120 125

His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu
130 135 140

Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val
145 150 155 160

Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile
165 170

〈210〉 8
〈211〉 210
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 HBHBcAg189多肽載體

〈400〉 8

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr
100 105 110

Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

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

Thr Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro
165 170 175

Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg
180 185 190

Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser
195 200 205

Asn Cys
210

〈210〉 9
〈211〉 170
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 HBHBcAg149 多肽載體

〈400〉 9

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr
100 105 110

Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

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

Thr Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile
165 170

〈210〉 10
〈211〉 204
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 HBcAg183多肽載體

〈400〉 10

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val
100 105 110

Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys
115 120 125

Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly
130 135 140

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Gln Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser
165 170 175

Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro
180 185 190

Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
195 200

〈210〉 11
〈211〉 170
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 HBcAg149 多肽載體

〈400〉 11

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val
100 105 110

Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys
115 120 125

Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly
130 135 140

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Gln Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val
165 170

〈210〉 12
〈211〉 633
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼RBHBcAg189多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 12
atggacattg atccttataa agaatttgga gcttcatctc aactgatctc tttcttgcct 60

gaggactttt tcccaaacct tgcagaattg gtcgagacca ccacagctct ctatgaagaa 120

gaattagtag gtaaggagca ttgctcccct caccatactg ctttacgatc cttgctaaat 180

tgctggggag agactgttag attaataact tgggtcagga actctgtgga gggaggtgga 240

ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttcccaag atgccattgt ccagcaagtt caggcctcgg tgggcctgcg catgagacag 360

ttaatgtggt tccatctctc atgcctaaca tttggacagc ccactgtcat agaatttctg 420

gtctcttttg gaacatggat cagaaccccg caagcttaca gacccccta tgcacccatt 480

ctctcgactc ttccggagca tacaatcgtt aggagaagag gaggttcacg cgctactagg 540

tccccccgaa ggcgcactcc ctctcctcgc cgacgcagat ctcaatcgcc gcgtcgccgc 600

agatctcagt ctccagcttc ctccaactgc taa 633

〈210〉 13
〈211〉 510
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼RBHBcAg149多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 13
atggacattg atccttataa agaatttgga gcttcatctc aactgatctc tttcttgcct 60

gaggactttt tcccaaacct tgcagaattg gtcgagacca ccacagctct ctatgaagaa 120

gaattagtag gtaaggagca ttgctcccct caccatactg ctttacgatc cttgctaaat 180

tgctggggag agactgttag attaataact tgggtcagga actctgtgga gggaggtgga 240

ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttcccaag atgccattgt ccagcaagtt caggcctcgg tgggcctgcg catgagacag 360

ttaatgtggt tccatctctc atgcctaaca tttggacagc ccactgtcat agaatttctg 420

gtctcttttg gaacatggat cagaaccccg caagcttaca gacccccta tgcacccatt 480

ctctcgactc ttccggagca tacaatcgtt 510

〈210〉 14
〈211〉 630
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 编码TBHBcAg188多肽载体的核苷酸序列

〈400〉 14
atggaaaacc ttgaaagact tgacatctat aaagaatttg gagtctctga tgtcttggtg 60

tctttcttac ctgatgattt ctttccaact ttacagcaac ttttggaatc agtgaatgcc 120

ctatatgagg atgaactcac tgggcctaat cactgttctc cccatcatac tgccttaagg 180

cacttgatta tgtgtggggt agaattaaga gattttattg attggatgca tgaacagggg 240

ggtggaggtg gttctggagg tggtggtact ggatccgaat tcggtggtgg aggttcagga 300

ggaggtggtt ccgatgcaga cgctcttttg gctggttacc ttcgatccaa atatcttaaa 360

catattacca aggctatttg gtatcattta agctgtttga cctttggtaa gcaaacagtg 420

catgaatacc tggtatcctt tggcacctgg atcagaaccc cagctgcata tagaccagtg 480

aatgcaccca ttctcaccac tcttccggaa acttcagtta tcagaagaag gcctgcctcc 540

agaagatcta ctccctctcc tcgcagacgc cgatctcaat caccgcgccg ccgccgctct 600

ccatctccaa gaccagcaag caattgctga 630

〈210〉 15
〈211〉 522
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼TBHBcAg153多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 15
atggaaaacc ttgaaagact tgacatctat aaagaatttg gagtctctga tgtcttggtg 60

tctttcttac ctgatgattt ctttccaact ttacagcaac ttttggaatc agtgaatgcc 120

ctatatgagg atgaactcac tgggcctaat cactgttctc cccatcatac tgccttaagg 180

cacttgatta tgtgtggggt agaattaaga gattttattg attggatgca tgaacagggg 240

ggtggaggtg gttctggagg tggtggtact ggatccgaat tcggtggtgg aggttcagga 300

ggaggtggtt ccgatgcaga cgctcttttg gctggttacc ttcgatccaa atatcttaaa 360

catattacca aggctatttg gtatcattta agctgtttga cctttggtaa gcaaacagtg 420

catgaatacc tggtatcctt tggcacctgg atcagaaccc cagctgcata tagaccagtg 480

aatgcaccca ttctcaccac tcttccggaa acttcagtta tc 522

〈210〉 16
〈211〉 633
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 编码HBHBcAg189多肽载体的核苷酸序列

〈400〉 16
atggacattg atccttataa agagttcggt gcttcatctc aacttgtctc ctttttgcct 60

gctgacttct ttcccgcctt gaacgacctg gtggaaactt cggtggcctt atatgaggaa 120

gaccttgtag gtaaggagca ttgctcccct catcatgcag ccttagggc cctacttaat 180

tgctgggagg aaacagtcag actgattacc tgggtccgtg ccacagtaga gggaggtgga 240

ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttcccagg atgccatcat cggttatgtc cagactacgg tgggcctacg catgagacaa 360

cagatctggt tccatctctc atgccttact tttgggcagc agactgtgat agagttcctg 420

gtctcatttg ggacatggat gagaactcca gccgcctata gacccccaa tgcacccatt 480

ttatcaactc ttccagagca cacagtcatt aggagaagag gaaatccgcg tgctcctagg 540

tcccccagaa ggcgcactcc ctctcctcgc cgacgcagat ctcaatctcc gcgtcgccgg 600

agatctcaat ctccagctcc ctccaactgc taa 633

〈210〉 17
〈211〉 510
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼HBHBcAg149多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 17
atggacattg atccttataa agagttcggt gcttcatctc aacttgtctc ctttttgcct 60

gctgacttct ttcccgcctt gaacgacctg gtggaaactt cggtggcctt atatgaggaa 120

gaccttgtag gtaaggagca ttgctcccct catcatgcag ccttagggc cctacttaat 180

tgctgggagg aaacagtcag actgattacc tgggtccgtg ccacagtaga gggaggtgga 240

ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttcccagg atgccatcat cggttatgtc cagactacgg tgggcctacg catgagacaa 360

cagatctggt tccatctctc atgccttact tttgggcagc agactgtgat agagttcctg 420

gtctcatttg ggacatggat gagaactcca gccgcctata gacccccaa tgcacccatt 480

ttatcaactc ttccagagca cacagtcatt 510

〈210〉 18
〈211〉 615
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼HBcAg183多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 18
atggacattg atccatataa agaatttgga gcttctgtgg agttactctc ttttttgcct 60

tccgacttct ttccttctat ccgagatctc ctcgacaccg cctctgctct gtatcgggag 120

gccttagagt ctccggaaca ttgttcacct caccatacgg cactcaggca agctattctg 180

tgttggggtg agttgatgaa tctagccacc tgggtgggaa gtaatttgga agatggtgga 240

ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttccaggg aactagtagt cagctatgtc aacgttaata tgggcctaaa aatcagacaa 360

ctattgtggt ttcacatttc ctgtcttact tttgggagag aaactgttct tgaatatttg 420

gtgtcttttg gagtgtggat tcgcactcct cctgcatata gaccacaaaa tgcccctatc 480

ttatcaacac ttccggaaac tactgttgtt cgtcgccgag gccgtagccc gcgacgacgt 540

accccgagcc cgcgtcgacg tcgcagccag agcccgcgcc gtcgtcgcag ccagagccgt 600

gaaagccagt gctaa 615

〈210〉 19
〈211〉 510
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼HBcAg149多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 19
atggacattg atccatataa agaatttgga gcttctgtgg agttactctc ttttttgcct 60

tccgacttct ttccttctat ccgagatctc ctcgacaccg cctctgctct gtatcgggag 120

gccttagagt ctccggaaca ttgttcacct caccatacgg cactcaggca agctattctg 180

tgttggggtg agttgatgaa tctagccacc tgggtgggaa gtaatttgga agatggtgga 240

ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttccaggg aactagtagt cagctatgtc aacgttaata tgggcctaaa aatcagacaa 360

ctattgtggt ttcacatttc ctgtcttact tttgggagag aaactgttct tgaatatttg 420

gtgtcttttg gagtgtggat tcgcactcct cctgcatata gaccacaaaa tgcccctatc 480

ttatcaacac ttccggaaac tactgttgtt 510

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> HIV

<400> 20

Phe Lys Gln Ser Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser
1 5 10 15

<210> 21
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro
1 5 10

<210> 22
<211> 23
<212> PRT
<213> HBV

<400> 22

Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala
1 5 10 15

Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro
20

<210> 23
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白RBHBcAg189-SEQ20

<400> 23

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser Ser Gly
85 90 95

Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser
115 120 125

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu
130 135 140

Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr
145 150 155 160

Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg
180 185 190

Ala Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg
195 200 205

Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn
210 215 220

Cys
225

〈210〉 24
〈211〉 185
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg149-SEQ20

〈400〉 24

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser Ser Gly
85 90 95

Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser
115 120 125

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu
130 135 140

Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr
145 150 155 160

Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val
180 185

〈210〉 25
〈211〉 224
〈212〉 PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白TBHBcAg188-SEQ20

<400> 25

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser
85 90 95

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr
115 120 125

Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His
130 135 140

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

Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg
180 185 190

Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln

195 200 205

Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys
210 215 220

〈210〉 26
〈211〉 189
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-SEQ20

〈400〉 26

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser
85 90 95

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr
115 120 125

Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His
130 135 140

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

Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile
180 185

〈210〉 27
〈211〉 225
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白HBHBcAg189-SEQ20

〈400〉 27

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser Ser Gly
85 90 95

Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr
115 120 125

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu
130 135 140

Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr

145 150 155 160

Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg
180 185 190

Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg
195 200 205

Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn
210 215 220

Cys
225

〈210〉 28
〈211〉 185
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白HBHBcAg149-SEQ20

〈400〉 28

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser Ser Gly
85 90 95

Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr
115 120 125

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu
130 135 140

Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr
145 150 155 160

Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile
180 185

〈210〉 29
〈211〉 224
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg189-SEQ21

〈400〉 29

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu

85 90 95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val
115 120 125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr
130 135 140

Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp
145 150 155 160

Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
165 170 175

Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg Ala
180 185 190

Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser
195 200 205

Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn Cys
210 215 220

〈210〉 30
〈211〉 184
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg149-SEQ21

〈400〉 30

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu
85 90 95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val
115 120 125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr
130 135 140

Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp
145 150 155 160

Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
165 170 175

Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val
180

〈210〉 31
〈211〉 223
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg188-SEQ21

〈400〉 31

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly

35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His
85 90 95

Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu
115 120 125

Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu
130 135 140

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

Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala
165 170 175

Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro
180 185 190

Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser
195 200 205

Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys
210 215 220

〈210〉 32
〈211〉 188
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-SEQ21

〈400〉 32

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His
85 90 95

Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu
115 120 125

Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu
130 135 140

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

Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala
165 170 175

Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile
180 185

〈210〉 33
〈211〉 224
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白HBHBcAg189-SEQ21

〈400〉 33

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu
85 90 95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val
115 120 125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr
130 135 140

Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp
145 150 155 160

Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
165 170 175

Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala
180 185 190

Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser
195 200 205

Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys

210 215 220

〈210〉 34
〈211〉 184
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉

〈223〉 重組蛋白HBHBcAg149-SEQ21

〈400〉 34

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
            20                  25                  30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
        35                  40                  45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
    50                  55                  60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65                  70                  75                  80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu
                85                  90                  95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val
        115                 120                 125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr
    130                 135                 140

Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp
145                 150                 155                 160

Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
                165                 170                 175
```

Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile
180

〈210〉 35
〈211〉 233
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg189-SEQ22

〈400〉 35

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr

165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile
180 185 190

Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg Ala Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg
195 200 205

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
210 215 220

Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn Cys
225 230

〈210〉 36
〈211〉 193
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg149-SEQ22

〈400〉 36

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile
180 185 190

Val

〈210〉 37
〈211〉 232
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg188-SEQ22

〈400〉 37

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr

85 90 95

Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His
130 135 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145 150 155 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr
165 170 175

Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro
195 200 205

Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro
210 215 220

Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys
225 230

〈210〉 38
〈211〉 197
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-SEQ22

〈400〉 38

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

```
Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
        35                  40                  45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
    50                  55                  60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65                  70                  75                  80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr
                85                  90                  95

Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser
            100                 105                 110

Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
        115                 120                 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His
    130                 135                 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145                 150                 155                 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr
                165                 170                 175

Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
            180                 185                 190

Glu Thr Ser Val Ile
        195


<210>  39
<211>  233
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  重組蛋白HBHBcAg189-SEQ22

<400>  39

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val
```

1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln
130 135 140

Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val
180 185 190

Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg
195 200 205

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
210 215 220

Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys

225 230

<210> 40
<211> 193
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白HBHBcAg149-SEQ22

<400> 40

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

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln
130 135 140

Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val
180 185 190

Ile

〈210〉 41
〈211〉 227
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白HBcAg149-SEQ22

〈400〉 41

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Leu
115 120 125

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

Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu

145 150 155 160

Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Gln Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val
180 185 190

Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg
195 200 205

Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu
210 215 220

Ser Gln Cys
225

〈210〉 42
〈211〉 193
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重组蛋白HBcAg149-SEQ22

〈400〉 42

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Leu
115 120 125

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

Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Gln Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val
180 185 190

Val

〈210〉 43
〈211〉 25
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 連接體

〈400〉 43

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

〈210〉 44
〈211〉 226
〈212〉 PRT
〈213〉 HBV

〈400〉 44

Met Glu Asn Ile Ala Ser Gly Leu Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln
1 5 10 15

Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu
20 25 30

Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Pro Val Cys
35 40 45

Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Gln Ile Ser Ser His Ser Pro Thr Cys
50 55 60

Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe
65 70 75 80

Ile Ile Phe Leu Cys Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val
85 90 95

Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly
100 105 110

Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala
115 120 125

Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Thr Asp
130 135 140

Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Ala Lys
145 150 155 160

Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu
165 170 175

Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu
180 185 190

Ser Val Ile Trp Met Met Trp Phe Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Asn Ile
195 200 205

Leu Ser Pro Phe Met Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val
210 215 220

Tyr Ile
225

〈210〉 45
〈211〉 47
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 45
actttaagaa ggagatatac atatgatgga cattgatcct tataaag 47

〈210〉 46
〈211〉 56
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 46
gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttaa acgattgtat gctccggaag agtcga 56

〈210〉 47
〈211〉 67
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 47
gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag cagttggagg aagctggaga ctgagatctg 60

cggcgac 67

〈210〉 48
〈211〉 47
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 48
actttaagaa ggagatatac atatgatgga aaaccttgaa agacttg 47

〈210〉 49
〈211〉 54
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 49
gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag ataactgaag tttccggaag agtg 54

<210> 50
<211> 49
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 50
gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag caattgcttg ctggtcttg 49

<210> 51
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 51
actttaagaa ggagatatac atatgatgga cattgatcct tataaag 47

<210> 52
<211> 56
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 52
gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttaa atgactgtgt gctctggaag agttga 56

<210> 53
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 53
gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag cagttggagg gagctggaga ttgagatctc 60

cggcgac 67

〈210〉 54
〈211〉 48
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 54
gatccacctc tgaacatgaa ctgacatgtc aggctgaggg ctaccccg 48

〈210〉 55
〈211〉 48
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 55
aattcggggt agccctcagc ctgacatgtc agttcatgtt cagaggtg 48

〈210〉 56
〈211〉 51
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 56
gatccttcaa acagtcttct ggtggtgacc cggaaatcgt tacccactct g 51

〈210〉 57
〈211〉 51
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 57
aattcagagt gggtaacgat ttccgggtca ccaccagaag actgtttgaa g 51

〈210〉 58
〈211〉 75
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉

<223> 引物

<400> 58
gatcctcatc aacaaccagc accggaccat gcaaaacctg cacaactcct gctcaaggaa 60

cctctatgtt tcccg 75

<210> 59
<211> 75
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 59
aattcgggaa acatagaggt tccttgagca ggagttgtgc aggttttgca tggtccggtg 60

ctggttgttg atgag 75

<210> 60
<211> 23
<212> PRT
<213> HBV

<400> 60

Ser Thr Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala
1 5 10 15

Gln Gly Asn Ser Met Phe Pro
20

<210> 61
<211> 23
<212> PRT
<213> HBV

<400> 61

Thr Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Ile Pro Ala
1 5 10 15

Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro
20

<210> 62
<211> 23
<212> PRT
<213> HBV

〈400〉 62

Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala
1 5 10 15

Gln Gly Thr Ser Met Tyr Pro
20

〈210〉 63
〈211〉 75
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 63
gatcctctac caccacctct accggtccgt gcaaaacctg caccaccccg gctcagggta 60

actctatgtt cccgg 75

〈210〉 64
〈211〉 75
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 64
aattccggga acatagagtt accctgagcc ggggtggtgc aggttttgca cggaccggta 60

gaggtggtgg tagag 75

〈210〉 65
〈211〉 75
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 65
gatccacctc taccacctct accggtccgt gcaaaacctg caccatcccg gctcagggta 60

cctctatgtt cccgg 75

〈210〉 66
〈211〉 75
〈212〉 DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 66
aattccggga acatagaggt accctgagcc gggatggtgc aggttttgca cggaccggta 60

gaggtggtag aggtg 75

<210> 67
<211> 75
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 67
gatcctcttc taccacctct accggtccgt gccgtacctg caccaccccg gctcagggta 60

cctctatgta cccgg 75

<210> 68
<211> 75
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 68
aattccgggt acatagaggt accctgagcc ggggtggtgc aggtacggca cggaccggta 60

gaggtggtag aagag 75

<210> 69
<211> 193
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白RBHBcAg149-SEQ60

<400> 69

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Thr Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Asn Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile
180 185 190

Val

〈210〉 70
〈211〉 193
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg149-SEQ61

〈400〉 70

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Ile Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile
180 185 190

Val

〈210〉 71
〈211〉 193
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白RBHBcAg149-SEQ62

<400> 71

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Tyr
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile
180 185 190

Val

〈210〉 72
〈211〉 197
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-SEQ60

〈400〉 72

```
Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1               5                  10                  15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
        35                  40                  45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
    50                  55                  60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65                  70                  75                  80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Thr Thr Thr
                85                  90                  95

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

Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
        115                 120                 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His
    130                 135                 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145                 150                 155                 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr
                165                 170                 175

Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
```

180 185 190

Glu Thr Ser Val Ile
195

〈210〉 73
〈211〉 197
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-SEQ61

〈400〉 73

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Thr Thr
85 90 95

Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Ile Pro Ala Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His
130 135 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145 150 155 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr
165 170 175

Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Thr Ser Val Ile
195

〈210〉 74
〈211〉 197
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-SEQ62

〈400〉 74

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met
50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Ser Thr Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Met Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His

130 135 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145 150 155 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr
165 170 175

Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Thr Ser Val Ile
195

〈210〉 75
〈211〉 210
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 RBHBcAg189-T3多肽載體

〈400〉 75

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala
100 105 110

Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly
130 135 140

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Gly Ser
165 170 175

Arg Ala Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg
180 185 190

Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Asn Cys
210

〈210〉 76
〈211〉 209
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 TBHBcAg188-T3多肽載體

〈400〉 76

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu
50 55 60

Cys Trp Gly Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly
100 105 110

Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr
115 120 125

His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu
130 135 140

Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro
145 150 155 160

Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg
165 170 175

Arg Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser
180 185 190

Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn
195 200 205

Cys

〈210〉 77
〈211〉 210
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 HBHBcAg189-T3多肽載體

〈400〉 77

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr
100 105 110

Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

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

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro
165 170 175

Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg
180 185 190

Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser
195 200 205

Asn Cys
210

〈210〉 78
〈211〉 170
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 RBHBcAg149-T3多肽載體

〈400〉 78

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala
100 105 110

Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly
130 135 140

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile
165 170

〈210〉 79
〈211〉 174
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 TBHBcAg153-T3多肽載體

〈400〉 79

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu
50 55 60

Cys Trp Gly Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly
100 105 110

Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr
115 120 125

His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu
130 135 140

Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro
145 150 155 160

Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile
165 170

〈210〉 80
〈211〉 170
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 HBHBcAg149-T3多肽載體

〈400〉 80

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val

1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr
100 105 110

Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys
115 120 125

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

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile
165 170

〈210〉 81
〈211〉 633
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼RBHBcAg189-T3多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 81
atggacatcg acccgtacaa agaattcggt gcttcttctc agctgatctc tttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt tgctgaactg gttgaaacca ccaccgctct gtacgaagaa 120

gaactggttg gtaaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgcgtca ggctatcctg 180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgta actctgttga aggtggtggt 240

ggtggttctg gtggtggtgg taccggttct gaattcggtg gtggtggttc tggtggtggt 300

ggttctcagg acgctatcgt tcagcaggtt caggcttctg ttggtctgcg tatgcgtcag 360

ctgatgtggt tccacctgtc ttgcctgacc ttcggtcagc cgaccgttat cgaattcctg 420

gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480

ctgtctaccc tgccggaaca caccgttatc cgtcgtcgtg gtaacccgcg tgctccgcgt 540

tctccgcgtc gtcgtacccc gtctccgcgt cgtcgtcgtt ctcagtctcc gcgtcgtcgt 600

cgttctcagt ctccggctcc gtctaactgc taa 633

〈210〉 82
〈211〉 627
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼TBHBcAg188-T3多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 82
atggaaaacc tggaacgtct ggacatctac aaagaattcg gtgtttctga cttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt ttcccgacc ctgcagcagc tgctggaatc tgttaacgct 120

ctgtacgaag acgaactgac cggtccgaac cactgctctc cgcaccacac cgctctgcgt 180

caggctatcc tgtgctgggg tgaactgcgt gacttcatcg actggatgca cgaacagggt 240

ggtggtggtg gttctggtgg tggtggtacc ggttctgaat tcggtggtgg tggttctggt 300

ggtggtggtt ctgacgctga cgctctgctg gctggttacc tgcgttctaa atacctgaaa 360

cacatcacca aagctatctg gtaccacctg tcttgcctga ccttcggtaa acagaccgtt 420

cacgaatacc tggtttcttt cggtgtttgg atccgtaccc cgccggctta ccgtccgccg 480

aacgctccga tcctgaccac cctgccggaa acctctgtta tccgtcgtcg tccggcttct 540

cgtcgttcta ccccgtctcc gcgtcgtcgt cgttctcagt ctccgcgtcg tcgtcgttct 600

ccgtctccgc gtccggcttc taactgc 627

〈210〉 83
〈211〉 630
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼HBHBcAg189-T3多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 83
atggacatcg acccgtacaa agaattcggt gcttcttctc agctggtttc tttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt taacgacctg gttgaaacct ctgttgctct gtacgaagaa 120

gacctggttg gtaaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgcgtca ggctatcctg 180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgtg ctaccgttga aggtggtggt 240

ggtggttctg gtggtggtgg taccggttct gaattcggtg gtggtggttc tggtggtggt 300

ggttctcagg acgctatcat cggttacgtt cagaccaccg ttggtctgcg tatgcgtcag 360

cagatctggt tccacctgtc ttgcctgacc ttcggtcagc agaccgttat cgaattcctg 420

gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480

ctgtctaccc tgccggaaca caccgttatc cgtcgtcgtg gtaacccgcg tgctccgcgt 540

tctccgcgtc gtcgtacccc gtctccgcgt cgtcgtcgtt ctcagtctcc gcgtcgtcgt 600

cgttctcagt ctccggctcc gtctaactgc 630

〈210〉 84
〈211〉 513
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼RBHBcAg149-T3多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 84
atggacatcg acccgtacaa agaattcggt gcttcttctc agctgatctc tttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt tgctgaactg gttgaaacca ccaccgctct gtacgaagaa 120

gaactggttg gtaaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgcgtca ggctatcctg 180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgta actctgttga aggtggtggt 240

ggtggttctg gtggtggtgg taccggttct gaattcggtg gtggtggttc tggtggtggt 300

ggttctcagg acgctatcgt tcagcaggtt caggcttctg ttggtctgcg tatgcgtcag 360

ctgatgtggt tccacctgtc ttgcctgacc ttcggtcagc cgaccgttat cgaattcctg 420

gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480

ctgtctaccc tgccggaaca caccgttatc taa 513

〈210〉 85

〈211〉 522
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼TBHBcAg153-T3多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 85
atggaaaacc tggaacgtct ggacatctac aaagaattcg gtgtttctga cttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt tttcccgacc ctgcagcagc tgctggaatc tgttaacgct 120

ctgtacgaag acgaactgac cggtccgaac cactgctctc cgcaccacac cgctctgcgt 180

caggctatcc tgtgctgggg tgaactgcgt gacttcatcg actggatgca cgaacagggt 240

ggtggtggtg gttctggtgg tggtggtacc ggttctgaat tcggtggtgg tggttctggt 300

ggtggtggtt ctgacgctga cgctctgctg gctggttacc tgcgttctaa atacctgaaa 360

cacatcacca aagctatctg gtaccacctg tcttgcctga ccttcggtaa acagaccgtt 420

cacgaatacc tggtttcttt cggtgtttgg atccgtaccc cgccggctta ccgtccgccg 480

aacgctccga tcctgaccac cctgccggaa acctctgtta tc 522

〈210〉 86
〈211〉 510
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 編碼HBHBcAg149-T3多肽載體的核苷酸序列

〈400〉 86
atggacatcg acccgtacaa agaattcggt gcttcttctc agctggtttc tttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt taacgacctg gttgaaacct ctgttgctct gtacgaagaa 120

gacctggttg gtaaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgcgtca ggctatcctg 180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgtg ctaccgttga aggtggtggt 240

ggtggttctg gtggtggtgg taccggttct gaattcggtg gtggtggttc tggtggtggt 300

ggttctcagg acgctatcat cggttacgtt cagaccaccg ttggtctgcg tatgcgtcag 360

cagatctggt tccacctgtc ttgcctgacc ttcggtcagc agaccgttat cgaattcctg 420

gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480

ctgtctaccc tgccggaaca caccgttatc 510

〈210〉 87

<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val
1 5 10

<210> 88
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88

Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu
1 5 10 15

Met Thr Leu Ala
20

<210> 89
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 89

Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ile Leu
20

<210> 90
<211> 233
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白RBHBcAg189-T3-SEQ22

<400> 90

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val
180 185 190

Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg
195 200 205

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
210 215 220

Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys
225 230

〈210〉 91
〈211〉 193

〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg149-T3-SEQ22

〈400〉 91

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu
130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val
180 185 190

Ile

<210> 92
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重組蛋白TBHBcAg188-T3-SEQ22

<400> 92

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu
50 55 60

Cys Trp Gly Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His
130 135 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145 150 155 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
165 170 175

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro
195 200 205

Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro
210 215 220

Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys
225 230

〈210〉 93
〈211〉 197
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白TBHBcAg153-T3-SEQ22

〈400〉 93

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser
1 5 10 15

Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln
20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly
35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu
50 55 60

Cys Trp Gly Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr
85 90 95

Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His
130 135 140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys
145 150 155 160

Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
165 170 175

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro
180 185 190

Glu Thr Ser Val Ile
195

〈210〉 94
〈211〉 233
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白HBHBcAg189-T3-SEQ22

〈400〉 94

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln
130 135 140

Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val
180 185 190

Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg
195 200 205

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
210 215 220

Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys
225 230

〈210〉 95
〈211〉 193
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白HBHBcAg149-T3-SEQ22

〈400〉 95

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

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu
20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr
85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe
100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala
115 120 125

Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln
130 135 140

Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile
145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val
180 185 190

Ile

〈210〉 96
〈211〉 169
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 重組蛋白RBHBcAg149-T3-SEQ22

〈400〉 96

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu
20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Ser Ser
65 70 75 80

Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly
85 90 95

Thr Ser Met Phe Pro Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser
100 105 110

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu
115 120 125

Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val
130 135 140

Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
145 150 155 160

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile
165

〈210〉 97
〈211〉 50
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 97
aactttaaga aggagatata catatggaca tcgacccgta caaagaattc 50

〈210〉 98
〈211〉 60

〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 98
gagttgtgca ggttttgcat ggtccggtgc tggttgttga tgaaccttca acagagttac 60

〈210〉 99
〈211〉 60
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 99
caaaacctgc acaactcctg ctcaaggaac ctctatgttt ccccaggacg ctatcgttca 60

〈210〉 100
〈211〉 53
〈212〉 DNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 引物

〈400〉 100
tggtgctcga gtgcggccgc aagcttagat aacggtgtgt tccggcaggg tag 53

修正之日期：110 年 2 月 20 日

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種核酸分子，其包含編碼多肽載體的核苷酸序列以及編碼目的多肽的核苷酸序列，

其中，該多肽載體選自下述多肽載體：

(1) RBHBcAg載體，其與蹄蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(RBHBcAg蛋白)的區別包括：

(1a) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(即，1個，2個，3個，4個，5個或6個氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體；以及

(1b)RBHBcAg蛋白的C端缺失40個氨基酸殘基；和

(2) RBHBcAg-T載體，其與蹄蝠B型肝炎病毒的核心抗原蛋白(RBHBcAg蛋白)的區別包括：

(2a) RBHBcAg蛋白的N端第78-83位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基(即，1個，2個，3個，4個，5個或6個氨基酸殘基)被缺失或被置換為連接體；

(2b) RBHBcAg蛋白的N端第18-27位中的一或複數氨基酸殘基、第50-69位中的一或複數氨基酸殘基和/或第120-140位氨基酸殘基中的一或複數氨基酸殘基各自獨立地被置換為人T細胞表位；以及

(2c) RBHBcAg蛋白的C端缺失40個氨基酸殘基；

其中，該RBHBcAg蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 1所示；

其中，該連接體為肽連接體；

其中，該目的多肽是包含來自人HBV的HBsAg的表位的表位肽，並且該編碼目的多肽的核苷酸序列在使用或者不使用限制性酶切位元點的情況下被插入至編碼該被缺失的一個或複數氨基酸殘基的位置處，或者被插入至編碼該連接體的核苷酸序列中或其一端或兩端。

修正之日期：110 年 2 月 20 日

【第2項】如申請專利範圍第1項的核酸分子，其具有選自下列的一個或多個特徵：

（1）該 T 細胞表位為人 T 細胞表位；

（2）該 RBHBcAg 蛋白的 N 端第 78-83 位氨基酸殘基、第 78-82 位氨基酸殘基、第 78-81 位氨基酸殘基、或第 78-80 位氨基酸殘基被缺失或被置換為連接體；

（3）在編碼該被缺失的一個或複數氨基酸殘基的位置處引入限制性酶切位點；和/或，在編碼該連接體的核苷酸序列中和/或其一端或兩端引入限制性酶切位點；

（4）該人 HBV 選自 HBV 基因型 A、B、C 或 D；以及

（5）該 HBsAg 的表位為線性表位 。

【第3項】如申請專利範圍第1項的核酸分子，其具有選自下列的一個或多個特徵：

（1）該 T 細胞表位選自 MHC I 和 MHC II 限制性人 T 細胞表位；

（2）該連接體為柔性連接體；以及

（3）該 HBsAg 的表位為 HBsAg 蛋白的第 113-135 位氨基酸。

【第4項】如申請專利範圍第1項的核酸分子，其具有選自下列的一個或多個特徵：

（1）該T細胞表位選自如SEQ ID NO: 87所示的MHC I限制性人T細胞表位，以及如SEQ ID NO: 88或89所示的MHC II限制性人T細胞表位；

（2）該 RBHBcAg 蛋白的 N 端第 18-27 位、第 50-69 位以及第 120-140 位氨基酸殘基分別被置換為如 SEQ ID NO: 87、88 和 89 所示的人 T 細胞表位；

（3）該連接體為如 SEQ ID NO: 43 所示的連接體；以及

（4）該目的多肽的氨基酸序列選自 SEQ ID NO: 22 和 60-62。

修正之日期：110 年 3 月 10 日

【第5項】如申請專利範圍第1項的核酸分子，其中該多肽載體的氨基酸序列選自SEQ ID NO:5和76；或者，該編碼多肽載體的核苷酸序列選自SEQ ID NO: 13和84。

【第6項】如申請專利範圍第1項的核酸分子，其中，該核酸分子包含或者由編碼選自SEQ ID NO: 36、69-71、91和96的氨基酸序列的核苷酸序列組成。

【第7項】一種載體，其包含如申請專利範圍第1項至第6項任一項的核酸分子。

【第8項】一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第1項至第6項任一項的核酸分子或如申請專利範圍第7項的載體。

【第9項】一種重組蛋白，其包含或者由申請專利範圍第1項至第6項任一項的核酸分子編碼的氨基酸序列組成。

【第10項】一種如申請專利範圍第9項的重組蛋白用於製備藥物的用途，該藥物用於預防或治療HBV感染或與HBV感染相關的疾病。

【第11項】一種製備如申請專利範圍第9項的重組蛋白的方法，其包括，在適合表達該重組蛋白的條件下培養如申請專利範圍第8項的宿主細胞，和回收該重組蛋白。

【第12項】一種類病毒顆粒，其包含或者由如申請專利範圍第9項的重組蛋白組成。

【第 13 項】如申請專利範圍第 12 項的類病毒顆粒用於製備藥物的用途，該藥物用於預防或治療 HBV 感染或與 HBV 感染相關的疾病。

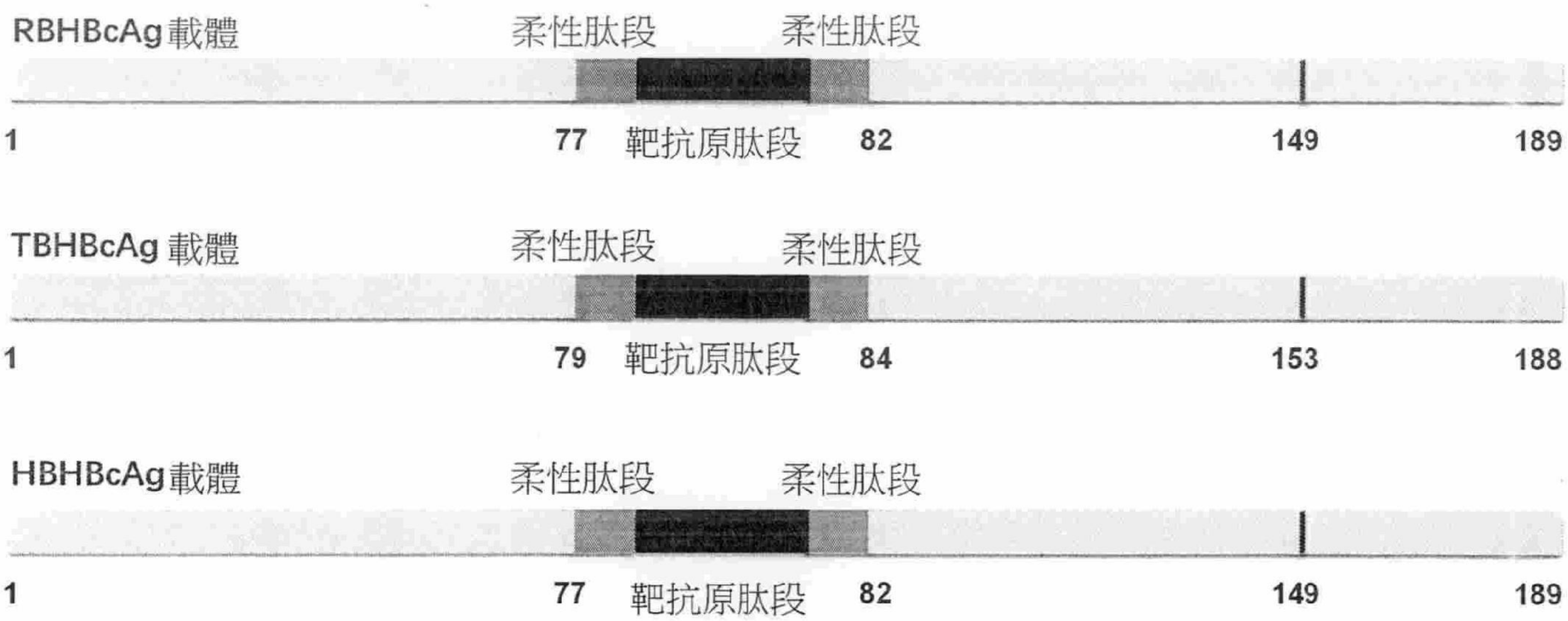
【第 14 項】如申請專利範圍第 10 項或第 13 項的用途，其中，該與 HBV 感染相關的疾病為 B 型肝炎，和/或，該 HBV 為人 HBV。

【第15項】一種藥物組合物，其包含如申請專利範圍第9項的重組蛋白或如申請專利範圍第12項的類病毒顆粒，和一種或多種藥學上可接受的載體或賦形劑。

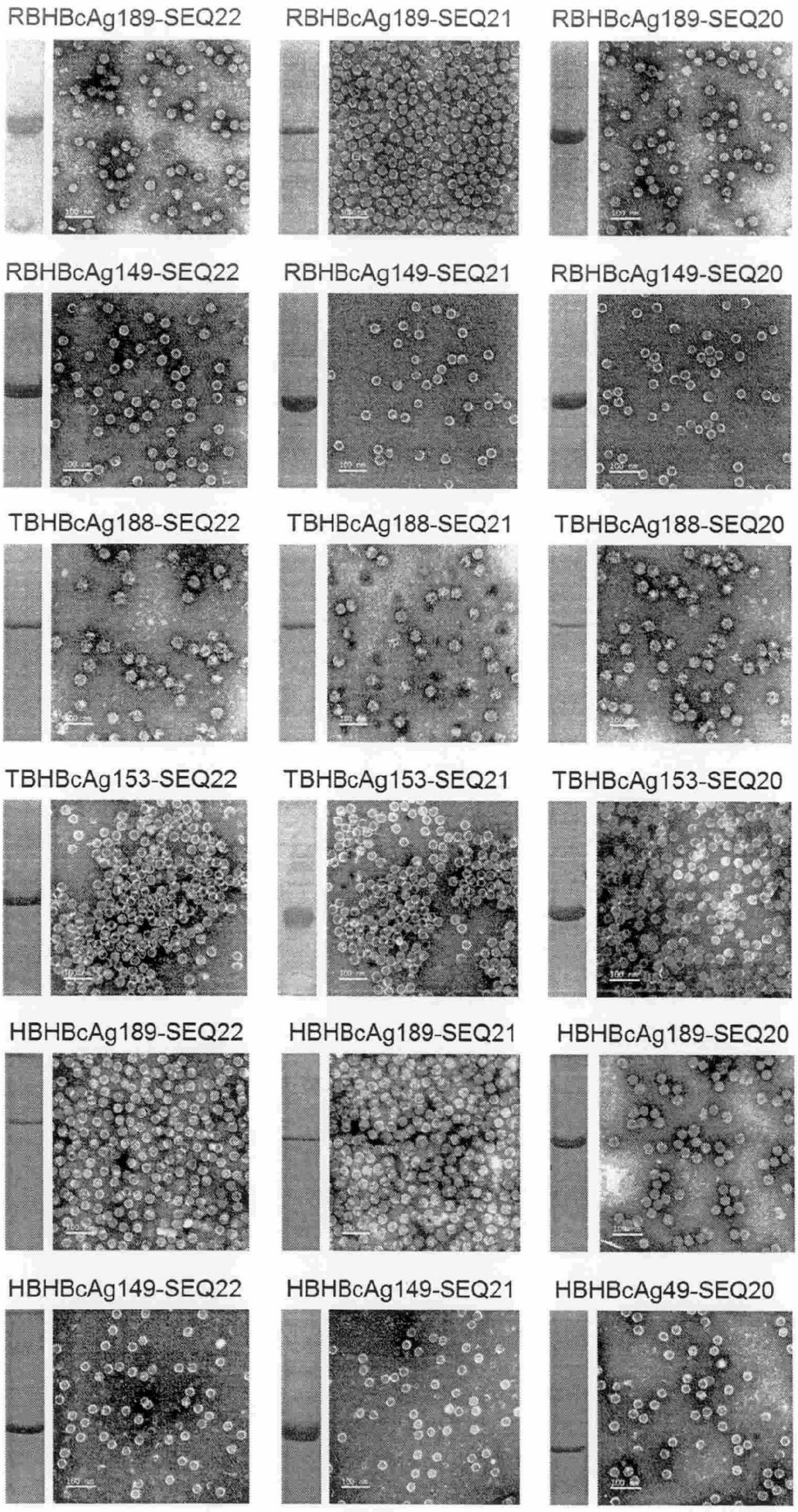
修正之日期：110 年 2 月 20 日

【第 16 項】如申請專利範圍第 15 項的藥物組合物，其中該藥物組合物為疫苗，和/或，該藥學上可接受的載體或賦形劑為佐劑。

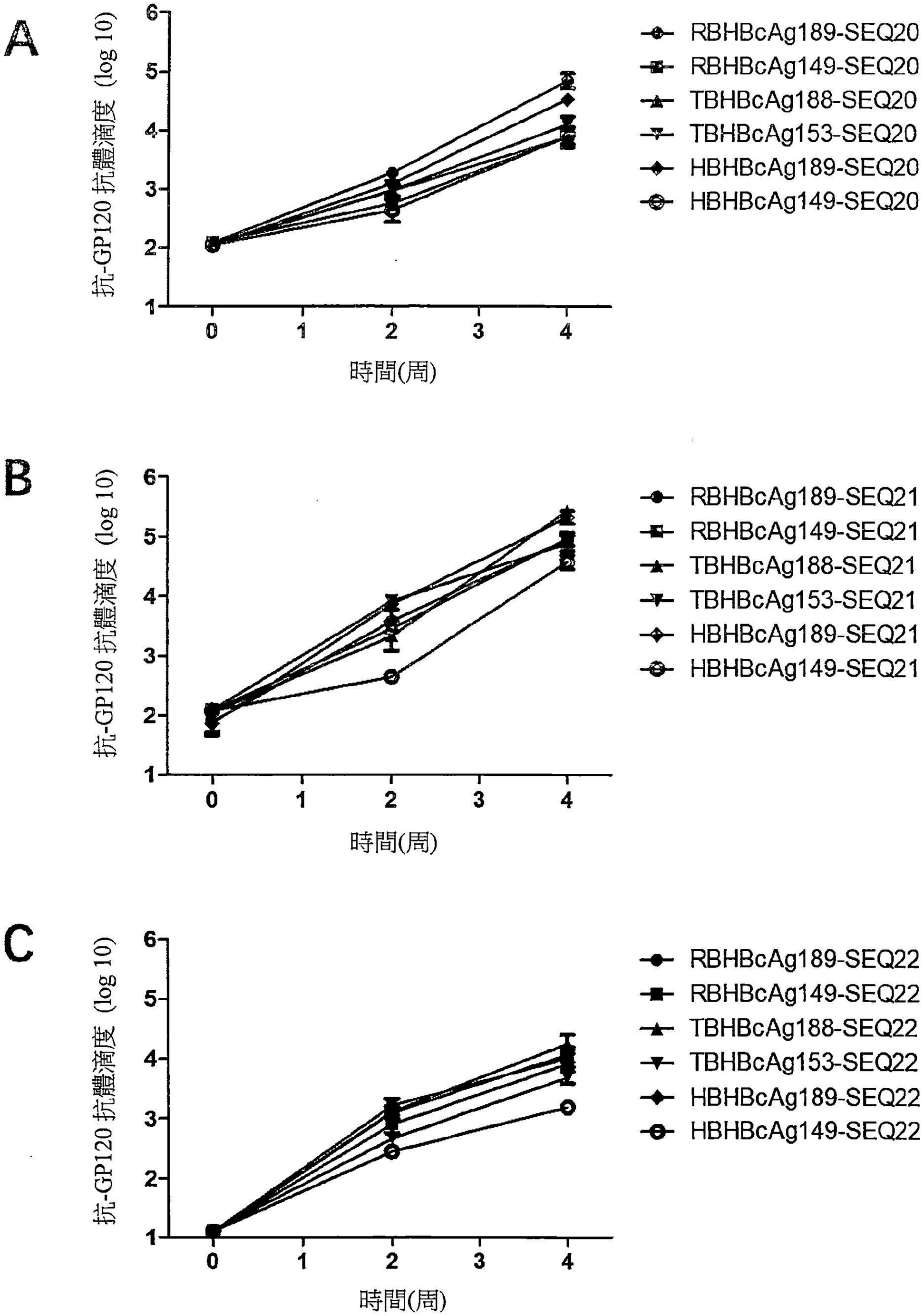
【發明圖式】


RBHBcAg載體
柔性肽段
柔性肽段
1
77
靶抗原肽段
82
149
189
TBHBcAg 載體
柔性肽段
柔性肽段
1
79
靶抗原肽段
84
153
188
HBHBcAg載體
柔性肽段
柔性肽段
1
77
靶抗原肽段
82
149
189

第 1 圖

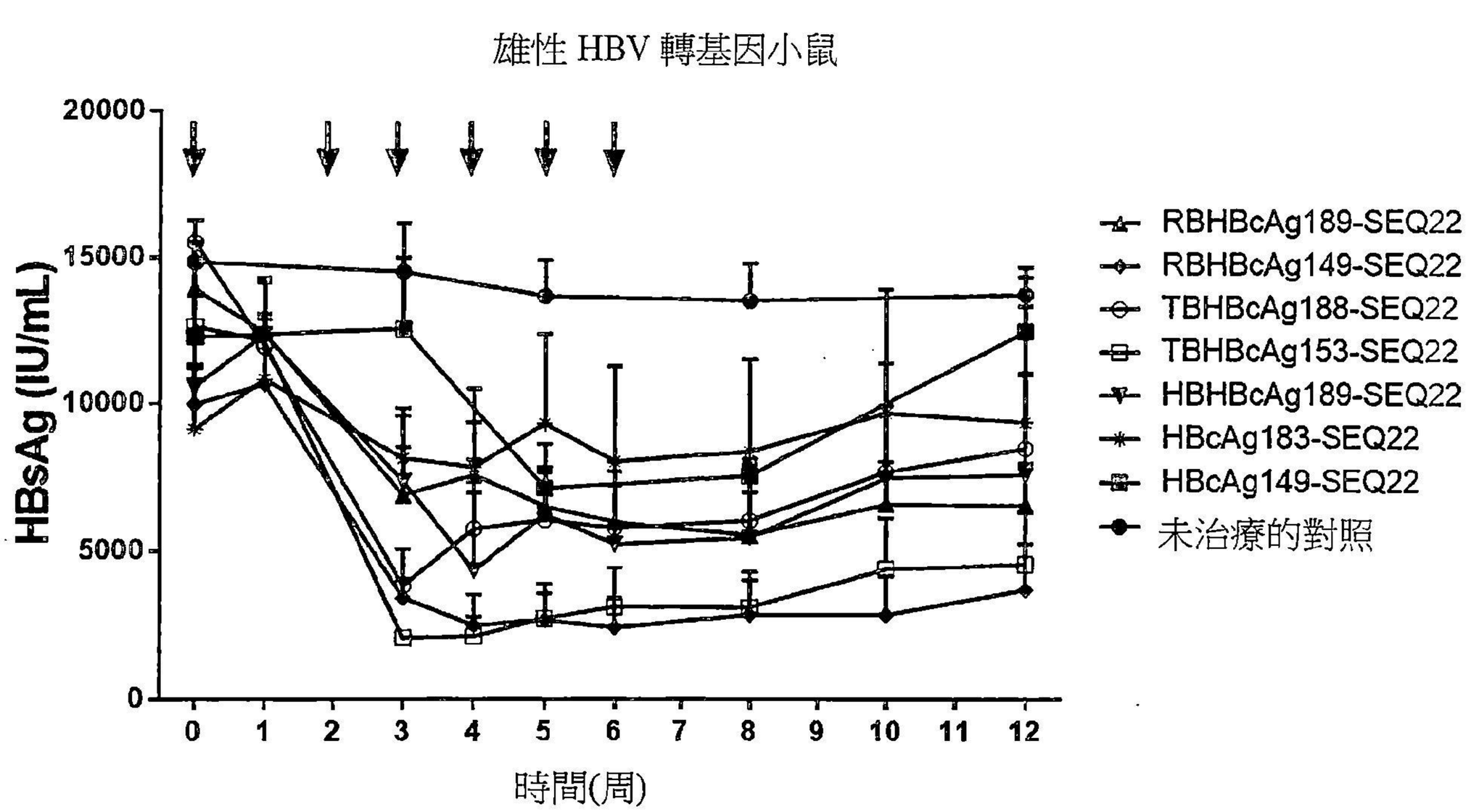

RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg189-SEQ21
RBHBcAg189-SEQ20
RBHBcAg149-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ21
RBHBcAg149-SEQ20
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ21
TBHBcAg188-SEQ20
TBHBcAg153-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ21
TBHBcAg153-SEQ20
HBHBcAg189-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ21
HBHBcAg189-SEQ20
HBHBcAg149-SEQ22
HBHBcAg149-SEQ21
HBHBcAg49-SEQ20

第 2 圖

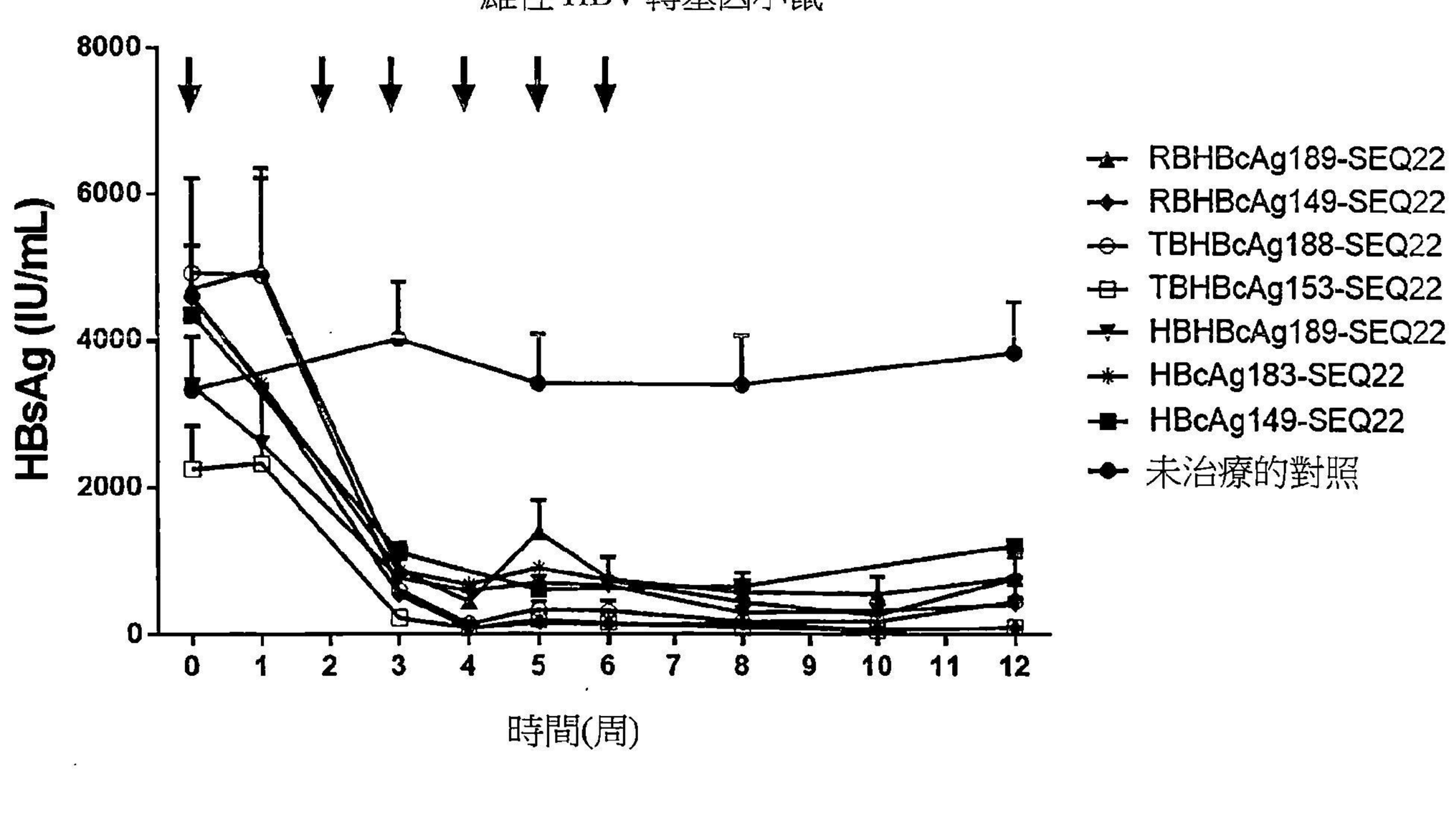

A
抗-GP120 抗體滴度 (log 10)
6
5
4
3
2
1
0
1
2
3
4
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ20
RBHBcAg149-SEQ20
TBHBcAg188-SEQ20
TBHBcAg153-SEQ20
HBHBcAg189-SEQ20
HBHBcAg149-SEQ20
B
抗-GP120 抗體滴度 (log 10)
6
5
4
3
2
1
0
1
2
3
4
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ21
RBHBcAg149-SEQ21
TBHBcAg188-SEQ21
TBHBcAg153-SEQ21
HBHBcAg189-SEQ21
HBHBcAg149-SEQ21
C
抗-GP120 抗體滴度 (log 10)
6
5
4
3
2
1
0
1
2
3
4
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ22
HBHBcAg149-SEQ22

第 3 圖

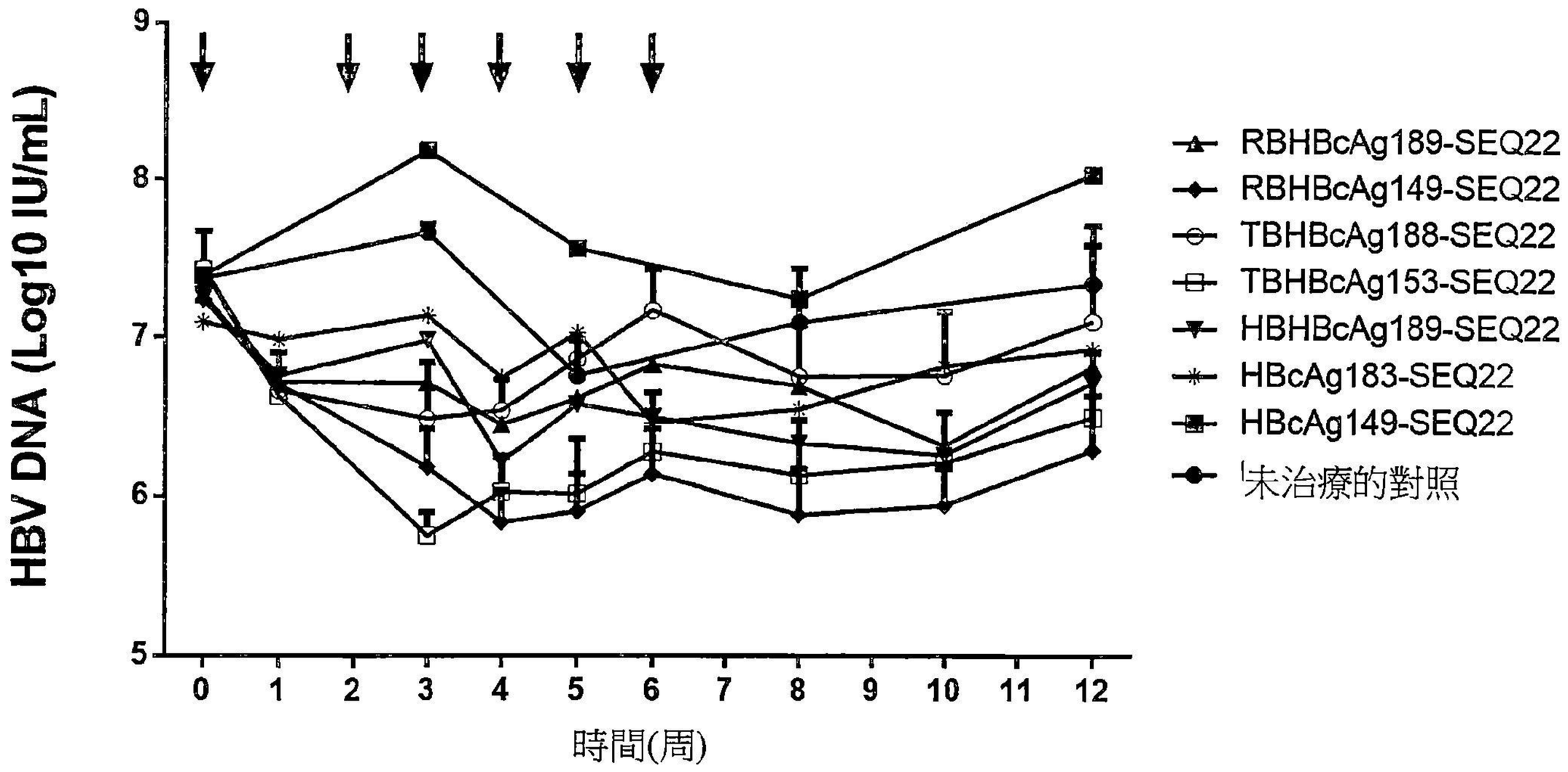
A


雄性 HBV 轉基因小鼠
HBsAg (IU/mL)
20000
15000
10000
5000
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ22
HBcAg183-SEQ22
HBcAg149-SEQ22
未治療的對照

B

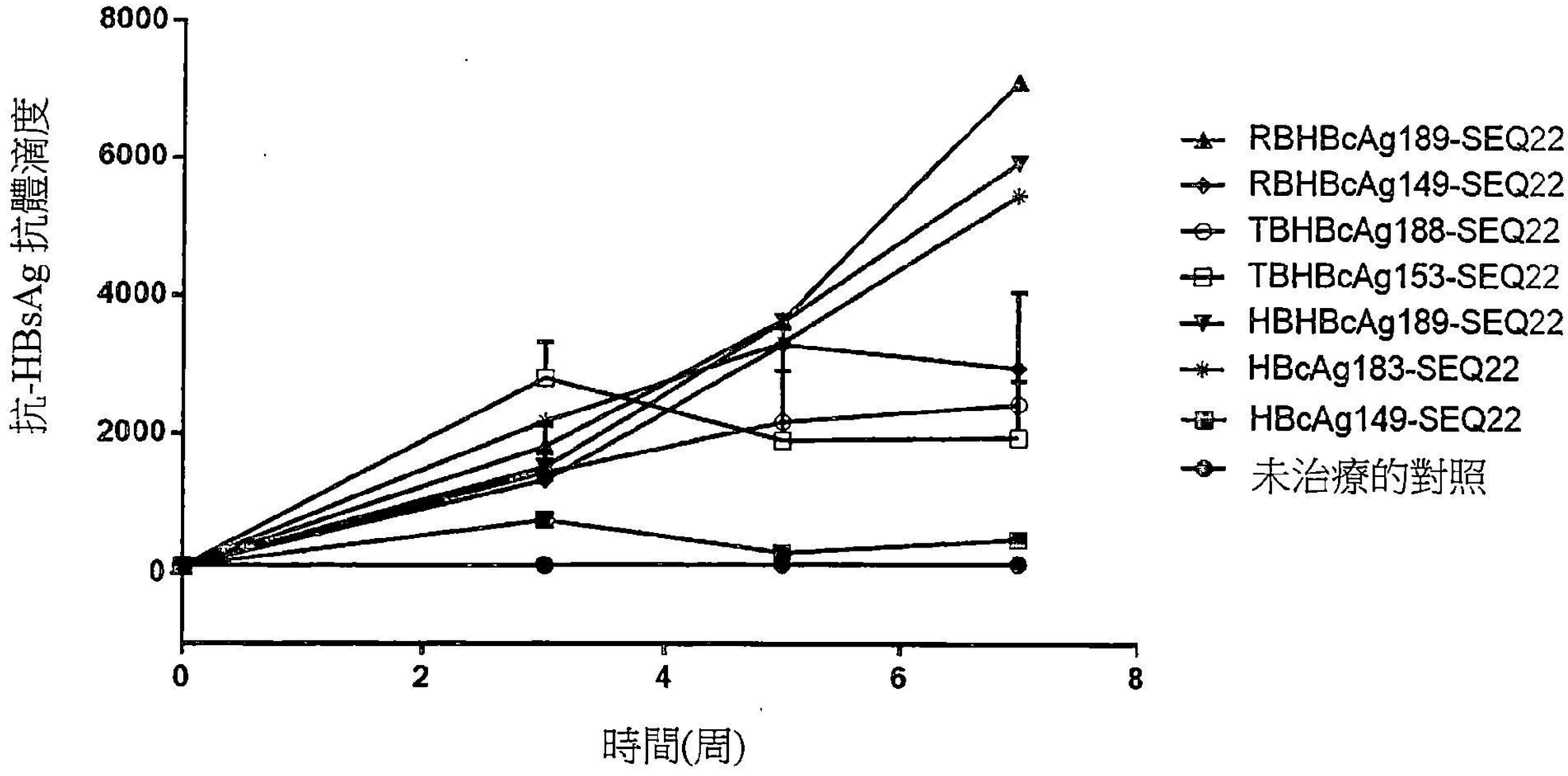

雄性 HBV 轉基因小鼠
HBsAg (IU/mL)
8000
6000
4000
2000
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ22
HBcAg183-SEQ22
HBcAg149-SEQ22
未治療的對照

第 4 圖

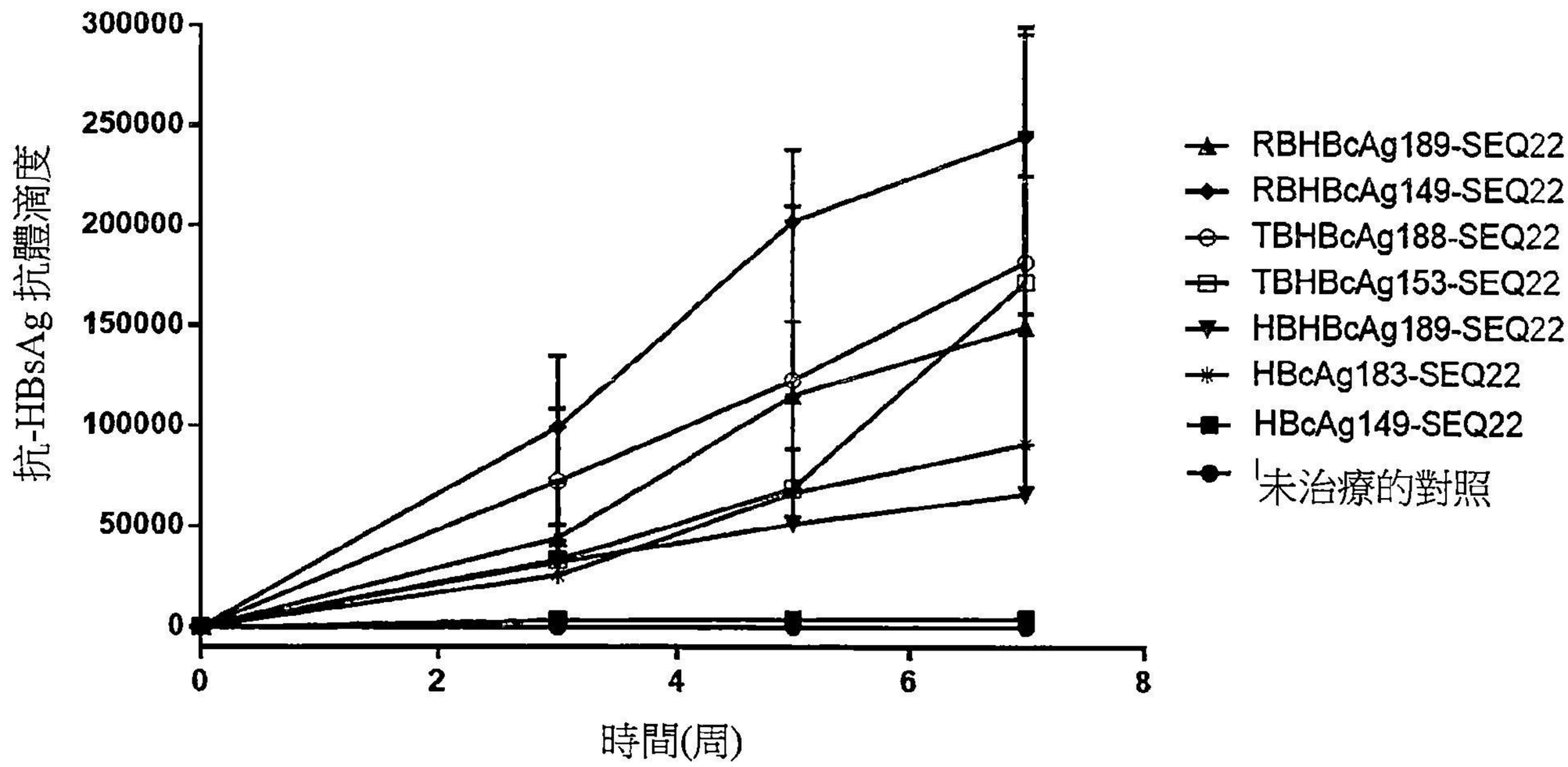

雄性 HBV 轉基因小鼠
HBV DNA (Log10 IU/mL)
9
8
7
6
5
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ22
HBcAg183-SEQ22
HBcAg149-SEQ22
未治療的對照

第 5 圖

A

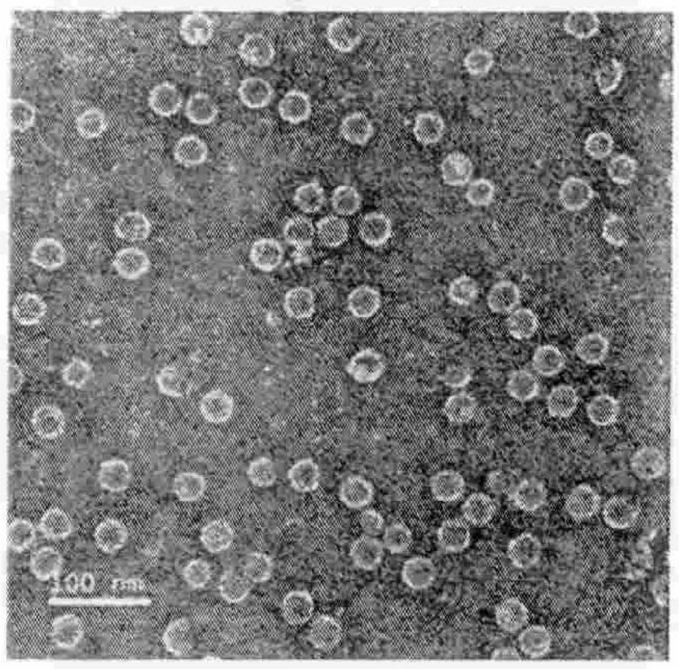

雄性 HBV 轉基因小鼠
抗-HBsAg 抗體滴度
8000
6000
4000
2000
0
0
2
4
6
8
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ22
HBcAg183-SEQ22
HBcAg149-SEQ22
未治療的對照

B

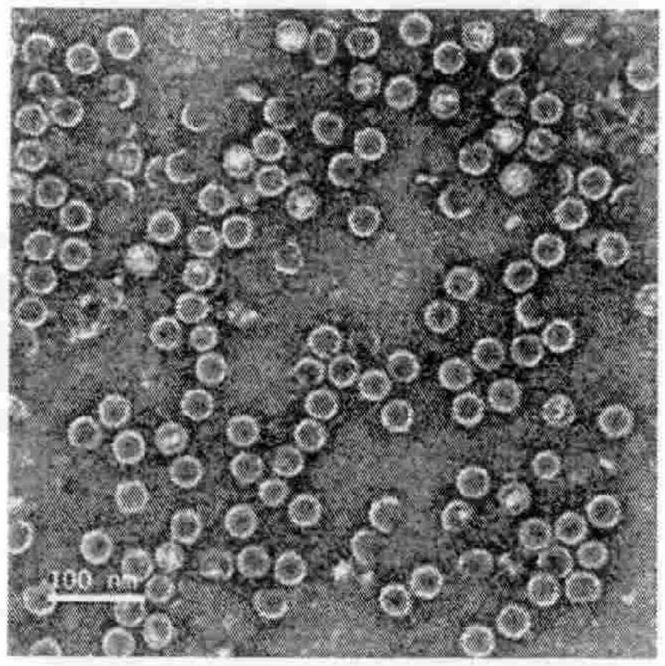

雄性 HBV 轉基因小鼠
抗-HBsAg 抗體滴度
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
0
2
4
6
8
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
TBHBcAg188-SEQ22
TBHBcAg153-SEQ22
HBHBcAg189-SEQ22
HBcAg183-SEQ22
HBcAg149-SEQ22
未治療的對照

第 6 圖

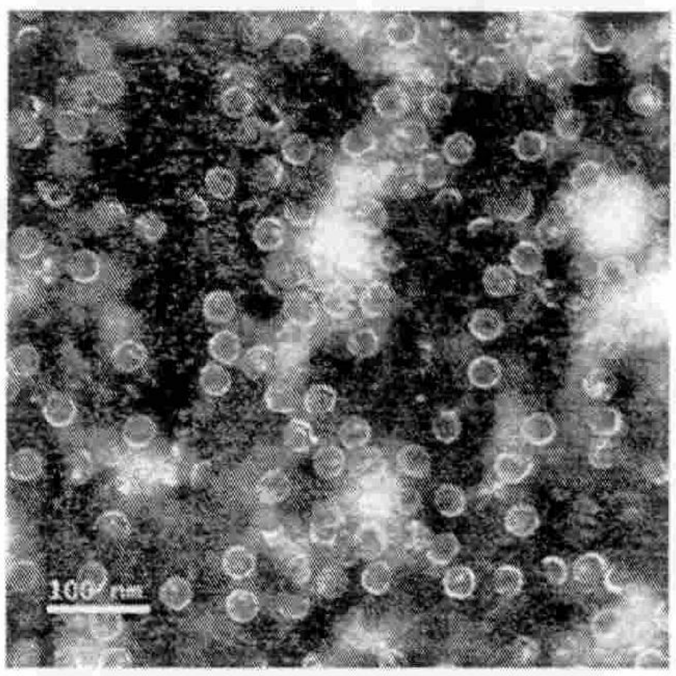
RBHBcAg149-SEQ60



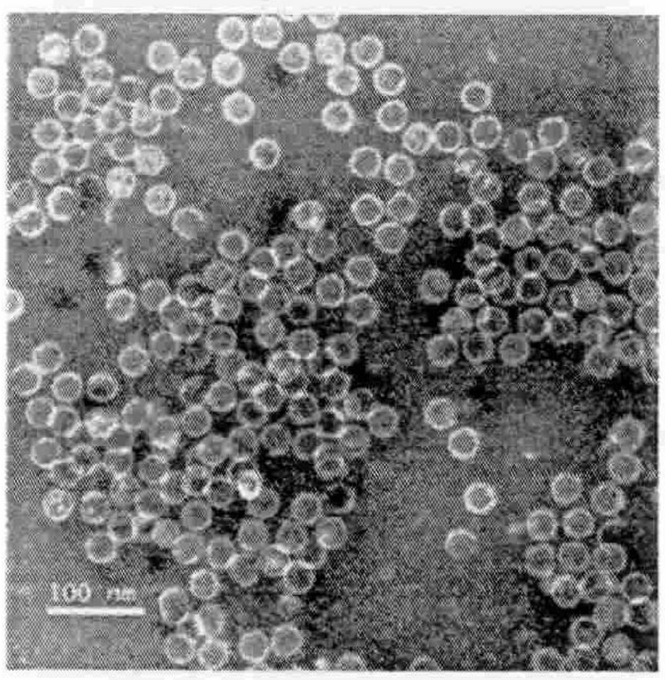
TBHBcAg153-SEQ60



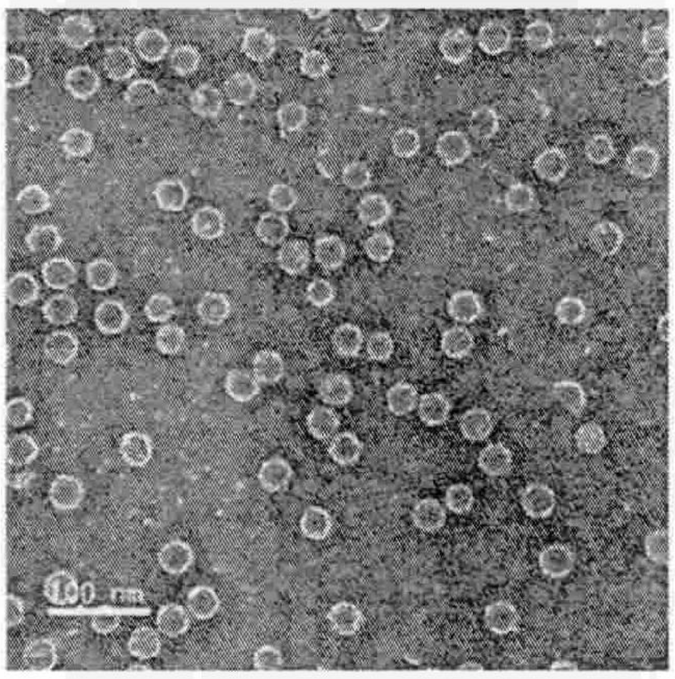
RBHBcAg149-SEQ61



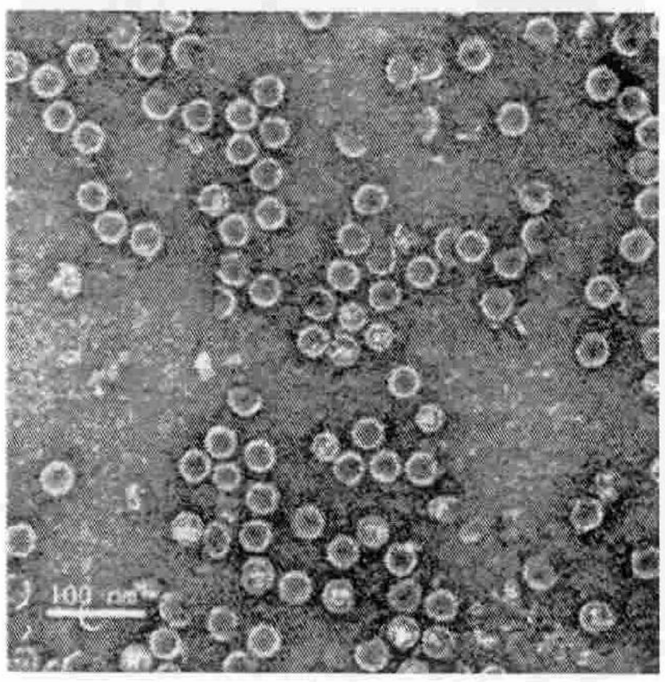
TBHBcAg153-SEQ61



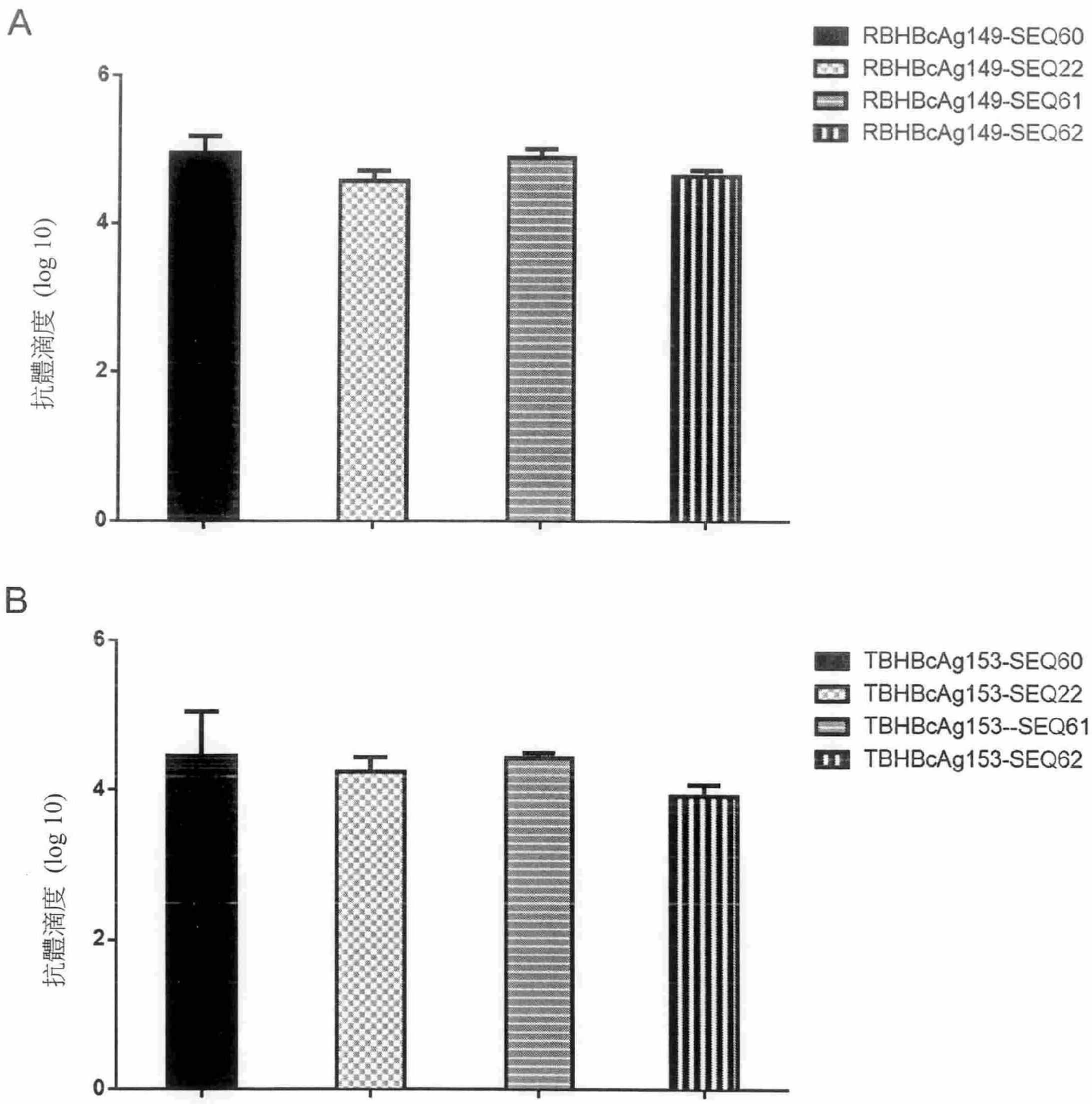
RBHBcAg149-SEQ62



TBHBcAg153-SEQ62

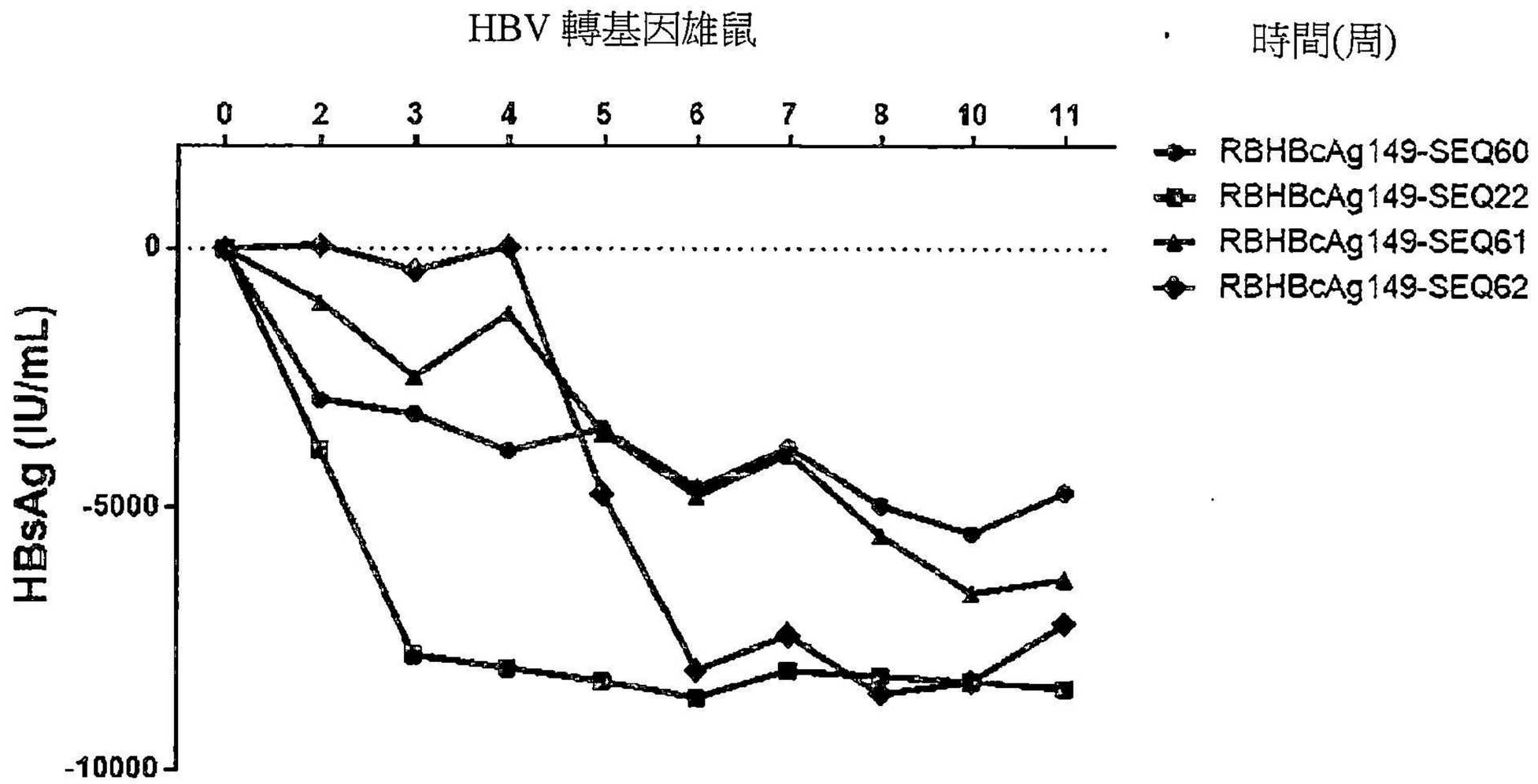


第 7 圖

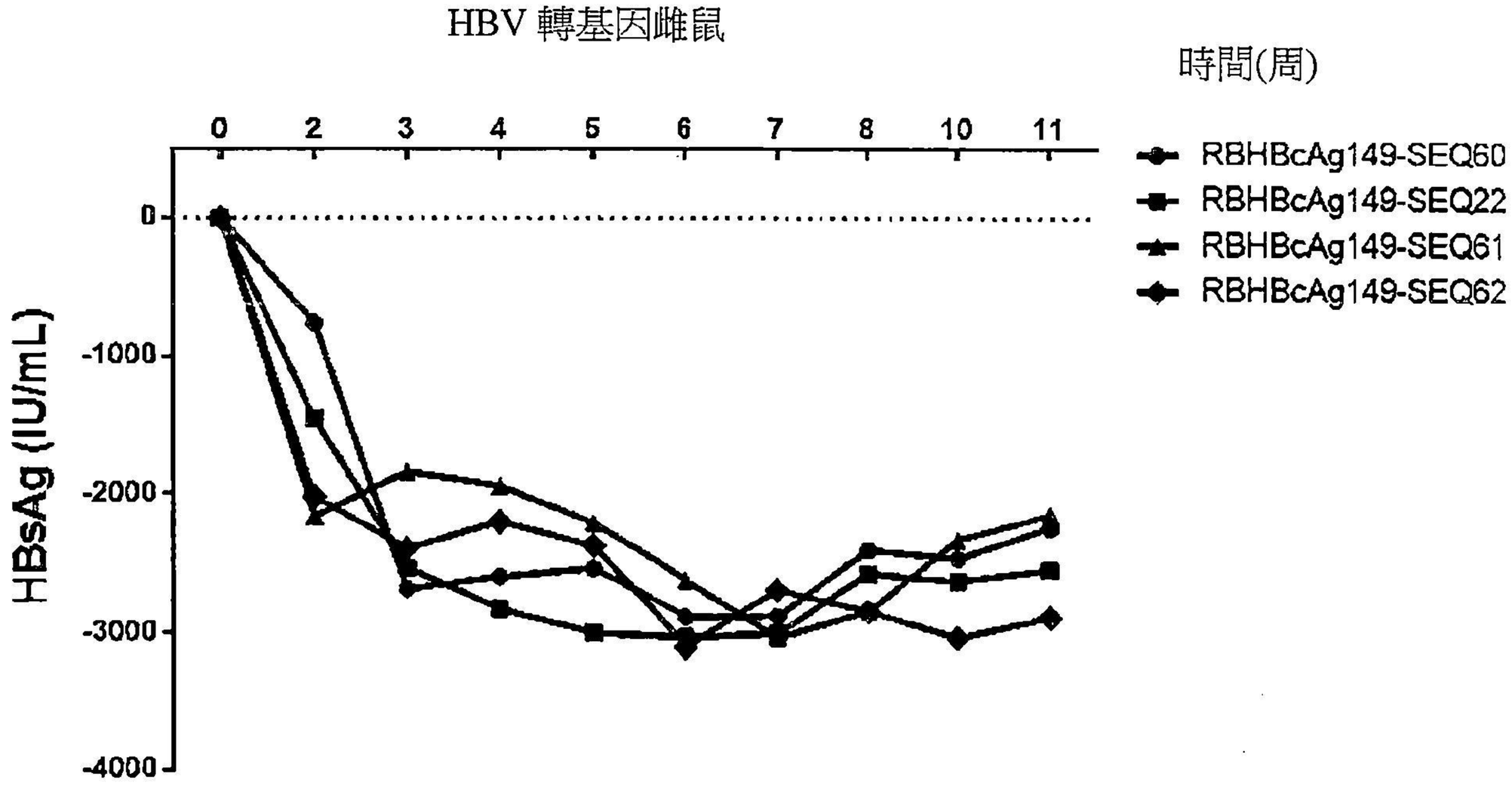

A
RBHBcAg149-SEQ60
RBHBcAg149-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ61
RBHBcAg149-SEQ62
抗體滴度 (log 10)
6
4
2
0
B
TBHBcAg153-SEQ60
TBHBcAg153-SEQ22
TBHBcAg153--SEQ61
TBHBcAg153-SEQ62
抗體滴度 (log 10)
6
4
2
0

第 8 圖

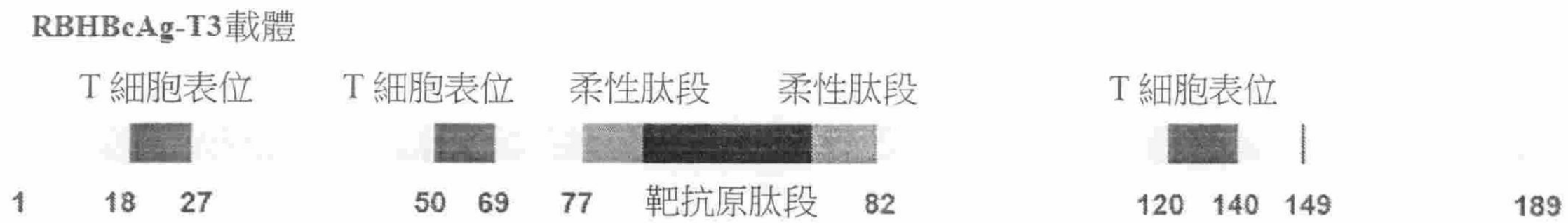
A


HBV 轉基因雄鼠
時間(周)
0
2
3
4
5
6
7
8
10
11
RBHBcAg149-SEQ60
RBHBcAg149-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ61
RBHBcAg149-SEQ62
HBsAg (IU/mL)
0
-5000
-10000

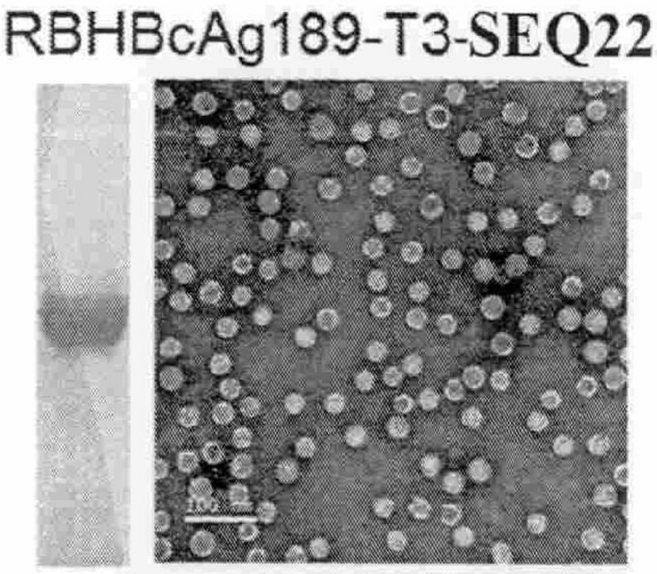
B


HBV 轉基因雌鼠
時間(周)
0
2
3
4
5
6
7
8
10
11
RBHBcAg149-SEQ60
RBHBcAg149-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ61
RBHBcAg149-SEQ62
HBsAg (IU/mL)
0
-1000
-2000
-3000
-4000

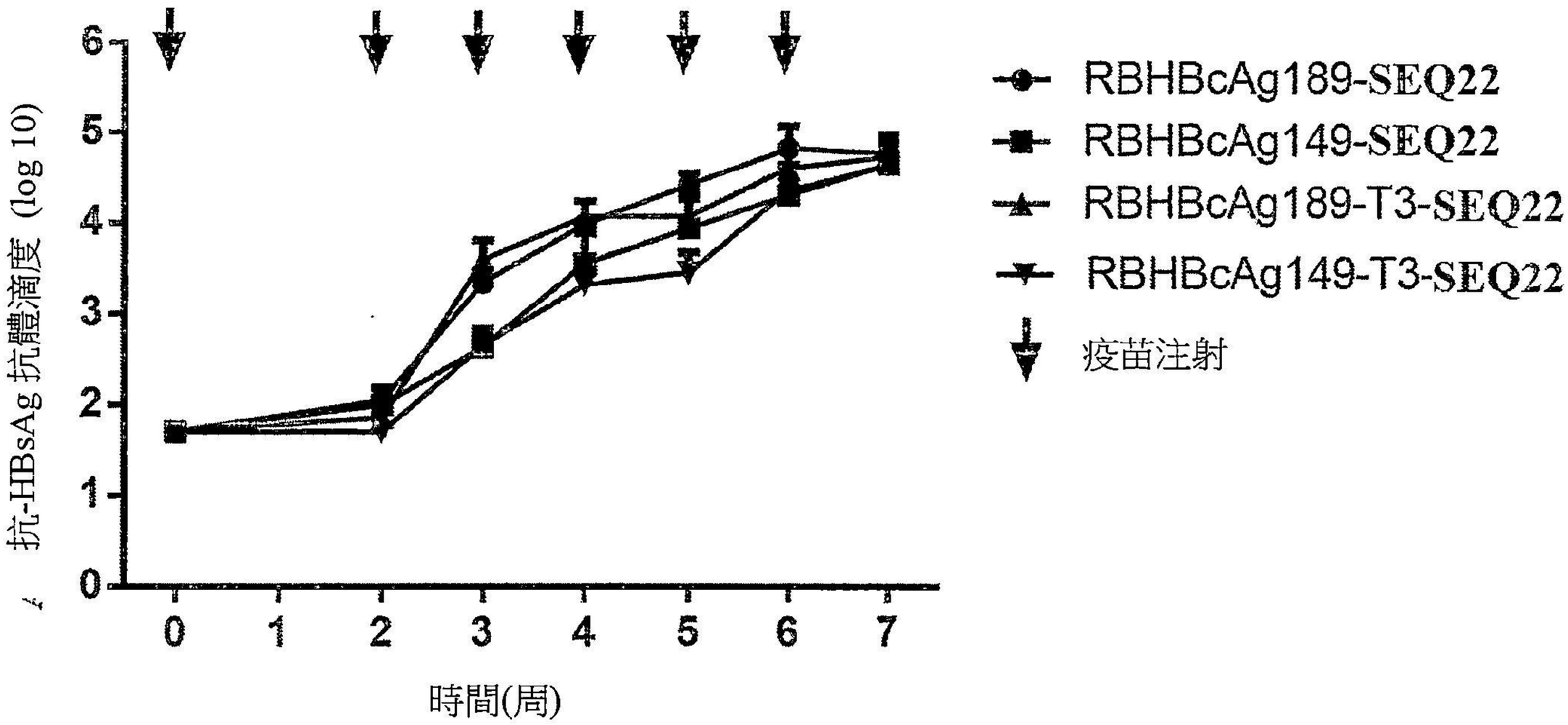
第 9 圖


RBHBcAg-T3載體
T細胞表位
T細胞表位
柔性肽段
柔性肽段
T細胞表位
1
18
27
50
69
77
靶抗原肽段
82
120
140
149
189
TBHBcAg-T3載體
T細胞表位
T細胞表位
柔性肽段
柔性肽段
T細胞表位
1
18
27
54
73
79
靶抗原肽段
84
124
144
153
188
HBHBcAg-T3載體
T細胞表位
T細胞表位
柔性肽段
柔性肽段
T細胞表位
1
18
27
50
69
77
靶抗原肽段
82
120
140
149
189

第 10 圖

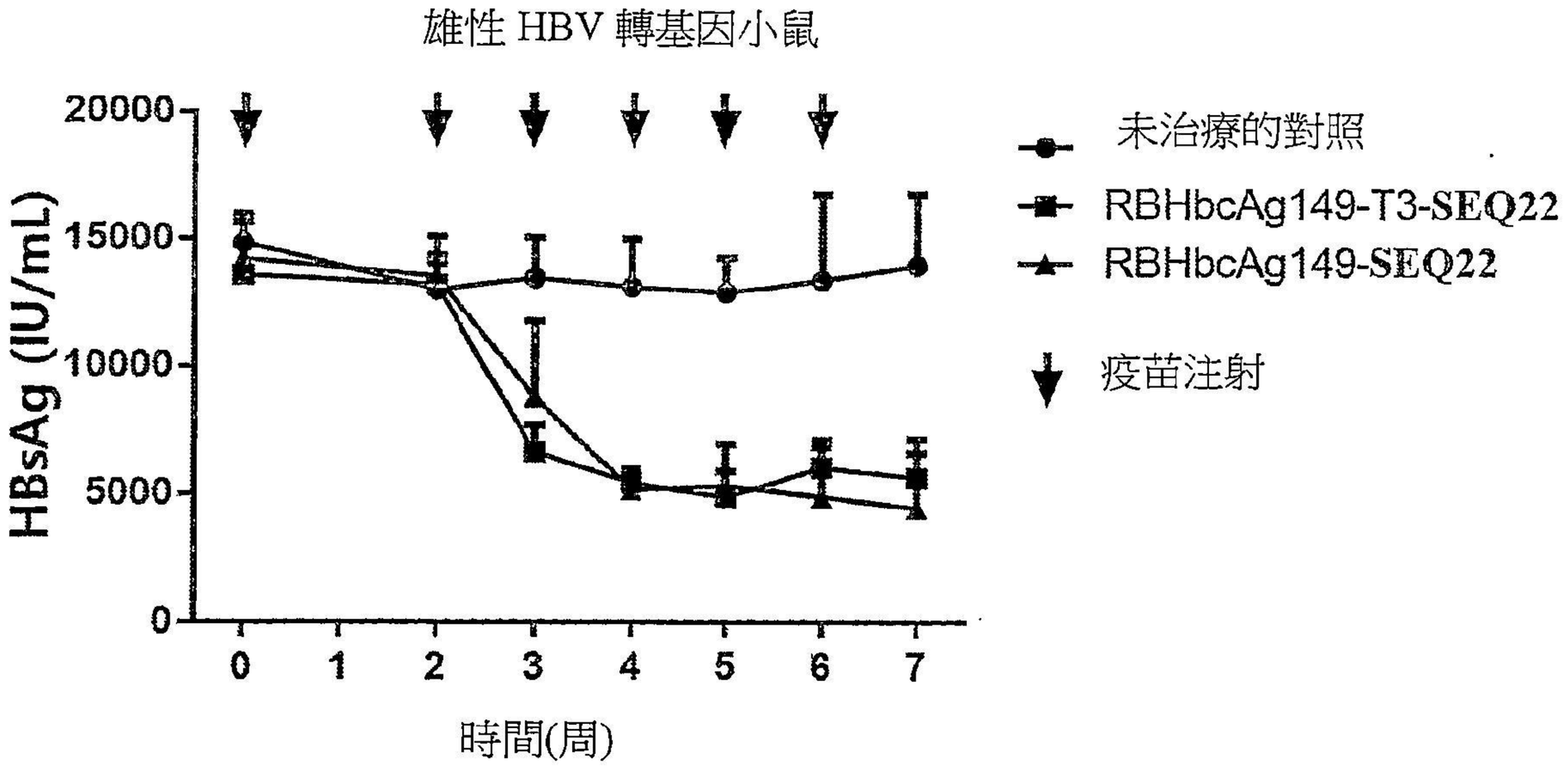

RBHBcAg189-T3-SEQ22
RBHBcAg149-T3-SEQ22

第 11 圖

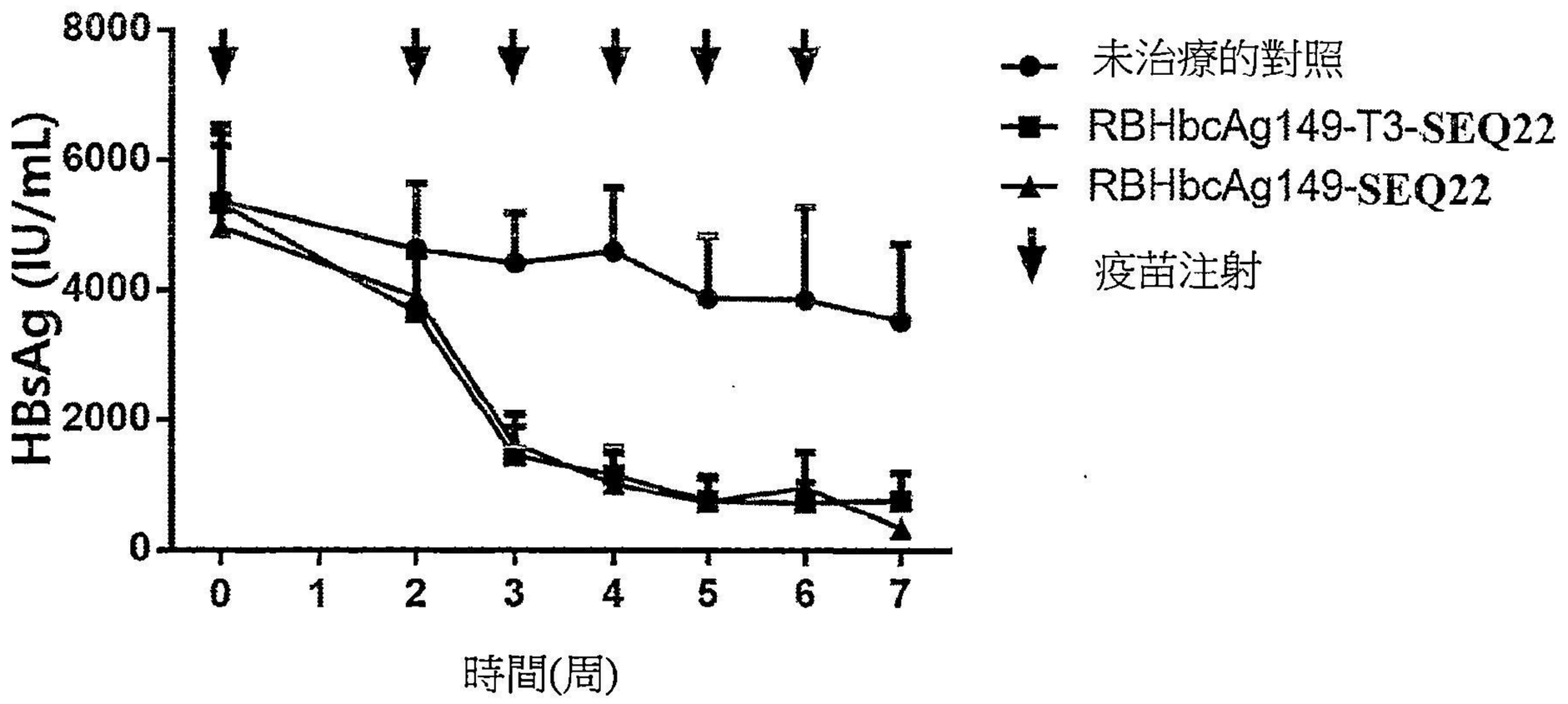

雄性 Balb 小鼠
抗-HBsAg 抗體滴度 (log 10)
0
1
2
3
4
5
6
0
1
2
3
4
5
6
7
時間(周)
RBHBcAg189-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22
RBHBcAg189-T3-SEQ22
RBHBcAg149-T3-SEQ22
疫苗注射

第 12 圖

A

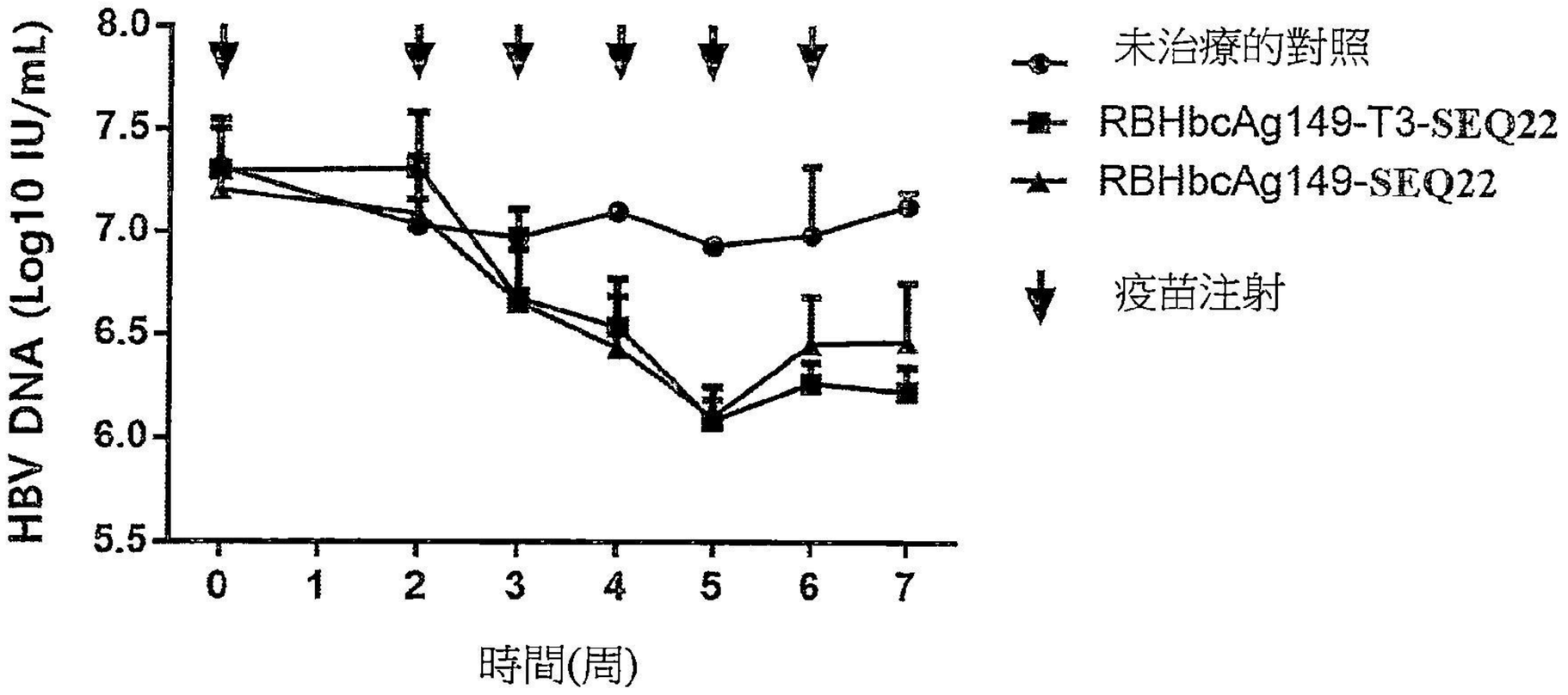

雄性 HBV 轉基因小鼠
HBsAg (IU/mL)
20000
15000
10000
5000
0
0 1 2 3 4 5 6 7
時間(周)
未治療的對照
RBHbcAg149-T3-SEQ22
RBHbcAg149-SEQ22
疫苗注射

B

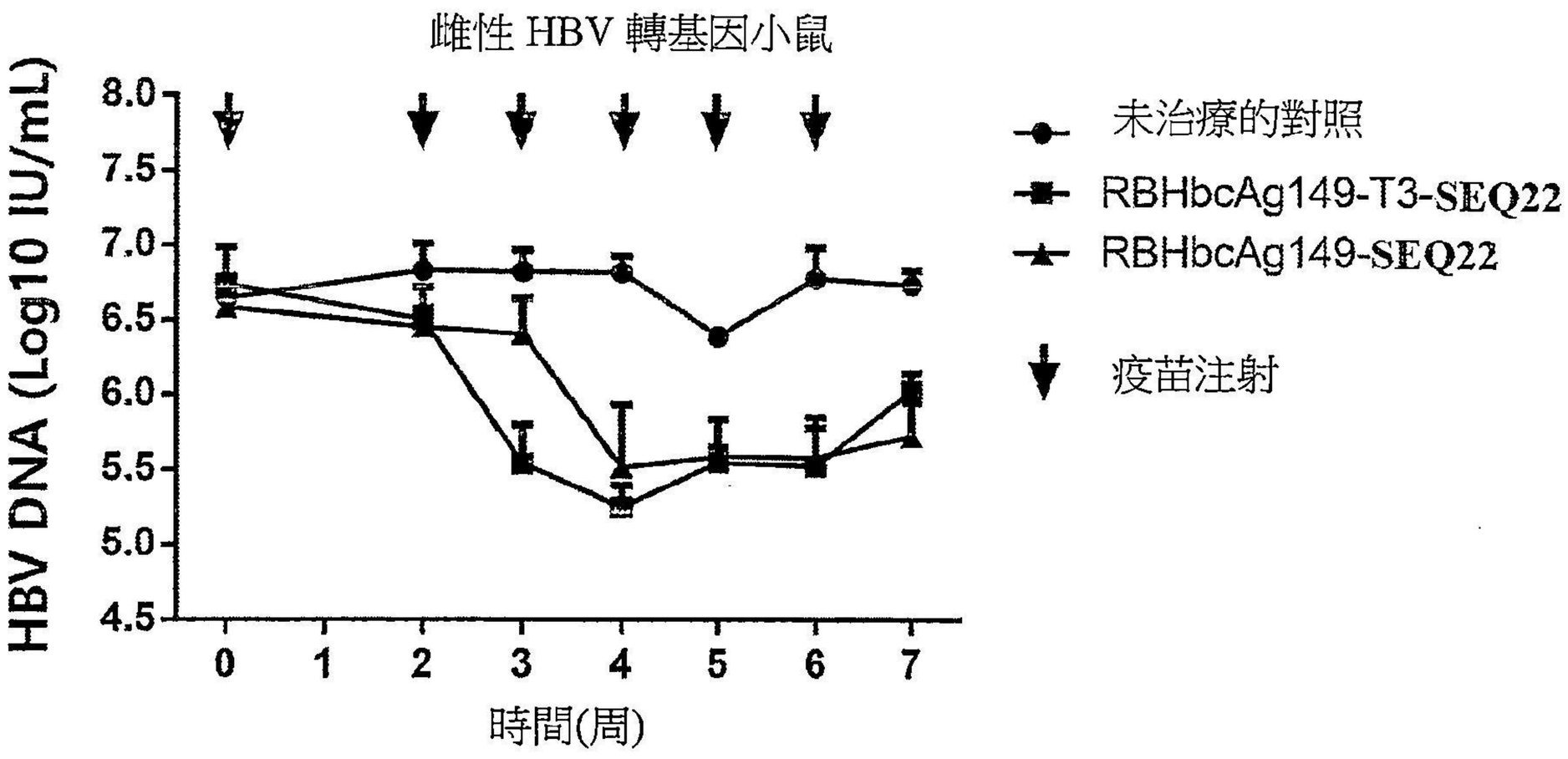

雌性 HBV 轉基因小鼠
HBsAg (IU/mL)
8000
6000
4000
2000
0
0 1 2 3 4 5 6 7
時間(周)
未治療的對照
RBHbcAg149-T3-SEQ22
RBHbcAg149-SEQ22
疫苗注射

第 13 圖

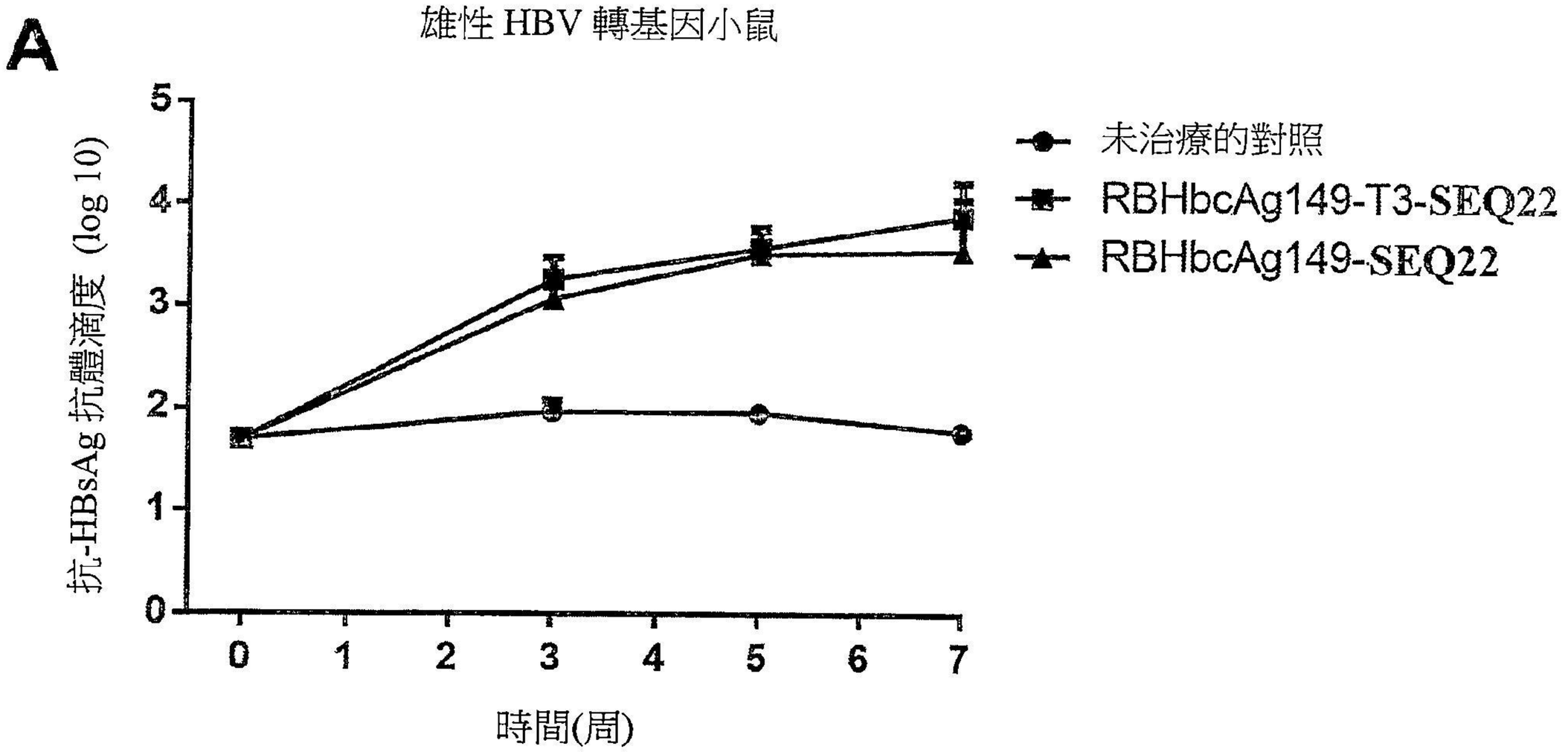
A

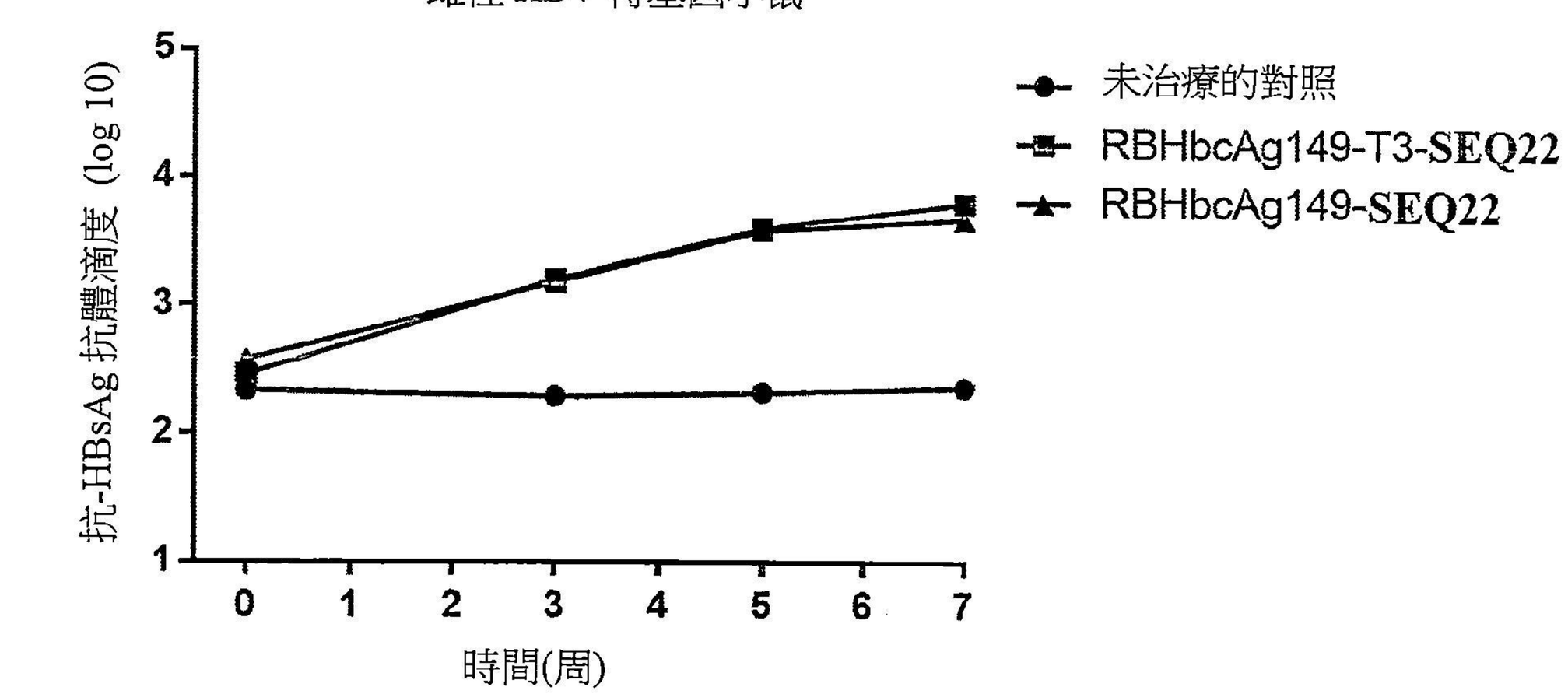

雄性 HBV 轉基因小鼠
HBV DNA (Log10 IU/mL)
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
0 1 2 3 4 5 6 7
時間(周)
未治療的對照
RBHbcAg149-T3-SEQ22
RBHbcAg149-SEQ22
疫苗注射

B

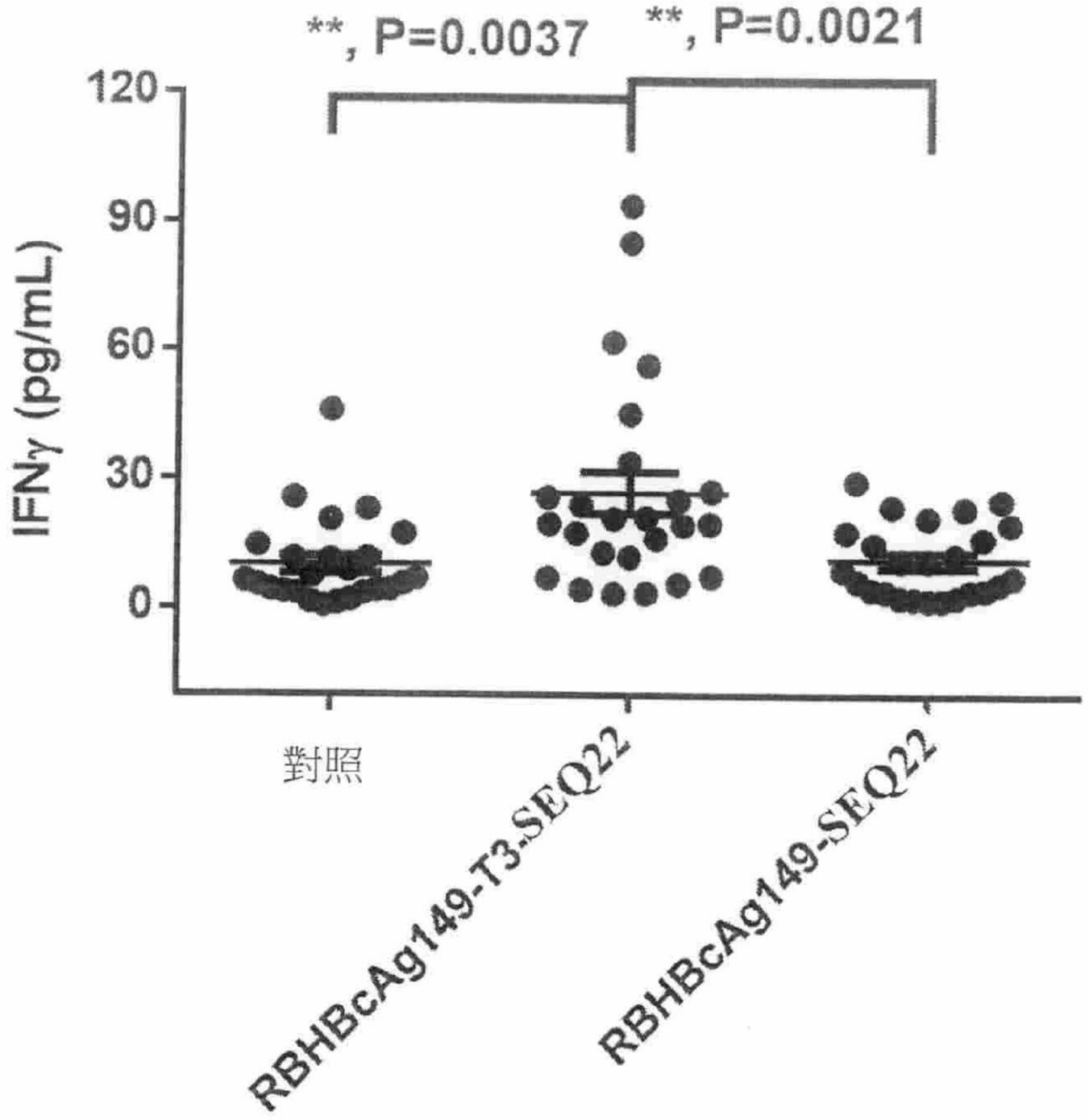

雌性 HBV 轉基因小鼠
HBV DNA (Log10 IU/mL)
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
0 1 2 3 4 5 6 7
時間(周)
未治療的對照
RBHbcAg149-T3-SEQ22
RBHbcAg149-SEQ22
疫苗注射

第 14 圖

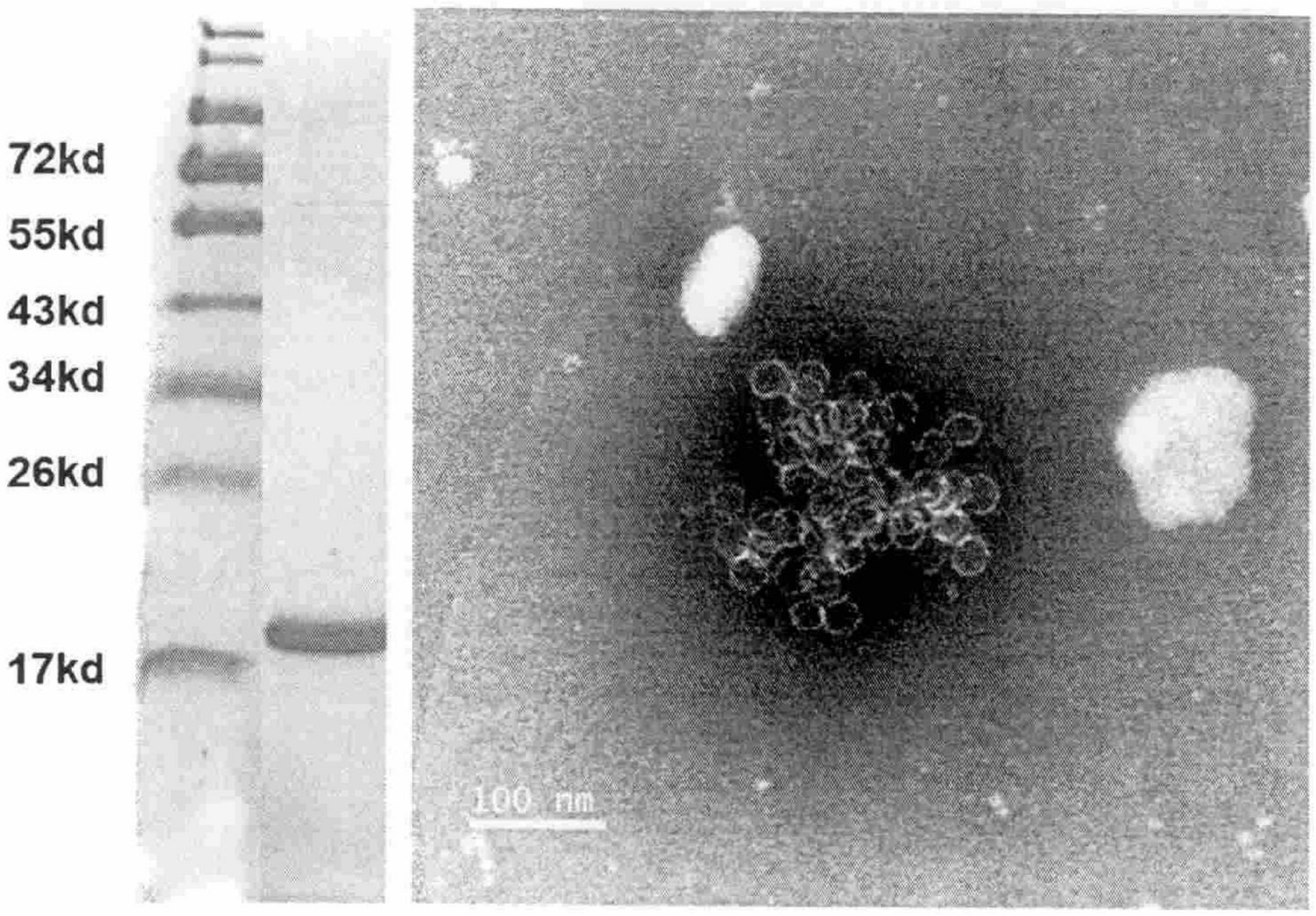

A
雄性 HBV 轉基因小鼠
抗-HBsAg 抗體滴度 (log 10)
5
4
3
2
1
0
0 1 2 3 4 5 6 7
時間(周)
未治療的對照
RBHbcAg149-T3-SEQ22
RBHbcAg149-SEQ22


B
雌性 HBV 轉基因小鼠
抗-HBsAg 抗體滴度 (log 10)
5
4
3
2
1
0 1 2 3 4 5 6 7
時間(周)
未治療的對照
RBHbcAg149-T3-SEQ22
RBHbcAg149-SEQ22

第 15 圖


**, P=0.0037
**, P=0.0021
IFNγ (pg/mL)
120
90
60
30
0
對照
RBHBcAg149-T3-SEQ22
RBHBcAg149-SEQ22

第 16 圖


72kd
55kd
43kd
34kd
26kd
17kd
100 nm

第 17 圖